



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS



Diversidad, Taxonomía y Toxicología de las especies del complejo
***Tricholoma equestre* (Agaricomycetes) en México**

T E S I S



PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

QUIYAHUITL COLIBRÍ FERNÁNDEZ ARMENDÁRIZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. ROBERTO GARIBAY ORIJEL

CIUDAD DE MÉXICO, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

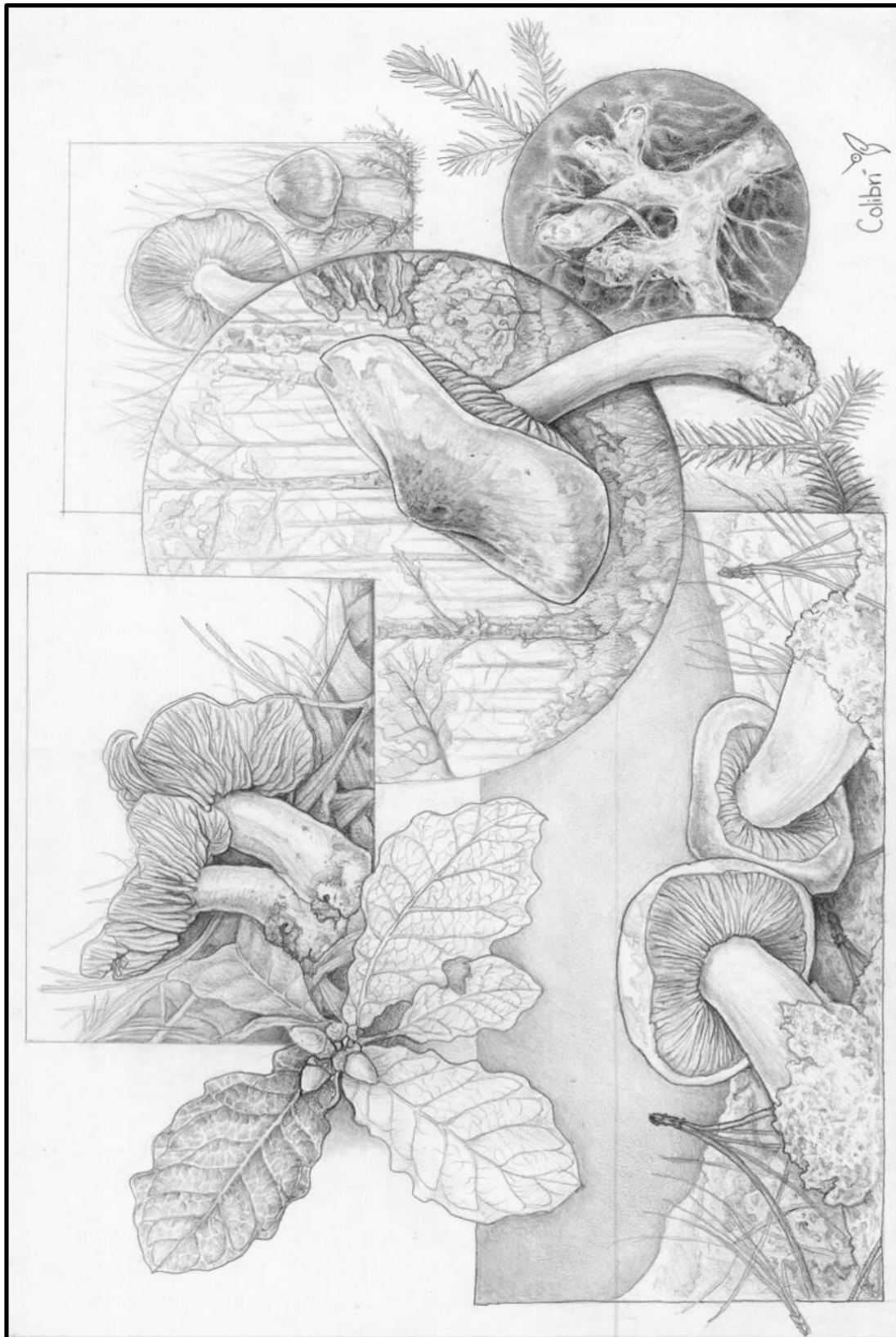


Figura 1. Ilustración de la diversidad de formas y hábitats de los hongos del complejo *Tricholoma equestre* s.l. realizada por Quiyahuitl Colibrí Fernández Armendáriz. Técnica: Grafito sobre papel.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias y a la UNAM por haberme permitido cursar una carrera en biología, la cual es un sueño que sigue en construcción.

Al Instituto de Biología de la UNAM por brindarme la oportunidad de realizar mi tesis en sus instalaciones.

Al financiamiento del proyecto “Genómica y toxicidad de hongos comestibles y tóxicos como una herramienta para potenciar su aprovechamiento y evitar intoxicaciones mortales” PAPIIT IN212521 ya que este apoyo fue fundamental para poder concluir esta tesis.

Al financiamiento del proyecto “Atlas de la biodiversidad del suelo de México, herramienta para la investigación, docencia y toma de decisiones” PAPIIT AV200223 ya que el apoyo fue fundamental para poder concluir el proceso de titulación.

Hago un especial y profundo agradecimiento a mi mentor, el Dr. Roberto Garibay Orijel. En principio por haberme compartido su amor profundo por los hongos en sus clases. Por haber dirigido mi tesis de licenciatura y por las aventuras que he podido vivir al estar en su laboratorio. Por haber depositado su confianza en mí, por la paciencia durante mi desarrollo, por su apoyo incondicional, por creer en mí y por impulsarme siempre a mejorar. Siempre le voy a agradecer por las apasionadas charlas sobre la micología, por compartir el amor por su tierra, por los regaños, las risas y las reflexiones. Por permitirme estar en su laboratorio, que más que un espacio de trabajo también se ha convertido en un lugar de crecimiento personal y un sitio donde me siento en familia. Finalmente, le doy gracias por su compromiso con la ciencia, con el país, con los hongos y por ser una inspiración personal muy grande en el mundo de la micología.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al jurado de esta tesis: Dra. Adriana Montoya Esquivel, Dr. Sigfrido Sierra Galván, M. en C. Celia Elvira Aguirre Acosta y Dra. Julieta Álvarez Manjarrez.

A la Dra. Rosario Medel Ortiz por apoyarme para realizar la estancia en el CIMA para realizar los ensayos toxicológicos. Le agradezco por su apoyo, por las atenciones que tuvo conmigo y por

estar siempre al pendiente de mi, con ánimos de escuchar y prestar su consejo. También por la inspiración que me da con su trabajo como micóloga y como mujer.

Agradezco profundamente a las y los hongueros que permitieron que esta tesis se realizara y que permean el consumo de hongos silvestres en nuestro territorio. Por mantener vivas tradiciones de raíces profundas y por compartir su conocimiento con todo aquel dispuesto a escuchar. Asimismo, porque gracias a ellas y ellos podemos consumir un recurso alimenticio enormemente valioso tanto para la salud como para nuestra identidad como mexicanos: Sra. María de los Ángeles del mercado de Jamaica, a las hongueras Pjiekakjoo (especialmente a Elisete Hernández), a las y los hongueros de Cuajimalpa y Villa del Carbón y a todas las y los hongueros de la parada del Hongo en Puebla.

Hago un agradecimiento personal a la colaboradora Verónica Ramírez por habernos brindado amplia información sobre el “escorpión”, por haberme llevado al monte con ella, por confiar en nosotros y por abrirnos las puertas de su familia. Por continuar con la recolección de hongos silvestres y por enamorarnos con sus ricos guisos.

Al colaborador Don Fernando Navarro ya que sin él no habríamos conocido La Parada del Hongo. Le agradezco también por ser un gran ejemplo del “buen vivir”. Él demuestra que se puede vivir de la tierra de una manera armónica con el ambiente y conseguir que el maíz crezca seis metros.

A la Dra. E. Naara Palestina Villa por todo el acompañamiento durante mi estancia en el CIMA, por enseñarme los protocolos con paciencia y amabilidad. Le doy gracias por su gran corazón, por su amistad y porque es un ejemplo para las siguientes generaciones de mujeres científicas.

A la estudiante de maestría Valeria S. Flores Almaraz principalmente por haberme entrenado en el laboratorio de Biología Molecular, por haberme compartido sus conocimientos y habilidades. Por su amistad y por aquellas noches en el IB en las que aprendí y también disfruté de su compañía. Le agradezco por ser también una inspiración personal.

Al doctorante Christian Quintero Corrales por su apoyo durante mi formación en técnicas de biología molecular, por su apoyo para mejorar la tesis sobre todo en los análisis filogenéticos. Doy gracias por su amistad, por los consejos en el laboratorio, por su escucha, por las observaciones sobre mi trabajo y por las risas compartidas.

Al Dr. Rodolfo Salas por su ayuda durante la generación y discusión de la Red de Haplotipos de este trabajo.

Al Dr. O. Eduardo Hernández Navarro por enseñarme a realizar la metodología de CTAB durante la extracción de DNA para una parte de mis muestras. Le agradezco por todas las veces que me ha rescatado cuando me he quedado sola y con dudas.

A la Dra. Lidia I. Cabrera Martínez por todo el apoyo brindado en el laboratorio de biología molecular, ya que sus recomendaciones me han impulsado a hacer un trabajo de mayor calidad. Gracias por sus observaciones, por tener la amabilidad de sentarse conmigo a discutir los protocolos y por las cálidas palabras de aliento.

Al Dr. Bernardo Aguila Salgado por su apoyo con la base de datos del GSMC. Así mismo, le agradezco por su linda amistad, por las risas, complicidades, música y por el apoyo en la parte final de la biología molecular realizada en esta tesis.

A la bióloga Gala Viurcos por su apoyo y consejos, por su compañerismo, charlas en el laboratorio y amistad.

A la M. en C. Elvira Aguirre Acosta por su apoyo con los hongos de la colección de macromicetos del Herbario Nacional y por los ánimos que me ha dado cada vez que la encuentro en el IB.

A la Dra., Cristina Burrola Aguilar y a la Universidad Autónoma del Estado de México, así mismo a la Dra. Adriana Montoya Esquivel y a la Universidad Autónoma de Tlaxcala por permitirme trabajar con sus colecciones.

A los profesores del taller de “Diversidad y aspectos ecológicos de macromicetos saprobios, ectomicorrízicos y líquenes” de la Facultad de Ciencias por la formación y la orientación para realizar este trabajo: Dr. Roberto Garibay Orijel, Dra. Julieta Álvarez Manjarrez, Dra. María de los Ángeles Herrera Campos, Dr. Norberto Sánchez Téllez y Dr. Andrés Arguelles Moayo.

A la doctorante Amaranta Ramírez Terrazo por ser parte importante de mi camino en la micología, por compartir su pasión por la etnomicología y por su compromiso social. Le agradezco porque admiro enormemente su trabajo como micóloga.

Al Dr. Ricardo García Sandoval porque gracias a él terminé en el curso de Introducción a la Etnomicología y por su impulso para estudiar los hongos. Le agradezco a él y a la maestra Guadalupe Vidal por la motivación que me brindaron durante la carrera y por compartir el fantástico mundo de los hongos conmigo.

A todos los profesores de mi facultad que se esforzaron por darme lo mejor de ellos mismos y de la ciencia.

AGRADECIMIENTO A MIS SERES QUERIDOS

A mi madre Griselda Armendáriz Ramírez y a mi padre Mario E. Fernández Merino por amarme, nutrirme, por darme todo lo necesario para mi desarrollo. Les agradezco profundamente por toda su entrega, por apoyarme en los momentos más difíciles, por siempre estar al pendiente de mí, por creer en mí. Gracias por todos sus consejos, por la hermosa familia que me han heredado. Por la paciencia, por su cariño, por compartir su vida conmigo. Por ser un ejemplo de vida para mí, por enseñarme a amarme, por enseñarme a amar a la tierra y a mi país, por enseñarme a soñar. Les doy gracias por los valores, las discusiones, les agradezco por la educación a la que tengo acceso, por mi formación física, mental y espiritual. Finalmente, por ser mis guías, mi fortaleza y mis alas.

A Gabriel Rojas Sandoval por todo su apoyo. Le agradezco por el encuentro tan mágico que hemos tenido, por compartir sueños, risas, desvelos, momentos difíciles y sobre todo por las aventuras misteriosas. Le doy gracias por permitirse soñar conmigo con un mundo distinto, por abrirme su mundo y su familia, por las caminatas en los cerros de noche y de día. Por las noches de filosofía y poesía, por compartir conmigo el amor por el mundo de los hongos. Le agradezco finalmente por su infinito amor y respaldo, por ser una inspiración para creer que “nada es imposible”.

Al resto de mi familia por su amor incondicional, por su apoyo, por nutrir siempre mi corazón y por compartir conmigo un pedacito de sus vidas.

Agradezco inmensamente a mi mentor, amigo e ídolo Aldi de Oyarzabal Salcedo por la formación en ilustración científica. Por mostrarme sus secretos en el maravilloso arte del dibujo, por enseñarme lo que significa “macicez”, por hablarme de los medios tonos, por todas las aventuras en el cubículo, por su risa contagiosa, por creer en mí y por todas las palabras de aliento. Le doy

gracias por sus charlas tan interesantes, por las discusiones profundas, por compartirme sus sueños y su vida. Le agradezco profundamente porque además de ser un gran ejemplo a seguir en la ilustración científica, es para mí un modelo de cómo vivir la vida aprovechando cada segundo en todo su esplendor. Gracias por permitirme soñar y viajar desde la dibujada.

A mis compañeros de laboratorio y amigos Jesús, Elena, Ángel, Ámbar y Lucía, ya que ellos son parte de mi familia académica. Gracias por los buenos momentos, por el apoyo, los seminarios, las discusiones, los ánimos, las risas y las aventuras que hemos vivido juntos.

A mi amigo Sebastián Gómez por ser una gran inspiración como científico y por haber crecido juntos en la carrera.

Agradezco particularmente a la maestra Rosa María Fonseca Juárez por abrirme las puertas de la ilustración botánica, por ser una gran científica, sobre todo por ser un hermoso ser humano y una mujer muy dulce. Le doy las gracias por todo su apoyo, por sus consejos y por su linda amistad.

Al Dr. Leonardo O. Alvarado Cárdenas por permitirme colaborar con él en sus artículos de apocináceas con algunas ilustraciones. Por su amistad, por todas las discusiones, por las veces que me dejó pensando sobre la labor del taxónomo. Le doy gracias por los buenos ratos y por las reflexiones.

A mis amigos del Laboratorio de Plantas Vasculares donde realicé mi servicio social y mis primeras ilustraciones científicas de manera profesional: Dr. Ernesto, Dr. Ricardo, Dra. Rubí, Daniela, Dra. Sofía y Edith.

A la Dra. Lorena Caballero y al Dr. Vladimir Cachón ya que fueron desde mi primer semestre una enorme fuente de inspiración en mi formación académica y personal.

Al profesor Rodolfo Sánchez Aguilar, a la profesora Rocío José Jacinto y al profesor José Ramón Palma Mayoral porque ellos me impulsaron a estudiar la carrera de biología.

DEDICATORIA

A mi familia, pero sobre todo a mis padres y a mis dos abuelas. A mi abuela materna Guadalupe Ramírez Chimal por su amor y por enseñarme a amar la naturaleza. A mi abuela paterna María del Pilar Manzano por su amor y por siempre creer en mí.

A la madre tierra y a mi país, ya que ambos necesitan de un compromiso real por parte de la ciencia y por parte de cada ser humano que habita en ellos. Gracias por darme vida y por permitirme nacer en este territorio de contrastes, de magia y belleza biológica: México.

A los hongos, que son seres intrigantes, maravillosos y mágicos, de los cuales aún nos hace falta aprender mucho. A ellos, porque me han enamorado y creo que son una clave para vivir de una manera distinta con nuestro planeta.

“...La tierra es nuestra identidad. En ella, por ella y para ella somos. Sin ella morimos, aunque vivamos todavía...”

Subcomandante Marcos

Mesa redonda: “Frente al despojo capitalista, la defensa de la tierra y el territorio” en el Club de Periodistas, CDMX, 17 de julio de 2007

CONTENIDO

1. RESUMEN.....	12
2. INTRODUCCIÓN.....	13
3. MARCO TEÓRICO.....	16
3.1 Nomenclatura.....	16
3.2 Sistemática del complejo <i>T. equestre s.l.</i>	17
3.3 Descripción morfológica macro y microscópica.....	24
3.4 Ecología.....	25
3.5 <i>Tricholoma equestre s.l.</i> y los metales pesados.....	27
3.6 Estudios sobre su química.....	28
3.7 Actividad biológica de los esporomas de <i>T. equestre s.l.</i>	29
3.7.1 Rabdomiólisis.....	29
3.7.2 Intoxicaciones en el mundo provocadas por el consumo de <i>T. equestre s.l.</i>	31
3.7.3 Estudios toxicológicos.....	32
3.7.4 El modelo de <i>Artemia salina</i> para probar el potencial tóxico de los hongos.....	35
3.8 Actividad biológica positiva de los esporomas y contraargumentos para considerar a <i>T. equestre s.l.</i> como un hongo tóxico.....	36
3.8.1 Actividad anticancerígena.....	36
3.8.2 Propiedades nutricionales del esporoma.....	36
3.8.3 Defensa de la comestibilidad de <i>T. equestre s.l.</i>	38
3.9 Etnomicología.....	40
3.9.1 Consumo en el mundo.....	40
3.9.2 Consumo de macromicetos en México.....	42
3.9.2.1 Etnomicología de <i>T. equestre s.l.</i> en México.....	44
4. JUSTIFICACIÓN.....	46
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	46
6. HIPÓTESIS.....	46
7. OBJETIVOS.....	46
7.1 Objetivo general.....	46
7.2 Objetivos particulares.....	47
8. METODOLOGÍA.....	47
8.1 Obtención de esporomas.....	47

8.2 Caracterización morfológica de esporomas.....	47
8.3 Biología molecular de los esporomas.....	48
8.3.1 Extracción de DNA mediante el método de CTAB.....	48
8.3.2 Amplificación por PCR.....	49
8.3.3 Limpieza de productos y secuenciación de DNA.....	49
8.3.4 Edición, análisis de las secuencias y análisis filogenéticos	49
8.3.5 Recopilación de información sobre las especies encontradas mediante el algoritmo BLAST.....	51
8.3.6 Redes de Haplotipos.....	51
8.4 Ensayo toxicológico con el modelo <i>Artemia salina</i>	52
8.4.1 Diseño del experimento.....	52
8.4.2 Extractos.....	53
8.4.3 Eclosión de quistes.....	54
8.4.4 Montaje del bioensayo.....	55
8.4.5 Análisis de resultados.....	57
9. RESULTADOS.....	58
9.1 Secuencias utilizadas para el análisis filogenético de los “tricolomas amarillos” en México	59
9.2 Secuencias utilizadas para la Red de Haplotipos del complejo <i>Tricholoma equestre s.l.</i>	64
9.3 Análisis filogenético obtenido por Máxima Verosimilitud y análisis bayesiano de los “tricolomas amarillos”.....	69
9.4 Análisis filogenético del complejo <i>Tricholoma equestre s.l.</i>	72
9.5 Red de Haplotipos del complejo <i>Tricholoma equestre s.l.</i>	75
9.6 Descripciones morfológicas de los clados mexicanos	76
9.7 Comentarios etnomicológicos.....	108
9.7.1 Mercado de Jamaica, CDMX.....	108
9.7.2 Parada del Hongo, Chignahuapan, Puebla.....	109
9.8 Mortalidad de los extractos de “tricolomas amarillos” en el modelo <i>Artemia salina</i>	110
10. DISCUSIÓN.....	113
10.1 Sistemática del complejo y especies cercanas que se consumen en México.....	113

10.1.1 Taxonomía de los tricolomas estudiados.....	113
10.1.2 Los caracteres macroscópicos diagnósticos	121
10.1.3 Los caracteres microscópicos diagnósticos.....	122
10.1.4 Caracteres ecológicos diagnósticos.....	123
10.1.5 Las secuencias de DNA como herramienta para diferenciar a las especies	124
10.1.5.1 Los árboles obtenidos vs los antecedentes.....	124
10.1.5.2 La red de Haplotipos vs el árbol Bayesiano.....	125
10.2 Diversidad de “tricolomas amarillos” y su aprovechamiento en México	126
10.3 Distribución de las especies de tricolomas amarillos en México.....	127
10.4 Comestibilidad e inocuidad alimenticia de los “tricolomas amarillos” en México.....	129
10.4.1 Bioensayos.....	129
10.4.2 Consumo de los hongos y su potencial tóxico.....	130
10.4.3 Otros hongos mezclados en el etnotaxón “escorpión”	132
11. PRESPECTIVAS.....	134
11.1 Perspectivas sobre su estudio toxicológico.....	134
11.1.1 Mejoras metodológicas generales.....	134
11.1.2 Procesamiento de los extractos.....	135
11.1.3 Respuesta individual de los organismos ante el consumo de <i>T. equestre s.l.</i>	136
12. CONCLUSIONES.....	137
13. REFERENCIAS.....	137
14. ANEXOS.....	149

1. RESUMEN

Los hongos silvestres son un componente importante en la alimentación humana. Aunque existen hongos con alto valor culinario, hay especies que generan controversia ya que se ha puesto en duda su inocuidad y aún desconocemos su potencial tóxico. Dentro de los Agaricales, el género *Tricholoma* se caracteriza por tener especies con una morfología variable y, por tanto, compleja.

Por falta de información taxonómica hay una gran cantidad de especies que se identifican erróneamente bajo nombres europeos. Un ejemplo de esto, es el complejo *Tricholoma equestre sensu lato*. Este grupo de hongos amarillos se sigue consumiendo en Europa, Norteamérica y Asia. No obstante, ha sido relacionado con micetismos que desembocan en rabdomiólisis. Debido a que tanto su taxonomía como su toxicología siguen sin resolverse, no se sabe si es seguro su consumo.

El objetivo de este trabajo fue describir la diversidad de las especies con potencial tóxico del complejo *T. equestre s.l.* en el centro de México. Lo anterior, se realizó con el fin de aportar información para el consumo seguro de los hongos silvestres. Para ello, se hizo una revisión de las colecciones provenientes de herbarios de la UNAM, UAEMéx y UAT, así como de recolectas de hongueras del Estado de México, Ciudad de México y Puebla. Se estudió su morfología, macromorfológica y microscópica, así como sus relaciones filogenéticas. Así mismo, se realizaron bioensayos toxicológicos de cuatro extractos probados en el modelo animal *Artemia salina*.

Como resultados se obtuvo un análisis filogenético de los “tricolomas amarillos” y uno del complejo *T. equestre s.l.*, con un total de siete especies incluidas en el concepto *T. equestre s.l.* en el territorio mexicano. Además, se encontraron cinco especies registradas como comestibles dentro y fuera del complejo en Puebla, Ciudad de México y Estado de México. De los bioensayos, se obtuvo que la concentración letal media (CL₅₀) de todos los extractos es inferior a 100 µg/mL. Lo anterior lleva a concluir que los tricolomas amarillos estudiados son potencialmente tóxicos en crudo.

2. INTRODUCCIÓN

México cuenta con una gran riqueza biológica y su biodiversidad fúngica es un ejemplo de ello. En el territorio se conocen cerca de 6000 especies de hongos, las cuales se dividen en 2000 especies de micromicetos y 4000 macromicetos. Sin embargo, se estima que existen hasta 150,000 especies (Guzmán, 1995). Esta riqueza biológica se relaciona con un amplio acervo cultural y a partir de esto, se genera un vasto conocimiento tradicional sobre los hongos silvestres (Guzmán, 1995).

Este conocimiento tradicional está vinculado al lenguaje y a las relaciones dentro de una sociedad con su ambiente, expresando una manera de entender e interactuar con el mundo (FAO, 2004). Dichas relaciones, se representan en el concepto de patrimonio cultural; este, se define como los recursos naturales que se encuentran intervenidos por un uso y manejo diferencial según patrones culturales, donde las tradiciones se involucran con la diversidad biológica de un territorio. Los saberes y las actividades humanas que se derivan de ellos, se desarrollan a partir de prácticas que se ven involucradas en aspectos básicos de la vida como lo es la alimentación (Toledo *et al.*, 2019).

La alimentación es una de las actividades más importantes de los seres humanos ya que involucra desde la salud hasta los aspectos culturales más profundos de los pueblos. Aunque la mayoría de los alimentos que consumimos actualmente son cultivados, otros como los hongos silvestres se siguen recolectando. En México se consumen más de 371 especies de hongos comestibles silvestres (Ruan-Soto y Garibay-Orijel 2014). A pesar de que hay una gran cantidad de hongos que son apreciados por su sabor, así como por sus propiedades nutritivas y medicinales, existen también especies tóxicas que representan riesgos para la salud.

Algunas de las sustancias contenidas en los esporomas de los hongos tóxicos, causan desde malestares intestinales, hasta la muerte por daños severos en el hígado o riñones. A la intoxicación o envenenamiento causado por la ingesta de hongos, se le llama micetismo. Las intoxicaciones por consumo de hongos silvestres son un problema de salud pública que constituye una causa de muerte significativa a nivel mundial. Estos envenenamientos, producen altas tasas de morbilidad y mortalidad, pero los datos reales de los casos aún no son claros debido a las dificultades que existen alrededor del diagnóstico de dichas intoxicaciones (Sánchez *et al.*, 1999). La ingesta de hongos tóxicos generalmente es accidental y

frecuentemente sucede por una mala identificación de las especies que se consideran comestibles. A lo anterior se le suma la escasez de datos disponibles sobre la biología de los hongos, incluyendo información de su potencial tóxico (Jo *et al.*, 2014).

Entre los hongos silvestres, el género *Tricholoma* (Fr.) Staude, agrupa desde especies de alto valor comercial como *Tricholoma matsutake* (S. Ito y S. Imai) Singer, hasta especies que se sospecha que pueden ser tóxicas como *Tricholoma auratum* (Pers.) S. Lundell (Trudell *et al.*, 2013). Este grupo de hongos, son ectomicorrízicos y se asocian con especies de Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae y Salicaceae. En particular, *Tricholoma equestre sensu lato* es un complejo de especies silvestres de distribución mundial, que incluye a *T. equestre*, *T. flavovirens* (L.) P. Kumm y *T. auratum* y otras especies no descritas. Los esporomas de estas especies, en algunos países como Lituania, Polonia, Portugal, Guatemala y México son consumidos como alimento. No obstante, se han reportado varias intoxicaciones en Europa caracterizadas por la presencia de rabdomiólisis, después de haber consumido los esporomas por un tiempo considerable. Lo anterior, pone en duda la inocuidad del consumo de estos hongos (Lechner y Albertó, 2008).

Uno de los factores determinantes para aclarar esta discusión, es el conocimiento taxonómico de este grupo de hongos. La taxonomía del género *Tricholoma* incluyendo al complejo *Tricholoma equestre s.l.*, aún no está resuelta ni en Europa ni en Asia, que son las regiones donde se han hecho más estudios. Además, los análisis moleculares del complejo han mostrado diversidad críptica dentro de las especies previamente reconocidas. Por otro lado, en América no hay suficiente investigación al respecto (Heilmann-Clausen *et al.*, 2017). En Norteamérica la taxonomía de género *Tricholoma* no está resuelta debido a que el estatus de especies descritas en esta región es poco claro. Por lo mismo, la aplicación de los nombres de taxa originalmente descritos en Europa, así como sus características deben ser reevaluadas (Reschke *et al.*, 2018).

Uno de los orígenes de esta problemática, es que la identificación de especies dentro del género mediante su morfología es compleja y poco determinante. En este género, los especímenes suelen tener características morfológicas similares como el tamaño o la forma y a su vez, amplias variaciones de color como en el caso de los tricolomas amarillos. Además de la dificultad que presenta la morfología, se suma la falta de estudios en algunas regiones; esto es notorio sobre todo en Norteamérica debido a la ausencia de referencias para los micólogos dedicados a la taxonomía en esta región (Trudell *et al.*, 2013).

En el caso del complejo *Tricholoma equestre s.l.*, hay dos posicionamientos encontrados. Por un lado, hay investigadores que sostienen que se trata de una misma especie de amplia distribución, mientras que otros opinan que son al menos dos especies distintas muy similares morfológicamente. Autores como Laubner y Mikulevičienė (2016) apoyan la idea de que se trata de un conjunto de especies. Ellos plantean que estas especies se relacionan con diferentes géneros de plantas, dependiendo de su origen geográfico. Por otro lado, autores como Kalamees (2001) y Moukha *et al.*, (2013) sostienen que los taxa de Europa, Norteamérica y Asia, representan a una sola especie con sus respectivas variedades.

Así como sucede con los estudios taxonómicos, la toxicología en torno a *T. equestre s.l.*, aún no es clara y está repleta de contradicciones. En este campo, autores como Bedry *et al.*, (2001) y Nieminen *et al.*, (2008) sostienen que el consumo del esporoma da lugar a daños en las fibras musculares, riñones y corazón. Por el contrario, investigaciones realizadas por Klimaszyk y Rzymiski (2018) y Chodorowski *et al.*, (2004), ponen en duda su toxicidad. En ambos casos, la información tanto taxonómica como toxicológica es insuficiente para sacar conclusiones robustas, especialmente en Norteamérica.

Debido a su importancia cultural, ecosistémica y su relevancia en la seguridad alimentaria, es necesario fomentar el consumo seguro de los hongos silvestres. En México, los hongos comestibles silvestres son un recurso alimenticio muy importante y un apoyo económico durante la temporada de lluvias particularmente para las familias rurales. Además, son un componente importante de la cultura mexicana (Ruan-Soto, Ordaz y Garibay-Orijel, 2014). Aunado a esto, son un alimento con un gran potencial nutricional y medicinal, que puede contribuir a la salud de la población en general (Martínez *et al.*, 2007). Las intoxicaciones relacionadas con el consumo de hongos silvestres como *T. equestre s.l.*, son un problema a nivel mundial, que además genera desconfianza en los consumidores. Para conocer con certeza cuáles son las especies con potencial tóxico, es necesario hacer investigación sobre los hongos silvestres. También se deben estudiar los conocimientos que tienen los hongueros sobre su consumo y recolección.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Nomenclatura

La historia nomenclatural de *Tricholoma equestre* s.l es compleja. El tipo del género *Tricholoma* es *T. flavovirens* (Figura 2) y este nombre es considerado actualmente como un sinónimo de *T. equestre* (Deng y Yao, 2005). Sin embargo, aún hay discusión al respecto. Ambos, nombrados originalmente como *A. equestris* en 1753 por Linneo y *A. flavovirens* por Persoon en 1793, fueron sancionados por Fries (1821, 1828), pero “*equestris*”, es el epíteto específico más antiguo y aceptado actualmente (Deng y Yao, 2005).

Sus sinónimos son: *Agaricus equestris* L., (1753), *Agaricus aureus* Schaeff. (1774), *Amanita punctata* var. *aurea* (Schaeff) Lam. (1783), *Agaricus flavovirens* Pers. (1793), *Agaricus auratus* Paulet (1793), *Amanita equestris* (L.) Roussel (1796), *Agaricus flavovirens* var. *vulgaris* Alb. y Schwein. (1805), *Agaricus flavovirens* var. *vulgaris* Alb y Schwein. (1805), *Hypophyllum equestre* (L.) Paulet (1808), *Gymnopus flavovirens* (Pers.) Zawadzki (1835), *Agaricus equestris* var. *pinastrei* (Alb. y Schwein.) Rabenh. (1805), *Tricholoma auratum*

Gillet, (1874), *Tricholoma equestre* var. *pinastrei* (Alb. y Schwein) P.Karst. (1879), *Gyrophila equestris* (L.) Quél. (1886), *Gyrophila equestris* var. *aurata* Quél. (1886), *Gyrophila aurata* (Gillet) Quél. (1888), *Glutinaster equestris* (L.) Earle (1909), *Tricholoma equestre* var. *albipes* Peck, (1912), *Melanoleuca equestris* (L.) Murrill, (1914), *Tricholoma flavovirens* (Pers.) S. Lundell, (1942), *Tricholoma flavovirens* var. *albipes* (Peck) H.E. Bigelow, (1979).

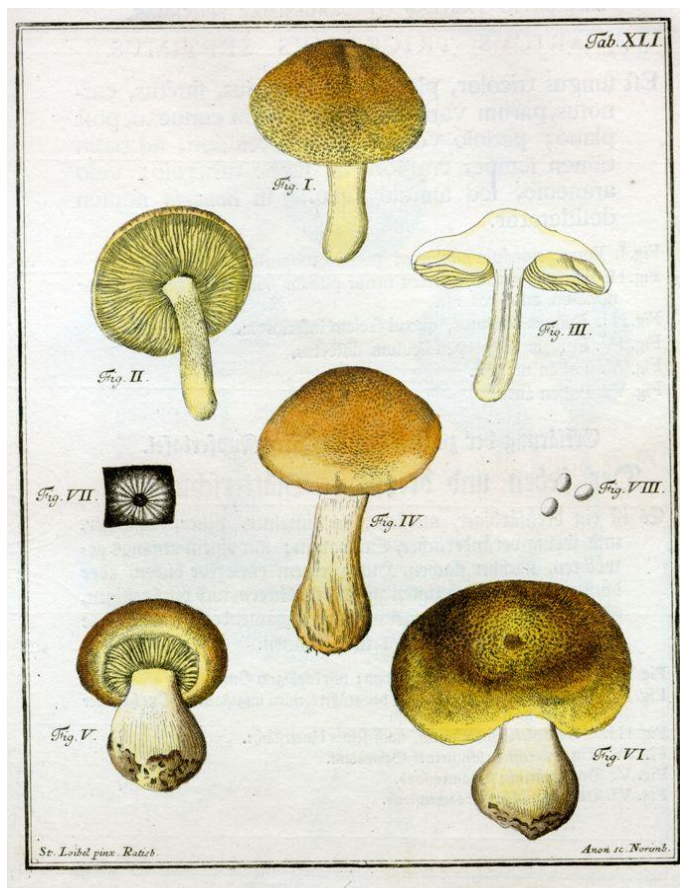


Figura 2. Tipo en dibujo de *Tricholoma flavovirens* realizada por Lundell en 1753 (Mycobank, 2024).

3.2 Sistemática del complejo *T. equestre* s.l.

Las investigaciones más antiguas en relación a estos hongos, provienen de Europa. Dentro de las primeras investigaciones en torno a la sistemática de estos hongos, Christensen y Noordeloos, (1999) reconocen que existen dos variedades dentro de *T. equestre* s.l (Deng y Yao, 2005). Estas variedades se diferencian tanto por caracteres morfológicos como por su asociación con distintos hospederos: *Tricholoma equestre* var. *populinum* es una de estas variedades y se caracteriza porque su píleo no es viscido, es adpresamente escuamuloso, el amarillo de sus láminas es muy intenso, sus basidiosporas son pequeñas, de subglobosas a elipsoides y se asocia con especies de los géneros *Populus* L. y *Picea* A. Dietr. en el Norte y Este de Europa. Por otro lado, se encuentra *Tricholoma equestre* var. *equestre* el cual tiene una superficie más lisa y viscosa, principalmente en los ejemplares más jóvenes. Sus basidiosporas tienden a ser más oblongas que *T. equestre* var. *populinum* y el color de sus láminas suele ser más pálido. Finalmente, estos autores consideran a *Tricholoma auratum* como una variedad morfológica *T. equestre*.

Kalamees (2001) también fue de los primeros autores en abordar el problema del grupo *Tricholoma equestre*. La postura que este autor toma, se basa en caracteres macro y micromorfológicos, así como en los sitios de crecimiento de estos hongos en el Norte de Europa. Con sus observaciones llegó a la conclusión de que *T. equestre* se compone de dos diferentes taxones. El primero se trata de hongos que crecen en suelos arenosos-secos y en suelos rocosos en regiones boreales de bosques mixtos de pino. Este grupo forma sus micorrizas específicamente con *Pinus sylvestris* L. Por otro lado, el segundo grupo se conforma por hongos que crecen en suelos frescos, húmedos y ricos en humus, así como sobre suelos calcáreos y turberas. Estos hongos crecen en bosques caducifolios mixtos con predominancia de árboles del género *Picea* y formando micorrizas con *Betula pendula* Ehrh., *B. pubescens* Ehrh., *Populus tremula* L., *Alnus incana* (L.) Moench, *A. glutinosa* (L.) Gaertn, *Quercus robur* L. y *Picea abies* (L.) H. Karst.

El mismo autor, agrupa a *T. equestre sensu stricto* con *T. ulvinenii* como dos especies dentro del primer grupo, las cuales se diferencian por sus caracteres morfológicos como las coloraciones más pálidas y verdosas para *T. ulvinenii* y el tamaño de las basidioesporas: *T. equestre* s.s en un rango de (6.3-) 6.8–7.6 (-8.2) x (3.6-) 4.2–4.7 (-5.1) μm , *T. ulvinenii* en un rango de (6.1-) 6.2–6.8 (-6.9) x 4.3–4.8 (-4.9) μm . Mientras que el segundo grupo, conformado

por *T. frondosae* tiene un rango de tamaño de las basidiosporas de 4.9-6.2 x 3.2-4.2 μm . Del mismo modo, menciona que la especie denominada como *T. auratum*, no puede distinguirse morfológicamente de *T. equestre* y los engloba en el mismo taxón. Asimismo, soporta la idea de que *T. flavovirens* es el sinónimo de *T. equestre* y por lo tanto también lo considera dentro del mismo taxón.

Horton (2002) en un estudio filogenético del género *Tricholoma*, donde además de los espaciadores transcritos internos (ITS) integró análisis de fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs) encontró que existen tres tipos de ITS-RFPL observados en las secuencias de *T. flavovirens*. Estos grupos también se observan representados en su árbol de máxima verosimilitud, como tres linajes distintos con valores de soporte mayores al 90% (Figura 3). El autor menciona que además de las diferencias en las secuencias utilizadas, el nombre de *T. flavovirens* se llega a usar para nombrar a hongos norteamericanos de colores que tienden a ser amarillo-limón y debido a las diferencias observadas en su estudio, Horton (2002) concluye que se trata de un complejo de varias especies que debe ser investigado a mayor profundidad.

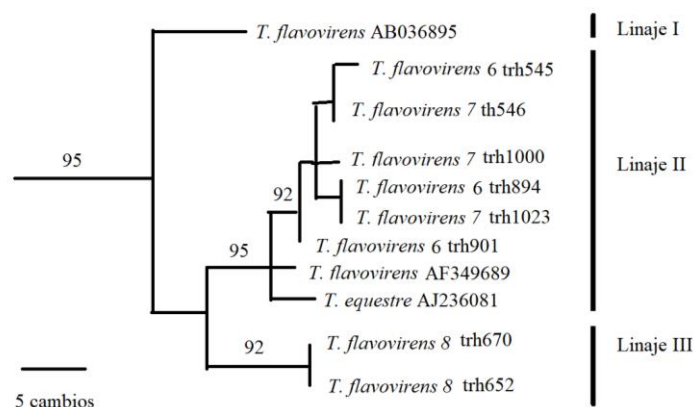
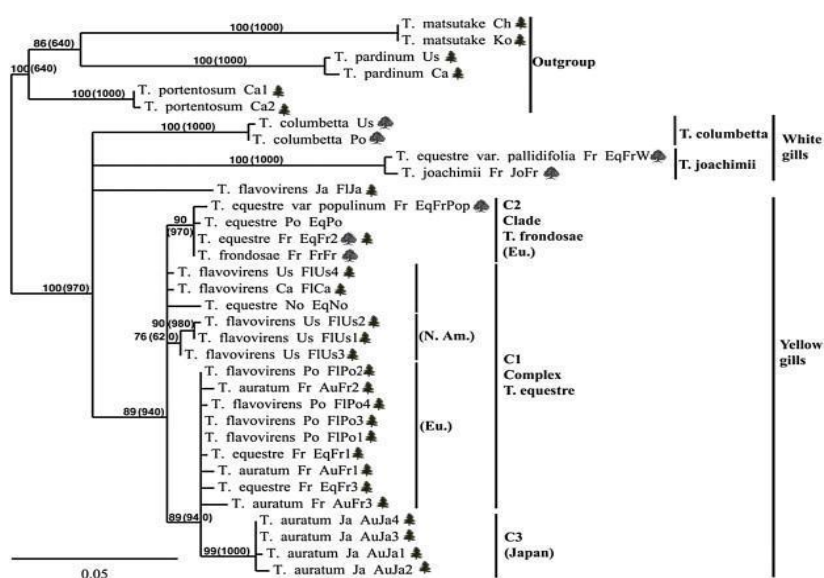


Figura 3. Sección del árbol más parsimonioso del género *Tricholoma*, basado en las secuencias de ITS con valores de bootstrap del artículo de Horton (2002).

Aunque estudios como los anteriores plantean la existencia de varios grupos dentro de *T. equestre*, hay posturas que sostienen que se trata de sinónimos y variedades de una sola especie. Uno de los ejemplos después de Kalamees (2001) que no reconoce a *T. flavovirens* como una especie distinta de *T. equestre*, son Deng y Yao (2005). Estos autores realizaron un estudio de la nomenclatura del complejo, donde reconocen a *T. equestre* como el nombre correcto para la especie y a *T. flavovirens* como un sinónimo. Postulan que esta especie mantiene una distribución de Europa a Norteamérica, mientras que *T. auratum* es una variedad abundante en

la costa Atlántica y en el sur de Europa, así como en Japón (Kikuchi, Matsushita, y Suzuki, 2007).



Heilmann-Clausen *et al.* (2017) hicieron un estudio filogenético del género *Tricholoma* en Europa y dentro de la sección *Tricholoma*, analizaron el caso de *Tricholoma equestre*. Con el análisis llegaron a la conclusión de que se trata de un complejo de especies pobremente resuelto sobre todo por la falta de representación de otros continentes además de Europa. Sin embargo, encontraron dentro del clado *T. equestre* ejemplares de los dos tipos de *T. frondosae* y también de *T. ulvinenii* que habían sido mencionados como especies nuevas por Kalamees (2001). También secuencias de *T. columbetta* y *T. umbonatum* se encontraron dentro del clado *T. equestre* en una posición basal (Figura 5).

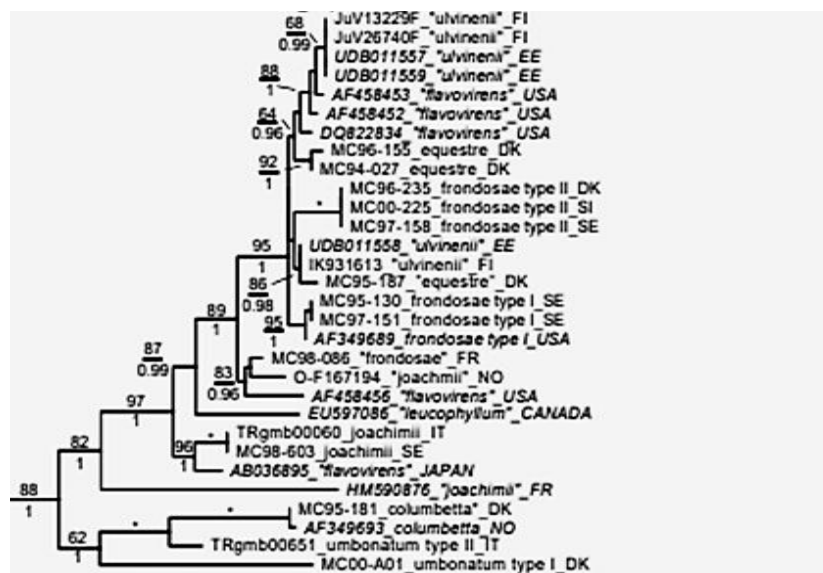


Figura 5. Sección del árbol de Máxima Verosimilitud del género *Tricholoma*, usando las secuencias de ITS, donde aparece el complejo *Tricholoma equestre*, con valores de bootstrap, tomado del artículo de Heilmann-Clausen *et al.* (2017).

Reschke *et al.*, en 2018 generaron una filogenia del género *Tricholoma* con secuencias de Europa, Asia y Norteamérica. En el árbol obtenido, dentro de la sección *Tricholoma* se formó un subclado bien soportado que incluía a *T. columbetta*, *T. umbonatum* y especies del complejo *T. equestre* s.l. Dentro del mismo subclado se conformó un grupo con *T. intermedium* y cerca apareció otro clado bien soportado, conformado por las especies con sabor amargo como *T. aestuans*, dividiéndose en especies grises y amarillas. En este estudio, los especímenes de *T. equestre*, se mezclan con ejemplares de *T. flavovirens* y *T. auratum* en relación con diferencias morfológicas menores y variables en sus esporomas; sin embargo, sus secuencias se agrupan en clados independientes.

idea de que no se trata de una sola especie, sino que nos habla de un conjunto de al menos nueve especies. Concluyen este estudio como en casos anteriores, diciendo que es un complejo pobremente resuelto por la amplia variación morfológica que no permite diferenciarlos, a su vez debido a la amplia distribución ecológica de estos hongos, así como por la falta de secuencias de los ejemplares tipo de cada especie (Figura 7).

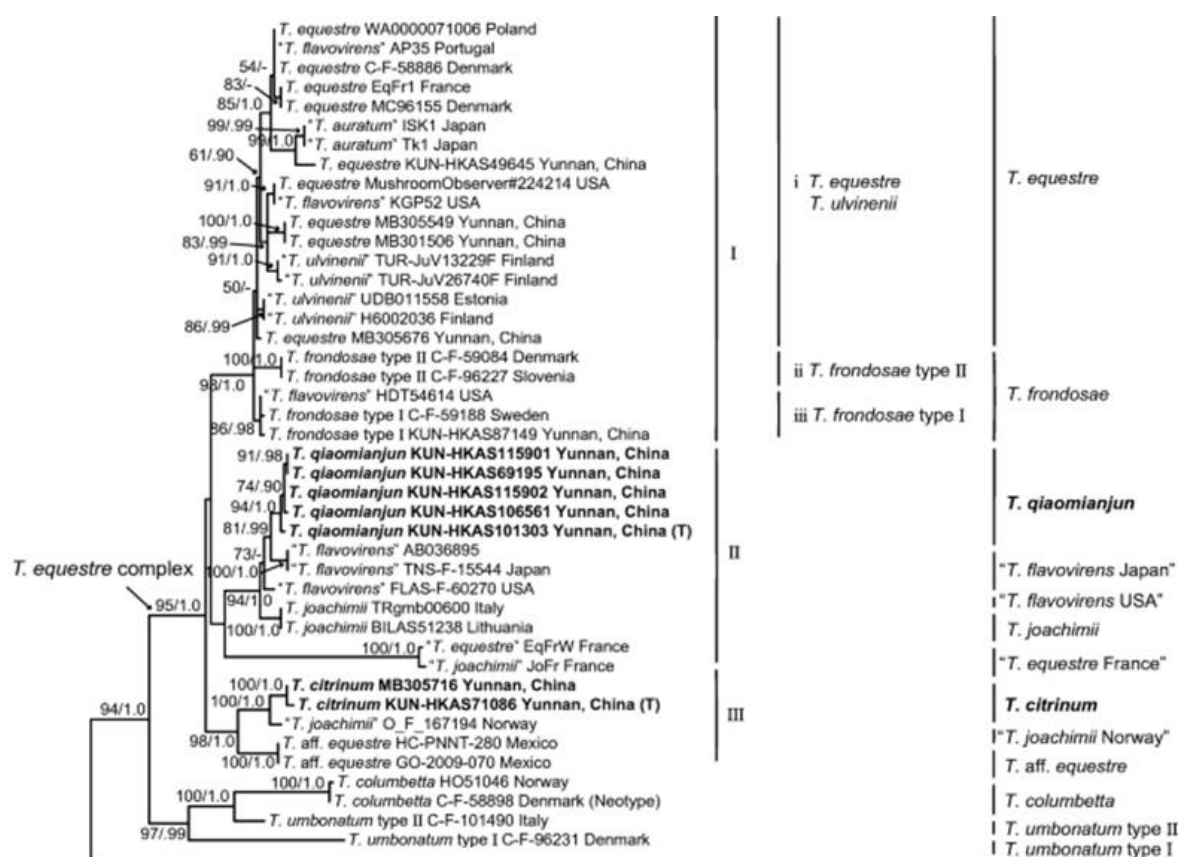


Figura 7. Sección de la filogenia donde se muestra al complejo *T. equestre* s.l. del árbol filogenético de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, basado en las secuencias ITS de la sección *Tricholoma*, con los valores de probabilidad posterior y valores de soporte de bootstrap (Cui et al., 2022).

En la siguiente tabla (Tabla 1) se presenta un resumen de las posturas de diferentes autores que han abordado la taxonomía del complejo *Tricholoma equestre* s.l.

Autores	Postura ante el complejo	Postura fuera del complejo	Procedencia continental de las muestras	Tipo de estudio	Marcadores
Christensen y Noordeloos, 1999	Existen dos variedades de <i>T. equestre</i> : 1) <i>T. equestre</i> var. <i>equestre</i> asociada a <i>Pinus</i> y <i>T. auratum</i> es una variedad morfológica perteneciente a este grupo 2) <i>T. equestre</i> var. <i>populinum</i> asociada con <i>Populus</i> y <i>Picea</i>	-	Norte y centro de Europa	Caracterización morfológica y de los hospederos	-
Kalamees, 2001	En el grupo <i>Tricholoma equestre</i> se distinguen dos taxa: 1) <i>T. equestre</i> y <i>T. ulvinenii</i> . 2) <i>T. frondosae</i>	-	Norte de Europa	Caracterización macro y micro morfológica y de los sitios de crecimiento	-
Horton, 2002	<i>Tricholoma equestre</i> es un complejo de especies con al menos tres linajes distintos.	-	Norteamérica	Análisis filogenético y análisis con RFLP	ITS
Deng y Yao 2005	<i>T. flavovirens</i> es sinónimo de <i>T. equestre</i> .	-	-	Estudio nomenclatural	-
Moukha et al., 2013	Los ejemplares de <i>T. equestre</i> , <i>T. flavovirens</i> y <i>T. auratum</i> en Europa, recolectadas bajo coníferas deben ser consideradas como la misma especie.	<i>T. frondosae</i> que crece bajo árboles de hoja ancha, así como <i>T. joachimii</i> y <i>T. equestre</i> var. <i>pallidifolia</i> , son especies distintas de <i>T. equestre</i>	Europa, Asia y Norteamérica	Análisis filogenético	ITS y COX1
Heilmann-Clausen et al., 2017	Representa un complejo de especies pobremente resuelto, donde se encuentran <i>T. equestre</i> , <i>T. flavovirens</i> , <i>T. frondosae</i> y <i>T. ulvinenii</i>	-	Norte y Sur de Europa	Análisis filogenético	ITS
Reschke et al., 2018	Es un complejo de especies aún sin resolver y con especies nuevas sin describir, en dónde pueden estar <i>T.</i>		Europa, Asia y Norteamérica	Estudio de diversidad y taxonomía de los tricolomas en China	ITS

Autores	Postura ante el complejo	Postura fuera del complejo	Procedencia continental de las muestras	Tipo de estudio	Marcadores
	<i>equestre</i> , <i>T. flavovirens</i> , <i>T. frondosae</i> y <i>T. auratum</i> .				
Cui <i>et al.</i> , 2022	Es un complejo de especies conformado por <i>T.equestre</i> , <i>T. ulvinenii</i> , <i>T. frondosae</i> , <i>T. qiaomianjun</i> , <i>T. joachimii</i> , <i>T. flavovirens</i> , <i>T. citrinum</i> , <i>T. joachimii</i> y <i>T. aff equestre</i> .	-	Europa, Asia y Norteamérica	Estudio de diversidad y taxonomía de los tricolomas en China	ITS

Tabla 1. Síntesis de las diversas posturas en cuanto a la sistemática del complejo *T. equestre s.l* (La tabla resume las posturas de todos los autores que han estudiado al complejo y sus relaciones filogenéticas, de manera que se puedan contrastar entre ellas de manera más directa).

3.3 Descripción morfológica macro y microscópica

El píleo de estos hongos generalmente es ampliamente campanulado o convexo, con un margen enrollado en especímenes jóvenes, en los maduros suele ser liso y casi plano. El píleo llega a medir de 3 a 15 cm de diámetro. Tiene un característico color amarillo brillante a amarillo-verdoso cuando son esporomas inmaduros y conforme pasa el tiempo adquieren tonos verde-oliva a marrón o marrón-rojizo. Lo anterior es debido a que el principal pigmento encontrado en *T. equestre s.l.* es la flavomanina-6,6-dimetil éter (Rzymiski y Klimaszyk, 2018; Pachón-Peña *et al.*, 2009).

En ocasiones el píleo tiene un umbo café, café-anaranjado, café-rojizo o parduzco. Los esporomas jóvenes suelen tener el sombrero pegajoso o glutinoso, mientras que los maduros suelen ser secos. Sus láminas son marginadas, anchas y medianamente espaciadas. Tienen bordes enteros y su esporada es blanca. Las láminas suelen tener un color amarillo sulfuroso y brillante al principio, aunque en ocasiones son más pálidas, tomando una coloración amarilla-parda con un tinte verdoso conforme pasa el tiempo. El estípite mide de 3 a 10 cm, es cilíndrico y puede encontrarse ligeramente engrosado en la base. Tiene una coloración amarilla a

amarilla-verdosa. Su contexto suele ser blanco o de un amarillo pálido cerca de la superficie del sombrero y no cambia de coloración al ser expuesta, al igual que en el estípite. Olor y sabor suavemente farináceo o imperceptible (Rzymiski y Klimaszyk, 2018).

Los caracteres microscópicos son necesarios para la diferenciación de ejemplares del género *Tricholoma* de otros géneros. Sin embargo, dentro del género hay menos variabilidad en los caracteres microscópicos que sea de ayuda para distinguir entre especies. Las basidiosporas son lisas, hialinas e inamiloides, queilocistidios presentes solo en algunas especies y la cutícula del píleo es radialmente fibrilosa. Para la distinción de las especies de este género, la subdivisión *Tricholoma* se basa en otros caracteres microscópicos como la presencia de fíbulas, la anatomía de la cutícula del píleo y la ubicación de los pigmentos en las especies coloreadas (dentro o fuera de las hifas) (Trudell *et al.*, 2013). Específicamente en el caso de la microscopía de *T. equestre s.l.* se describe de la siguiente manera: basidiosporas elípticas de 5- 8.5 x 3- 6 µm, de pared delgada y hialinas. (Rzymiski y Klimaszyk, 2018).

3.4 Ecología

Los hongos pertenecientes a *Tricholoma equestre s.l.*, tienen una distribución mundial, especialmente en el hemisferio Norte en climas tanto templados como subtropicales (Lechner y Albertó, 2008; Tedersoo *et al.*, 2010). Se encuentran desde Europa, Norteamérica, Asia Central, hasta Japón. Se trata de un conjunto de especies que crecen en climas fríos, que pueden ir de los 12 a 23° C con temperaturas incluso más bajas. Con frecuencia en bosques del Norte ubicados a grandes altitudes, entre los 2000 y 4000 m s.n.m en Europa y Asia (Cui *et al.*, 2022). Los sustratos en los que crece pueden ser arena, suelos ricos en humus, calcáreos y pantanosos. Los basidiomas en Europa fructifican de septiembre a noviembre, especialmente a finales de otoño (Kalamees, 2001).

En los casos europeos, *Tricholoma equestre s.l.* puede encontrarse en bosques mixtos de coníferas, especialmente relacionado con el género *Pinus*. Sin embargo, también se puede encontrar en simbiosis con *Abies* y *Picea*. Dentro de las bases de datos donde se encuentran las secuencias de las micorrizas de *T. equestre s.l.*, están los registros de dos variedades relacionadas con otros hospederos. Estos hongos se distinguen dentro de las especies de *T. equestre s.l.* porque presentan simbiosis con *Populus sp* y con *Betula sp*. Esto podría ser la razón de las diferencias en el contenido de sustancias biológicas activas según autores como Muszyńska *et al.* (2018).

En el territorio mexicano, estos hongos fructifican de julio a octubre, en bosques mixtos de *Pinus*, *Abies* y *Quercus*. Por lo general, los reportes de sus recolectas se dan a altitudes de los 1200 a los 3000 m s.n.m. Se han reportado en los Estados de Sonora, Jalisco, Tlaxcala, Hidalgo, Puebla, Estado de México, Ciudad de México, Veracruz, Oaxaca y Chiapas. En relación con la morfología de sus micorrizas, en un estudio realizado por Baeza *et al.* (2017), se realizó una caracterización morfológica y genética de los hongos ectomicorrízicos asociados a bosques de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional Cofre Perote, Veracruz. En sus resultados reportan que el morfotipo de la micorriza de *T. equestre* s.l. se caracteriza porque las raíces se ramifican dicotómicamente en ramas de la misma longitud con abundante micelio externo blanco con rizomorfos también blancos. En este tipo de micorriza, las terminaciones no ramificadas tienen forma recta y son de color café amarillento. El manto presente es denso, blanquecino y cubre casi en su totalidad la raíz. Las puntas son cilíndricas, no infladas, que van de color café claro a amarillento. La superficie del manto la describen como laxa, algodonosa con abundantes hifas remanentes delgadas, blancas, cuando más maduras aparecen algunas hifas color amarillo (Figura 8).



Figura 8. Micorriza de *Tricholoma equestre* con tomada de Baeza *et al.* (2017)

3.5 *Tricholoma equestre* s.l. y los metales pesados

La rabdomiólisis es un padecimiento al que se ha relacionado el consumo de *Tricholoma equestre* s.l. Éste, consta de la destrucción de las fibras musculares hasta nefrotoxicidad aguda, que puede ser ocasionado por un trauma, deficiencias en el metabolismo, inflamación o intoxicaciones. Esta última causa se puede deber a toxinas de organismos o incluso a metales pesados. Debido al potencial riesgo que implican los metales pesados, es peligroso que estos se encuentren en el ambiente a altas concentraciones (Širić y Falandysz, 2020; Laubner y Mikulevičienė, 2016).

En el contexto anterior, la contaminación ambiental es uno de los grandes problemas en los países industrializados. Algunas actividades antropogénicas que han ido en constante aumento en las últimas décadas, como la producción y uso de combustibles fósiles, la producción de cemento, la producción de metales no ferrosos y su uso generalizado en la industria han dado lugar a la contaminación de suelos con metales pesados como el mercurio. Esto es un problema para los ecosistemas, pues los hongos silvestres pueden bioacumular metales pesados. Incluso, pueden fungir como un vector de transmisión de dichos metales hacia los animales que los consumen, entre ellos los humanos (Širić y Falandysz, 2020).

La concentración de dichos contaminantes en el sustrato, así como el tipo de suelo, el tipo de vegetación, la fisiología de las especies, el área de colecta, la distancia con las fuentes contaminantes y otros factores biológicos, influyen en la cantidad de metales absorbidos por el organismo y su acumulación en el esporoma (Širić y Falandysz, 2020). Uno de los metales pesados más conocidos es el plomo (Pb), cuyo uso generalizado en muchos procesos industriales ha generado un gran impacto en la salud humana. También se ha encontrado en varios estudios que las concentraciones de mercurio en el género *Tricholoma* varían entre 0.5 y 1 mg kg⁻¹ (Demirbaş, 2001; Melgar *et al.*, 2009; Mackiewicz y Falandysz, 2012; Brzezicha-Cirocka *et al.*, 2016; Širić *et al.*, 2017).

Partiendo de lo anterior Dospatliev *et al.* (2018) realizaron un estudio para saber la relación entre el pH, humus y contenido total de este metal en especies de hongos silvestres considerados comestibles como *Tricholoma equestre* s.l. Encontraron que, en esta especie, la concentración de Pb variaba de 0.13 a 1.40 mg kg⁻¹ y que su concentración disminuye conforme la cantidad de humus aumenta en los suelos. En un estudio más reciente realizado en Polonia por Širić y Falandysz (2020), encontraron que la concentración de Pb en *T. equestre* s.l. es de 0.71 ± 0.34

mg/kg. En ambos trabajos, al menos en las regiones estudiadas, están por debajo de los rangos que se consideran de riesgo según la Comisión de Regulación de la Unión Europea.

Rzymiski y Klimaszyk (2018) señalan que de acuerdo a las cantidades de metales pesados que puede tener el hongo, el equivalente a una comida con el esporoma (300 g de peso fresco), no alcanzaría para dar lugar a una intoxicación por estos metales. Incluso, el umbral no se superaría con el consumo de las mismas cantidades del hongo por siete días. También añaden que hasta el momento ningún estudio sobre la contaminación de *T. equestre s.l.* ha adquirido las herramientas moleculares necesarias para identificar filogenéticamente los especímenes de hongos investigados. Aunado a esto, con el fin de evaluar el riesgo a la salud asociado al consumo de hongos con metales pesados, Dospatliev *et al.*, (2019) le realizaron otro análisis a *Tricholoma equestre s.l.*

Los autores, evaluaron los valores de plomo, cadmio, níquel, cromo, manganeso, cobalto, cobre y zinc, contenidos en sus esporomas. A partir de esto, sacaron el índice de Riesgo de Salud (HRI por sus siglas en inglés: Health Risk Index) para diferentes grupos de edad de humanos. Resultó que los valores de metales pesados contenidos en los hongos, estaban en los límites seguros para menores y adultos ($HRI < 1$), con lo que concluyeron que las personas podrían no tener un riesgo significativo a la salud al consumir este hongo en esa zona de estudio.

3.6 Estudios sobre su química

Robaszkiewicz *et al.* (2010) estudiaron a varios hongos comestibles para conocer sus propiedades antioxidantes relacionadas con su contenido de fenoles y carotenoides, entre ellos, analizaron ejemplares identificados como *T. equestre*. Encontraron que había una diferencia en la cantidad de estas sustancias almacenadas en el píleo y el estípite del hongo. También encontraron diferencias entre la cantidad de fenoles y carotenoides recopilada, dependiendo de si usaron metanol o agua para los extractos. Por ejemplo, la concentración total de fenoles fue mayor en los extractos acuosos de la mayoría de las especies analizadas en comparación con los extractos metanólicos y en todos los casos la mayor concentración de estos compuestos se encontró en el píleo de los hongos.

Sección del esporoma	Fenólicos totales µg de equivalentes de ácido gálico/mg de hongo seco		Flavonoides µg de equivalentes de quercetina/mg de champiñón seco		β-caroteno (µg/g de champiñones secos)	
	Extracto metanólico	Extracto acuoso	Extracto metanólico	Extracto acuoso	Extracto metanólico	Extracto acuoso
Píleo	1.85 ± 0.69	4.71 ± 1.12	1.65 ± 0.19	1.44 ± 0.03	18.649 ± 0.024	1.905 ± 0.268
Estípita	0.66 ± 0.30	4.00 ± 0.50	0.65 ± 0.17	0.99 ± 0.03	4.753 ± 0.271	0.439 ± 0.013

Tabla 2. Compuestos fenólicos, flavonoides y β-carotenos contenidos en los esporomas de *T. equestre s.l* (Robaszkiewicz *et al.*, 2010)

Unos años después, Qiu *et al.* (2014) realizaron un estudio donde hicieron dos tipos de extracciones a hongos frescos identificados como *Tricholoma flavovirens*, la primera con etanol y la segunda con acetona. Los extractos resultantes fueron combinados y concentrados para después hacer particiones en hexano y después agua. La siguiente partición se realizó en agua y después en acetato de etilo. Finalmente, se realizó una con agua y después con butanol y agua.

A los productos de dichas extracciones, se les realizaron cromatografías a la parte soluble en hexano de donde se purificaron dos compuestos. El primer compuesto fue un aceite amarillo de fórmula C₁₂H₁₅NO, definido después como la conexión entre 2-metilidol y etoximetilo. Por otro lado, el segundo compuesto purificado fue identificado como 4-metoximetil-2-metilindol, el que también ha sido aislado de esporomas de hongos como *Tricholoma sciodes* y *T. virgatum*. Estos dos compuestos fueron probados en bioensayos con hipocótilos de lechuga y ambos presentaron una inhibición en el crecimiento vegetal (Qiu *et al.*, 2014).

3.7 Actividad biológica de los esporomas de *T. equestre s.l.*

3.7.1 Rabdomiólisis

La rabdomiólisis consiste en la descomposición de las fibras musculares y la liberación de mioglobina en el torrente sanguíneo, lo cual puede ocasionar un daño renal severo. En general se da una lesión mecánica o tóxica de los músculos y se liberan grandes cantidades de mioglobina, uniéndose a la globulina plasmática. Cuando la capacidad vinculante de la proteína plasmática se excede, se filtra por los glomérulos y llega a los túbulos del riñón. Puede causar

nefrotoxicidad directa, obstrucción tubular, vasoconstricción y lesión renal aguda (Laubner y Mikulevičienė, 2016).

En los reportes clínicos de rabdomiólisis originada por un micetismo con los hongos identificados como *Tricholoma equestre* s.l. se presentan diversos síntomas. Los más recurrentes son: fatiga y debilidad muscular acompañadas de mialgia, principalmente en la parte superior de las piernas. Esta debilidad, frecuentemente empeora a los tres o cuatro días, conduciendo a rigidez de las piernas y la producción de orina oscura. Los síntomas están acompañados de eritema facial, náusea ligera sin vómito y transpiración profusa en la mayoría de los casos. Los análisis clínicos muestran un aumento de creatinfosfoquinasa sérica (CPK) y de transaminasas de origen no hepático (Karlson-Stiber y Persson 2003).

Algunos pacientes en estado grave, comienzan a presentar signos de afección renal. En los casos más severos los niveles de CPK son muy elevados, con fiebre alta y persistente, se presenta dificultad respiratoria (disnea), y signos de insuficiencia cardíaca. Lo anterior puede desembocar en la muerte por importantes trastornos del ritmo cardíaco si no se tratan los síntomas iniciales (Karlson-Stiber y Persson, 2003; Nieminen *et al.*, 2008). Es recomendable la hospitalización, en especial si se presenta disnea, o signos de afectación cardíaca o de insuficiencia renal graves (Lechner y Albertó, 2008).

Se ha observado que para tener los síntomas propios de esta intoxicación es necesario ingerir *T. equestre* s.l. en forma repetitiva en varias comidas (Chodorowsky *et al.*, 2003; Nieminen *et al.*, 2005). Se requiere la ingesta de una importante cantidad de hongos o de haberlos consumido con anterioridad. En este contexto, el consumo aislado de *T. equestre* s.l. podría no causar efectos en el individuo, salvo que fuese especialmente sensible (Chodorowsky *et al.*, 2003; Nieminen *et al.*, 2008). Dado que se desconocen las toxinas responsables, no hay un tratamiento específico para esta intoxicación. El tratamiento debe emprenderse lo antes posible, es sintomático y de soporte (Lechner y Albertó, 2008).

3.7.2 Intoxicaciones en el mundo provocadas por el consumo de *T. equestre s.l.*

En varias partes del mundo se han reportado intoxicaciones relacionadas con *T. equestre s.l.*, principalmente en Europa. Bedry *et al.* (2001) aluden a los casos en Francia, de siete mujeres entre los 22 y 60 años, junto con cinco hombres de entre 24 y 61 años. Entre 1992 y 2000, los anteriores fueron reportados como casos severos de rabdomiólisis, una semana después de haber consumido *T. equestre s.l.* Hasta 2008, se registraron cerca de 12 casos en Francia con síntomas de intoxicación asociados con la ingesta de este hongo, provocando como consecuencia rabdomiólisis (Lechner y Albertó, 2008).

En el caso de Lituania se han reportado intoxicaciones con *T. equestre s.l.* desde 1992 hasta 2001. La toxicidad e identidad de este hongo sigue siendo imprecisa en los reportes, pero se sabe que la intoxicación se manifiesta también vía rabdomiólisis. Uno de los casos es de un hombre de 56 años que fue hospitalizado por consumir ejemplares hervidos de *T. equestre s.l.* 3 veces al día por 6 días. Tres personas más en su familia consumieron una cantidad menor del mismo hongo, pero no presentaron síntomas. Después de 14 días con tratamientos se le dio de alta sin ninguna secuela (Laubner y Mikulevičienė, 2016).

Otro hombre en Lituania de 73 años, fue hospitalizado después de consumir una cantidad estándar de *T. equestre s.l.* como plato principal durante un mes, entre una y dos veces al día. Aunque su esposa e hija también consumieron el hongo, no fueron hospitalizadas. Ellas no presentaron síntomas y consumieron una cantidad menor al paciente, el cual se mantuvo 10 días en hospitalización con tratamiento. Otro ejemplo con un consumo de grandes cantidades de *T. equestre s.l.* que desembocaron en micetismo, es el de una madre y su hijo que consumieron de 100 a 300g de este hongo silvestre durante nueve comidas consecutivas. A las 48 horas presentaron los síntomas que acompañan a la rabdomiólisis, ambos fueron dados de alta después de 23 días de hospitalización (Laubner y Mikulevičienė, 2016; Chodorowsky *et al.*, 2002).

Otro caso en el mismo país, es el de una mujer de 55 años que fue hospitalizada durante 11 días, después de comer *T. equestre s.l.* cada día por una semana. De la misma manera, una mujer de 44 años fue hospitalizada después de consumir porciones estándar de *T. equestre s.l.* 3 veces al día durante 3 días como plato principal. La mujer se reportó como alcohólica (tuvo una ingesta de esta sustancia anterior al envenenamiento) y su hospitalización se complicó muriendo el sexto día de un ataque al corazón (Laubner y Mikulevičienė, 2016).

Se desconoce la relación entre el tiempo de recolección, el lugar y la toxicidad de *T. equestre* s.l. En estos reportes, no se descarta que la rabdomiólisis también pueda ser una consecuencia del consumo de grandes cantidades de otros hongos comestibles, como *Boletus* o *Leccinum*. Sin embargo, los pacientes no mencionaron haber consumido ningún otro hongo. La mayoría de las intoxicaciones europeas se han identificado por una retrasada e inespecífica descripción de los síntomas clínicos y solo se ha explicado por el consumo en grandes cantidades de este hongo. Por esta razón, aún no queda esclarecido el origen de la respuesta en los pacientes atendidos. En todos los casos, la intoxicación se presentó después de que se hiciera un consumo prolongado de grandes cantidades (más de 500–1000 g). Las heridas en el miocardio ocurrieron si había factores adicionales como la influenza o presencia de algún otro virus (Laubner y Mikulevičienė, 2016).

Las intoxicaciones relacionadas a *T. equestre* s.l. reportadas a nivel mundial provienen de Europa. A los anteriores casos se les suman 21 reportes de micetismos con *Tricholoma equestre* s.l. en Polonia. Sin embargo, en Asia y en Norteamérica hasta el 2020 no se han reportado intoxicaciones relacionadas al consumo de este hongo (Nieminen, y Mustonen, 2020).

3.7.3 Estudios toxicológicos

El primer estudio toxicológico que relaciona a *Tricholoma equestre* s.l. con intoxicaciones severas fue el de Bedry *et al.*, (2001). En este trabajo se realizaron pruebas toxicológicas con ratones. Los roedores fueron alimentados con 4 a 6 g del esporoma de *T. flavovirens*, porción que fue dividida para ser consumida durante tres días. Basaron sus conclusiones en lecturas que realizaron a muestras de sangre de los roedores, donde midieron los niveles de proteínas plasmáticas relacionadas con la toxicidad. En estas lecturas, se observó un incremento en la mayoría de las proteínas y aminoácidos, como alanina (ALA) y aspartato (AST), sobre todo en creatina quinasa (CK) cuyo aumento en sangre, se relaciona con la rabdomiólisis. Además, se observó la desintegración de fibras musculares en muestras tomadas de los ratones que consumieron el esporoma, aunado a la reducción de su actividad motora. A partir de este estudio, varios países de Europa como España y Francia comenzaron a considerarlo como venenoso, mientras que en otras regiones como en Norteamérica y en algunos países de Asia se sigue consumiendo.

Nieminen *et al.* (2005) realizaron el primer estudio con seres humanos con cuatro voluntarios sanos a quienes se les dio una sola porción de 150g de hongos secos por cada kg de peso del voluntario. Lo anterior era equivalente a 100g de hongo fresco consumido por un adulto de 70 kg. Los esporomas para este experimento fueron recolectados en Finlandia en bosques mixtos de *Picea* y bosques deciduos, en locaciones lejanas al tráfico de vehículos y actividades industriales. Las concentraciones de proteínas en sangre como la CK y la ALA, entre otras, fueron monitoreadas a los tres y siete días después del consumo. Finalmente, en este estudio no encontraron evidencia de un cambio significativo en comparación con los niveles basales de estas proteínas en sangre.

En ese mismo año, Chodorowski *et al.* realizaron otro estudio más extenso con seres humanos. Ellos monitorearon los parámetros bioquímicos de 56 voluntarios (30 mujeres y 26 hombres) en una edad de entre 18 a 76 años. Estas personas consumieron el hongo en una única comida de 70 a 150g de peso fresco (n=43) o como una comida de 4 días consecutivos con un total de 300 a 1200 g del hongo fresco. En este caso también se observó que no había un aumento significativo de los niveles de proteínas en sangre de los 3 a 6 días después de la ingestión de los hongos, que pudieran indicar que pasaban por rabdomiólisis.

Uno de los estudios que apoyan la idea del potencial tóxico de *T. equestre* s.l., fue realizado por Nieminen *et al.* (2008), quienes realizaron pruebas alimentando a ratones con 12 g de esporomas por 4 semanas. Los hongos fueron recolectados en bosques mixtos de *Picea*, en una isla de Finlandia, con el fin de que no fueran esporomas contaminados con metales pesados, producto de actividades humanas. Sus resultados indican que los efectos de los esporomas sobre los ratones fueron más leves en comparación con los reportados por Bedry *et al.* (2001); hubo una menor actividad de la CK, variación que explica el autor, a partir de las diferencias geográficas.

Aunque el efecto tóxico fue menor, se logró identificar un daño en más sistemas de tipo hepatotóxico y cardiotóxico. Dichos efectos, ya han sido reportados con anterioridad como consecuencia del consumo de otros hongos como *Russula subnigricans*. Hubo una relativa menor actividad de las CK y también no se observó una desintegración del tejido muestreado de los ratones. Por lo anterior se llegó a la conclusión de que los efectos causados por *T. flavovirens* pueden ser aditivos después de su consumo prolongado y que la miotoxicidad puede ser moderada dependiendo de la cantidad consumida (Nieminen *et al.*, 2008).

Rzymiski y Klimaszyk (2018) mencionan que en los experimentos realizados por Bedry *et al.*, (2001) y Nieminen *et al.*, (2005 y 2008), obtuvieron resultados variados en cuanto a la toxicidad de *T. equestre* s.l. De manera que estos resultados se deben discutir, ya que la parte taxonómica del hongo en ambos estudios no está bien resuelta. Por ejemplo, estudios moleculares al suroeste de Francia revelaron que algunos especímenes franceses considerados *T. equestre*, en realidad pertenecen al clado de *T. frondosae*, con el cual comparte características morfológicas que los hacen muy difíciles de identificar (Nieminen *et al.*, 2008). En contraste, las intoxicaciones reportadas por el mismo autor en 2001 referidas a *T. equestre*, en realidad podrían deberse a un consumo excesivo de *T. auratum*, debido a que es la especie del complejo *T. equestre* más representada en los bosques de pino en el suroeste de Francia de donde se recolectaron los hongos (Bedry y Gromb, 2009; Moukha, *et al.*, 2013).

Otros experimentos, como el de Muszyńska *et al.* (2018), también involucraron la administración de un extracto de *T. equestre* a ratones. Con sus estudios, se corroboró la toxicidad asociada a este hongo mediante la manifestación de un incremento de los marcadores bioquímicos de toxicidad en la sangre de los roedores: creatina cinasa plasmática (CK), bilirrubina, alanina aminotransferasa (ALA AT), o aspartato aminotransferasa (AST). Además, los animales mostraron síntomas como diarrea, una reducción en la actividad motora y desintegración de las fibras musculares, al igual que en el experimento de Bedry *et al.* (2001). Sin embargo, no fue posible identificar una toxina miolítica específica, responsable de la rabdomiólisis. Lo que también hizo imposible la identificación de su mecanismo de acción. Resultó que esta especie además de la actividad miolítica, exhibe un fuerte efecto cardiotóxico y hepatotóxico como consecuencia la rabdomiólisis. El mismo resultado fue reportado por Nieminen *et al.* (2008), pero no es una confirmación absoluta de que *T. equestre* s.l. sea el causante de tales consecuencias.

Sin una filogenia disponible del clado *Tricholoma equestre* incluida en los estudios toxicológicos, no se puede descartar que los esporomas que se utilizaron en estos estudios sean representantes de grupos diferentes al complejo *T. equestre* s.l. (Rzymiski y Klimaszyk, 2018), pero en general los estudios indican que no es recomendable su consumo debido a la identidad taxonómica no resuelta y al potencial tóxico de las especies de este grupo de hongos.

3.7.4 El modelo de *Artemia salina* para probar el potencial tóxico de los hongos

Artemia salina ha sido la especie más estudiada dentro del género *Artemia*, representando más del 90% de los estudios en los que se utilizan a estos crustáceos como modelo experimental (Nguta *et al.*, 2011). Dentro de los bioensayos, las evaluaciones toxicológicas preclínicas generalmente se hacen con ratones, pero tienen elevados costos y está implicado el sufrimiento de dichos animales (Fernández-Calienes *et al.*, 2009). La evaluación de la letalidad de la artemia, como prueba toxicológica fue propuesta por Michel *et al.*, Vanhaecke *et al.*, y Sleet y Brendel, donde se evalúa la mortalidad en los nauplios de dicha especie. El ensayo de letalidad se basa en la posibilidad de causar la muerte de larvas cultivadas en laboratorio. Se determina el valor de la Concentración Letal media (CL50) de compuestos y extractos en medio salino (Carballo *et al.*, 2002).

La técnica anterior ha sido utilizada para la detección de micotoxinas, toxinas de cianobacterias, extractos de plantas, metales pesados y citotoxicidad de compuestos puros (Fernández-Calienes *et al.*, 2009). Este modelo animal, ha sido implementado para dichas pruebas, debido a que es un organismo que tiene un ciclo de vida corto. Así mismo, tiene una gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales, así como a diversas fuentes nutricionales. Posee baja variabilidad genética, sus quistes son fáciles de conseguir y tienen un bajo costo en comparación al mantenimiento de otros organismos modelo (Harwig y Scott, 1971; Meyer *et al.*, 1982)

Un punto importante a considerar en este modelo es que, mediante análisis estadísticos de experimentos de toxicidad, han encontrado una correlación positiva entre la reacción en los modelos de *Artemia salina*, *Daphnia magna* y los modelos murinos ante distintos compuestos químicos de naturaleza tóxica. Estos resultados indican que son buenos modelos para poner a prueba la toxicidad celular (Favilla *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de ser un buen modelo para citotoxicidad, no es funcional para probar compuestos que requieren activación metabólica, ya que carecen de la enzima citocromo P-450 necesaria para este proceso metabólico (Favilla *et al.*, 2006; Solís *et al.*, 1993; Parra *et al.*, 2001 y Guilhermino *et al.*, 2000).

3.8 Actividad biológica positiva de los esporomas y contraargumentos para considerar a *T. equestre* s.l. como un hongo tóxico

3.8.1 Actividad anticancerígena

A pesar de las intoxicaciones relacionadas con *T. equestre* s.l., se han realizado estudios que reportan efectos positivos de los componentes del esporoma. Uno de ellos es que tiene actividad anticancerígena ante las células cólon-rectales (CaCo-2), presentada por el pigmento flavomanina-6,6'-dimetil éter. Este compuesto tiene una acción inhibitoria del adenocarcinoma humano de células CaCo-2. Estos resultados se obtuvieron a partir de que se aplicó una cantidad de flavomanina-6,6-dimetil éter extraída de esporomas de *T. equestre* s.l. previamente cocinado, a un cultivo celular canceroso por 24 y 48 horas (Muszyńska *et al.*, 2018; Pachón-Peña *et al.*, 2009). En este experimento se obtuvo un porcentaje de inhibición del 50 y 80% dependiendo de la concentración de la sustancia, que iba deteniendo el ciclo celular de las células cancerosas. A la concentración CI50 de flavomanina-6,6-dimetil éter se le relacionaba con el aumento y, por lo tanto, la regulación de la producción en un tipo de proteína inhibidora de las fases G0/G1 del ciclo celular. La proteína fue identificada como p27, la cual pertenece a un grupo de quinasas dependientes de ciclina. Por lo anterior, se concluyó que este pigmento puede actuar como un supresor tumoral, sin daños reportados al DNA de los dos tipos celulares (Pachón-Peña *et al.*, 2009). Retomado esto último, es necesario considerar que los compuestos biológicos que contiene un organismo no funcionan de la misma manera en sinergia que con sustancias aisladas. Por esta razón, estos reportes en sí mismos no son una prueba de que el esporoma se pueda consumir (Muszyńska *et al.*, 2018; Pachón-Peña *et al.*, 2009).

3.8.2 Propiedades nutricionales del esporoma

Los hongos comestibles han sido reconocidos como alimentos beneficiosos para la salud, ya que son una excelente fuente de proteínas y otras sustancias necesarias para una correcta alimentación. También se identifican como un suplemento alimenticio para personas interesadas en una restricción de calorías, ya que tienen bajos índices de grasas, colesterol y carbohidratos, así como altas concentraciones de fibra (Robaszkiewicz *et al.*, 2010). Específicamente, con relación a las propiedades de las especies del complejo, se realizó un estudio en 2018 sobre la acción biológica de la ingesta de *T. equestre* s.l por Muszyńska, Kala y Sulkowska. Estos autores, reportaron que el consumo del hongo en pequeñas cantidades da un aporte de nutrientes, particularmente bioelementos, ácidos grasos, y esteroides necesarios para el metabolismo celular. Sin embargo, obtuvieron como resultado de su ingesta prolongada

por ratones, el desarrollo de rabdomiólisis, tal como reportó Bedry *et al.* (2001) y Nieminen *et al.* (2008).

Se refiere en los trabajos de Florczak *et al.* (2004) y Jedidi *et al.* (2017) que en los valores nutricionales de *T. equestre s.l.*, los carbohidratos representan el macronutriente más abundante con cerca de 35-60g/ 100g de su peso seco. Este grupo de hongos contiene niveles detectables de glucosa (0.9 g/100 g) y un contenido relativamente alto de poliol manitol (8 g/100 g de peso seco). Al igual que otros hongos, es una fuente relativamente rica en proteínas (14-18 g/100 g de peso seco), con la albúmina como la fracción prevalente. También hacen alusión a que “como otras especies de hongos, *T. equestre* tiene un bajo contenido de lípidos, con un rango de 2 a 7 g/100 g en el peso seco”.

Este tipo de hongos contiene una alta cantidad de grasas saturadas (como ácido palmítico, esteárico y pentadecanoico siendo la mayor fracción), también ácidos grasos (particularmente oléico) y ácidos grasos poliinsaturados (particularmente linoléico, y ácidos araquidónicos γ - linoléico). Según los mismos autores, citando a Ribeiro *et al.* (2009), “la cantidad de energía que contiene es de 1522 kJ/100 g peso seco, mientras que el contenido de vitamina B1 (tiamina) y B2 (riboflavina) se encuentra entre 0.40 y 0.85 mg/100 g y 0.50 a 0.85 mg/100 g. El contenido de ergosterol (2.2 mg/100 g dw), un precursor de la vitamina D2, es menor en *T. equestre* en comparación a otros hongos comestibles (Jedidi *et al.*, 2017).

Tricholoma equestre es rico en sodio (2900 mg/kg) y excede el rango de 100 a 400 mg/kg, usualmente observado en especies de hongos silvestres, lo cual, se puede vincular con el hecho de que crece en suelos con alta salinidad (Kalač, 2009). Lo expuesto anteriormente, se pudo identificar en esporomas recolectados en Península Hel en Polonia (Mackiewicz *et al.*, 2006). Por otro lado, el contenido medio de Ca, Mg, Cu y Mn en *T. equestre s.l.* se encuentra dentro de los rangos habituales de minerales en las especies de hongos silvestres y su contenido de K, Fe, y Zn es alto, según lo informado por Kalač (2009).

Por lo regular, los hongos contienen compuestos como los beta-glucanos en su pared celular, que fortalecen el sistema inmune del organismo que los consume (Muszyńska *et al.*, 2009). A su vez, tienen en abundancia polifenoles y carotenoides, los cuales se sabe que tienen un importante efecto antioxidante en los sistemas biológicos. Los polifenoles han sido identificados como compuestos que además de interferir en la progresión del cáncer, también

pueden actuar como antiinflamatorios y factores protectores de la salud cerebral y del corazón. Por su lado, los carotenoides rompen la cadena de peroxidación lipídica ya que son extintores del oxígeno singlete y se sabe que reducen el riesgo de diversos cánceres como el de próstata, cánceres digestivos, entre otros (Robaszkiewicz *et al.*, 2010).

Algo muy característico de *T. equestre* s.l. en comparación con otros hongos, es que puede ser una mayor fuente en beta carotenos, lo que se denota por su coloración, especialmente intensa en el píleo (Robaszkiewicz *et al.*, 2010). Se ha reportado que los esporomas de *T. equestre* s.l. contienen también los neuromoduladores triptamina (2.0 mg/100 g peso seco) y serotonina (0.18 mg/ 100 g) (Muszyńska *et al.*, 2009). A su vez, se demostró la presencia del triptófano (precursor de la serotonina) a 2 mg/100 g de peso seco; no obstante, Muszyńska *et al.*, (2009) mencionan que debido a la toxicidad que puede presentar este aminoácido, *T. equestre* s.l. no puede considerarse seguro para el consumo humano.

3.8.3 Defensa de la comestibilidad de *T. equestre* s.l.

Autores como Klimaszyk y Rzymiski (2018) plantean que “... ni un solo caso reportado de intoxicación proporciona evidencia inequívoca de que *Tricholoma equestre* fue un agente causal”. La identidad taxonómica no resuelta de las especies utilizadas para los estudios toxicológicos, es el principal obstáculo para resolver este problema. Si no está clara la identidad del hongo, no se pueden sacar conclusiones robustas acerca de su comestibilidad. En principio, los autores polacos plantean que los primeros casos de intoxicación relacionados con este hongo silvestre, fueron documentados hace más de 15 años y no tienen una identificación clara de los esporomas.

Además, el consumo de *T. equestre* s.l. como principal sospechoso de las intoxicaciones, se evidenció en muchos casos únicamente por información proveniente de los pacientes, sin una identificación mediante basidiosporas o estudios moleculares de los esporomas. En estos casos, no se puede desechar la idea de que se consumieron especies similares del género *Tricholoma* o incluso, otro tipo de hongo no relacionado con el género. Otro punto importante, es que las dosis a las que fueron expuestos los roedores en los estudios toxicológicos, son demasiado altas como para ser consumidas por un humano promedio (Klimaszyk y Rzymiski, 2018).

Con base en los argumentos anteriores, Klimaszyk y Rzymiski (2018), realizaron una serie de encuestas a recolectores de Polonia para recopilar las experiencias con el consumo del

“caballero amarillo”, debido a que en su país aún se sigue apreciando a este hongo como un buen comestible y no ha sido prohibido su consumo. Se encuestó a un total de 1545 recolectores de hongos, de los cuales 889 lo recolectan y consumen. De estas personas, 225 admitieron haberlo consumido al menos más de una vez en su vida por más de tres días consecutivos, sin efectos adversos en su salud. Asimismo, realizaron estudios toxicológicos en voluntarios polacos sanos, para medir sus niveles de ceratin quinasa y otras proteínas en sangre después del consumo de *T. equestre*. Para esto, recolectaron esporomas en bosques que no estuvieran cerca de zonas industriales o mineras y mediante análisis moleculares de ITS se corroboró su identidad como *T. equestre*. Estos esporomas se dieron fritos a un total de cinco mujeres y cinco hombres, en una única comida donde se consumieron 300 g por persona. No se observaron anomalías en ningún parámetro hematológico o bioquímico en los participantes y en general no se encontró evidencia de la toxicidad de *T. equestre s.l.* Sin embargo, los autores mencionan que no se descarta la posibilidad de que el consumir el esporoma en cantidades irracionales sea dañino para la salud.

De hecho, los problemas gastrointestinales son síntomas comunes reportados como intoxicaciones cuando se trata de especies de hongos comestibles. Estos pueden ser causados, por ejemplo, por un alto contenido de moco o trehalosa, o procesamiento incorrecto de los hongos después de su recolección. Habitualmente, las intoxicaciones relacionadas con especies de hongos clasificadas como comestibles tienen varios temas complejos para discutir. Entre los factores que se deben considerar están el estado actual del conocimiento sobre las especies consideradas como comestibles, los reportes de micetismos, posibles contaminaciones, el sitio de recolección y también la manera de procesar los hongos (Nieminen y Mustonen 2020).

En cuanto al caso específico de *T. equestre s.l.* autores como Nieminen y Mustonen (2020) consideran que es un fenómeno causado no específicamente por esta especie, sino por el consumo prolongado de varios hongos. Esto lo respaldan a partir de experimentos con murinos a los que se les alimentó con *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* y *Flammulina velutipes* durante varios días consecutivos. A pesar de que se trataba de hongos comestibles cultivados, su consumo prolongado también desembocó en aumentos de la CK en sangre.

3.9 Etnomicología

Toda práctica corresponde a un corpus de conocimientos, es decir, que las acciones humanas corresponden e implican un sistema cognitivo. Tal es el caso del consumo de hongos silvestres en el mundo como *Tricholoma equestre* s. l. Este tipo de prácticas, tienen raíces culturales profundas en las poblaciones consumidoras de estos recursos (García-Bona, 1987). Entre las ramas de la biología, la que se ha dedicado a investigar el papel cultural de los hongos en las sociedades humanas se le conoce como etnomicología. Garibay-Orijel (2000) completando una definición dada en prensa por Moreno-Fuentes, la define como el área de la etnobiología que estudia los saberes tradicionales, así como manifestaciones e implicaciones culturales y ambientales que se derivan de las relaciones entre los hongos y el ser humano a través del tiempo, así como de los mecanismos mediante los que estos saberes se generan, transmiten y evolucionan. El conocimiento etnomicológico que tienen diversos pueblos, representa a un conjunto de saberes dinámicos y acumulativos; implica la experiencia a través de la práctica y las representaciones que poseen los seres humanos en torno a su medio natural (Endere y Mariano, 2013). Además de ser una referencia histórica en torno a las culturas, el conocimiento etnomicológico es una fuente de información valiosa. Sobresale su importancia por la precisión que encontramos en estos saberes para describir aspectos de los hongos como su ubicación, caracterización, temporalidad y usos que tienen (Jiménez *et al.*, 2016).

3.9.1 Consumo en el mundo

Desde tiempos medievales el hongo *Tricholoma equestre* s.l. ha sido consumido y conocido bajo múltiples nombres en el hemisferio Norte del planeta. De los nombres usados en Europa, un ejemplo es “canari” en Francia, “The Yellow Knight” en E.U.A, también “shimokoshi” o “kishimeji” en Japón, y “riddarmusseron” en Suecia (Bedry *et al.*, 2001; Qiu *et al.*, 2014). En Europa, por ejemplo, en países como Lituania se consume hervido o frito y es muy apreciado por su delicioso sabor (Laubner y Mikulevičienė, 2016). Kasper *et al.* (2016) reportaron la venta de *T. equestre* s.l. como un buen comestible en mercados al aire libre del sudeste de Polonia. Sobre todo, los autores polacos, mencionan que la falta de un consenso en cuanto a la seguridad de su consumo crea una urgente necesidad de evaluar una mayor cantidad de evidencia validada. En este último país, en el artículo de Bernas *et al.* (2022), aparece con el nombre en polaco de “Gąska zielonka”, dentro de una lista de especies recolectadas y consumidas en la región de los Cárpatos polacos.

Aunque actualmente se encuentra prohibida su venta en España, hay varios registros del aprecio que tenían a estos hongos en el territorio. En Navarra es conocido como la “seta de los caballeros” y como “zaldun-ziza” en vasco, donde también se consideraba como un buen comestible. Se trata de un hongo común que aparece frecuentemente en pinares y más raramente en hayedos y robledales, desde el inicio de octubre a inicio de diciembre (García-Bona, 1987). Aunado a esto, en un estudio etnomicológico realizado en Castilla-La Mancha España, se menciona que los pobladores de la zona, conocen a la especie *T. equestre* s.l. y otras similares como “seta de caballero”. En este sitio, estos hongos se consideran como comestibles y los recolectan en otoño, en pinares sobre suelos silíceos.

Es importante mencionar en cuanto a su consumo, que fue un hongo de introducción reciente y de consumo local en la Sierra de la Cuenca española, donde existe una gran tradición de recolección de hongos silvestres. Esta introducción reciente, es contraria al consumo que en otros países se remonta a épocas medievales (Fajardo *et al.*, 2010). Otro caso cercano es el de Portugal, donde *Tricholoma equestre* s.l. es uno de los hongos silvestres más consumidos por las poblaciones rurales, de septiembre a enero. En este país no se ha prohibido su venta y lo ofrecen en ferias, comercios urbanos y en algunos grandes mercados. Los nombres cambian dependiendo de las regiones del país y son “amarelo”, “míscaro”, “míscaro-amarelo” y “tortulho”, sobre todo haciendo alusión al color de los esporomas (Gomes, 2011).

Además del consumo en Europa, hoy en día se mantiene activo su consumo en algunos países de Asia. *Tricholoma equestre* s.l. Históricamente tiene un consumo extendido y fuera de Japón, ha sido considerado como el mejor hongo comestible del género (Trudell *et al.*, 2013). En Singapur existe una lista de “Hongos autorizados para el mercado o producción de productos de hongos y comida que contenga hongos” por parte de Minister of Health y dentro de las especies enlistadas se encuentra *T. equestre* s.l. (Muszyńska *et al.*, 2018). Asimismo, existen registros de 2004 y 2019 donde se observó su consumo en mercados del suroeste de China (Cui *et al.*, 2022). En contraste con estas observaciones, una publicación reciente de Karunarathna *et al.* (2021) por parte del Instituto de Botánica Kunming, enlistó a la especie *T. equestre* s.l. dentro de una lista de las 71 especies mortales y potencialmente mortales de macromicetos, con el fin de evitar intoxicaciones por su consumo.

Los reportes de su comestibilidad en América no son tan vastos como en Europa. Sin embargo, Sommerkamp (1990) nombra a *Tricholoma flavovirens* (Pers.) S. Lundell como una especie

comestible en Guatemala (Steiger, 1991). A partir de la visita realizada a mercados municipales en 22 cabeceras encontró que el nombre popular con el que lo conocen es “chorcha” y era ofrecido sobre todo en el mercado de Chimaltenango-Chimalt. También es reportado como un hongo comestible con el nombre de *T. flavovirens* en la comunidad de Xetonox, San Juan Comalapa, Guatemala, investigación realizada por Cáceres (2011), 11 años después del reporte de Sommerkamp (1990).

A su vez, *Tricholoma equestre* s.l. fue descrito como comestible por Wright y Albertó (2002) para Argentina. Sin embargo, su consumo fue posteriormente prohibido en países europeos como Italia (Ministero della Salute, 2002), Francia (Ministère de la Sante et des Solidarites, 2004) y España (Chodorowski *et al.*, 2003; Ministerio de Sanidad y Consumo, 2006). Un ejemplo de los problemas que acarrea su clasificación aún no resuelta, se encuentra en el trabajo de Diaz (2021), donde menciona a *T. equestre* s.l. como un hongo venenoso, pero marcando a *Tricholoma auratum* como una especie diferente dentro del grupo de tricolomas comestibles, con la que se puede confundir. Esta afirmación que puede resultar arriesgada tomando en cuenta que no se sabe si efectivamente se trata de una especie diferente de *T. equestre* s.l.: “*T. equestre* era considerado comestible. Ha sido confundido con otras especies comestibles del género *Tricholoma*, como *T. aestuans*, *T. auratum*, and *T. sulphureum*”.

3.9.2 Consumo de macromicetos en México

En gran parte del territorio mexicano existe una cultura micofílica, representada principalmente por grupos indígenas y población mestiza que vive en las zonas rurales. Esta sección de la población es la que mayormente les ha dado uso a los hongos como comestibles, medicinales e incluso rituales. Es difícil aseverar con exactitud, durante cuánto tiempo se ha llevado a cabo la recolección de hongos silvestres. No obstante, en las evidencias históricas como códices y testimonios de las personas que lo mantienen como tradición, indican que en muchas comunidades del territorio mexicano la recolección se remonta a tiempos prehispánicos (Jimenez-Ruiz *et al.*, 2016).

En términos de la importancia cultural del consumo de hongos silvestres, México se encuentra en el segundo lugar a nivel mundial solo superado por China (Boa, 2005). Esto se expresa en que los asentamientos humanos en el territorio han tenido y mantienen un medio de subsistencia y cultura con los hongos: en consecuencia, los hongos son un recurso alimentario importante en época de lluvias, especialmente en verano y otoño (Moreno-Fuentes, 2014). A pesar de que

el conocimiento tradicional ha pasado por represiones constantes a lo largo de la historia, se mantiene vivo mediante el uso de los hongos silvestres incluso en zonas áridas y semidesérticas.

Dentro del territorio mexicano, son consumidas más de 450 especies de macromicetos silvestres y de estas, más de cien se venden en los mercados del país (Pérez Moreno, 2017; Ruan-Soto y Garibay-Orijel, 2014; Pérez-Moreno *et al.*, 2008). En México a las personas que se dedican a recolectar hongos silvestres se les conoce como “hongueros y hongueras”. Estos recolectores, desde una edad temprana salen al monte donde adquieren los conocimientos necesarios para reconocer a los hongos de su entorno; para ellos el grado de conocimiento varía dependiendo de la edad, sexo, posición social y experiencia en el monte (Martínez-Alfaro *et al.*, 1983).

La recolección de hongos implica dinámicas familiares específicas, donde hay división de las tareas entre los miembros participantes dependiendo del grado de conocimiento y los roles dentro de la comunidad. Por ejemplo, Montoya *et al* (2008) plantean una división clara en la recolección de hongos en el estado de Tlaxcala. Es una actividad que se realiza en colectivo principalmente entre mujeres y niños, mientras que los hombres suelen recolectar solos y van en busca de los hongos de más difícil acceso. Los recorridos que realizan, los hacen guiándose por la ubicación de los hongos. Sin embargo, también se consideran las características ecológicas de las especies, como las altitudes y temporada de fructificación. El nombre específico para referirse a cada tipo de hongo para los nahuas, como para otros pueblos de México, hace alusión al hábitat en donde crecen y sus características físicas (Martínez-Alfaro *et al.*, 1983).

La recolección de la funga de estas regiones, les ha permitido a los hongueros reconocer y generar una amplia variedad de criterios para diferenciar a los hongos comestibles de los que no lo son. Así mismo, ha permeado el desarrollo de prácticas para una correcta preparación de los esporomas, la cual depende de la naturaleza de los hongos, de los fines y de la cultura a la que pertenezcan los recolectores (Moreno-Fuentes, 2014). Los criterios que van desarrollando para distinguir a los hongos comestibles de los que no lo son, se basan en la experiencia de su uso repetido y en sus características tanto morfológicas como organolépticas (Ramírez-Terrazo, *et al.*, 2014; Estrada-Torres y Aroche, 1987). Otra costumbre que comparten varios grupos en México, es la de no consumir hongos que no conocen, aunque otras personas sí lo hagan (Montoya *et al.*, 2007).

Es importante mencionar que tanto en México como en otros países de América, aunque aún se mantiene un conocimiento ancestral sobre los hongos silvestres, se ha dado una erosión y pérdida del mismo. También, existe un desconocimiento sobre estos organismos por parte de varios sectores de la población que por lo general se encuentran en las grandes urbes, donde ya no es tan común su consumo. Lo anterior se puede asumir como una consecuencia de varios fenómenos a lo largo del tiempo. Uno de los más relevantes en México, es la prohibición que tuvo el consumo de hongos durante el virreinato por parte de la Iglesia católica en la Nueva España (Ruan-Soto y Méndez, 2012). Así mismo estos conocimientos se han visto afectados por otros fenómenos sociales de la actualidad como el desaliento por parte de las autoridades y la globalización, lo que ha mermado el valor de los saberes tradicionales y ha cambiado la alimentación a nivel mundial (Martínez-Carrera *et al.*, 2007; Moreno-Fuentes, 2014).

Finalmente, debemos considerar que debido a que el conocimiento tradicional sobre los hongos está vivo y en constante cambio, también plantea incógnitas. Un gran ejemplo de esto, es que existen hongos que pueden ser considerados como alimento a pesar de que se ven relacionados con intoxicaciones severas. Este es el caso de *Tricholoma equestre* s.l. que ha sido reportado como causante de un amplio número de intoxicaciones a nivel mundial, pero se sigue consumiendo en el centro de México.

3.9.2.1 Etnomicología de *T. equestre* s.l. en México

En el centro del territorio mexicano hay varios registros sobre el consumo de *Tricholoma equestre* s.l. El primero es de 1961, realizado por Herrera y Guzmán, registra por primera vez su venta y consumo en varias regiones del país, así como sus nombres tradicionales: “canario” y “nejo” en el Mercado de Amecameca, “canario” y “calandria” en Tenango del Valle, “calandria” en Nevado de Toluca, “yema de huevo” en el Valle de México y “tenzo” en Teziutlán, Puebla. El segundo trabajo menciona a *T. flavovirens* dentro de un listado especies del sur de la Cuenca de México, donde se indica que se aprovecha todo el esporoma para el consumo como alimento. Dentro del artículo hacen referencia a que a pesar de ser pocos esporomas, los hongos recolectados no son únicamente para el consumo de quienes los encuentran, sino que también son comercializados en mercados del Estado de México, Morelos y Ciudad de México (Aranda *et al.*, 1999).

Montoya *et al.* (2008), enlistan a *T. equestre* s.l. como una especie de valor comercial en el pueblo de Javier Mina, Tlaxcala. El nombre tradicional para este esporoma es “cailita” y no se

presenta una traducción al español o un significado específico de este. También especifican que los hongos de gran valor son separados del resto y vendidos a un precio mayor, mientras que otros no tan demandados como *T. equestre s.l.* se mezclan en montones para ser comercializados. Así mismo, Martínez *et al.* (2009) reportan a este hongo identificado en los mercados de Chalco y Amecameca en el Estado de México, bajo el nombre común de “nejo”.

Una de las características más sobresalientes de este grupo de hongos es su llamativo color amarillo, lo cual se ve reflejado en sus nombres comunes. En un estudio sobre los hongos en mercados en México central, se encontró a *T. flavovirens* en tres mercados cercanos a los Parques Nacionales Izta-Popo y Zoquiapan con el nombre común de “calandria”. Esto último, haciendo referencia al color de una especie de alondra local (Pérez-Moreno *et al.*, 2008). Otro de los registros del consumo de este hongo y sus nombres asociados a su coloración, es en el Valle de Toluca donde aparece registrado *T. flavovirens*, en el mes de julio con los nombres comunes de “yema, amarillo o cachimo” (Méndez *et al.*, 2001).

El registro más reciente es de 2019 donde se reportó la venta de *T. equestre s.l.* en mercados de la zona poniente del Estado de México. En estos sitios se reconoce con los nombres de “azufre” y “pericón”, haciendo referencia nuevamente a su intenso color amarillo. El listado anterior, fue utilizado para un estudio del potencial tintóreo de hongos comestibles en esta zona del país, en el que *T. equestre s.l.* se señala como un esporoma de muy bajo potencial tintóreo, lo cual contrasta con sus nombres asociados a plantas como el pericón que desde tiempos prehispánicos se utilizaron para teñir textiles (Franco *et al.*, 2019).

Finalmente, en cuanto a sus nombres en náhuatl *T. equestre s.l.* recibe la identidad de “tzenso”, término de difícil explicación, ya que podría tratarse de una unión de “centzon(tli)” o “tzenzontli”, “cuatrocientos”, que indica abundancia. El nombre, de acuerdo con esta posibilidad de interpretación, sería “centzon nanácatl”, cuatrocientos (o innumerables) hongos. Esto sería válido, por ejemplo, en el caso de *Lyophyllum decastes*, hongos a los que también se llama “clavitos” o “amontonados” por su gran cantidad. No obstante, queda en duda el porqué de su aplicación con *T. equestre s.l.* que presenta un crecimiento solitario (Martín del Campo, 1968).

4. JUSTIFICACIÓN

El caso de *Tricholoma equestre s.l.* ha sido controversial, debido a que es un hongo potencialmente tóxico que se continúa comiendo en varias partes del mundo. Los registros médicos indican que los síntomas de intoxicación que se relacionan con su consumo, se presentan después de un tiempo prolongado de ingerir al hongo como alimento. Sin embargo, para confirmar que las intoxicaciones realmente son causadas por este hongo, es necesario hacer una buena taxonomía de los esporomas, a partir de la cual se haga efectiva la relación entre las intoxicaciones y el consumo de este hongo en México. La presente tesis contribuirá al conocimiento taxonómico de las especies del complejo *Tricholoma equestre s.l.* De este modo, ampliará los datos que se tienen en torno a la diversidad de especies de hongos silvestres consumidas con potencial tóxico, aportando a la prevención de las intoxicaciones por falta de información en Latinoamérica.

5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Qué especies del complejo *Tricholoma equestre s.l.* se consumen en México?

¿Las especies del complejo *Tricholoma equestre s.l.* tienen potencial tóxico?

¿Dónde se distribuyen las especies del complejo *Tricholoma equestre s.l.*?

6. HIPÓTESIS

Trabajos previos indican que, *Tricholoma equestre s.l.* se trata de un complejo de especies que tienen una distribución mundial y se ven asociados con coníferas de los géneros *Pinus*, *Abies* y *Picea* principalmente. Sin embargo, considerando que los hongos ectomicorrízicos suelen tener endemismo continental por la estrecha relación mutualista con sus hospederos, se espera que las especies mexicanas no solo correspondan con *T. equestre s.l.*, sino que también pertenezcan a otras especies dentro y fuera del complejo. Por lo tanto, se espera que su potencial tóxico sea distinto al de las especies europeas.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

A partir de un trabajo taxonómico, conocer la diversidad y distribución de las especies con potencial tóxico del complejo *Tricholoma equestre s.l.* en México.

7.2 Objetivos particulares

Describir taxonómicamente a los hongos del centro de México identificados bajo los nombres de *T. equestre* y *T. flavovirens*, usando rasgos de su macro y micromorfología.

Realizar un análisis filogenético, que permita aportar información sobre su diversidad, distribución y relaciones filogenéticas.

Analizar la variación genética de las especies del complejo en el mundo por medio de una Red de haplotipos.

Calcular el potencial tóxico de los hongos del complejo *Tricholoma equestre* s.l. vendidos en mercados de México, a través de la dosis letal media, en un bioensayo con *Artemia salina*.

8. METODOLOGÍA

8.1 Obtención de esporomas

Los ejemplares fueron obtenidos a partir de préstamos solicitados al Herbario Nacional de la UNAM (MEXU), al Acervo Micológico del Centro de Investigación en Recursos Bióticos (AMCIRB) de la UAEMéx, y al Herbario de la UAT (TLXM). Así mismo, se compraron ejemplares directamente con revendedoras y hongueras del Estado de México (Lagunas de Zempoala y Río Frío), Ciudad de México (Mercado de Jamaica y Feria del Hongo de Cuajimalpa) y Puebla (Chignahuapan).

8.2 Caracterización morfológica de esporomas

Se tomó como referencia el trabajo de Reschke *et al.*, (2018) para la microscopía de especies del complejo *Tricholoma equestre* s.l. Se planteó como punto importante observar estructuras del himenio como la trama himenoforal, basidios y basidiosporas, así como las características de la pileipellis. Los cortes para ubicar las estructuras se montaron en KOH al 10% , las descripciones se realizaron usando el microscopio estereoscópico ZEISS Stemi 305 y con el microscopio óptico modelo Axio Lab.A1 ZEISS y la cámara U3CMOS RisingCam. Se usaron 20 basidiosporas, 20 basidios y 20 hifas de la pileipellis para obtener las medidas de las especies encontradas en el estudio (Heilmann-Clausen *et al.*, 2017).

Además, retomando la metodología de Kalamees (2001) para estudiar las diferencias entre ejemplares de *Tricholoma frondosae*, *Tricholoma ulvinenii* y *T. equestre*, se analizó la diferencia entre la Q de las 20 basidiosporas que se midieron por cada ejemplar y se buscó identificar una Q de 1.6 que caracteriza a la especie *T. equestre*. En cuanto a los basidios, se

identificó el número de basidiosporas que porta cada uno, el cual es un carácter para diferenciar a *T. equestre* con cuatro basidiosporas, de *T. ulvinenii* que porta solo tres basidiosporas por cada basidio.

8.3 Biología molecular de los esporomas

La metodología para esta parte del trabajo, se basó en la descrita por Ángeles-Argáiz y Garibay-Orijel (2020), pero se realizó con la modificación del protocolo de extracción, ya que las primeras secuencias se obtuvieron mediante el método de extracción de CTAB.

8.3.1 Extracción de DNA mediante el método de CTAB

Para la extracción del DNA, se tomaron muestras de 27 esporomas de los que ya se había realizado la microscopía. La muestra que se tomó fue de aproximadamente 15 mg de tejido proveniente del himenio de los hongos y en los casos donde había poca disponibilidad de láminas, se tomó un pedazo del contexto. Las muestras se guardaron en tubos de 2 µL redondos, los cuales se reservaron durante 24 horas en el refrigerador de -80 ° C. Finalmente, se molieron las muestras en el TissueLyser durante dos minutos hasta que se obtuvo un polvo fino.

Posteriormente en la campana de extracción se preparó una mezcla de CTAB con betamercaptoetanol para las 27 muestras (500 µL de CTAB y 4 µL de betamercaptoetanol). En cada uno de los tubos se agregaron 500 µL de CTAB y después de que se observó la mezcla muy oscura se le agregó el doble de la cantidad. Las muestras se dejaron en el baño María por media hora a una temperatura de 65°C. Pasado este tiempo, se le agregó a cada una 1000 µL de SEVAG. Después estas muestras se llevaron a incubar con agitación suave durante media hora.

Pasado este tiempo, se centrifugaron las muestras a 9000 rpm durante diez minutos y se recuperó la fase acuosa en tubos de 1.5 µL. Después se agregó a cada muestra $\frac{2}{3}$ de su volumen de isopropanol frío y se pusieron a incubar a -20°C durante una hora. Posteriormente se centrifugaron durante cinco minutos a máxima velocidad y se tiró el sobrenadante. El sedimento se lavó con 500 µL de etanol frío al 70%, agitando los tubos durante el proceso.

Finalmente, las muestras se centrifugaron a 13000 rpm durante tres minutos para finalmente tirar el sobrenadante y dejar evaporar el resto del alcohol en la centrífuga de vacío durante cinco

minutos. Al finalizar este proceso, se resuspendió el botón en H₂O libre de nucleasas y con RNAsa añadida, para después revisar la concentración de DNA en el Nanodrop.

8.3.2 Amplificación por PCR

Para los controles de la PCR, se utilizó agua como control negativo y DNA de champiñón como control positivo, lo cual se evaluó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1%. Para distinguir entre especies de hongos, se acostumbra utilizar la región de los Interespaciadores Transcritos Ribosomales (ITS) y los primers para ITS1F-ITS4, junto con LSU y RPB2 (Ángeles-Argáiz y Garibay-Orijel, 2020).

Para las reacciones de PCR se utilizó 1 µL de DNA, 1.25 µL de primers a 10 µM, 0.5 µL de una unidad de MyTaq BIOLine polimerasa, con 5µL de buffer, para obtener un volumen final de 25 µL. El programa para el termociclador fue de 40 ciclos con una desnaturalización a 94° C por 3 minutos. El alineamiento se llevó a cabo a 54 ° C durante un minuto y la elongación a 72°C también por un minuto. Se finalizó con un minuto de incubación a la misma temperatura.

En un tubo de 1.5 µL se realizó la mezcla para las reacciones y cada uno de los tubos se les agregaron 24 µL de esta mezcla y al final se agregó 1 µL del DNA, colocándolos inmediatamente en el hielo. Al terminar este proceso, se centrifugaron a máxima velocidad los tubos por unos veinticinco segundos, para después meterlos al termociclador por aproximadamente tres horas y media. Finalmente se corroboró la amplificación de las muestras mediante la electroforesis.

8.3.3 Limpieza de productos y secuenciación de DNA

Se preparó una mezcla de 1µL de ddH₂O y 1µL de ExoSAP por cada una de las reacciones. Después se colocaron 2 µL de la mezcla obtenida por cada reacción en un tubo de 100 µL, para después colocar 3.5 µL del producto de PCR en cada tubo. Se incubó la reacción en el termociclador a 37° C por 15 minutos y después a 80 ° C por 15 minutos, para después almacenar a -20° C. Para la secuenciación se utilizó el método de plataforma Sanger (Secuenciación por dideoxiterminal por electroforesis capilar) en ambos sentidos.

8.3.4 Edición de las secuencias y análisis filogenéticos

Las secuencias se editaron en Geneious prime. Primero se eliminaron las primeras y últimas 20 ó 30 posiciones de mala calidad. Después se editaron las secuencias de manera manual para

detectar las bases heterócigas o posibles errores en el llamado de las bases. Finalmente, el archivo se guardó en formato FASTA. Posteriormente, se realizó una comparación de las secuencias obtenidas con las que existen en GenBank, con el algoritmo de búsqueda BLAST. Se identificaron cuatro especies con las que había similitudes nucleotídicas significativas de hasta el 100%: ***Tricholoma sinoacerbum***, ***Tricholoma saponaceum***, ***Tricholoma intermedium*** y ***Tricholoma aestuans***.

Se buscaron las secuencias que tuvieran ejemplares voucher y aquellas que fueran holotipos o paratipos, así como las secuencias utilizadas para análisis previos del género *Tricholoma* o trabajos relacionados con el complejo *Tricholoma equestre* s.l. (Bidartondo *et al.*, 2002; Comandini, *et al.*, 2004; Matheny *et al.*, 2006; Peay *et al.*, 2007; Kikuchi *et al.*, 2007; Palmer *et al.*, 2008; Jones *et al.*, 2008; Kranabetter *et al.*, 2009; Dentinger *et al.*, 2011; Pickles *et al.*, 2013; Garibay-Orijel *et al.*, 2013; Moukha *et al.*, 2013; Ben Hassine Ben Ali y Garrett, 2016; Heilmann-Clausen *et al.*, 2017; Reschke *et al.*, 2018; Giusti *et al.*, 2021 y Cui *et al.*, 2022). Después, se descargaron las secuencias en un archivo FASTA.

Para los análisis filogenéticos se trabajó con dos matrices. La primera fue realizada con secuencias representativas del complejo *Tricholoma equestre* s.l. de todo el mundo, junto con tricolomas cercanos filogenética y morfológicamente, nombrada como “Tricolomas amarillos”. Para hacer inferencias sobre la distribución de las especies, se incluyeron secuencias del suelo que fueron similares al 97% en un blast realizado o a la base de datos del Global Soil Mycobiome correspondientes a México (Tedersoo *et al.*, 2021). A continuación, todas las secuencias se alinearon en Geneious prime, con el algoritmo MAFFT. El alineamiento se revisó de manera manual removiendo los extremos de la posición 1 a la 22 y de la 889 a la 1002. Se eliminaron los intrones de las posiciones 186 a la posición 211 y de la 217 a la 248. También se eliminaron las secuencias menores a 500 pb y aquellas que tuvieran más de seis “N”.

La segunda matriz de este trabajo incluyó a todas las secuencias dentro del complejo *Tricholoma equestre* s.l. de México y el mundo. El alineamiento se hizo con el algoritmo MAFFT y después se editó de manera manual. Se removieron los extremos, quedando de un tamaño de 583 pb. Posteriormente se quitaron los intrones de la posición 166 a la 190. Como grupo externo se incluyeron dos secuencias de *Tricholoma citrinum* (con códigos de acceso a GenBank MF034262 y MW724356 holotipo), *Tricholoma intermedium* (MW597198 y MZ054353) y *Tricholoma joachimii* (LT222022) Se volvió a correr el alineamiento, ahora con

el algoritmo MUSCLE, quedando este último como el alineamiento que se utilizó para hacer la red de haplotipos, el cual se exportó como un archivo FASTA.

Para ambas matrices se usó el modelo de substitución nucleotídica GTR. Finalmente, para construir los árboles filogenéticos, para PhyML se hicieron 1,000 réplicas de Bootstrap para obtener el mejor árbol a partir del modelo GTR CAT. En el caso de análisis Bayesiano, para el árbol final se usaron 2,000,000 de réplicas. Finalmente, con el software FigTree, se resumieron las topologías con mayor probabilidad y se editaron los colores.

8.3.5 Recopilación de información sobre las especies encontradas mediante el algoritmo BLAST

Debido a que, durante la búsqueda realizada, se encontraron especies fuera del complejo *Tricholoma equestre* s.l., se realizó una búsqueda de las descripciones originales y actuales. Para *Tricholoma* c.f. *sinoacervum* se utilizó la descripción de Holsen *et al.* (2016); para *Tricholoma saponaceum* y *Tricholoma intermedium* las de Trudell *et al.* (2013). Se usaron las descripciones de Bigelow (1979) para *Tricholoma aestuans* y *Tricholoma flavovirens*, finalmente, para *Tricholoma equestre* se usó la descripción de Klimaszyk y Rzymiski (2018).

8.3.6 Redes de Haplotipos

Para la red de haplotipos, se retomó la matriz del “complejo *Tricholoma equestre* s.l.” pero se eliminaron las secuencias de *Tricholoma citrinum*, *Tricholoma intermedium* y *Tricholoma joachimii*, para tener una mayor resolución en la red. El alineamiento se hizo con el algoritmo MAFFT y después se editó de manera manual. Primero se removieron los extremos, quedando de un tamaño de 583 pb. Posteriormente se quitaron los intrones de la posición 166 a la 190. Para identificar los haplotipos (polimorfismos) en nuestras secuencias, se descargó el software DNA Sequence Polymorphism donde se cargó el alineamiento previamente realizado en Geneious.

Después de asignar el código genético universal como la base para el análisis, se definieron los sets de secuencias en distintos grupos a partir del país de origen, lo anterior se guardó como archivo nexus. Dentro del mismo programa, se realizó una identificación de los polimorfismos de las secuencias dadas y una vez finalizado el análisis, se guardó el archivo como un output file. Posteriormente, se generó un archivo con datos de haplotipos encontrados en formato nexus, el cual desplegó el número de haplotipos encontrados. Este archivo se abrió en Block de

notas y de ahí se extrajo la información sobre la frecuencia de cada uno de los haplotipos en los países registrados.

Las frecuencias obtenidas se pasaron a Excel donde se organizó la información por sitio, dependiendo de la frecuencia del haplotipo en cada país registrado. Una vez terminado este documento, se copió la tabla en el Block de notas. Se agregaron comas como separación, para guardarlo como parte de los traits que se integrarían a la red. Finalmente, en el programa PopArt se abrió el archivo nexus que contenía los haplotipos encontrados, junto con el archivo de traits previamente guardado. Cuando estuvieron cargados los archivos, la red se realizó a partir del método Tight Span Walker y finalmente se estableció un color para cada país, pensando que los colores cálidos (amarillo, naranja y rojo) fueran para los países de Norteamérica, mientras que los colores que van de rosas a azul representan países de Europa y finalmente los tonos pasteles a países asiáticos.

8.4 Ensayo toxicológico con el modelo *Artemia salina*

8.4.1 Diseño del experimento

Para el bioensayo de toxicidad de *Artemia salina*, se seleccionaron los morfotipos de los que se tuvieran más de 7 g de peso seco, que presentan el carácter de cistidios incrustados y que tuvieran información etnomicológica. Se reservaron únicamente los esporomas de los que se había hecho microscopía y a los que se les había extraído DNA. Tanto las extracciones como el bioensayo se realizaron en el Centro de Investigación en Micología Aplicada de la Universidad Veracruzana.

La extracción se realizó mediante maceración. Este método consiste en la molienda de los materiales biológicos en pequeñas partículas para aumentar el área de contacto con el solvente a utilizar. Después se agrega un solvente apropiado en un recipiente cerrado, para pasar a la filtración y la concentración de los extractos obtenidos. Se seleccionó al metanol- cloroformo como solvente para las extracciones. Posteriormente durante el proceso de secado de los extractos, se hicieron pruebas de eclosión con los quistes de *Artemia salina*. Finalmente se utilizaron los nauplios eclosionados a las 24 horas para hacer pruebas con las concentraciones de 10, 100 y 1000 µg/mL sobre unas placas de 24 pozos, para evaluar los efectos de los múltiples extractos a las 24 horas de exposición.

8.4.2 Extractos

Se pesaron las muestras, para posteriormente liofilizarlas por aproximadamente dos días hasta que tuvieron la textura adecuada. Lo anterior se hizo para prevenir el exceso de humedad en los hongos. Después se pulverizaron los esporomas en el mortero buscando un tamaño menor a 5 mm. Posteriormente, se pesaron los hongos triturados en charolas específicas para cada muestra y se dividieron de manera que quedaran en partes iguales dentro de frascos de cristal de aproximadamente 750 mL (limpios y etiquetados). Después, se les colocó una tapa de papel aluminio. Para la extracción, se calculó para cada uno de los pesos, 20 veces el volumen de la biomasa. Esta fue la cantidad de disolvente que se agregó a cada una de las muestras. Finalmente, cada uno de los frascos se tapó con papel aluminio, a estas tapas se les hicieron agujeros.

Muestra	Peso seco (g)	Disolvente
Extracto 1	27.84	556.8
Extracto 2	9.1	182
Extracto 3	3.415	68.3
Extracto 4	9.315	186.3

Tabla 3. Peso de la biomasa de hongos liofilizados y disolvente agregado para la primera extracción.

Con el objetivo de que las células liberaran todo su contenido, se sonicaron las muestras por media hora con calor. Por último, se reservaron en un lugar seco durante 24 horas. Se realizaron dos extracciones más siguiendo el mismo procedimiento, con la diferencia de que en la tercera extracción solo se agregó disolvente seis veces el volumen de la biomasa. Lo anterior se llevó a cabo con disolvente recuperado de cada una de las muestras y éste fue obtenido a partir de la concentración de los extractos mediante el uso del rotavapor.

Antes de volver a concentrar los extractos, para evitar cualquier impureza como detritos celulares que afectaran después los pesos del bioensayo, los extractos tuvieron que pasar por un proceso de purificación con filtros PTFE de 0.45 μm . Para esto, se repartió el contenido de los frascos con los extractos en tubos de 5 mL, los cuales se centrifugaron durante 10 minutos.

Con ayuda de una jeringa de vidrio, se recuperó el sobrenadante y este se pasó por los filtros. El líquido resultante se reservó en frascos nuevos de vidrio limpios y rotulados, los cuales fueron llevados al horno donde permanecieron durante cuatro días aproximadamente.

El proceso anterior, se repitió con cada uno de los extractos hasta que se terminó de filtrar todo el líquido, desechando los residuos sólidos que se precipitaron después de la centrifugación. Para concentrar todos los extractos, se utilizó el rotavapor nuevamente. Cuando se terminaron de concentrar los extractos, se pasaron a viales ámbar previamente pesados y etiquetados para su almacenamiento. Finalmente, los viales se reservaron tapados en un lugar seco y lejos de fuentes de luz.

No. extracto	Peso de vial sin tapa ni extracto (mg)	Peso de vial sin tapa y con extracto (mg)	Peso total del extracto (mg)
1	6445.3	12006.2	5451.4
2	6532.9	7137.0	604.1
3	6554.8	6623.1	177.8
4	6478.8	7069.2	590.4

Tabla 4. Pesos de los viales con y sin los extractos, peso total del extracto en miligramos

8.4.3 Eclosión de quistes

Para llevar a cabo el bioensayo con los crustáceos, se estandarizó la eclosión de los quistes. Primero, se preparó agua salina con 2.8 g de sal de mar y 500 mL de agua, haciendo uso de una placa agitadora. Cuando ya no se observaban los granos de sal, se agregó una pizca del alimento DHA Gold. Finalizado el proceso, el agua preparada se metió al refrigerador de 4°C hasta su posterior uso. Al día siguiente, el agua se filtró con algodón y embudos unas tres veces hasta que no quedara el líquido con residuos grandes del alimento, se volvió a reservar a 4 ° C.

La incubadora se programó para que mantuviera una temperatura de 27 ° C, con un fotoperiodo de seis horas luz repartida durante la noche y una bomba de oxígeno para pecera. Para empezar con la eclosión, se oxigenaron durante una hora 300 ml del agua filtrada. Después, se vació el

agua junto con 6 mg de quistes, para finalmente encender la bomba. Después de 24 h se revisó la eclosión de los quistes y después de estandarizar el proceso; cuando la eclosión fue exitosa se utilizaron los nauplios para los bioensayos.

8.4.4 Montaje del bioensayo

Cuando se estandarizó la eclosión de los quistes y se observaron a los nauplios en buen estado, se pasó a hacer una prueba piloto de la supervivencia de los nauplios bajo condiciones normales después de 24 horas. Un día después de haber puesto los quistes a eclosionar se corroboró mediante la observación con el microscopio que la mayoría se encontraba en un estado saludable. Más adelante se procedió a oxigenar 500 mL de agua preparada. Después, se le agregaron 300 mL del agua oxigenada al vaso de precipitados pequeño y el grande se utilizó para vaciar el contenido de la cámara de eclosión.

Antes de pasar los nauplios del vaso de precipitados grande al pequeño con agua limpia, se cortaron aproximadamente unos 3 mm de las puntas de ambas micropipetas para poder transportar a los nauplios sin lesionarlos. Se colocó una fuente de luz en una de las paredes del vaso (ya que se conglomeran en las fuentes de luz), para después trasladar a los nauplios con la micropipeta de 1000 μ L. Posteriormente, en la placa de 24 pozos (previamente esterilizada en la autoclave) se colocaron en cada pozo 400 μ L de agua preparada limpia. Se vació un poco del contenido del vaso pequeño en la caja Petri.

Se observó la motilidad de los nauplios en el microscopio estereoscópico, seleccionando 10 nauplios que cumplieran con las siguientes características: 1) que tuvieran un movimiento constante y dinámico, 2) que se observaran de color rosado o anaranjado, 3) que no presentaran septos en la parte abdominal, 4) que no estuviesen enredados en cualquier tipo de basura o fibra y 5) que al mover la caja Petri, se mantuvieran estables nadando en la columna de agua. Cuando todas las placas tuvieron 10 nauplios, se les realizaron tres revisiones cada que pasara una hora. Lo anterior con el objetivo de dejar diez organismos que se encontraran en un buen estado. Finalmente se trasladó la placa a la incubadora (que había tenido revisiones previas y constantes de su temperatura y del fotoperiodo), cerrando las puertas y dejando los nauplios por 24 horas.

A las 24 h se sacó la placa de la incubadora. Bajo el microscopio estereoscópico se revisaron los nauplios que seguían vivos, considerando muertos a aquellos que no presentaban movimiento después de 30 segundos. Se consideró que la prueba piloto había sido exitosa

cuando la mayoría de los pozos se encontraba con todas las artemias vivas o con una sola muerta. Esto último fue el indicador para que el bioensayo comenzara a montarse. En los ensayos toxicológicos para preparar las placas con las diluciones seriadas, se hicieron cuatro soluciones stock. Se buscó que la concentración de las soluciones estuviera en 4 mg/mL, tomando como disolvente el agua artificial marina con alimento. Todo esto se realizó en microtubos de 2 μ L, buscando utilizar una cantidad de extracto que estuviese en el rango de 7.5 a 7.9 mg.

Debido a que durante el primer bioensayo se presentó una mortalidad total en las concentraciones más altas a las dos horas de haber colocado el extracto, se diseñó un nuevo experimento donde se le adicionaron concentraciones intermedias. De esta manera se pudo llegar a la concentración letal media con análisis estadísticos. Se siguieron los mismos pasos que en el ensayo anterior, con la diferencia de la distribución de los extractos en las placas con el diseño que se presenta a continuación (Figura 9). Se utilizó una cuarta placa para colocar en las tres primeras columnas los controles positivos con dicromato de potasio y la última columna se utilizó como control negativo, a estos pozos solo se les agregó 800 μ L de agua preparada.

En este caso, debido a que eran más placas se decidió poner una cantidad mayor de nauplios por pozo (en un rango de 13 a 16) para hacerles una única revisión a las tres horas de haberlos colocado. Cuando todos los pozos habían pasado por las revisiones y los cambios de nauplios, se metieron las placas tapadas a la incubadora. A las 24 h se revisaron cada una de las placas bajo el microscopio estereoscópico.

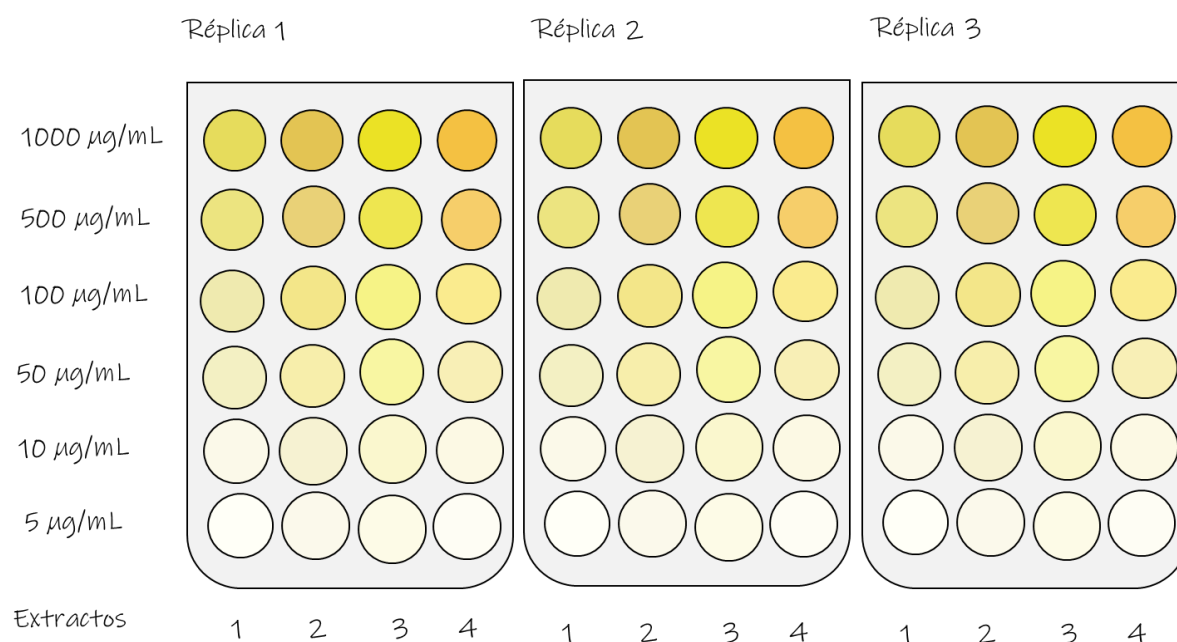


Figura 9. Esquema del diseño experimental donde se observan las tres réplicas para cada uno de los extractos probados.

8.4.5 Análisis de resultados

Para la obtención de la Concentración Letal 50 (CL_{50}) se usó el Método de Unidades Probabilísticas “Probit”. Se utilizó este método ya que se encarga de evaluar la relación concentración-respuesta sobre un determinado organismo. Lo anterior, medido en términos de CL_{50} , con la ventaja de que su intervalo de confianza puede ir de acuerdo a los lineamientos que se establecen en la Norma mexicana NMX-AA-087-SCF1 (Déciga-Campos *et al.*, 2007). Para lo anterior, ya abierto el programa se enlistaron las variables de: Tratamiento, Concentración Total y Mortalidad para el análisis correspondiente.

Una vez establecidas las variables, se colocaron en la pestaña de “Vista de datos” las concentraciones usadas para cada uno de los extractos, incluyendo el control negativo. A partir de la información dada, se seleccionó el modelo Probit de análisis. En esa misma pestaña se especificaron la frecuencia de respuesta, el total de organismos expuestos a los extractos y finalmente la covariable, que en este caso es el estímulo al cuál se sometieron los organismos. Finalmente, se realizó el análisis y el programa arrojó los estadísticos donde se hace una predicción de la probabilidad de mortalidad para diferentes condiciones dadas y de donde se rescató el valor de CL_{50} .

A partir de la siguiente tabla, retomando los estudios realizados por Meyer *et al.*, (1982) Nguta y Mbaria, (2013); Mwangi *et al.*, (2015) y Karchesy *et al.*, (2016), se sacaron conclusiones sobre el nivel de toxicidad que presentan los hongos estudiados.

CL ₅₀	Toxicidad
>1000 µg/mL	No tóxico
500-1000 µg/mL	Débilmente tóxico
100-500 µg/mL	Moderadamente tóxico
<100 µg/mL	Altamente tóxico

Tabla 5. Clasificación de la toxicidad de los hongos dependiendo de la concentración letal media que posean (Meyer *et al.*, 1982; Nguta y Mbaria, 2013; Mwangi *et al.*, 2015 y Karchesy *et al.*, 2016).

9. RESULTADOS

Materiales revisados y referencias de las descripciones

Se revisaron en total 64 ejemplares y de estos se hizo una base de datos con información macroscópica, microscópica y sobre las anotaciones etnomicológicas. Sin embargo, solo se consideraron 24 ejemplares para la discusión ya que solo de estos fue posible tener sus secuencias para un análisis completo. Dentro de los análisis filogenéticos no se incluyeron las secuencias de los ejemplares con la clave FA-2021-001 y FA-2022-002. Esto, debido a que cuando se realizó uno de los alineamientos, las secuencias divergían demasiado del resto, pero no entre ellas. Cuando a estas dos se les realizó una búsqueda con el algoritmo de BLAST en GenBank, sólo se encontró que había un 90% de similitud nucleotídica con secuencias del género *Entoloma*.

9.1 Secuencias utilizadas para el análisis filogenético de los “Tricolomas amarillos” en México

A continuación, se presenta la tabla 6, con los datos de las secuencias utilizadas para la generación de la matriz “Tricolomas amarillos”, con los datos de identificación voucher, país de procedencia, localidad, número de ITS y referencias.

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>Tricholoma c.f. sinoacerbum</i>	<i>Tricholoma sp</i>	GO-2012-18	México	El Zarco, Edo. Mex.	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma saponaceum</i>	TDB-2010-MEX-15	México	Parque Nacional la Malinche, Tlax.	KC152253	Garibay-Orijel et al., (2013)
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma saponaceum</i>	HC-PNNT-247	México	Raíces, Zinacantepec Edo. Mex.	KT875121	GenBank
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma saponaceum</i>	CB-2008-203	México	Las Peñas, Amanalco Edo. Mex.	KT875122	GenBank
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-004	México	Cuajimalpa, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma aff. intermedium</i>	<i>Tricholoma aff. equestre</i>	GO-2009-70	México	Temascaltepec, Edo. Mex.	KT875117	GenBank
<i>Tricholoma aff. intermedium</i>	<i>Tricholoma aff. equestre</i>	HC-PNNT-280	México	El Contadero, Zinacantepec Edo. Mex.	KT875116	GenBank
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-007	México	Mercado de Jamaica, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-008	México	Mercado de Jamaica, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>GSMC_21e...b3b</i>	Secuencia del suelo	México	Ixtlán, Oaxaca	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>GSMC_b92...203</i>	Secuencia del suelo	México	Ixtlán, Oaxaca	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>GSMC_dcf...b33</i>	Secuencia del suelo	México	Ixtlán, Oaxaca	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-015	México	Parada del Hongo, Chignahuapan	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 1</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	EA-2008-169	México	La Puerta, Zinacantepec, Edo. Mex.	KT875119	GenBank
<i>Tricholoma equestre 1</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	CB- 2008-0833	México	Agua Bendita, Amanalco, Edo. Mex.	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma</i>	<i>Tricholoma</i>	FA-2021-006	México	Lagunas de	Falta	Este trabajo

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>equestre 1</i>	<i>equestre</i>			Zempoala, Edo. Mex.	enviar	
<i>Tricholoma equestre 1</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-020	México	Parada del Hongo, Chignahuapan	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 2</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	AR-2009-820	México	San Bartolo Amanalco, Edo. Mex.	KT875120	GenBank
<i>Tricholoma equestre 2</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	AR-2009-09794	México	San Juan Amanalco, Edo. Mex.	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 2</i>	<i>GSMC_d4c...345</i>	Secuencia del suelo	México	El Zembo, Hidalgo	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	CB-2008-443	México	Corral de Piedra, Amanalco, Edo. Mex.	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2021-002	México	Mercado de Jamaica, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-001	México	Cuajimalpa, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-003	México	Cuajimalpa, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-006	México	Mercado de Jamaica, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>GSMC_1cd...915</i>	Secuencia del suelo	México	El Zembo, Hidalgo y Tequila, Jalisco	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>GSMC_30c...be2</i>	Secuencia del suelo	México	El Zembo, Hidalgo	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>GSMC_eeb...e3f</i>	Secuencia del suelo	México	El Zembo, Hidalgo y Tequila, Jalisco	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma c.f. equestre</i>	<i>Tricholoma c.f. equestre</i>	MQ20-pat0196	Canadá	Quebec	MW627968	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	SDR MyCoPortal # 4952129	EUA	Wisconsin, Cable, Condado Banfield	MK575455	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	WTU-F-073402	EUA	Campbell Tract, Far North, Parque Bicentennial	ON787721	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIcar	Canadá	Columbia Británica	HQ650740	Kranabetter et al. (2009)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	HDT54614	EUA	Nuevo México	AF349689	Bidartondo y Bruns (2001)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	Secuencia del suelo	EUA	Quartz Creek Campground, Seward Ranger District	OM506542	GenBank

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	EqFr1	Francia	-	HM590870	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	C-F-58886	Dinamarca	Jylland, Hoverdal Plantage	LT000018	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	DBG:23922	EUA	Colorado, Clear Creek County, Arapaho National Forest, Pense Mountain	MF034203	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	Secuencia del suelo	EUA	Alaska	MW597173	GenBank
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	DBG:23967	EUA	Colorado, Boulder County, Roosevelt National Forest, Fourth-of-July Road	MF034204	Reschke et al., (2018)
<i>Tricholoma cf. equestre</i>	<i>Tricholoma cf. equestre</i>	MQ20-HL1640-QFB32587	Canadá	Quebec, Tadoussac	MW628107	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	TRTC156996	Canadá	Ontario, Wildlife Research Station	JN021104	Dentinger <i>et al.</i> , (2011)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	DBG:18376	EUA	Colorado, Grand County, Arapaho National Forest	MF034267	Reschke. et al. (2018)
<i>Tricholoma umbonatum</i>	<i>Tricholoma umbonatum</i>	C-F-101490	Italia	Mel, Belluno. Veneto	LT000114	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma columbetta</i>	<i>Tricholoma columbetta</i> (Neotipo)	C-F-58898	Dinamarca	Jylland, Skivum Krat	LT000017	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma columbetta</i>	<i>Tricholoma columbetta</i>	HO51046	Noruega	-	AF349693	Bidartondo y Bruns (2001)
<i>Tricholoma joachimii</i>	<i>Tricholoma joachimii</i>	O_F_167194	Noruega	Akershus, Baearum, Borya	LT222022	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma citrinum</i>	<i>Tricholoma citrinum</i> (Holotipo)	KUN-HKAS71086	China	Yunnan	MW724356	Cui et al.(2022)
<i>Tricholoma citrinum</i>	<i>Tricholoma citrinum</i>	MB305716	China	Yunnan	MF034262	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma joachimii</i>	<i>Tricholoma joachimii</i>	BILAS51238	Lituania	-	KY937184	GenBank
<i>Tricholoma joachimii</i>	<i>Tricholoma joachimii</i>	TRgmb00600	Italia	Baselga di Piné, Trentino	LT000106	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma qiaomianjun</i>	<i>Tricholoma qiaomianjun</i> (Holotipo)	KUN-HKAS101303	China	Yunnan	OK036719	Cui et al.(2022)
<i>Tricholoma qiaomianjun</i>	<i>Tricholoma qiaomianjun</i>	KUN-HKAS115901	China	Yunnan	OK036720	Cui et al.(2022)
<i>Tricholoma</i>	<i>Tricholoma</i>	MB305676	China	Yunnan	MF034261	Reschke et al. (2018)

Espece filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>equestre</i>	<i>equestre</i>					
<i>Tricholoma ulvinenii</i>	<i>Tricholoma ulvinenii</i>	H6002036	Finlandia	Satakunta, Jamijarvi, Hameenkangas	LT000067	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	AuFr1	Francia	Lacanau, costa Atlántica,	HM590867	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	AuFr3	Francia	Carcans, Costa Atlántica	HM590869	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	AuJa1	Japón	-	AB289659	Kikuchi et al. (2007)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	AuJa2	Japón	-	AB289660	Kikuchi et al. (2007)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIUs1 (trh545)	EUA	Oregon Dunes National Recreation Area	AF458449	GenBank
<i>Tricholoma columbetta</i>	<i>Tricholoma columbetta</i>	T. columbetta US	Noruega	-	AF349693	Bidartondo y Bruns (2002)
<i>Tricholoma columbetta</i>	<i>Tricholoma columbetta</i>	T. columbetta Po	Portugal	-	EU186277	GenBank
<i>Tricholoma sejunctum</i>	<i>Tricholoma sejunctum</i>	C-F-58979	Italia	Toscana, Cipressa di Agnese	LT000110	Heilmann-Clausen. et al., (2017)
<i>Tricholoma sejunctum</i>	<i>Tricholoma sejunctum</i>	JMP0091	EUA	-	EU819447	Palmer, Lindner, y Volk. (2008)
<i>Tricholoma sejunctum</i>	<i>Tricholoma sejunctum</i>	IZS91	Italia	-	MZ005499	Giusti et al. (2021)
<i>Tricholoma sejunctum</i>	<i>Tricholoma sejunctum</i>	Cht43	EUA	Tennessee	KX358015	Ben Hassine Ben Ali y Garrett Kluthe (2016)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	MushroomObserver.org/237910	México	Nevado de Toluca, Edo. Mex,	MH051999	GenBank
<i>Tricholoma leucophyllum</i>	<i>Tricholoma leucophyllum</i>	UBCOGTR0475s	Canadá	-	EU597086	Jones et al. (2008)
<i>Tricholoma joachimii</i>	<i>Tricholoma joachimii</i>	C-F-96262	Suecia	Gotland	LT000177	Heilmann-Clausen. et al. (2017)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	C-F-59243	Francia	Franche-Comté, Winkel	LT000075	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	DAVFP:26245	Canadá	-	JF899574	GenBank
<i>Tricholoma sinoacerbum</i>	<i>Tricholoma sinoacerbum</i> (Holotipo)	GDGM:44680	China	Provincia de Guangdong, Reserva Nacional Natural Xiangtoushan	KT160219	Hosen et al. (2016)
<i>Tricholoma sinoacerbum</i>	<i>Tricholoma sinoacerbum</i> (Paratipo)	GDGM:44707	China	Provincia de Guangdong, Reserva Nacional Natural Xiangtoushan	KT160220	Hosen et al. (2016)
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma saponaceum</i>	MB<DEU-Marburg>:303042	Ucrania	Uholka-Schyrokyj Luh	MF034315	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma saponaceum</i>	MB<DEU-Marburg>:002682	Austria	Vorarlberg, Kleinwalsertal, Rietzlern	MF034287	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma saponaceum</i>	MB<DEU-Marburg>:305741	China	Yunnan, Borde con Tibet	MF034325	GenBank
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma saponaceum</i>	CWH_MK7	Canadá	-	OQ410962	GenBank
<i>Tricholoma saponaceum</i>	<i>Tricholoma saponaceum</i>	KUN-HKAS 79747	China	Yunnan	MW724335	Cui et al. (2022)

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>Tricholoma intermedium</i>	<i>Tricholoma intermedium</i>	WTU-F-078489	EUA	Crow Creek Rd	OQ987878	GenBank
<i>Tricholoma intermedium</i>	<i>Tricholoma intermedium</i>	Mushroom Observer 248348	EUA	Arizona, Apache Co.	MN319562	GenBank
<i>Tricholoma intermedium</i>	<i>Tricholoma intermedium</i>	WTU-F-073028	EUA	Washington, Bosque Nacional Colville	MZ054353	GenBank
<i>Tricholoma intermedium</i>	<i>Tricholoma intermedium</i>	MQ20-HRL1235-QFB32624	Canadá	Quebec, Amos	MW628078	GenBank
<i>Tricholoma intermedium</i>	<i>Tricholoma intermedium</i>	WTU-F-073014	EUA	Washington, Bosque Nacional Colville Pend Oreille	MW597198	GenBank
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>Tricholoma aestuans</i>	C-F-58885	Suecia	Medelpad, Harraan	LT000153	Heilmann-Clausen. et al. (2017)
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>Tricholoma aestuans</i>	C-F-59265	Dinamarca	Jylland, Haarup Sande	LT000007	Heilmann-Clausen. et al. (2017)
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>Tricholoma aestuans</i>	MO440120	EUA	New Jersey	ON129187	GenBank
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>Tricholoma aestuans</i>	MQ20-HL0600-QFB31075	Canadá	Quebec, Amos, Lac Dudemaine	MW627981	GenBank
<i>Tricholoma aestuans</i>	<i>Tricholoma aestuans</i>	WTU-F-073198	EUA	Oregon, Sand Lake, Tillamook	MW597311	GenBank
<i>Tricholoma arvernense</i>	<i>Tricholoma arvernense</i>	MQ22-YL4388a-CMMF024674	Canadá	Notre-Dame-de-la-Merci	ON256899	GenBank
<i>Tricholoma arvernense</i>	<i>Tricholoma arvernense</i>	DBG:18239	EUA	Colorado, Condado Grand Bosque Nacional Arapahoe	MF034264	Reschke. et al. (2018)
<i>Tricholoma floridanum</i>	<i>Tricholoma floridanum</i>	iNaturalist #19642386	EUA	New Jersey, Costa Atlántica, Parque Estelle Manor	MW582882	GenBank
<i>Tricholoma floridanum</i>	<i>Tricholoma floridanum</i>	FLAS-F-60525	EUA	Florida, Condado Alachua, Parque Gum Root	MH281845	GenBank
<i>Tricholoma floridanum</i>	<i>Tricholoma floridanum</i>	FLAS-F-60212	EUA	-	MF074785	GenBank
<i>Tricholoma fumosoluteum</i>	<i>Tricholoma fumosoluteum</i>	MO440128	EUA	New Jersey	ON129194	GenBank
<i>Tricholoma fumosoluteum</i>	<i>Tricholoma fumosoluteum</i>	MQ22-KEG030-HRL3451	Canadá	Quebec, Kegaska	ON256904	GenBank
<i>Tricholoma fumosoluteum</i>	<i>Tricholoma fumosoluteum</i>	MQ21-CMMF002067	Canadá	Quebec, St-Adolphe-d'How.	ON256895	GenBank
<i>Tricholoma odorum</i>	<i>Tricholoma odorum</i>	S.D. Russell iNaturalist #8804217	EUA	Indiana	MN892576	GenBank
<i>Tricholoma odorum</i>	<i>Tricholoma odorum</i>	NY:03817516	EUA	Massachusetts, Pelham	ON179790	GenBank
<i>Tricholoma odorum</i>	<i>Tricholoma odorum</i>	MQ20-HRL0876-QFB32614	Canadá	Quebec, Ste-Anne-de-Bellevue, Arboretum Morgan	MW628090	GenBank
<i>Tricholoma palustre</i>	<i>Tricholoma palustre</i>	MQ20-HRL2173-QFB32641	Canadá	Quebec, Ste-Anne-de-Bellevue, Arboretum Morgan	MW628111	GenBank
<i>Tricholoma palustre</i>	<i>Tricholoma palustre</i>	PBM 2494 (CUW) Massachusetts	EUA	Massachusetts	DQ494699	Matheny. et al. (2006)
<i>Tricholoma</i>	<i>Tricholoma</i>	IK-00534	Polonia	-	KX610716	GenBank

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>populinum</i>	<i>populinum</i>					
<i>Tricholoma populinum</i>	<i>Tricholoma populinum</i>	IK-00533	Polonia	-	KX610715	GenBank
<i>Tricholoma subluteum</i>	<i>Tricholoma subluteum</i>	MQ19-CMMF003288	Canadá	Quebec, Bromont	MW628131	GenBank
<i>Tricholoma subluteum</i>	<i>Tricholoma subluteum</i>	MQ20-HRL3126-QFB32659	Canadá	Quebec, Saint-Stanislas, Parc Batisca, Murphy, Le Buis	MW628024	GenBank
<i>Tricholoma subluteum</i>	<i>Tricholoma subluteum</i>	MQ20-HL1065-QFB31082	Canadá	Quebec, St-Adolphe	MW627902	GenBank
<i>Tricholoma sulphureum</i>	<i>Tricholoma sulphureum</i>	DED4539	EUA	-	AY462039	Comandini et al. (2004)
<i>Tricholoma sulphureum</i>	<i>Tricholoma sulphureum</i>	MC95-188	Dinamarca	-	AY462038	Comandini et al. (2004)
<i>Tricholoma sulphureum</i>	<i>Tricholoma sulphureum</i>	MC96-245	Dinamarca	-	AY462037	Comandini et al. (2004)

Tabla 6. Secuencias utilizadas para el análisis filogenético, incluyendo las secuencias de diferentes partes del mundo, las de México y las obtenidas en este trabajo (ambas se encuentran en negritas).

9.2 Secuencias utilizadas para el análisis filogenético del complejo *Tricholoma equestre* s.l. y la red de haplotipos

A continuación, en la tabla 7 se presenta una tabla con los datos de las secuencias utilizadas para la generación de la matriz “Complejo *Tricholoma equestre* s.l.”, con los datos de identificación voucher, país de procedencia, localidad, número de ITS y referencias.

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-015	México	Parada del Hongo, Chignahuapan	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 1</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	EA-2008-169	México	La Puerta, Zinacantepec, Edo. Mex.	KT875119	GenBank
<i>Tricholoma equestre 1</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	CB- 2008-0833	México	Agua Bendita, Amanalco, Edo. Mex.	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 1</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2021-006	México	Lagunas de Zempoala, Edo. Mex.	Falta enviar	

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>Tricholoma equestre 1</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-020	México	Parada del Hongo, Chignahuapan	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 2</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	AR-2009-820	México	San Bartolo Amanalco, Edo. Mex.	KT875120	GenBank
<i>Tricholoma equestre 2</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	AR-2009-09794	México	San Juan Amanalco, Edo. Mex.	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	CB-2008-443	México	Corral de Piedra, Amanalco, Edo. Mex.	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2021-002	México	Mercado de Jamaica, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-001	México	Cuajimalpa, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-003	México	Cuajimalpa, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma equestre 3</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	FA-2022-006	México	Mercado de Jamaica, CDMX	Falta enviar	Este trabajo
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	KUN-HKAS87149	China	Yunnan	MW724346	Cui et al.(2022)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	C-F-59188	Suecia	Jamtland, Fillstabacken	LT000168	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	HDT54614	EUA	Nuevo México	AF349689	Bidartondo and Bruns (2001)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	C-F-96227	Eslovenia	Gorizia, Idria	LT000140	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	C-F-59084	Dinamarca	Jylland, Mols	LT000023	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma ulvinenii</i>	<i>Tricholoma ulvinenii</i>	H6002036	Finlandia	Satakunta, Jamijarvi, Hameenkangas	LT000067	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma ulvinenii</i>	<i>Tricholoma ulvinenii</i>	TUR-JuV26740F	Finlandia	Satakunta, Alastaro, Virttaankangas	LT000069	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma ulvinenii</i>	<i>Tricholoma ulvinenii</i>	TUR-JuV13229F	Finlandia	Varsinais-Suomi, Dragsfjard, Olmos	LT000068	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	MB301506	China	Yunnan	MF034239	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	MB305549	China	Yunnan	MF034257	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	KGP52	EUA	-	DQ822834	Peay et al. (2007)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	MushObs#224214	EUA	Indiana, Centerville, Wayne County	MK607484	GenBank

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	KUN-HKAS49645	China	Yunnan	MW724470	Cui et al.(2022)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	Auja3	Japón	-	AB289663	Kikuchi et al. (2007)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	Auja4	Japón	-	AB289662	Kikuchi et al. (2007)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	MC96155	Dinamarca	Jylland, Bakkerne near Oersted	LT000020	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	EqFr1	Francia	-	HM590870	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	C-F-58886	Dinamarca	Jylland, Hoverdal Plantage	LT000018	Heilmann-Clausen et al. (2017)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP35	Portugal	-	EU186305	GenBank
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	AuFr2	Francia	Mont-de-Marsan Sur de Francia	HM590868	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	AuFr3	Francia	Carcans, Costa Atlántica	HM590869	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	AuJa1	Japón	-	AB289659	Kikuchi et al. (2007)
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	AuJa2	Japón	-	AB289660	Kikuchi et al. (2007)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	EqFr3	Francia	Puy-de-Dome	HM590872	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	EqNo	Noruega	-	AJ236081	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	EqPo	Portugal	-	EU186278	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i> var. <i>populinum</i>	<i>Tricholoma equestre</i> var. <i>populinum</i>	EqFrPop	Francia	Haut-Rhin	HM590875	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	FrFr FrFr	Francia	-	JF896232	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FlCar	Canadá	Columbia Británica	HQ650740	Kranabetter et al. (2009)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIUs1 (trh545)	EUA	Oregon Dunes National Recreation Area	AF458449	Horton (2002)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIUs2 (trh546)	EUA	Oregon Dunes National Recreation Area	AF458452	Horton (2002)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIUs3	EUA	-	AF377181	Bidartondo y Bruns (2002)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIPo1 (AP25)	Portugal	-	EU186297	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIPo2 (AP21)	Portugal	-	EU186294	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIPo3 (AP40)	Portugal	-	EU186310	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	FIPo4 (AP33)	Portugal	-	EU186304	GenBank
<i>Tricholoma sp</i>	<i>Tricholoma sp</i>	UmpII2r3	EUA	-	AF377180	Bidartondo y Bruns (2002)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	MB<DEU-Marburg>:3056	China	Yunnan, Shangri-La	MF034261	Reschke et al. (2018)

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
		76				
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	MushroomObserver.org/237910	México	Nevado de Toluca, Edo. Mex,	MH051999	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	DBG:18376	EUA	Colorado, Grand County, Arapaho National Forest	MF034267	Reschke. et al. (2018)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	TRTC156996	Canadá	Ontario, Wildlife Research Station	JN021104	Dentinger <i>et al.</i> (2011)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	DBG:23922	EUA	Colorado, Clear Creek County, Arapaho National Forest, Pense Mountain	MF034203	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma sp</i>	<i>Tricholoma sp</i>	PerCr2339	EUA	-	AF349690	Bidartondo y Bruns (2002)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	MB<DEU-Marburg>:301979	China	Yunnan, Yulong Xue Shan	MF034245	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	MB<DEU-Marburg>:302008	China	Yunnan, Yulong Xue Shan	MF034308	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	MB<DEU-Marburg>301993	China	Yunnan, Yulong Xue Shan	MF034247	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	DBG:23967	EUA	Colorado, Boulder County, Roosevelt National Forest, Fourth-of-July Road	MF034204	Reschke et al. (2018)
<i>Tricholoma sp</i>	<i>Tricholoma sp</i>	WYOM1.1	EUA	-	AF377179	Bidartondo y Bruns (2002)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	4458	Canadá	-	KJ705260	GenBank
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	1259	Turquía	Balikesir	KY121108	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	EqFr2	Francia	Puy-de-Dome	HM590871	Moukha et al. (2013)
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	C-F-59395	Suecia	Jamtland, Kyckaas	LT000169	GenBank
<i>Tricholoma frondosae</i>	<i>Tricholoma frondosae</i>	WA0000052278	Polonia	-	KX756437	Kasper-Pakosz <i>et al.</i> (2016)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	TENN:062900	Suecia	Orebro, Hidinge Socken, Klunkhytte Skans Reserva Natural	KU058513	Sanchez-Garcia y Matheny (2015)
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	UP601	Suecia	-	EF493263	Nygren (2008)
<i>Tricholoma equestre var. equestre</i>	<i>Tricholoma equestre var. equestre</i>	2352-QFB-25619	Canadá	-	KJ705258	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	DAVFP:26245	Canadá	-	JF899574	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	1122	Canadá	-	KJ705259	GenBank
<i>Tricholoma ulvinenii</i>	<i>Tricholoma ulvinenii</i>	UBC F-30896	Canadá	British Columbia, Graham Island,	MF955179	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	trh894	EUA	Oregon Dunes National Recreation Area	AF458450	GenBank
<i>Tricholoma</i>	<i>Tricholoma</i>	trh901	EUA	Oregon Dunes	AF458451	GenBank

Especie filogenética	Identificación del voucher	Voucher	País	Localidad	ITS No.	Referencia
<i>flavovirens</i>	<i>flavovirens</i>			National Recreation Area		
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	trh1000	EUA	Oregon Dunes National Recreation Area	AF458453	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	trh1023	EUA	Oregon Dunes National Recreation Area	AF458454	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP38	Portugal	-	EU186308	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP26	Portugal	-	EU186299	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	DG26	Escocia	Bosque Culbin	JQ888216	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP31	Portugal	-	EU186303	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP28	Portugal	-	EU186300	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP12	Portugal	-	EU186286	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP20	Portugal	-	EU186293	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP17	Portugal	-	EU186291	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	WA0000052268	Polonia	-	KX756435	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	WA0000071006	Polonia	Mazovia	MK028869	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	1181	Turquía	Mugla	KY121110	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	1119	Turquía	Balikesir	KY121109	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP24	Portugal	-	EU186296	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP13	Portugal	-	EU186287	GenBank
<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre</i>	WA0000052269	Polonia	-	KX756436	Kasper-Pakosz <i>et al.</i> (2016)
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP16	Polonia	-	EU186290	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP9	Portugal	-	EU186284	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP36	Portugal	-	EU186306	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP23	Portugal	-	EU186295	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP1	Portugal	-	EU186298	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP29	Portugal	-	EU186301	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP3	Portugal	-	EU186282	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP7	Portugal	-	EU186283	GenBank
<i>Tricholoma flavovirens</i>	<i>Tricholoma flavovirens</i>	AP44	Portugal	-	EU186313	GenBank
<i>Tricholoma auratum</i>	<i>Tricholoma auratum</i>	Tk6 clone2	Japón	-	AB289661	Kikuchi <i>et al.</i> , (2007)

Tabla 7. Secuencias utilizadas para el análisis de redes de haplotipos, solo con las secuencias del complejo *T. equestre* de México (se encuentran en negritas) y otras partes del mundo.

9.3 Análisis filogenético de las especies amarillas de *Tricholoma*

Se obtuvieron 22 secuencias de ITS que corresponden a ocho especies de tricolomas amarillos comestibles a la venta en mercados o recolectados por hongueros. En ambos árboles se distingue el clado que se denominó como *Tricholoma equestre* s.l, donde se asume que existen especies del complejo *Tricholoma equestre* en México con *T. equestre* 1 y 2, además de *T. flavovirens* que se separa en un clado distinto al de las anteriores secuencias. También se encontró coincidencia nucleotídica con especies fuera del complejo como *T. aestuans*, *T. intermedium*, *T. saponaceum* y *T. sinoacerbum*. En la topología (Figura 10), se eligió como grupo externo a *Tricholoma fumosoluteum*, representado por tres secuencias norteamericanas (número de acceso de GenBank ON256904, ON256895 y ON129194). Más adentro del árbol, se formó un gran clado donde se encuentra una secuencia mexicana del suelo (GMSC *T. squarrulosum*) junto con secuencias de *Tricholoma arvernense*. De este, se deriva un grupo que contiene a *Tricholoma populinum*.

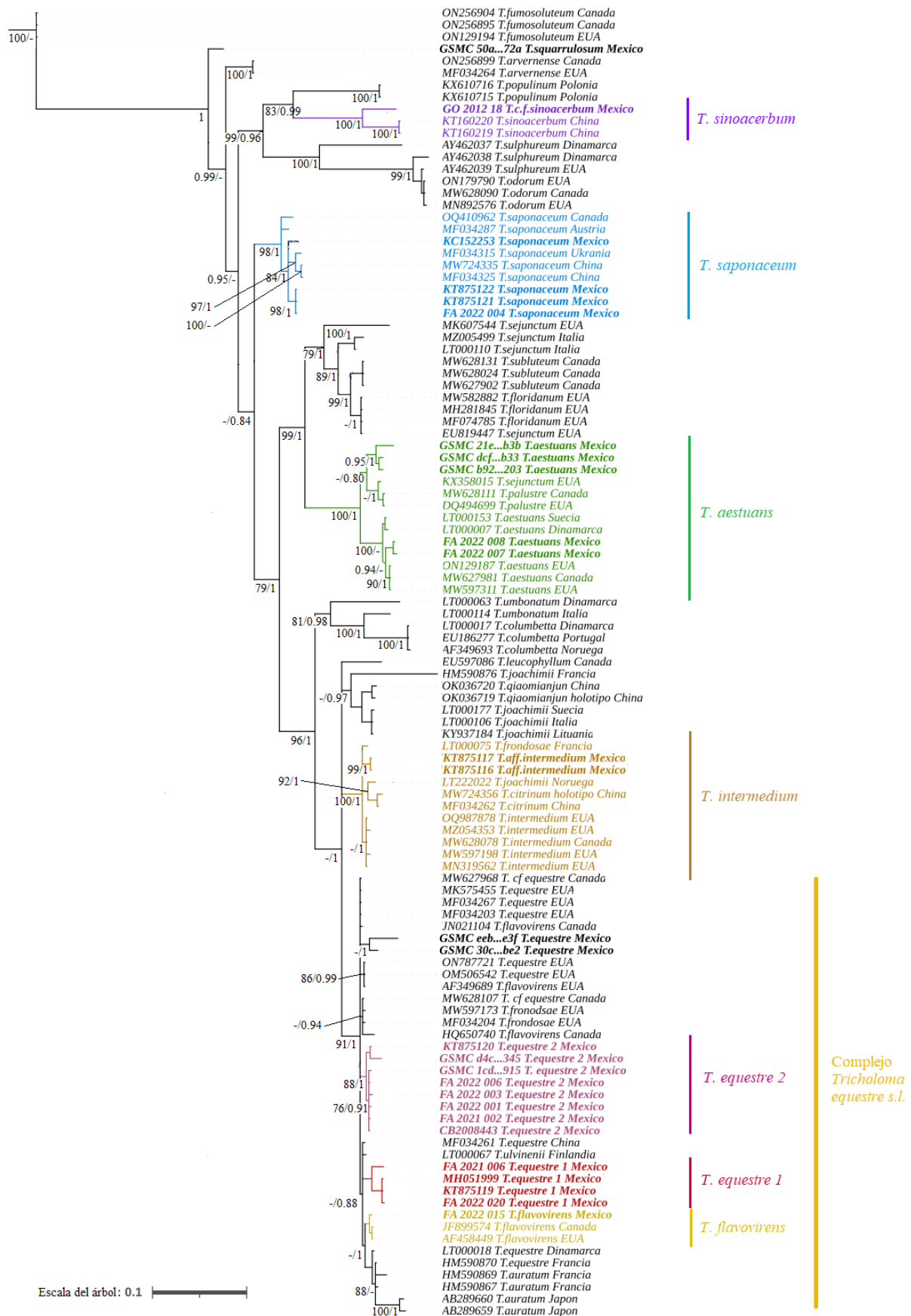


Figura 10. Topología obtenida a partir del análisis filogenético de la región obtenido con PhyML y un análisis bayesiano. Se presentan los valores de soporte de máxima verosimilitud y probabilidad posterior de los nodos correspondientes. Se observan en negritas las muestras mexicanas con voucher y las muestras del suelo. El gran clado marcado con color amarillo, hace referencia al complejo *Tricholoma equestre* s.l.

Por otro lado, las secuencias mexicanas provenientes de esporomas, se agruparon entre ellas con la excepción de la secuencia GO-2012-18. Esta última, se agregó con secuencias de la especie china *Tricholoma sinoacerbum* en uno de los clados más externos, representado de color morado. Se le dio el nombre de *Tricholoma* c.f. *sinoacerbum* ya que la secuencia mexicana es similar, pero con diferencias que la separan de la especie china (valores de soporte 83% de máxima verosimilitud (MV) y mediante el método bayesiano 0.99 de probabilidad posterior (PP)).

El siguiente clado se observa de color azul y contiene únicamente secuencias de *Tricholoma saponaceum*, con las que se agrupa la secuencia mexicana KC152253 (MV de 98 % y 1 de PP). De este gran clado se deriva otro donde se agruparon tres secuencias mexicanas KT875121, FA 2022 004 y KT875122 (98% de MV y 1 de PP). Se le dio el nombre de *Tricholoma saponaceum*. Posteriormente, se formó un clado que contiene otros dos clados (99% de MV y 1 de PP). En el primero contiene un grupo de secuencias de la especie *Tricholoma sejunctum* (79% de MV y 1 de PP). Del mismo se desprende otro clado con secuencias identificadas como *Tricholoma subluteum* y *Tricholoma floridanum* (99% de MV y 1 de PP). En este clado, no se encuentra ninguna secuencia mexicana.

A este clado, le sigue otro de color verde, conformado principalmente por secuencias de *Tricholoma aestuans* (100% MV y 1 de PP). A su vez, contiene un clado donde se encuentran las secuencias del suelo mexicanas GSMC_21e...b3b, GSMC_b92...203 y GSMC_dcf...b33 (sin soporte de MV y 0.95 de PP). Dentro del mismo clado verde, se encuentra un grupo que contiene dos secuencias provenientes de ejemplares mexicanos: FA 2022 007, y FA 2022 008, que recibieron el nombre de *Tricholoma aestuans* (100% de MV y sin soporte de PP). Por otro lado, más adentro del árbol hay una segunda agrupación en donde se encuentran secuencias bajo el nombre de *Tricholoma columbetta*, la nueva especie china *Tricholoma qiaomianjun* y secuencias de *Tricholoma joachimii* (81% de MV y 0.98 de PP). Dentro de otro gran clado se encuentran las secuencias de *Tricholoma intermedium* (100% de MV y 1 de PP). También en

este clado se observa otro grupo con la especie china de nombre *T. citrinum* y un clado más donde se encuentran las secuencias mexicanas (KT875116 y KT875117) que debido a la cercanía que tienen con las especies antes mencionadas, se nombraron como *Tricholoma aff. intermedium*.

Finalmente, hay un gran tercer clado de color amarillo, se reconoció como el complejo *Tricholoma equestre s.l.* En este clado aparecen dos secuencias mexicanas del suelo (GSMC eeb...e3f *T. equestre* y GSMC 30c...be2 *T. equestre*), sin agruparse con secuencias de esporomas. Después se conformó un clado donde se forman dos grupos que podrían representar nuevas especies del complejo (83.2% de MV y 0.99 de PP). El primer grupo contiene una secuencia ambiental y dos secuencias de ejemplares mexicanos (GSMC_d4c...345, KT875120 y AR200909794), a los cuales se les asignó el nombre de clado *Tricholoma equestre s.l. 2*.

El grupo más cercano contiene secuencias mexicanas provenientes de ejemplares, pero también una secuencia del suelo (FA 2021 002, FA 2022 001, FA 2022 003, FA 2022 007, CB2008443 y GSMC_1cd...915). A este grupo se le asignó el nombre de *Tricholoma equestre s.l. 2*. A partir de aquí, se formó un segundo clado que contiene un grupo que tiene secuencias de los ejemplares mexicanos: KT875119, MH051999, FA 2022 020 y FA 2021 006 (83.6% de MV y 0.99 de PP). En este caso, se le nombró como el clado *Tricholoma equestre s.l. 1*. Finalmente, el último clado del árbol, está formado por dos grupos. El primero, compuesto por secuencias norteamericanas nombradas como *Tricholoma flavovirens* (0.74% de MV y 1 de PP). Con estas, se agrupó la secuencia mexicana FA 2022 015, a la que también denominamos como *T. flavovirens*. Cercano a este último, se encuentra el segundo clado de *Tricholoma auratum*, donde se encuentran principalmente secuencias japonesas y europeas (sin soporte de MV y 1 de PP).

9.4 Análisis filogenético del complejo *Tricholoma equestre s.l.*

A continuación, se muestra en la Figura 11, la topología resultante del análisis filogenético realizado con las secuencias del complejo *Tricholoma equestre s.l.* Se obtuvieron en total seis clados del complejo compuestos por *Tricholoma equestre s.s.*, *Tricholoma auratum*, *Tricholoma flavovirens*, *Tricholoma frondosae*, *Tricholoma equestre 1* y *Tricholoma equestre 2*.



Figura 11. Árbol filogenético de la región ITS obtenido a partir de un análisis bayesiano del complejo *Tricholoma equestre*, con el modelo GTR: Se observan en negritas las muestras con voucher mexicanas.

El árbol obtenido se realizó tomando como grupo externo a la especie china *Tricholoma citrinum* (holotipo: MW724356) y todas las secuencias a nivel mundial referenciadas en trabajos anteriores del complejo *Tricholoma equestre*. En la topología del árbol se muestra el gran clado amarillo denominado *T. equestre s.l.*, del que se desprende una serie de secuencias con diferentes nombres en peine, donde se encuentran las secuencias de referencia de las especies *T. intermedium*, *T. citrinum* y *T. joachimii*. Posteriormente aparecen otros dos clados, compuestos únicamente con secuencias mexicanas, que ya habían sido identificados en el primer análisis de los tricolomas amarillos: *T. equestre* 1 (78% de MV y 0.99 de PP) y *T. equestre* 2 (sin soporte de MV y 1 de PP).

Entre los clados anteriores, se generó otra agrupación, que contiene secuencias de lo que se identificó como *T. frondosae* proveniente de China principalmente (86% de MV y 0.99 de PP). Por otro lado, más adentro del árbol se formó un gran clado (sin soporte de MV y 1 de PP) que contiene a su vez dos grandes grupos. El primero, contiene una serie de secuencias que se encuentran principalmente bajo el nombre de *T. flavovirens* provenientes de EUA, Canadá y México principalmente (79% de MV y 1 de PP); además de las secuencias norteamericanas, hay algunas secuencias de *T. equestre* procedentes de China y dos casos de *T. ulvinenii* de Canadá y Finlandia.

Finalmente se generó un último gran grupo (sin soporte de MV y 1 de PP), donde se encuentran dos clados en peine. El primero es un conjunto de secuencias únicamente europeas, al que denominamos para este trabajo como *T. equestre s.s* (70% de MV y sin soporte de PP). En su mayoría, se encuentran identificadas bajo el nombre de *T. equestre* y *T. flavovirens*, aunque también se encuentran algunos con el nombre de *T. auratum*. De este mismo gran grupo, se separa un clado de secuencias de Japón y China que llevan el nombre de *T. auratum* (100 de MV y 1 de PP). En este último clado hay solo una secuencia con un nombre distinto, identificada como *T. equestre* y proviene de China (MW724470).

9.5 Red de Haplotipos del complejo *Tricholoma equestre*

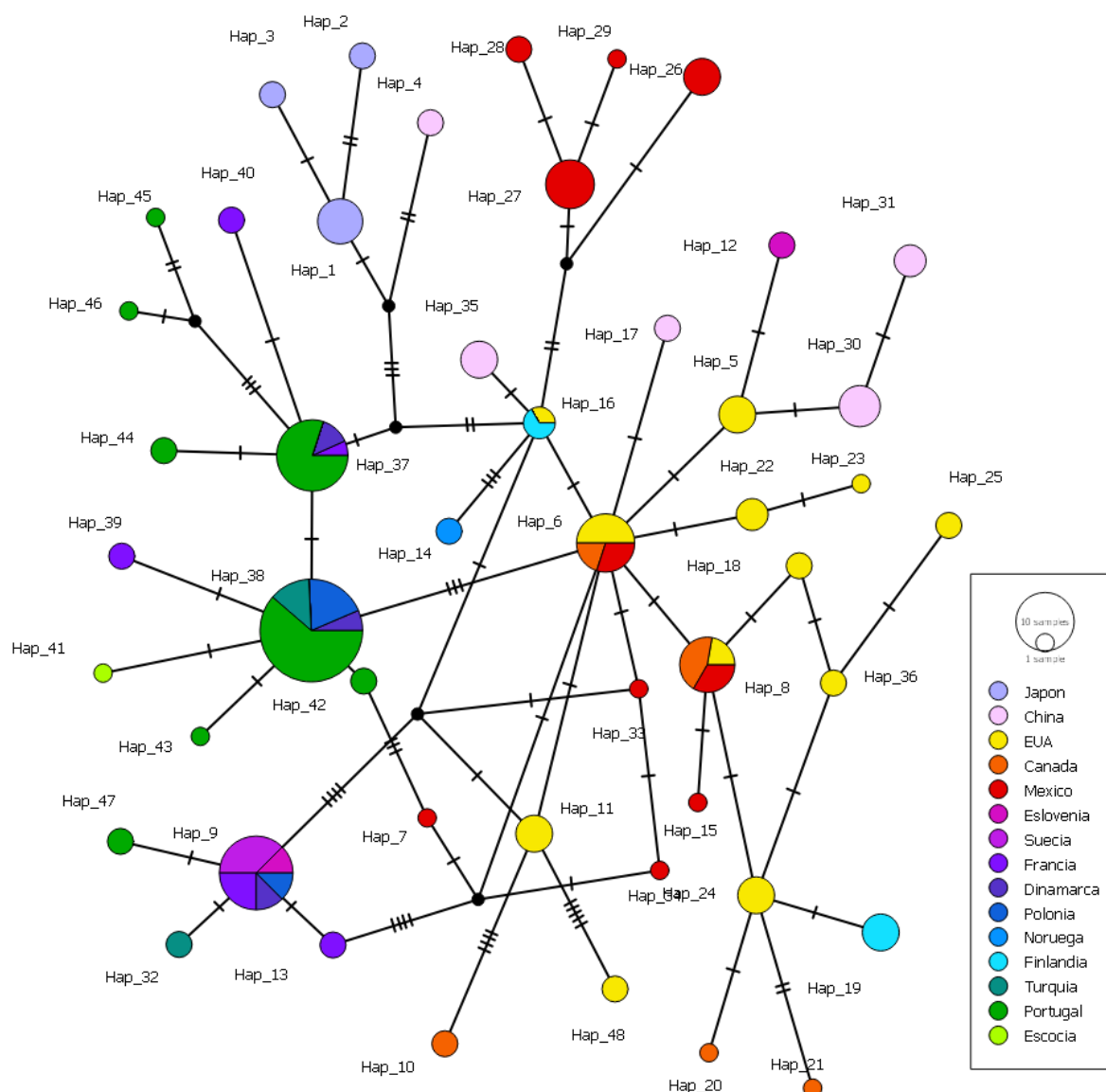


Figura 12. Red de 48 haplotipos detectados para la región ITS del complejo *Tricholoma equestre* s.l. ordenados en una clave de color, por país de procedencia. Las pequeñas líneas transversales de la red, representan una mutación. Los círculos de colores representan un único haplotipo y son proporcionales al número de secuencias que poseen dicho haplotipo.

Los puntos negros representan haplotipos perdidos o no muestreados

Con el análisis de redes de haplotipos realizado en PopArt, se encontraron en total 48 haplotipos en las secuencias dentro de lo que se consideró como el complejo *Tricholoma equestre* s.l. (Figura 12). De manera general, se distinguen una serie de grandes grupos de haplotipos: De

colores rosas intensos a verdes, se agruparon los provenientes de secuencias de Europa central principalmente. Estos haplotipos representan secuencias provenientes de países como Portugal, Francia, Dinamarca, Polonia o Suecia.

En la figura 12 se distingue también un gran grupo norteamericano de colores amarillo, naranja y rojo que provienen de EUA, Canadá y México. Al igual que el caso europeo, de manera general se agrupan entre ellos. No obstante, hay un caso donde se segregan cuatro haplotipos de procedencia únicamente mexicana. Por otro lado, el Hap_7 de origen mexicano se ve relacionado directamente con el Hap_42 procedente de Portugal. En colores rosa y lila pastel, se representó al grupo conformado por haplotipos de Japón y China, los cuales están claramente separados del resto.

Finalmente, el gran grupo central donde se encuentran la mayoría de las conexiones entre los haplotipos. El haplotipo central de este gran grupo: Hap_6 es el que tiene más conexiones, por lo que se consideraría como un haplotipo ancestral. Este haplotipo es norteamericano y de él se deriva Hap_16, el haplotipo que está presente en secuencias americanas (procedentes de EUA) y europeas (procedentes de Finlandia). En Norteamérica y Europa es donde se encuentra la mayor diversidad de haplotipos.

9.6 Descripciones morfológicas de los clados mexicanos

Los siete clados (*T. cf. sinoacerbum*, *T. saponaceum*, *T. aestuans*, *T. intermedium*, *T. flavovirens*, *T. equestre 1* y *T. equestre 2*) provenientes de secuencias mexicanas que se obtuvieron en los análisis filogenéticos, se describen a continuación a partir de las observaciones al microscopio y las descripciones de los ejemplares en fresco.

Tricholoma cf. sinoacerbum Hosen, M. I., Li, T. H., Li, T., Zhong, X. J., y Chen, Y.

Caracteres macromorfológicos. Basidiomas con píleo liso, forma y tamaño n/d. Láminas semiadheridas, delgadas y muy juntas. Estípites fibriloso, subclavado de consistencia carnosa-fibrosa. Sabor amargo, olor a humedad o tierra mojada.

Caracteres micromorfológicos. Pileipellis compuesta por hifas en un arreglo paralelo y ligeramente entretrejido de 3 a 4 μm , de forma cilíndrica, rojizas en la superficie (Figura 13). Generan conglomerados en el centro del píleo, formando escamas. Trama himenoforal paralela con hifas dispuestas en un arreglo notablemente compacto. Basidios clavados, hialinos, de

pared delgada, con cuatro a dos esterigmas de 15-20 x 4-7 μm (Figura 19). Basidiosporas elipsoides de pared delgada con tonalidades ligeramente amarillo-verdosas, de 4.1-6.1 x 2.0-4.1 μm y un $Q = 1.7$. No presenta cistidios en el himenio ni reacciones positivas con KOH.

Hábitat y comestibilidad. No se reporta como un hongo comestible y fue recolectado durante el mes de julio en un bosque de *Abies religiosa*.

Material revisado. Estado de México, El Zarco, Bosque de *Abies religiosa*, 16 de julio de 2012, Garibay-Orijel Roberto (GO-2012-18).

Comentarios taxonómicos

Información filogenética. La especie china *Tricholoma sinoacervum*, que fue la más cercana en la filogenia a la secuencia mexicana (GO-2012-18), por lo cual se determinó como *Tricholoma cf. sinoacervum*; esta especie no es parte del complejo *Tricholoma equestre s.l.* La especie china se encuentra dentro de la sección Megatracholoma (Hosen *et al.*, 2016). Está estrechamente relacionada con *Tricholoma acervum* (de Europa), *Tricholoma japonicum* (del este asiático) y *Tricholoma roseoacervum* (de Norteamérica) conformando un clado (92% de MV y 1 de PP). De estas tres, *T. acervum* en los análisis filogenéticos es su especie más cercana y con la que se asemeja morfológicamente. Este grupo de especies tienen una distribución geográfica específica que se ha propuesto como una herramienta para diferenciarlas (Hosen *et al.*, 2016). Este clado no es cercano a *Tricholoma equestre s.l.*, sin embargo, se incluyó dentro de este estudio al ejemplar GO-2012-18 debido a que la morfología es muy similar a la del complejo. El clado que formó con la especie china tuvo buenos valores de soporte (100 % de MV y 1 de PP).

Caracteres macromorfológicos. *T. cf. sinoacervum* se parece a *T. sinoacervum* y a *T. acervum* en las coloraciones amarillas del píleo, láminas y estípites, así como en la coloración marrón en el centro del píleo presentada por ejemplares maduros. A su vez, *Tricholoma sinoacervum* solo se diferencia en su morfología de *T. acervum*, ya que en que el margen del píleo es débilmente curvado. Sin embargo, una característica que permite diferenciar a la especie mexicana de las otras dos, es el sabor, ya que el epíteto “acervum” significa acre, amargo o agrio, la cual comparten *T. acervum* y *T. sinoacervum*, pero no el ejemplar mexicano. Esta es también una característica importante de la especie, que lo diferenciaría de los hongos del complejo “equestre” que presentan usualmente un aroma suave y farináceo.

Caracteres micromorfológicos. Otra de las diferencias entre *T. sinoacervum* y el ejemplar mexicano es la pileipellis, ya que es una tricotermis donde las células están dispuestas de manera perpendicular al contexto del hongo y se indica que son de tipo gelatinoso al mencionar que son ixotricodermos. Por otro lado, en el ejemplar mexicano se reconoce un arreglo paralelo y ligeramente entretelado en vez de perpendicular, con coloraciones rojizas en las hifas más superficiales.

Así mismo, el tamaño de las basidiosporas en los ejemplares de *T. cf. sinoacervum* de México (4.1-6.1 x 2.0-4.1 μm), en comparación a la especie *T. acervum* (5.2-6.2 x 3.5-4.5 μm), como en el caso de *T. sinoacervum* (4-5 x 3.5-4 μm), se encuentra en un amplio rango de tamaño, que podría incluir a la especie china y la europea. No obstante, la medida Q de las basidiosporas difiere considerablemente entre especies. El ejemplar mexicano tiene una Q de 1.7 que entra en la descripción de espóra elipsoide. Por el contrario, *T. sinoacervum* tiene una Q de 1 a 1.18 que las coloca en una clasificación de basidiosporas globosas y *T. acervum* tiene una Q que va de 1.1 a 1.5, lo que le confiere la característica de basidiosporas globosas a elipsoides.

En cuanto a los basidios, son clavados, hialinos de pared delgada y por lo general con 4 a 2 esterigmas. Sin embargo, en la especie china se aclara que también puede presentar 3. En cuanto a los nuevos caracteres que se encontraron en la revisión microscópica, ambos son similares en el sentido de que no presentan cistidios incrustados en el himenio. Tampoco tienen algún tipo de reacción química en presencia de KOH.

Hábitat y comestibilidad. El hábitat de la especie china se da en regiones subtropicales en árboles de hoja ancha y perenne, mientras que el ejemplar mexicano proviene de un bosque de *Abies religiosa*. En ambos casos, no se reporta como un hongo comestible, pero tiene características en su esporoma que lo hacen muy similar a los ejemplares del complejo equestre.

Resumen taxonómico. *Tricholoma cf. sinoacervum* es cercana filogenéticamente con la especie china (Figura 10). Presenta coloración amarilla que puede ser semejante a *Tricholoma sinoacervum*, pero se diferencia de la misma porque no presenta un sabor acre. Sus basidiosporas son elipsoides (4.1-6.1 x 2.0-4.1 μm) y no globosas. Su pileipellis es paralela y no presenta ixotricodermos. En cuanto a sus hospederos, la especie china crece en regiones

subtropicales en árboles de hoja ancha y perenne, mientras que el ejemplar mexicano proviene de bosques de *Abies religiosa*, especie nativa de México.

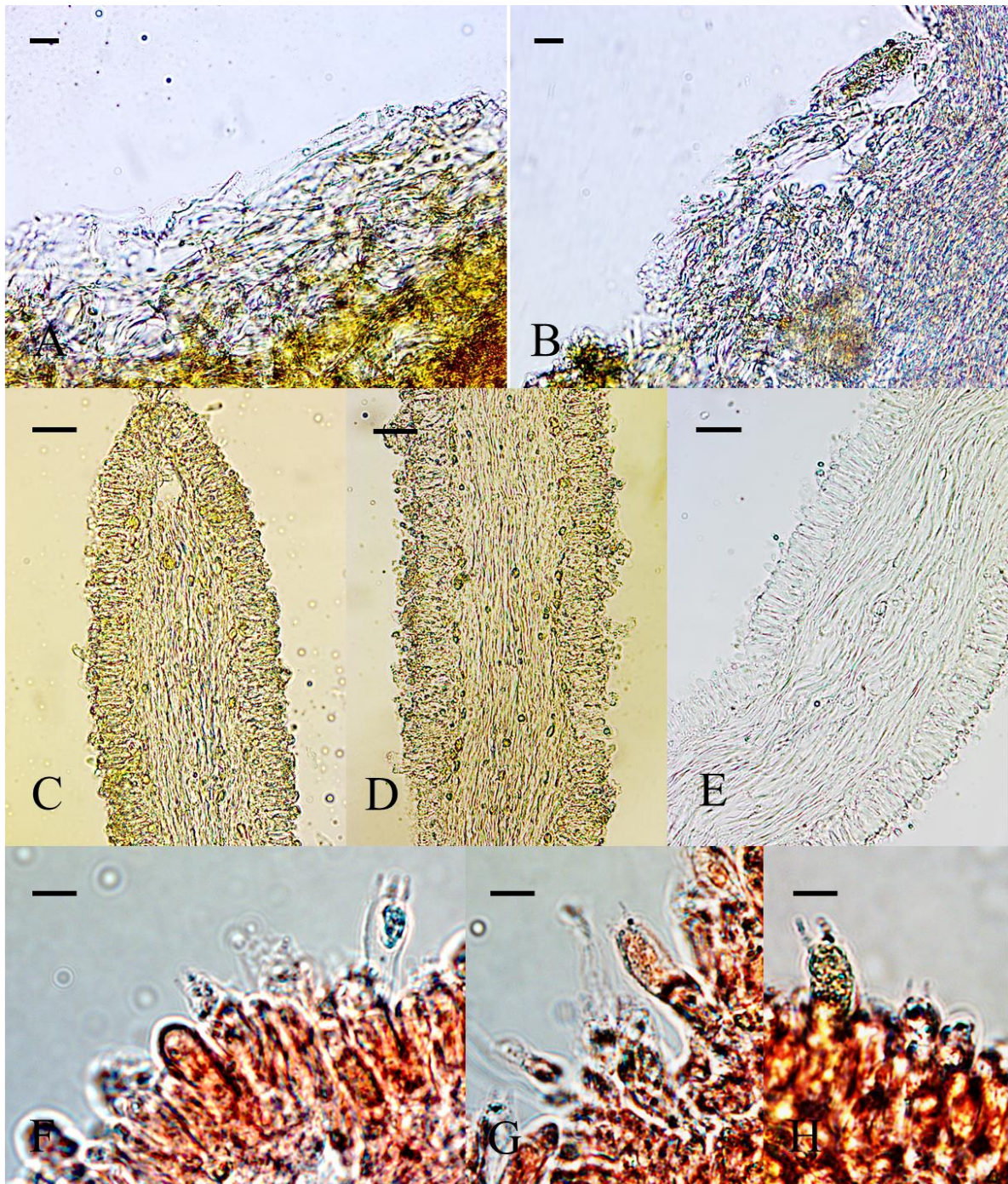


Figura 13. Microscopía de *T. cf. sinoacerbum*: A) Pileipellis observada en H_2O , Barra= 10 μm ; B) Pileipellis observada en KOH, Barra= 10 μm ; C) y D) Cortes de la lámina observada en H_2O , Barra= 20 μm ; E) Corte de la lámina observada KOH, Barra= 20 μm ; F), G) y H) Basidios observados en H_2O teñidos con rojo congo, Barra= 6 μm .

Tricholoma saponaceum (Fr.) P. Kumm, sensu Trudell, S. A. V., Bessette, A. R., y Roody, W. C.

Caracteres macromorfológicos. Píleo de campanulado a plano-convexo conforme madura el esporoma y siempre umbonado (Figura 14). El margen es de recto a decurvado y en algunos esporomas puede presentarse desgarrado por el maltrato. La superficie del píleo es cerosa, ligeramente fibrilosa o con escamas grisáceas. Tiene tonalidades de ocre a marrones sobre todo en el umbo. Sus láminas son de color amarillo crema, de adnadas a sinuadas, lisas en los bordes, juntas y anchas. Su estípite es cilíndrico y puede llegar a ser robusto, de coloraciones crema, sin ornamentación y en algunos casos puede presentar coloraciones anaranjadas cerca de la base. Su contexto es de color blanco y así permanece después del maltrato. Es entre fibroso y carnoso-esponjoso al centro. Tiene un aroma frutal, ligeramente farináceo y en ocasiones agrio. Su sabor puede ser muy sutil, pero también en ocasiones puede adquirir un ligero sabor picante con el paso del tiempo.

Carácteres micromorfológicos. Pileipellis compuesta por hifas cilíndricas dispuestas en un arreglo paralelo, presentan coloraciones ligeramente marrón-anaranjadas, y de 5 a 7 μm de ancho y no presentan cambios en presencia de KOH, presentan fíbulas (Figura 15). Su trama himenoforal es paralela, y tiende a ser ligeramente ondulada. Hifas de la trama de pared delgada, hialinas y sin ornamentación. Puede presentar una leve diferencia en el grosor de las hifas que en el centro tienden a ser más globosas. Basidios clavados, de pared delgada, sin ornamentación y ligeramente amarillentos. Por lo general tienen de cuatro esterigmas a dos, de 18-27 x 6-8 μm (Figura 19). Basidiosporas elípticas, hialinas, lisas y de pared delgada, de 4.1-6.1 x 2.0-4.1 μm , con un Q de 1.6. No presentan cistidios en el himenio o pileipellis, ni tampoco cambios de coloración en presencia de KOH.

Hábitat y comestibilidad. Se trata de hongos recolectados a finales del mes de agosto en bosques de *Pinus*, *Abies* y *Pinus-Abies*. Se reportó como comestible en la Feria del Hongo de Cuajimalpa, Ciudad de México.

Material revisado. Tlaxcala, Parque Nacional la Malinche, Bosque de *Pinus-Abies*, Bruns Thomas D., MEXU 26281, (TDB-2010-MEX-15); Estado de México, Raíces, Zinacantepec, Bosque de *Pinus*, Salgado-Hernández, MEXU 26690, (HC-PNNT-280); Estado de México, Las Peñas, Amanalco, Bosque de *Abies*, Burrola-Aguilar, MEXU 26281 (-2008-203) y Ciudad de México, Feria del Hongo de Cuajimalpa, Fernández-Armendáriz, MEXU 30394, (FA-2022-004).

Comentarios taxonómicos

Información filogenética. *Tricholoma saponaceum*, al igual que *T. sinoacerbum*, no se encuentra dentro de la sección *Tricholoma* del género *Tricholoma*. Esta especie de tricholoma amarillo, se encuentra dentro de la sección *Contextocutis*, junto con especies como *Tricholoma rapipes*, *Tricholoma sudum* y *Tricholoma boudieri* (Hosen *et al.*, 2016). De esta sección, solo *T. saponaceum* y *T. rapipes* son hongos que presentan coloraciones amarillentas que se pueden asemejar a las del complejo *T. equestre* s.l. (Hosen *et al.*, 2016). En el análisis filogenético de este trabajo, se encuentran las secuencias mexicanas (TDB-2010-MEX-15, HC-PNNT-247, CB-2008-203 y FA-2022-004) junto con secuencias de *T. saponaceum* de diversas partes del mundo, formando un clado con buenos valores de soporte (98 de MV y 1 de PP). Otras especies cercanas filogenéticamente son *Tricholoma olivaceum* o *Tricholoma atosquamulosum*, pero debido a que no poseen coloraciones amarillentas, sino marrones y grisáceas, no se podrían confundir morfológicamente con un tricholoma amarillo, como es el caso de *T. saponaceum*.

Caracteres macromorfológicos. En comparación con el *T. saponaceum* descrito en Europa, *T. rapipes* suele verse con tendencias a los marrones y grises en su coloración, diferentes a las del complejo, mientras que *T. saponaceum* tiende a verse con verdes-oliváceos (Kuo, 2019). Esta especie se caracteriza por una apariencia altamente variable, por lo que se han descrito muchas variedades, empero se ha puesto en duda si realmente se trata de entidades discretas. A pesar de que hay características que lo podrían diferenciar de otros tricolomas, como las coloraciones rosadas-anaranjadas o su sabor y aroma jabonoso, se ha observado que ninguno de estos caracteres se presenta en todas sus colecciones.

La descripción de los ejemplares FA-2022-004 (Figura 13) y de TB-2010-MEX-15 coincide con la de *T. saponaceum* en una forma del píleo plano-convexa y umbonada, con márgenes decurvados, en su mayoría enteros. La textura de píleo es cerosa, con tonalidades ocre y marrón en el umbo. En su mayoría, los esporomas presentan un gran número de escamas o fibrillas en toda la superficie. Lo que se conserva de los estípites en los ejemplares provenientes de etnocollectas, indica que son cilíndricos. También es importante destacar que, además de presentar coloraciones amarillo-crema, tienen las tonalidades anaranjadas cercanas a la base, lo que coincide con algunas descripciones de *T. saponaceum* en la literatura.

Una especie muy similar en cuanto a morfología, es *Tricholoma floridanum*. Trudell *et al.* (2013) mencionan que puede diferenciarse por las coloraciones anaranjadas o rosadas que tiene *T. saponaceum* en la base del estípite. No obstante, aquí no es posible corroborar esto ya que además de que no es un carácter constante en la especie, nuestras recolectas fueron obtenidos de hongueras que cortaron la base de los estípites de la mayoría de los esporomas. Además, los hongos no se encontraban tan frescos y completos debido a los traslados, por lo que se perdieron algunos caracteres morfológicos.

En el caso del contexto, éste se presentó entre fibroso y esponjoso con un aroma y sabor farináceo-frutal a ligeramente picoso, pero no jabonoso. La característica de ser ligeramente picante con el paso del tiempo, nos puede remitir a la especie *Tricholoma fumosoluteum*. Esta se trata de un tricholoma similar, de color marrón-amarillento. Suele tener un umbo más oscuro y se caracteriza por tener un aroma no distintivo y un sabor levemente picante. Esta especie es muy común en Norteamérica y su comestibilidad es desconocida.

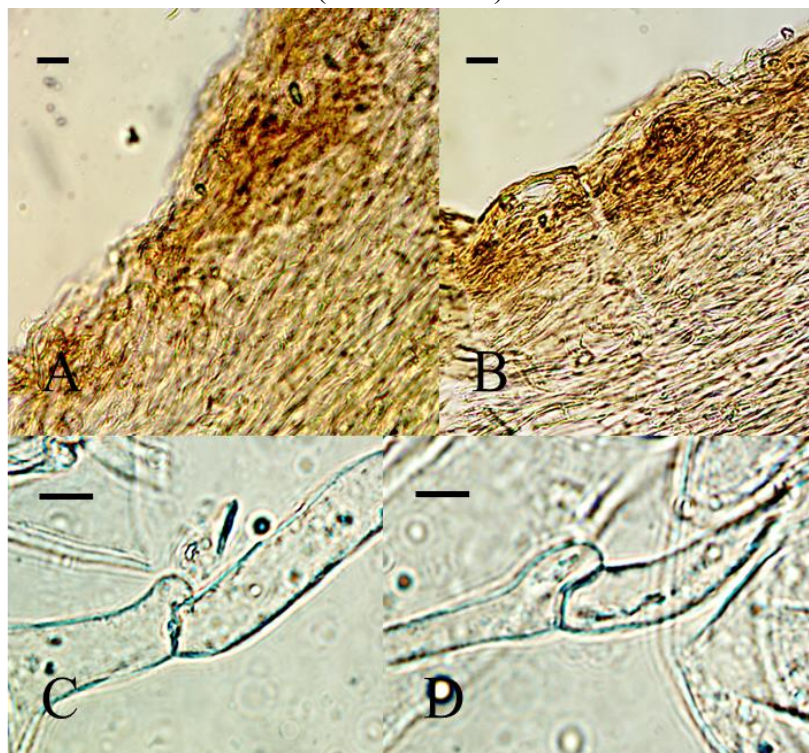
Caracteres micromorfológicos. Las descripciones en la microscopía de todos los ejemplares, son similares. Ninguno presenta cistidios y tienen una característica en común, que es la trama paralela pero ligeramente ondulada. Además de que en algunos ejemplares el grosor de las células del centro a las de la periferia varía. El número de esterigmas es muy variado en el género *Tricholoma*. Sin embargo, aquí se observa un patrón donde puede haber cuatro o dos esterigmas o incluso ambos en el mismo hongo. Así mismo, se diferencia claramente del resto de los tricholomas debido a la presencia de fibulas en las hifas de la pileipellis.

Hábitat y comestibilidad. Se menciona que *T. saponaceum* crece solitario, disperso o en grupos debajo de coníferas o de maderas duras. Tiene una amplia distribución en Norteamérica y a diferencia de la mayoría de los tricolomas, se encuentra a menudo en primavera. La época de fructificación es una diferencia importante con respecto a los ejemplares mexicanos. Estos fueron recolectados entre el mes de agosto y septiembre, en verano. Sin embargo, hay que considerar que en muchas regiones de México las estaciones no son tan marcadas conforme más cerca se localiza un ecosistema del ecuador. En cuanto a su consumo, *T. saponaceum* es una especie identificada en la literatura como no comestible. Se podría fácilmente confundir con algún otro tricholoma amarillo, como es el caso de *T. equestre*. Esto es relevante ya que el ejemplar FA-2022-004 proviene de una feria del Hongo en Cuajimalpa y se vendió como comestible.

Resumen taxonómico. La especie mexicana se posiciona en el árbol con secuencias de referencia de *T. saponaceum* (Figura 10) y a pesar de que esta especie tiene una amplia variación morfológica, coinciden en patrones generales como la forma del píleo y la coloración crema-pardo de sus láminas. Una característica que resalta de este grupo de hongos en comparación al resto de los ejemplares mexicanos es que algunos esporomas presentaron coloración naranja en el estípote, carácter que solo se relaciona con *T. saponaceum*. Del mismo modo, un carácter que lo diferencia del resto es la presencia de fíbulas en las hifas de la pileipellis. Esta es una especie de amplia distribución en Norteamérica, por lo que hay argumentos que apoyan la idea de que a los ejemplares mexicanos se les puede asignar la misma identidad.



Figura 14. Ejemplares de mercado de la especie *Tricholoma saponaceum* (FA-2022-004)
(Barra=2.8cm)



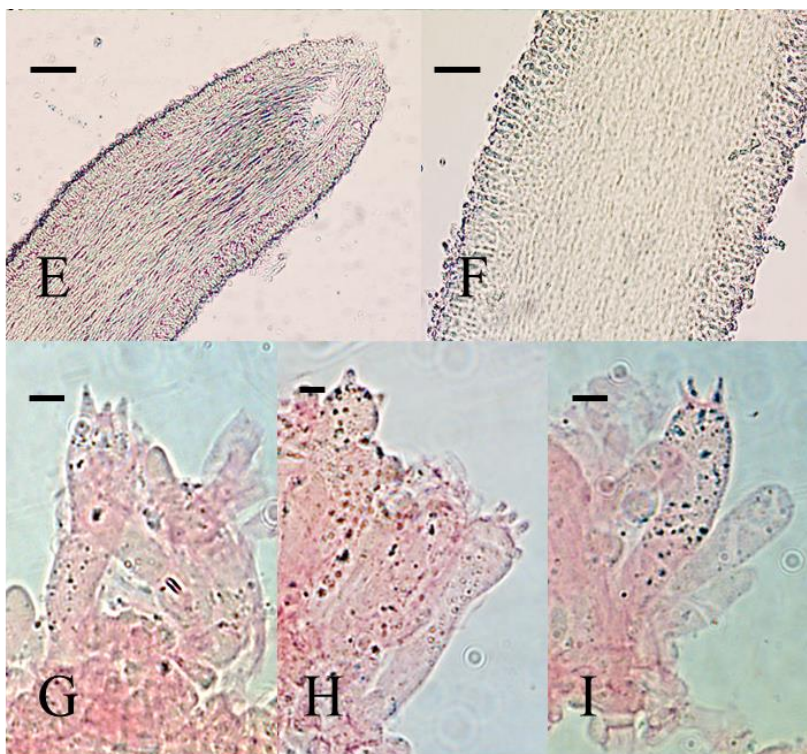


Figura 15. Microscopía de *T. cf. sinoacerbum*: A) Pileipellis observada en H_2O , Barra= 14 μm ; B) Pileipellis observada en KOH, Barra= 14 μm ; C) y D) Fíbulas observadas en H_2O , Barra= 7 μm ; E) Corte de la lámina observada en H_2O , Barra= 30 μm ; F) Corte de la lámina observada KOH, Barra= 25 μm ; G), H) e I) Basidios observados en H_2O teñidos con rojo congo, Barra= 4 μm .

***Tricholoma aestuans* (Fries) Gillet, sensu Bigelow, H. E.**

Caracteres macromorfológicos. Píleo por lo general plano-convexo y siempre umbonado. Margen incurvado y con borde entero. Superficie seca al contacto y con escasas escamas que cuando se presentan, están cerca del margen. Coloraciones de amarillo-verdosas a marrones o marrones-anaranjadas. Los tonos más oscuros se llegan a encontrar en el umbo (Figura 16). Láminas sinuadas, muy juntas y anchas, con bordes lisos y en algunos casos ligeramente onduladas. Tienen coloraciones que van del amarillo pálido a pardo. Estípite de cilíndrico-curvado a clavado-inclinado. Color por lo general pardo y ocre en la base, en algunos casos con apariencia fibrilosa marcada. Su contexto es blanco, con un aroma farináceo casi imperceptible y un sabor ligeramente dulce (Figura 16).

Caracteres micromorfológicos. Pileipellis compuesta por hifas cilíndricas, dispuestas en un arreglo paralelo, ligeramente entretejido. De tonalidades marrón-anaranjadas y presentan

cambios a marrón-rojizo en KOH, de 5 a 6 μm (Figura 17). Trama himenoforal paralela, compuesta de hifas cilíndricas, de pared delgada que suelen ser más globosas en el centro y se van estrechando en la periferia. Basidios clavados, de pared delgada, sin ornamentación, de 25-30 x 7-9 μm . Contienen gotas de aceite en su interior, tienen un número variable de esterigmas que van de dos a tres e incluso cuatro (Figura 19). Basidiosporas elipsoides, de pared delgada, sin ornamentación, de 7.1-8 x 5-6.1 μm y con un Q de 1.3 a 1.5.

Hábitat y comestibilidad. Son hongos que crecen en bosques de coníferas durante el mes de agosto. Se reportaron como buenos comestibles en el Mercado de Jamaica de la CDMX.

Material revisado. Ciudad de México, Mercado de Jamaica, Fernández-Armendáriz, MEXU 30396 y 30397, (FA-2022-007 y FA-2022-008)

Comentarios taxonómicos

Información filogenética. *Tricholoma aestuans* es la primera especie de este trabajo que se encuentra dentro de la sección *Tricholoma* y las secuencias de esta especie se agrupan en el análisis filogenético (Figura 10) con las secuencias mexicanas, bajo buenos valores de soporte (100% de MV y 1 de PP). Las especies más cercanas a esta son *Tricholoma palustre*, *Tricholoma bresadolanum* y *Tricholoma portentosum* (Heilmann-Clausen *et al.*, 2017; Reschke *et al.*, 2018 y Cui *et al.*, 2022). De las especies anteriores, las que portan coloraciones amarillas son *T. palustre* y *T. aestuans*, siendo esta última la más parecida a las especies del complejo *Tricholoma equestre s.l.*

Caracteres macromorfológicos. Al igual que en otros casos presentados anteriormente, es importante considerar que, aunque la superficie de estos hongos es seca, también pudo haber sido víscida o glutinosa en campo. No obstante, debido a que estos ejemplares fueron obtenidos en su mayoría de mercados, este carácter se pudo ir perdiendo conforme pasaba el tiempo. Una característica que poseen los ejemplares es que todos presentan escamas escasas, cerca del margen cuando se llegan a presentar, en contraste con otros clados donde suelen ser muy abundantes (Figura 16).

Tricholoma palustre es la especie a la que puede asemejarse en sus características físicas y de la que se cree que también podría ser sinónimo. Esta especie comparte con *T. aestuans* un color grisáceo-marrón o negruzco sobre el umbo o en parches en el píleo, mientras que los ejemplares

mexicanos presentan coloraciones marrones anaranjadas. *Tricholoma sejunctum* también es un tricoloma similar, pero tiende a ser más oscuro, tiene fibrillas oscuras y radiales en el sombrero, así como láminas blanquecinas. Sin embargo, los ejemplares estudiados no presentaron fibrillas radiales y sus láminas se observaban más pardas que pálidas.

Otra especie con la que comparte características es *Tricholoma equestre*. No obstante, según Trudell *et al.* (2013), mencionan que aunque puede presentar una coloración similar, tiene una superficie más viscosa y no tiene un sabor acre. En relación a su nombre, el epíteto “aestuans”, hace referencia a “caliente” o “ardiente” en referencia a su sabor. Sin embargo, es un carácter que no se presenta en los ejemplares mexicanos. Estos hongos se describieron con un sabor farináceo-dulce casi imperceptible.

Caracteres micromorfológicos. Si se compara con la descripción de la literatura, los ejemplares coinciden en el hecho de que tienen basidiosporas elipsoides. Sin embargo, el número de esterigmas difiere ya que en la descripción de la especie mencionan de cuatro a rara vez dos. Por otro lado, en los ejemplares observados van generalmente de tres a dos. En la literatura también se reportan queilocistidios hialinos y en los esporomas estudiados no se reporta ningún tipo de cistidio. También parecen compartir una trama en arreglo paralelo, con células más globosas en el centro. Parte de los caracteres que lo diferencian de una de las especies que más se le parece (*T. palustre*) es que las basidiosporas de este otro hongo son más ampliamente elípticas. Así mismo, los queilocistidios de *T. aestuans* son mencionados por algunos autores como Bigelow (1979) como los caracteres más definitivos para la separación entre esta especie y otras del complejo “equestre” como *T. flavovirens*.

Hábitat y comestibilidad. Una diferencia ecológica entre *Tricholoma aestuans* y otros tricolomas amarillentos similares como *T. palustre* o *T. floridanum*, es que estos últimos crecen debajo de maderas duras (específicamente haya y roble), mientras que el primero se relaciona principalmente con pinos. Sin embargo, debido a que estos hongos no fueron recolectados en campo, se desconoce específicamente bajo qué tipo de árbol crecían. *T. aestuans* parece ser raro en América del Norte, pero es bastante probable que esta especie sea confundida con *T. flavovirens* en vista de la similitud de los caracteres de campo.

Resumen taxonómico. A pesar de que los ejemplares mexicanos se encuentran dentro de un clado bien soportado de *T. acerbum*, hay algunas características morfológicas que los

distinguen. Más que presentar coloraciones de amarillo-verdosas a grises-pardas, tiene tonalidades que, aunque si son amarillo-verdosas, sobre todo en el umbo tiendan más a los marrones-anaranjadas. En torno a la microscopía coinciden en caracteres como las basidiosporas elipsoides. También, es de resaltar que tanto la descripción original como en los ejemplares mexicanos, la epicutis se llega a observar rojiza en presencia de KOH. Sin embargo, es un carácter que también presentan los ejemplares mexicanos de *T. aff. intermedium*. En este caso, es probable que las diferencias morfológicas no sean tan contundentes para definir si se trata de una especie diferente de *T. acerbum*.

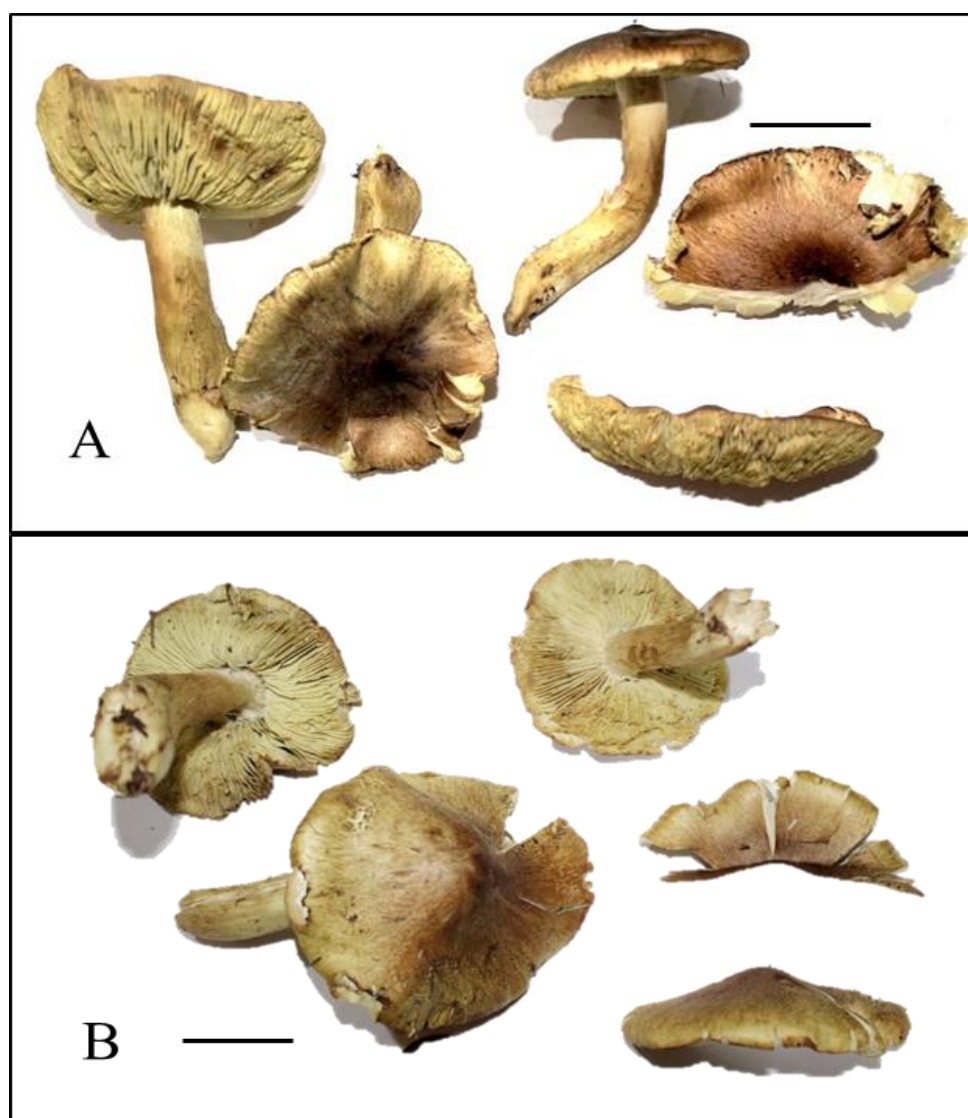


Figura 16. Ejemplares de mercado de las especies *Tricholoma aestuans* (A=FA-2022-008 y B= FA-2022-007) (Barra= 2.8 cm)

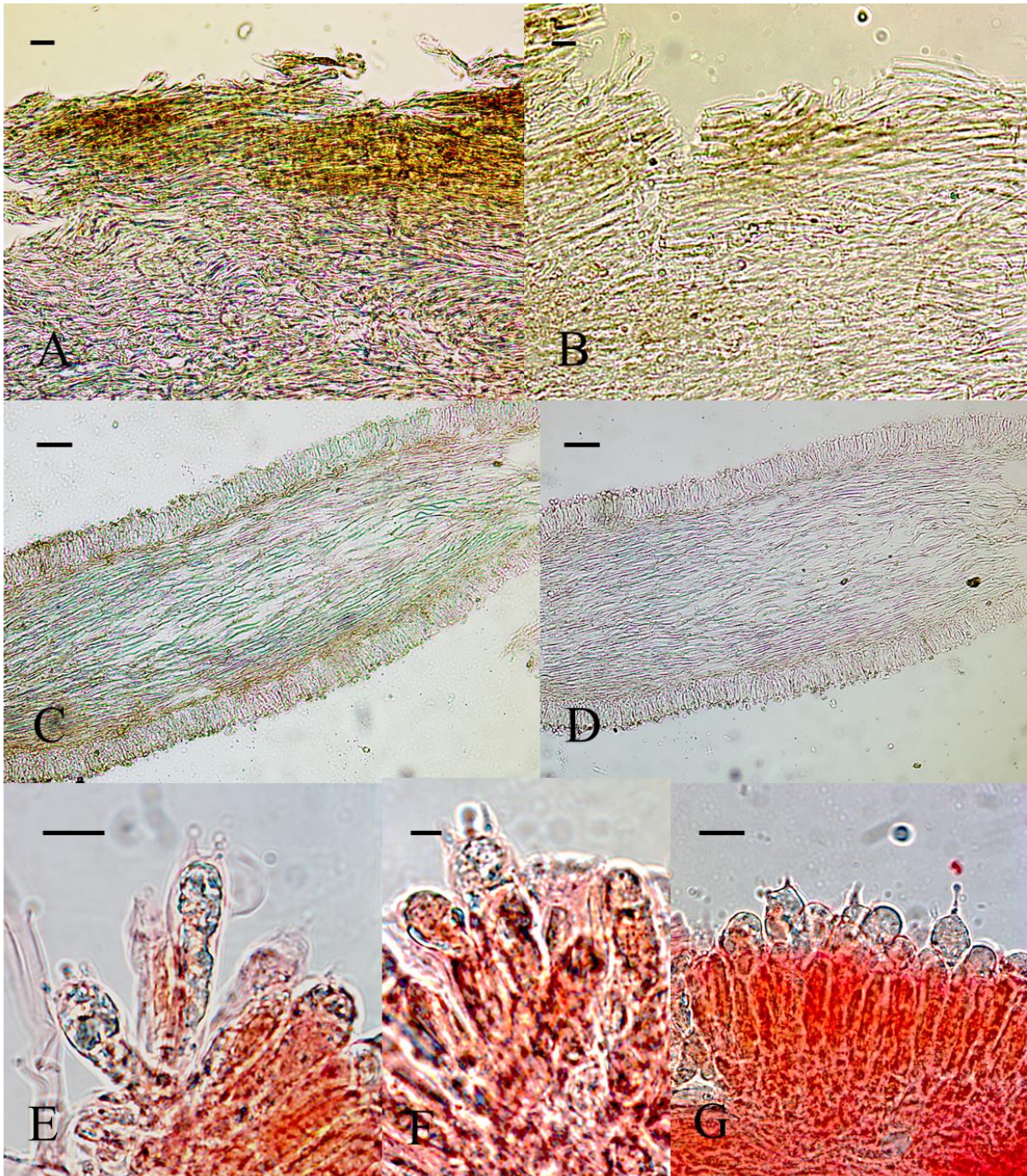


Figura 17. Microscopía de *T. aestuans*: A) Pileipellis observada en H_2O , Barra= 10 μm ; B) Pileipellis observada en KOH, Barra= 10 μm ; C) Corte de la lámina observada en H_2O , Barra= 25 μm ; D) Corte de la lámina observada KOH, Barra= 25 μm ; E), F) y G) Basidios observados en H_2O y teñidos con rojo congo, Barra= 6 μm .

Tricholoma aff. intermedium Peck, sensu Trudell, S. A. V., Bessette, A. R., y Roody, W. C.

Caracteres macromorfológicos. Píleo plano-convexo dependiendo de la madurez de sus esporomas, siempre umbonado y glutinoso. Superficie de diversos tonos de marrón, que se va atenuando en los bordes donde se presenta tonos amarillentos. El margen es irregular, ondulado, decurvado y en ocasiones con pequeñas granulaciones no fibrilosas. Láminas de color amarillo, juntas, sinuadas, a veces con múltiples ramificaciones dicotómicas y lamélulas. Bordes fimbriados y desgarrados. Estípites insertos y subclavados, colores n/d. Contexto fibroso-esponjoso, cavernoso de color blanco uniforme y excéntrico. No tiene ni aroma ni sabor característico.

Caracteres micromorfológicos. Pileipellis compuesta por hifas cilíndricas alargadas, arreglo paralelo, ligeramente entretejido, con coloraciones rojizas en presencia de KOH, de 4 a 6 μm (Figura 18). Trama himenoforal paralela, con hifas cilíndricas, pero ligeramente torcidas o en ocasiones más globosas al centro de la trama. Basidios clavados, de paredes delgadas, sin ornamentación, hialinos, de 25-30 x 5-7 μm y con dos esterigmas (Figura 19). Basidiosporas de elípticas a subelipsoides, 4.1-6.1 x 3-5.1 μm con un valor Q que va de 1.3 a 1.5, sin ornamentación, de paredes delgadas. Su coloración es de tonalidades verdosas y con un apéndice hilar pequeño. Es importante resaltar que algunos ejemplares poseen grandes gránulos sobre los basidios que suelen hacerse ligeramente rojizos en presencia de KOH.

Hábitat y comestibilidad. Estos hongos se encuentran en los meses de agosto y septiembre. El ejemplar HC-PNNT-280 se reportó creciendo en un campo de cultivo.

Material revisado. Estado de México, Temascaltepec Garibay-Orijel, MEXU 26730 (GO-2009-70) y Estado de México, El Contadero, Zinacantepec, campo de cultivo, Martínez-Anastasio, MEXU 262711 (HC-PNNT-208);

Comentarios taxonómicos

Información filogenética. Dentro del análisis filogenético de este trabajo, *Tricholoma intermedium* es una especie que se encuentra dentro de la sección *Tricholoma*. Las especies que se encuentran más cercanas filogenéticamente son *Tricholoma leucophyllum*, *Tricholoma columbetta* y *Tricholoma sejunctum* (Reschke et al., 2018). De estas especies, la más similar a *T. intermedium* y al complejo equestre por las coloraciones amarillas es *T. sejunctum*. Sin embargo, se incluyeron secuencias de esta especie en el análisis a las cuales no se unieron las

mexicanas. En cambio, estas se unieron con las secuencias de referencia de *T. intermedium* en un clado con buenos valores de soporte (100% de MV y 1 de PP), por lo que es la especie más cercana a los ejemplares mexicanos.

Caracteres macromorfológicos. En torno a la superficie, el ejemplar GO-2009-70 presentaba coloraciones cafés en el umbo que se iban haciendo amarillas en el margen y se describe como glabro. La descripción de la literatura también hace referencia a su píleo de coloraciones amarillentas y víscido cuando está húmedo, de manera que son coincidentes en estos aspectos (Trudell *et al.*, 2013). Es importante mencionar que, en la literatura separan a *Tricholoma intermedium* de la especie *Tricholoma equestre* por sus láminas blancas. En las recolectas de este trabajo hay ejemplares con láminas amarillentas, lo cual es una diferencia importante con la descripción original. Al igual que en la descripción de Trudell *et al.* (2013), el contexto de GO-2009-70 posee un color blanco intenso uniforme, pero se diferencia ya que no posee un aroma farináceo.

Caracteres micromorfológicos. Una diferencia importante con la descripción original, es que se menciona que, en ocasiones estos hongos poseen queilocistidios de formas variadas en abundancia, caracter que no fue observado en los ejemplares estudiados. Finalmente, en cuanto a los basidios, no hay descripciones muy detalladas en la literatura, pero los esporomas mexicanos parecen mantener un patrón en cuanto a tamaño, forma y coloración.

Hábitat y comestibilidad. Este hongo crece disperso o en grupos, bajo coníferas. Trudell *et al.* (2013) reportan a *T. intermedium* como un hongo comestible, pero se pone en duda esta afirmación. De los ejemplares de este estudio no hay información que les de el estatus de hongo comestible. De los ejemplares mexicanos, el caso de HC-PNNT-280 es curioso ya que se menciona que proviene de un campo de cultivo a principios de septiembre y no se hace referencia a que estuviera cerca de coníferas. Por otro lado, el ejemplar GO-2009-70 fue recolectado en el mes de agosto y se describe como un grupo de esporomas dispersos, al igual que la descripción original.

Resumen taxonómico. Los ejemplares mexicanos en el análisis filogenético aparecen dentro del mismo grupo de la especie *T. intermedium* (Figura 10). Coinciden en características como las tonalidades amarillas en el basidioma, las láminas juntas, la superficie víscida cuando se encuentra húmedo o las basidiosporas elípticas. Sin embargo, el hecho de que tienen caracteres

que los diferencian de esta especie como el color amarillento de las láminas y la ausencia de queilocistidios, plantean la posibilidad de que sea una especie muy cercana y difícil de diferenciar solo por su morfología, como es el caso de otros tricolomas amarillos pertenecientes al complejo *T. equestre* s.l.

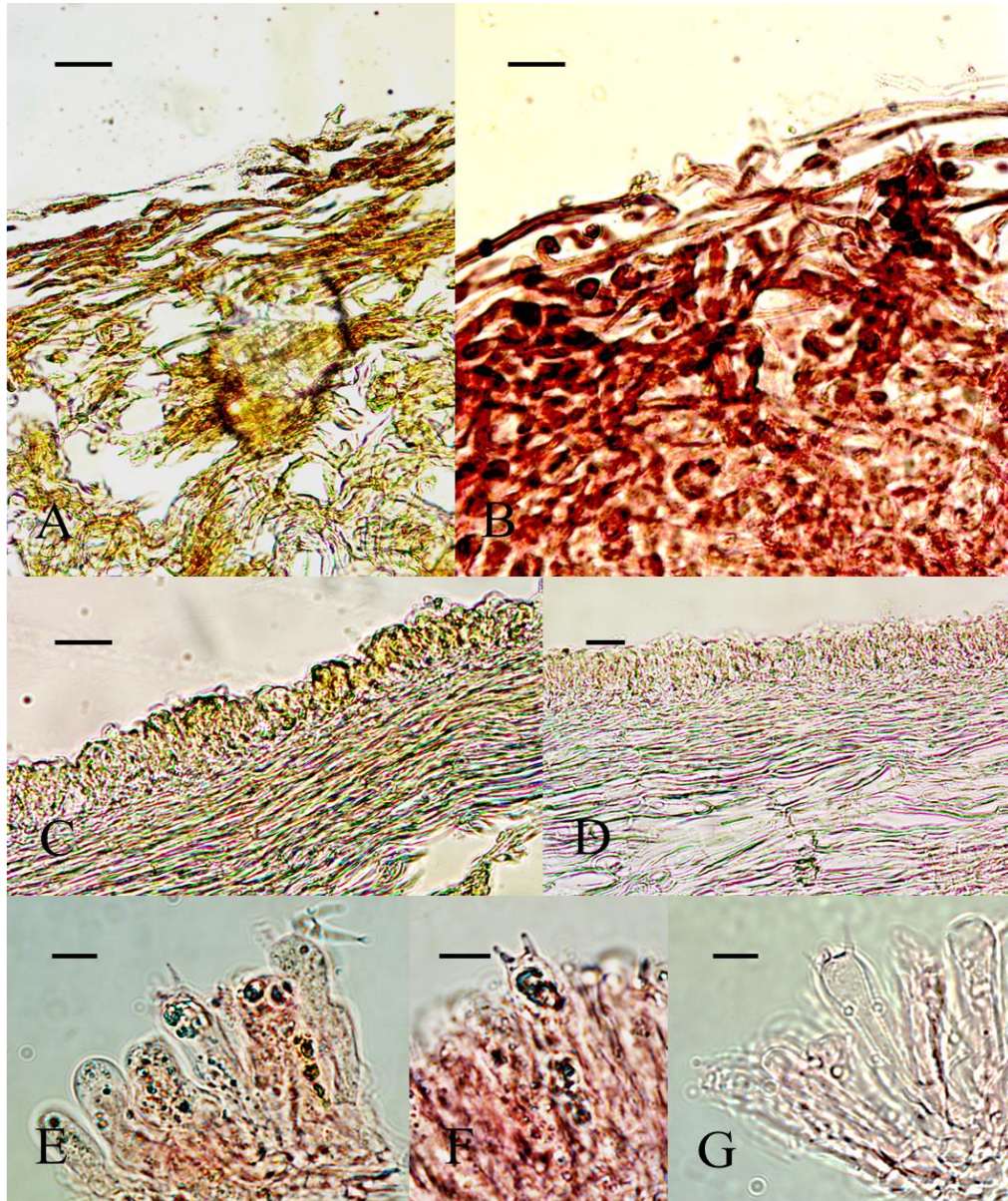


Figura 18. Microscopía de *T. aff. intermedium*: A) Pileipellis observada en H_2O , Barra= 25 μm ; B) Pileipellis observada en KOH, Barra= 25 μm ; C) Corte de la lámina observada en H_2O , Barra= 30 μm ; D) Corte de la lámina observada KOH, Barra= 30 μm ; E), F) y G) Basidios observados en H_2O teñidos con rojo congo, Barra= 6 μm .

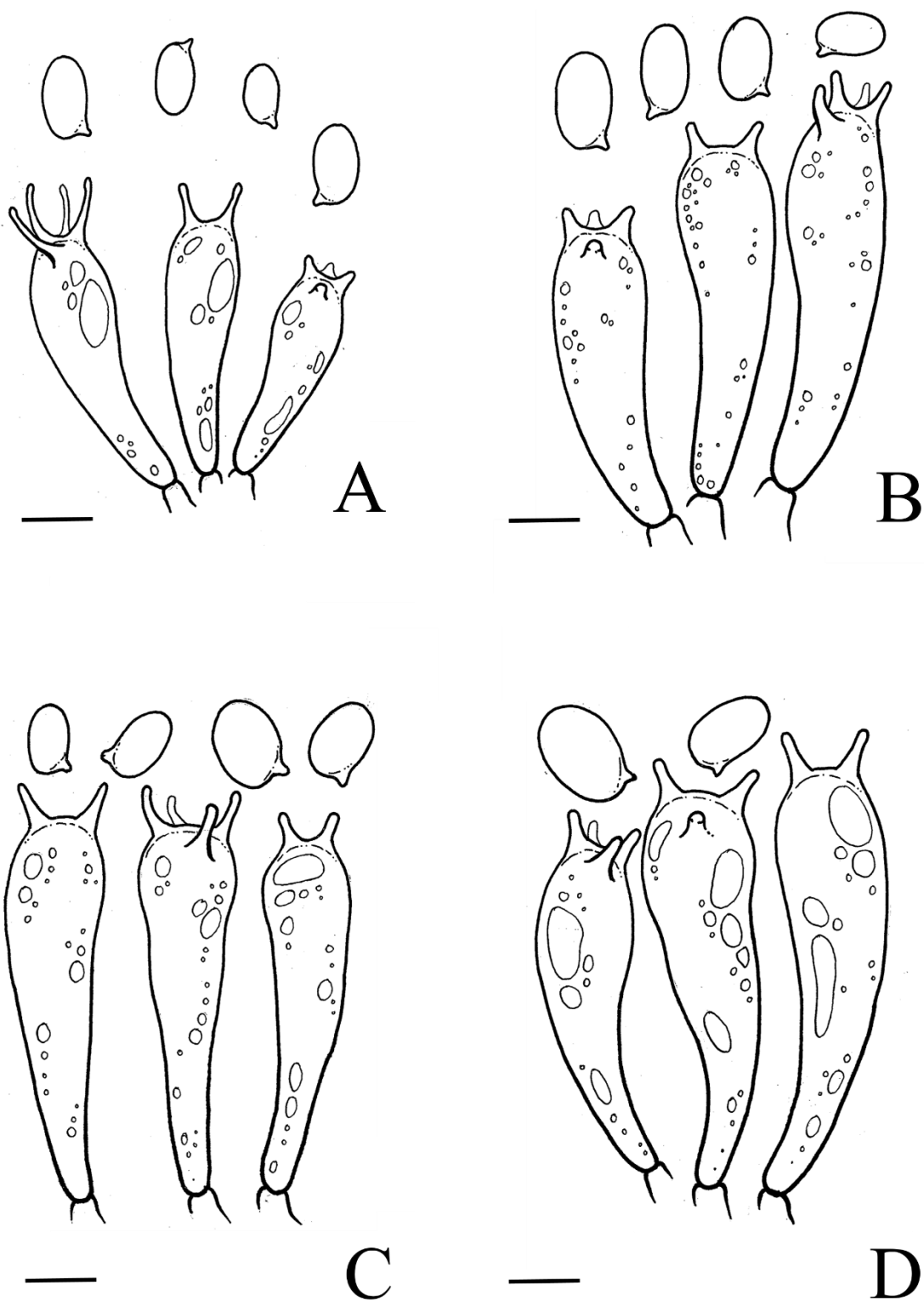


Figura 19. Ilustración de basidios de las especies de tricholomas amarillos fuera del complejo *Tricholoma equestre* s.l.: A) Basidios y basidiosporas de *T. cf. sinoacervum*, Barra= 18 μm ; B) Basidios y esporas de *T. saponaceum*, Barra= 18 μm ; C) Basidios y esporas de *T. aff. Intermedium* Barra= 18 μm ; D) Basidios y esporas de *T. aestuans*, Barra= 18 μm .

Tricholoma flavovirens (Peck), Bull sensu Bigelow, H. E

Caracteres macromorfológicos. Píleo convexo o plano-convexo, dependiendo de la madurez de los esporomas y siempre umbonado, aunque en ocasiones no es tan marcado. Margen decurvado o incurvado, con bordes enteros y en ocasiones desgarrado. La superficie es seca-cerosa al contacto y opaca. Presenta escamas aplanadas que se encuentran dispersas en el píleo de manera homogénea o concentradas en el umbo, pero rara vez se presentan en el margen. La coloración de la superficie, tiene un degradado donde predomina el ocre-amarillento, pero también es ligeramente verdoso, se va haciendo más oscuro en el umbo. Su umbo es marrón oscuro, pero los bordes son amarillo-grisáceos. Láminas subadheridas, anchas, juntas y en ocasiones con el borde desgarrado, amarillas. Estípites clavados con colores que van desde el amarillo crema al ocre claro en la base. No presenta ornamentación en su superficie. Contexto fibriloso, con tonalidades blancas. Aroma y sabor afrutado, ligeramente fúngico o farináceo.

Caracteres micromorfológicos. Pileipellis compuesta por hifas cilíndricas, dispuestas en un arreglo paralelo, con coloraciones marrón-anaranjadas en H₂O y en presencia de KOH solo llega a aclararse, de 4 a 5 µm. Trama himenoforal paralela, estrecha, compuesta de hifas cilíndricas y ligeramente irregulares. Pueden verse más gruesas al centro de la trama y se estrechan en la base de los basidios (Figura 20). Basidios con paredes lisas y delgadas, clavados, sin ornamentación, hialinos, de 25-28 x 6-8 µm y poseen cuatro esterigmas (Figura 21). Basidiosporas lisas, hialinas, de pared delgada, elipsoides, de 6-7 x 4.1-5 µm y con un Q de 1.7.

Hábitat y comestibilidad. Se trata de hongos creciendo en septiembre en bosques de *Pinus/Quercus*. Son hongos vendidos como comestibles en Chignahuapan, Puebla.

Material revisado. Puebla, Parada del Hongo, Chignahuapan, Bosque de *Pinus/Quercus*, Fernández-Armendáriz, MEXU 30398, (FA-2022-015).

Comentarios taxonómicos

Información filogenética. *T. flavovirens* por lo general se ha tomado como un sinónimo de *T. equestre*. Sin embargo, en varios análisis filogenéticos que se le han hecho al género *Tricholoma* o en torno al complejo *T. equestre*, se recuperan al igual que en este trabajo, como dos clados separados (Moukha *et al.*, 2013, Heilmann-Clausen *et al.*, 2017, Reschke *et al.*, 2018 y Cui *et al.*, 2022). En principio, *T. flavovirens* aparece como un clado conformado principalmente por secuencias norteamericanas y *T. equestre*, aunque se encuentra en los

nombres de varias secuencias que se encuentran dispersas en el complejo, por lo general forma una agrupación únicamente europea, a la que podríamos considerar como *T. equestre* s.s. Una de las especies más cercanas es *T. auratum*. Sin embargo, parece ser que este hongo está restringido geográficamente a Asia y algunas regiones costeras de países europeos como Francia.

Caracteres macromorfológicos. Se describe que en “variedades” como *T. flavovirens* var *albipes* se diferencia de la especie *T. flavovirens* por tener tonalidades más blanquecinas que amarillentas; lo anterior no se presenta el caso de los ejemplares mexicanos. Partiendo del color de láminas, estos hongos se describieron con láminas amarillas, pero su color no es tan intenso en comparación con los grupos de *Tricholoma equestre* 1 y 2. Además de las láminas, el color amarillo-verdoso de la superficie del píleo también lo diferencia de las especies mexicanas hermanas. Aunque el color de sus láminas puede ser un carácter no tan confiable para distinguirlo de otras especies del complejo, si es posible usarlo para diferenciarlo de especies fuera del mismo como *T. saponaceum* o *T. aestuans*.

Caracteres micromorfológicos. Aunque no hay muchos caracteres microscópicos que lo distingan del resto de las especies del complejo, es importante mencionar que en comparación a los grupos mexicanos *Tricholoma equestre* 1 y 2 y lo que se ha descrito como *T. flavovirens*, no presenta cistidios incrustados en el himenio.

Caracteres ecológicos y comestibilidad. Partimos del hecho de que el nombre aceptado actualmente es *Tricholoma equestre* (ya que *Tricholoma flavovirens* es considerado un sinónimo). La especie *Tricholoma equestre*, ha estado involucrada en un debate en torno a si tiene un potencial tóxico significativo como para considerarlo como comestible o no. A su vez, había sido considerado como el mejor comestible del género, especialmente después de que *Tricholoma matsutake* fue reclasificado en el género *Armillaria*, pero el debate sobre su inocuidad sigue en pie.

Resumen taxonómico. Existen varios argumentos para considerar a *T. flavovirens* como una especie diferente de *T. equestre* s.s. En primer lugar, esta especie se separa en los análisis filogenéticos de *T. equestre* s.s., tanto formando un clado independiente como en su origen norteamericano. Además, sus descripciones como especie independiente, coinciden en sus coloraciones amarillo-verdosas y láminas amarillas y en no poseer incrustaciones en el himenio.

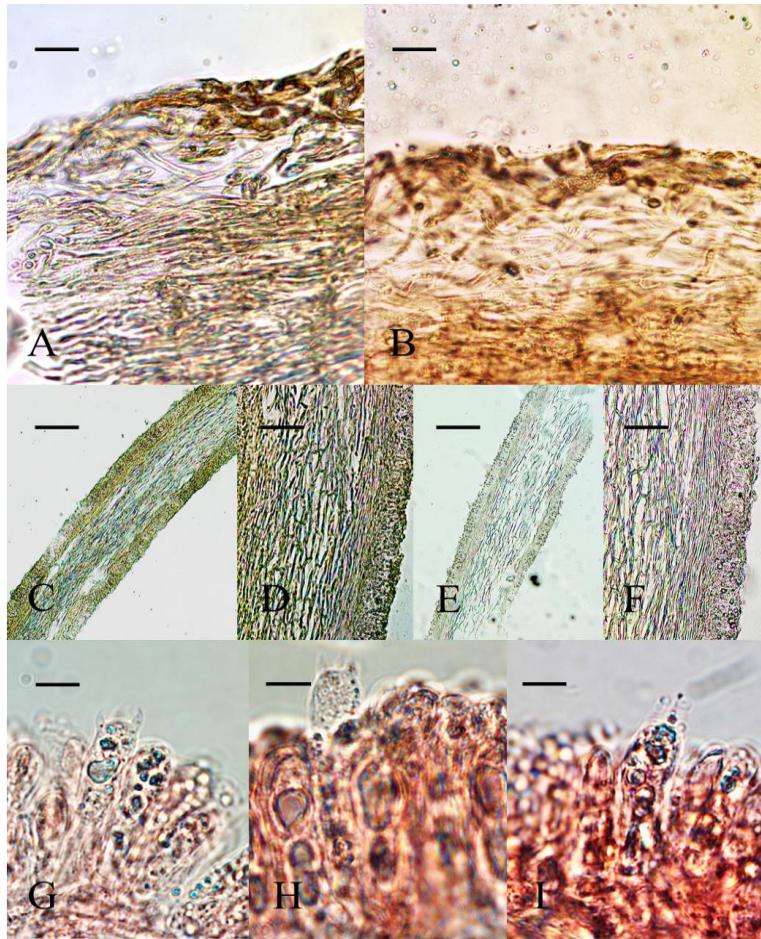


Figura 20. Microscopía de *T. flavovirens*: A) Pileipellis observada en H_2O , Barra= 25 μm ; B) Pileipellis observada en KOH, Barra= 25 μm ; C) y D) Corte de la lámina observada en H_2O , Barra= 50 y 38 μm ; E) y F) Corte de la lámina observada KOH, Barra= 50 y 38 μm ; G), H) e I) Basidios observados en H_2O teñidos con rojo congo, Barra= 7 μm .

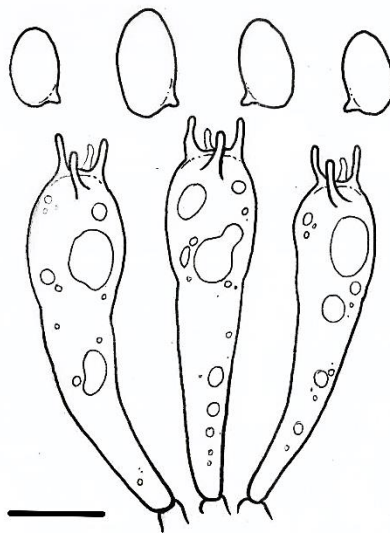


Figura 21. Ilustración de basidios y basidiosporas de *T. flavovirens*, Barra= 7 μm .

Tricholoma equestre 1

Caracteres macromorfológicos. Píleo de convexo a plano-convexo, dependiendo de la madurez de sus esporomas. Algunos de los ejemplares más viejos presentan fisuras en el píleo. Ligeramente umbonados con un borde entero, que en ocasiones se observa ligeramente ondulado o desgarrado en los ejemplares más maduros. Margen de decurvado a incurvado y ocasionalmente plano. Superficie lisa con coloraciones amarillas y ocre, que pasan a ocre oscuras, marrón-anaranjadas o marrón-oscuro en el centro del píleo. Suelen presentar una gran cantidad de escamas en la superficie. Láminas presentan con coloración amarilla-sulfurosa intensa (Figura 22). Sinuadas, muy juntas y estrechas. Estípite cilíndrico o ligeramente clavado, sin ornamentación. Tiene coloraciones que van desde el amarillo-ocre hasta los amarillo-crema, pasando por algunos tonos ligeramente amarillo-sulfurosos, pero por lo general se presentan de una coloración homogénea. Su contexto es blanco y fibriloso, con un aroma y sabor farináceo.

Caracteres micromorfológicos. Pileipellis compuesta por hifas cilíndricas, paralelas y ligeramente entretejidas (Figura 23). Arreglo similar a un entramado y las hifas del epicutis de coloraciones marrón-anaranjadas en H_2O y ligeramente rojizas en KOH, de 4 a 5 μm . Trama himenoforal compuesta por hifas cilíndricas, ligeramente globosas al centro. En algunas ocasiones se pueden ver con una forma un poco irregular y se van haciendo más delgadas en la base de los basidios. Basidios clavados, hialinos de pared delgada, de 27-30 x 7-8 μm y por lo general con dos esterigmas, aunque pueden ser cuatro. Basidiosporas de elípticas a subelipsoides, lisas, hialinas o con tonalidades ligeramente amarillo-verdosas, medidas de 4.1-7 x 3-4.1 μm y con un Q de 1.3 a 1.7. Cistidios incrustados en el himenio de manera paralela a los basidios, adquieren coloraciones escarlata más intensas en KOH y suelen presentarse con formas irregulares (Figura 25). En ocasiones el himenio presenta ligeros cambios de coloración que viran hacia los rojos en presencia de KOH.

Hábitat y comestibilidad. Se encuentra en bosques mixtos de *Abies religiosa*, *Pinus* y *Quercus*, en los meses de agosto y septiembre y los ejemplares fueron recolectados por hongueras ya que son considerados como hongos comestibles.

Material revisado. Estado de México, La Puerta, Zinacantepec, Bosque de *Abies religiosa*, Endara-Agramont, MEXU 26645 (EA-2008-169); Estado de México, Agua Bendita, Amanalco, Bosque de *Abies*, Burrola-Aguilar, MEXU 25709 (CB-2008-0833); Estado de México, Lagunas de Zempoala, Bosque mixto de *Abies*, Fernández-Armendáriz, MEXU

30391, (FA-2021-006) y Puebla, Parada del Hongo, Chignahuapan, Bosque de *Pinus/Quercus*, Fernández-Armendáriz, MEXU 30399, (FA-2022-020).

Comentarios taxonómicos

Información taxonómica. En este trabajo (Figura 11) las secuencias de estos ejemplares se agruparon dentro del complejo como el clado más cercano a *T. equestre* 2, *T. flavovirens* y *T. frondosae*. El cuál es un clado independiente con buenos valores de soporte (78% de MV y 0.99 de PP). Esta clasificación se asemeja a la que resultó de los estudios realizados por Heilmann-Clausen *et al.*, (2017), Reschke *et al.*, (2018) y Cui *et al.*, (2022).

Caracteres macromorfológicos. Algunas de las especies de las que es difícil distinguirlo son *Tricholoma populinum* y *Tricholoma collumbeta*. Con esta última especie, se presentó la discusión de si pertenecía al complejo o no. Sin embargo, el estudio de Moukha *et al.* (2013) lo diferenció en un clado aparte del complejo, que se caracterizaba por tener láminas blancas. Esto último es conflictivo debido a que tanto nuestros ejemplares como otros que han tomado el nombre de *T. equestre*, tienen variaciones muy amplias en el color de las láminas.

Además, en más de una ocasión se encuentran hongos con tonalidades blanquecinas o amarillo-blanquecinas, de manera que es poco claro cómo se debe establecer el rango de color que se considere dentro del clado de láminas amarillas o blancas. Retomando el punto anterior, también existe la especie de *Tricholoma arvernense* que se parece a la descripción de *T. equestre*, pero con láminas blancas y sin tonos verdosos. Por otro lado, esta misma especie se considera muy cercana a *T. sejunctum* e incluso en algún momento se llegó a considerar una subespecie del mismo (Trudell *et al.*, 2013).

Caracteres micromorfológicos. Algo destacable de este clado, es la presencia de cistidios incrustados que aparecen solo en dos grupos mexicanos, caracter que puede ser usado para diferenciarlos de otras especies dentro y fuera del complejo. Caso contrario es el de los cambios de coloración tanto del himenio como de la pileipellis en presencia de KOH, ya que aparece en varias especies y no presenta un patrón constante.

Hábitat y comestibilidad. Particularmente esta especie, se encuentra creciendo solitaria bajo coníferas, específicamente cerca de pinos. Algunos autores como Trudell *et al.* (2013) plantean que una posibilidad dentro de la problemática del complejo *T. equestre* y su comestibilidad, es

que se ha estado confundiendo con un grupo de tricolomas amarillos dentro de la sección de comestibles como *Tricholoma sejunctum*. Sin embargo, en todos los casos de estas secuencias mexicanas, no hay similitud con las que se encuentran en GenBank bajo el nombre de *T. sejunctum*; así mismo no empata con las láminas blancas de la descripción macroscópica.

Una característica importante en torno a la comestibilidad de este clado, es que varios ejemplares provienen directamente de las recolectas de hongueras experimentadas. En el caso de la secuencia FA-2021-006 proviene de una colecta de una honguera tlahuica de las Lagunas de Zempoala, Edo. Mex. En su comunidad, una de las características que distingue a los hongos que consumen de los que no, es bajo qué árbol crecen, ya que solo consumen los que crecen bajo árboles de oyamel (*Abies religiosa*). Este es el caso de los hongos identificados dentro de la clasificación de tricolomas amarillos comestibles, bajo el nombre tradicional de “escorpión”. El otro caso similar es con el ejemplar FA-2022-020, el cual proviene de una honguera de Ciénega Larga, Chignahuapan, Puebla. Ella recolecta, consume y vende junto con otras veinte familias el “escorpión”.

Resumen taxonómico. Este grupo se pudo diferenciar en un clado independiente del resto de sus especies hermanas en los análisis filogenéticos. En cuanto a la morfología, su superficie es similar a la de la descripción original de *T. equestre* de Klimaszyk y Rzymiski (2018), donde predominan los colores amarillos y conforme madura el esporoma se van inclinando a marrón o marrón-anaranjado. Se diferencia tanto de la referencia como de *T. equestre* 2, porque las láminas son estrechas y no anchas. De la misma manera, la coloración del estípite en vez de ser amarillo-verdosa (como en la literatura), tiende a ser amarillo-crema o parda. Sin embargo, a este nivel de cercanía entre las especies, los caracteres morfológicos no presentan cambios tan marcados. Hasta este punto se soporta como una potencial nueva especie mexicana.



Figura 22. Ejemplares de la especie *Tricholoma equestre 1* (FA-2022-020)

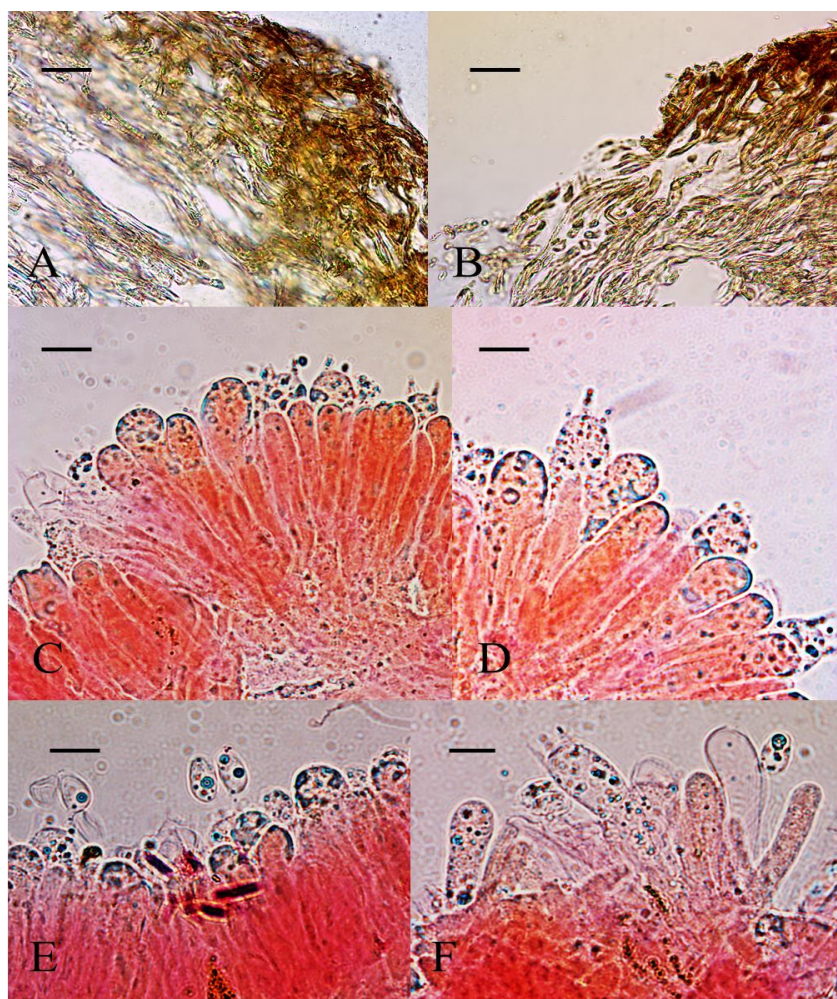


Figura 23. Microscopía de *T. equestre 1*: A) Pileipellis observada en H_2O , Barra= 25 μm ; B) Pileipellis observada en KOH, Barra= 25 μm ; C), D), E) y F) Basidios observados en H_2O teñidos con rojo congo, Barras= 7 μm .

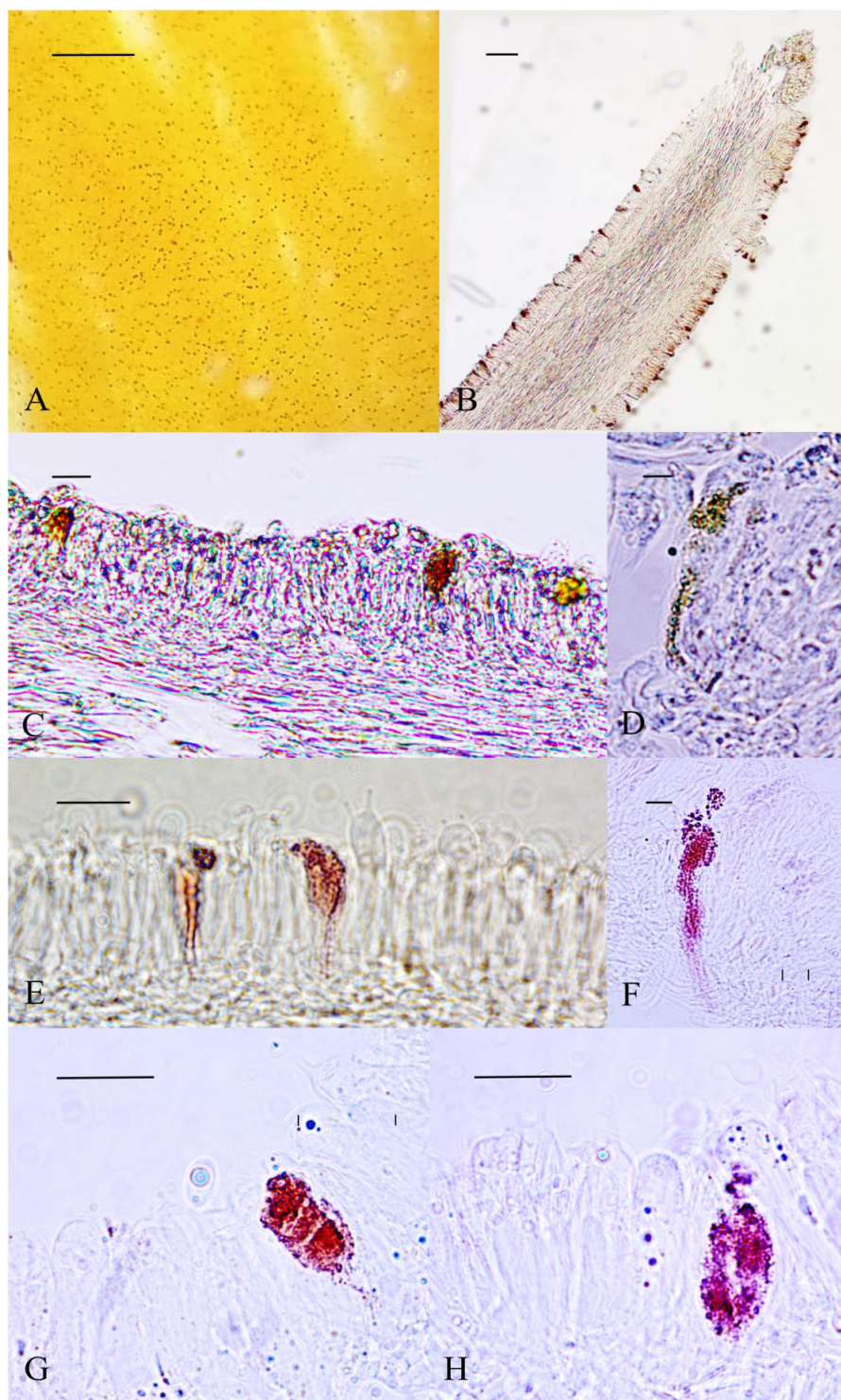


Figura 24. Imágenes del himenio de los ejemplares de *T. equestre 1*: A) Lámina hidratada con los cistidios en la superficie Barra= 0.2 mm; B) Corte transversal de lámina en KOH Barra= 50 µm; C) Cistidios en el himenio observados en H_2O Barra= 10 µm; D) Cistidio en agua Barra = 5 µm; E) Cistidios en el himenio, observados en KOH Barra= 10 µm; F), G) y H) Cistidios montados en KOH Barras= 5,10 y 10 µm.

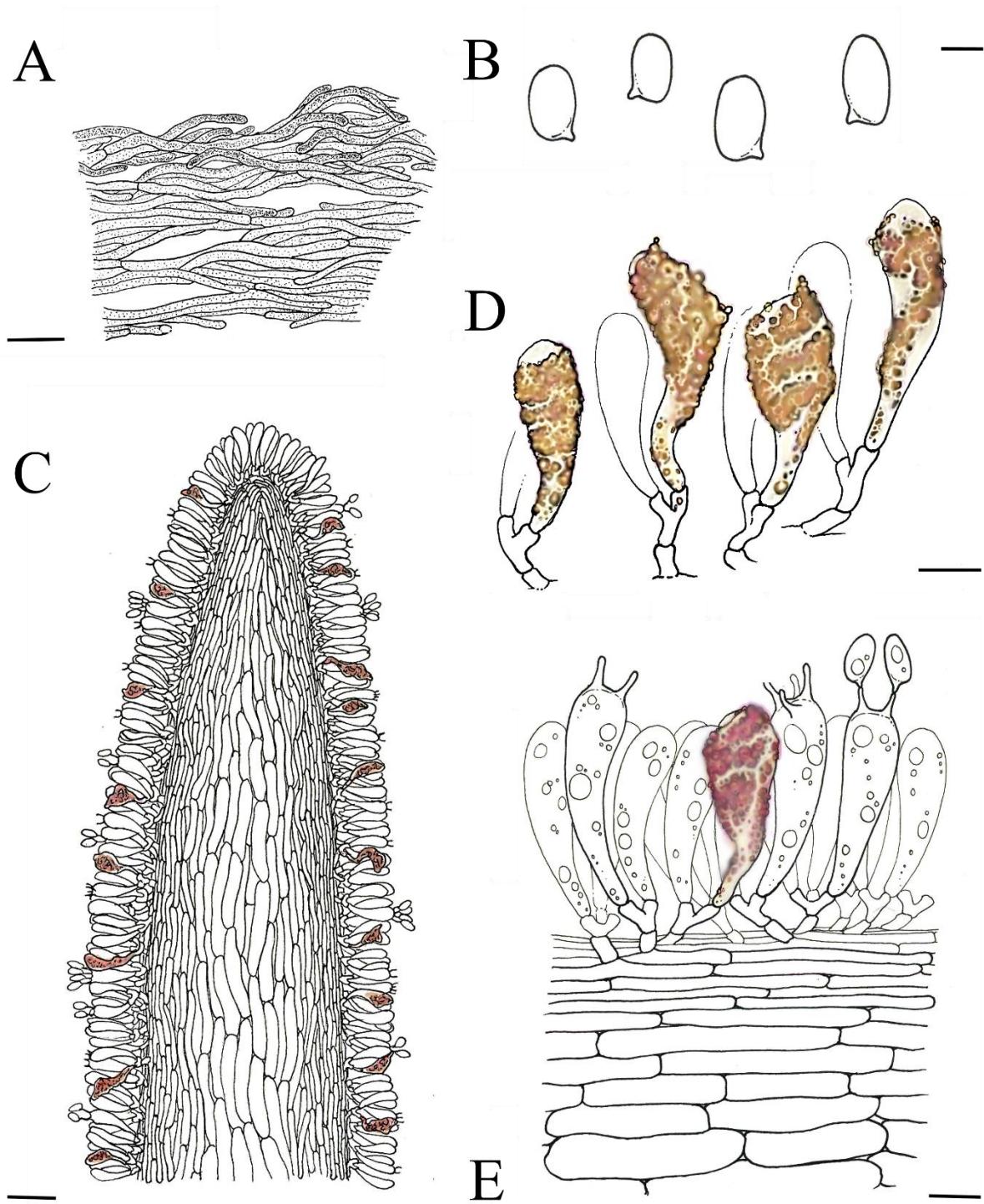


Figura 25. Ilustración de la microscopía de *T. equestre* 1: A) Arreglo de la pileipellis Barra= 25 μm ; B) Basidiosporas, Barra= 4 μm ; C) Corte de la lámina con cistidios incrustados en el himenio, Barra= 27 μm ; D) Cistidios en H_2O , Barra= 7 μm y E) Arreglo de las células del himenio, Barra= 7 μm .

***Tricholoma equestre* 2**

Caracteres macromorfológicos. Píleo de convexo a plano dependiendo de la madurez del esporoma y umbonado en todos los casos (Figura 26). Margen decurvado y en la mayoría de los casos entero, pero puede presentarse desgarrado posiblemente por el maltrato. Superficie cerosa cuando está seca. Coloración casi uniforme que se va aclarando en los bordes. Es ocre brillante cerca del margen y se va haciendo marrón a marrón-anaranjada en el centro y por lo general tiene una gran cantidad de escamas en la superficie. Láminas sinuadas, con un borde liso a desgarrado, anchas y muy juntas; en algunos ejemplares pueden presentarse ligeramente onduladas. Presentan tonos amarillos sulfurosos intensos, pero en algunos de los esporomas más maduros pueden presentar variaciones de color que viran a los ocre-anaranjados (Figura 26). Estípite de cilíndrico a clavado y puede presentarse inclinado o levemente torcido, de color amarillo pálido a ligeramente amarillo-sulfuroso homogéneo y en algunos casos ocre-pardo en la base. No tiene ornamentación. Su contexto es blanco entre fibriloso y esponjoso, con un aroma farináceo casi imperceptible y un sabor ligeramente dulce.

Caracteres micromorfológicos. Pileipellis compuesta por hifas cilíndricas en un arreglo paralelo, que en la epicutis es semejante a un entramado, de 4 a 5 μm . De coloraciones marrón-anaranjadas en H_2O y puede presentar cambios en presencia de KOH, donde sus hifas cambian a color rojizo (Figura 27). Trama himenoforal paralela y compuesta por hifas cilíndricas, más globosas al centro que a las orillas de la trama. En comparación a otros clados, la trama suele ser más estrecha. Basidios clavados, hialinos, de pared delgada, de 25-28 x 8-10 μm y con dos esterigmas predominantemente, pero pueden presentar tres y en algunos casos cuatro (Figura 29). Sus basidiosporas son elipsoides, lisas y con una coloración ligeramente verdosa, de 6.1-8 x 4-6 μm y un Q que va de 1.4 a 1.6. Es una constante la presencia de cistidios incrustados de formas irregulares en el himenio de color anaranjado a escarlata y suelen ser más conspicuos en KOH.

Hábitat y comestibilidad. Son hongos provenientes de bosques de *Pinus- Quercus* y *Abies*, durante los meses de agosto, septiembre y octubre.

Material revisado. Estado de México, San Bartolo, Amanalco, Bosque de *Pinus-Quercus*, Burrola-Aguilar, MEXU 25921 (AR-2009-820); Estado de México, San Bartolo, Amanalco, Bosque de *Quercus* Burrola-Aguilar, MEXU 25912 (AR-2009-09794); CDMX, Mercado de Jamaica, Fernández-Armendáriz, MEXU 30390, (FA-2021-002); Ciudad de México, Feria del

Hongo, Cuajimalpa, Fernández-Armendáriz, MEXU 30392, (FA-2022-001); Ciudad de México, Feria del Hongo, Cuajimalpa, Fernández-Armendáriz, MEXU 30393, (FA-2022-003) y Ciudad de México, Mercado de Jamaica, Fernández-Armendáriz, MEXU 30395, (FA-2022-006)

Comentarios taxonómicos

Información taxonómica. Al igual que *Tricholoma equestre 1*, esta especie está relacionada con *T. flavovirens* y *T. frondosae*. En este caso formó un clado independiente de los tres grupos anteriores y la especie más cercana en el árbol es *T. frondosae* (Figura 11).

Caracteres macromorfológicos. En este caso, una de las características que destacan de estos hongos en comparación al resto son sus coloraciones más intensas que en el resto de los clados. En este caso, como en el de *Tricholoma equestre 1* y *Tricholoma flavovirens*, se puede separar a estos hongos de otros tricolomas amarillos por el color de sus láminas. Esto se debe a que aquí son de colores amarillo intensos, y sobre todo en *Tricholoma equestre 2* se presentan de un amarillo-sulfuroso muy intenso. Por otro lado, especies semejantes como *T. sejunctum*, *T. populinum*, *T. collumbeta*, son de láminas color crema y otras tantas como *T. aestuans*, mantienen colores pardos o grisáceos. La superficie del píleo también es de destacar, debido a que existen diferencias con las descripciones europeas de *T. equestre*. Por lo general, describen al píleo de color amarillo intenso y en los ejemplares mexicanos se observó como predominante una coloración marrón-anaranjada homogénea, más oscura que la de *T. equestre 1*. Así mismo, en comparación con el resto de los ejemplares mexicanos del estudio, estos esporomas presentaron las coloraciones más intensas tanto en láminas como en el píleo.

Caracteres micromorfológicos. Los hongos de este clado presentan como característica persistente cistidios incrustados de coloraciones rojizas intensas en abundancia, así como cambios de coloración en presencia de KOH. Otra cosa que los diferencia de otros clados es que la trama suele ser más estrecha.

Hábitat y comestibilidad. Una cosa que podría diferenciar este clado de *T. equestre 1* es que se presenta en una temporada de mediados de agosto a mediados de septiembre, mientras que el clado *T. equestre 2* fructifica de finales de agosto a inicios de octubre. Es de destacar que muchos de estos hongos fueron recolectados en bosques mixtos de pino y encino, mientras que

otros grupos como *T. equestre 1* se recolectaron predominantemente en bosques mixtos de pino y oyamel.

Resumen taxonómico. Dentro de las características que podrían diferenciar a esta especie del resto, es el clado independiente que formó en los dos árboles filogenéticos (Figuras 10 y 11). Además, de todos los clados es el que posee las coloraciones más intensas en píleo, láminas y cistidios incrustados. Así mismo, podemos contemplar el hecho de que el estípite suele ser más corto en comparación a *T. equestre 1*. Otra característica que respalda su identidad como potencial nueva especie, diferente de la antes mencionada, es que *T. equestre 2* se encuentra predominantemente en bosques mixtos de *Pinus* y *Quercus*.

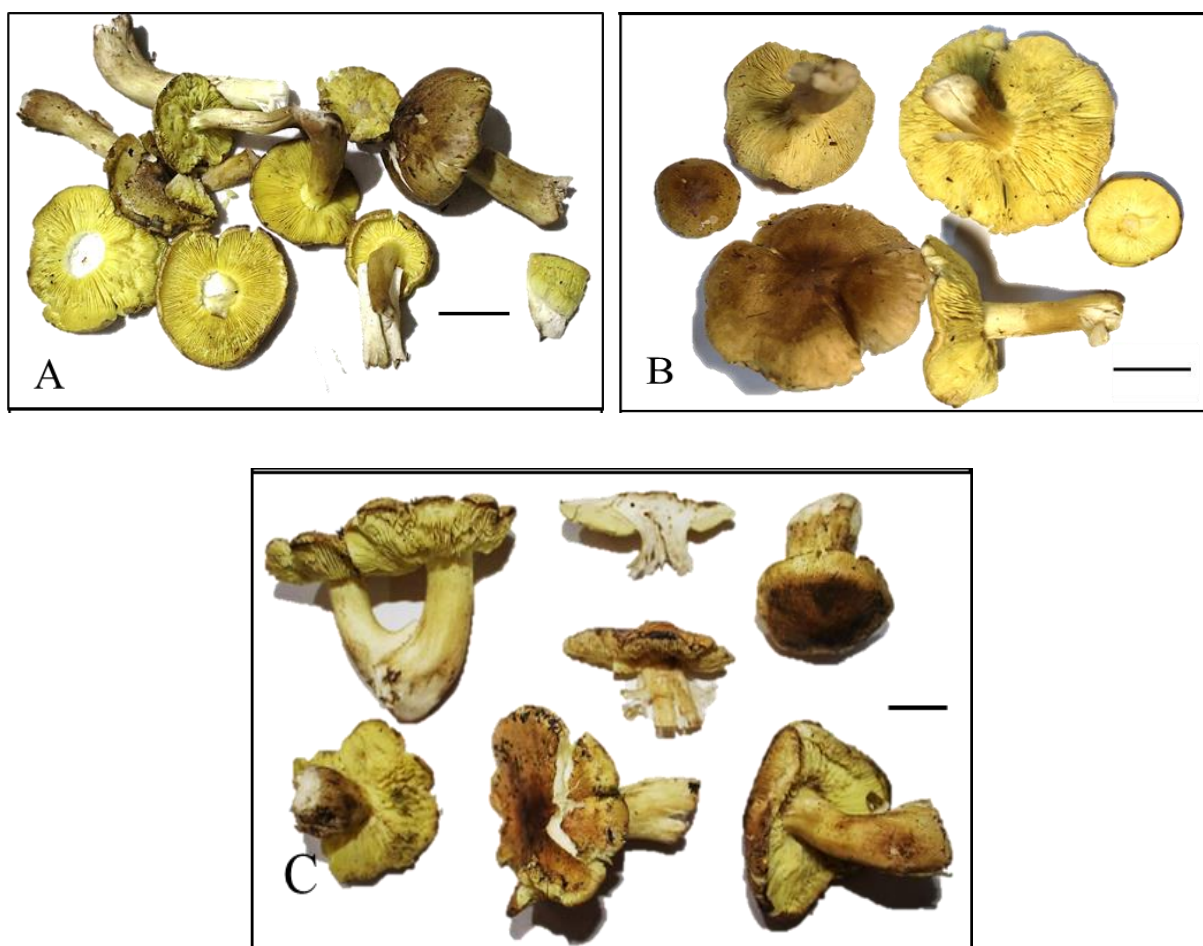


Figura 26. Ejemplares de mercado de la especie *Tricholoma equestre 2* (A=FA-2021-002, B=FA-2022-001 y C= FA-2022-006)

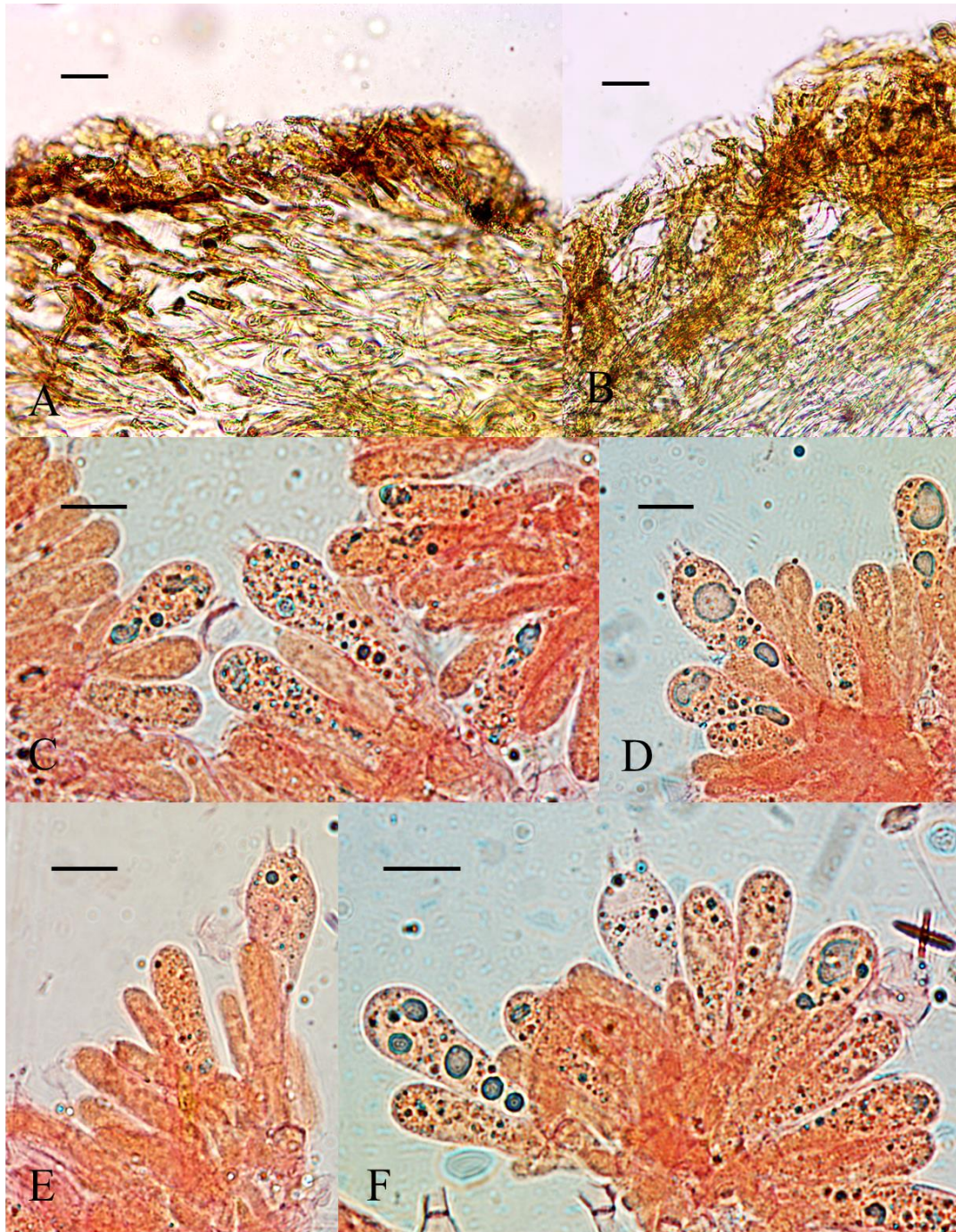


Figura 27. Microscopía de *T. equestre* 2: A) Pileipellis observada en H_2O , Barra= 32 μm ; B) Pileipellis observada en KOH, Barra= 32 μm ; C), D), E) y F) Basidios observados en H_2O teñidos con rojo congo, Barras= 7 μm

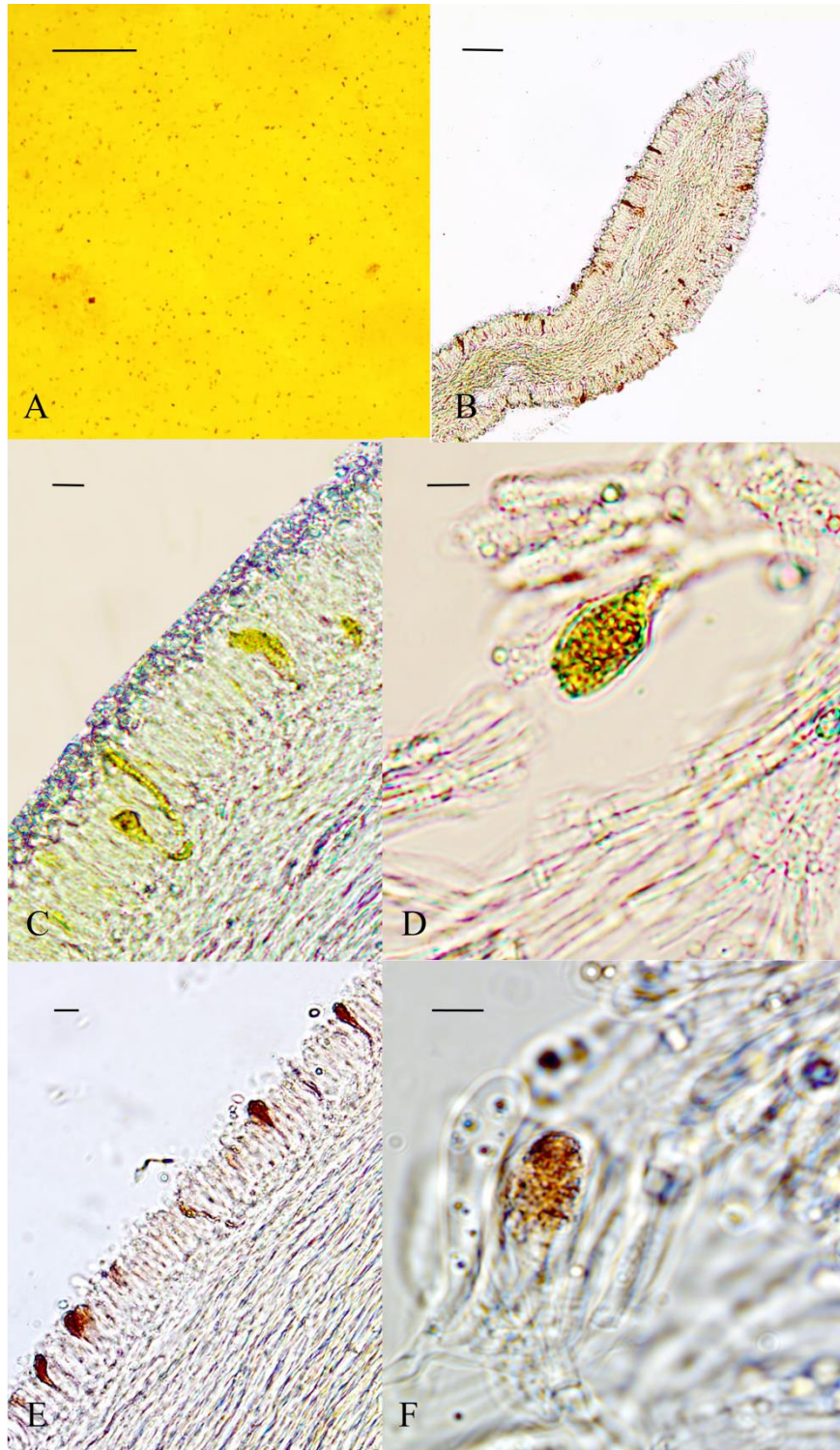


Figura 28. Imágenes del himenio de *T. equestre* 2: Lámina hidratada con los cistidios en la superficie, Barra= 0.2 mm; B) Corte transversal de lámina en KOH, Barra= 30 μm; C) Cistidios en el himenio observados en H_2O Barra= 9 μm; D) Cistidio en agua Barra = 5 μm; E) Cistidios en el himenio, observados en KOH Barra= 12 μm y F) Cistidio montado en KOH Barra= 5μm.

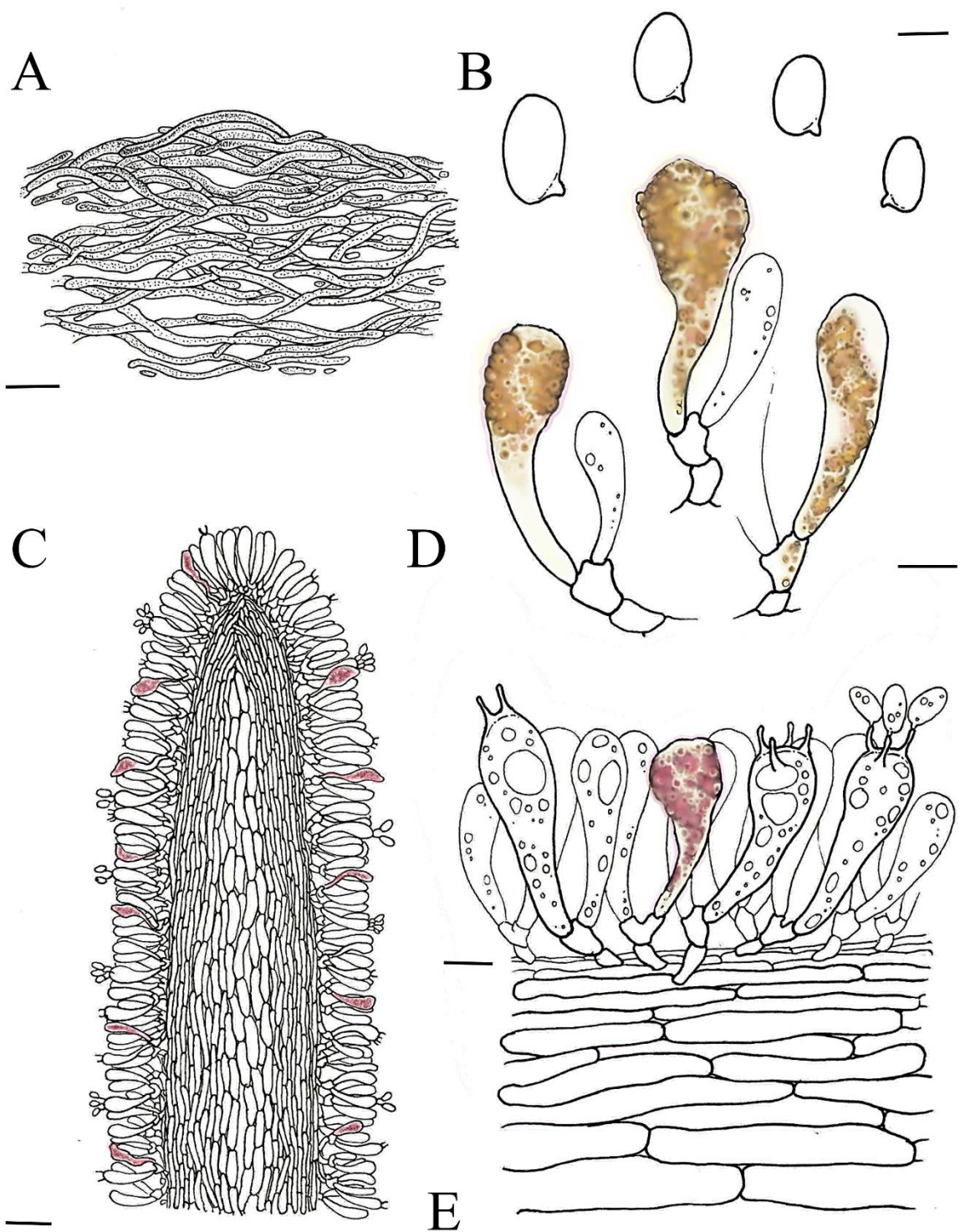


Figura 29. Ilustración de la microscopía de *T. equestre* 1: A) Arreglo de la pileipellis Barra= 25 μm ; B) Basidiosporas, Barra= 8 μm ; C) Corte de la lámina con cistidios incrustados en el himenio, Barra= 20 μm ; D) Cistidios en H_2O , Barra= 7 μm y E) Arreglo de las células del himenio, Barra= 6 μm .

9.7 Comentarios etnomicológicos

9.7.1 Mercado de Jamaica, CDMX

La información etnomicológica obtenida en este estudio en torno a los ejemplares se obtuvo principalmente de dos colaboradoras; la primera es la señora María de los Ángeles. Ella es vendedora de hongos silvestres en el mercado de Jamaica y es esposa de un honguero que recolecta en el cerro Tláloc en Río Frío, Edo. Mex, en donde ambos residen.



De entre los vendedores del mercado, ella fue quien dijo conocer al “hongo amarillo” bajo el nombre de “canario”, pero no lo identificó con el nombre de “escorpión”, “calandria”, “yema” o “nejo”, nombres que han sido reportados en el centro de México (Martínez *et al.*, 2009; Pérez-Moreno *et al.*, 2008). La honguera declaró que era un hongo que no era comprado comúnmente. Aunque su familia lo consumía, usualmente no lo llevaba al mercado, de manera que se le pidió por encargo que consiguiera la mayor cantidad de hongos posibles.

Figura 30. Puesto de doña María de los Ángeles en el mercado de Jamaica durante mediados de septiembre de 2023

Fueron dos ocasiones durante el año 2021 y 2022, en temporada de lluvias en septiembre y agosto, que doña María consiguió aproximadamente un kilogramo de hongos “canarios”. Comentó que la manera en que ella los preparaba era en caldo y salsa verde. Finalmente, en varias ocasiones agregó que tampoco era muy común vender cantidades grandes de este hongo ya que era escaso en el monte y cuando llegaba a encontrar, se los comía con su familia o los agregaba a los montones de hongos para vender.

9.7.2 Parada del Hongo, Chignahuapan, Puebla

Parte importante de la información sobre el consumo y recolección de *Tricholoma equestre* s.l. obtenido de este estudio, se obtuvo en la “Parada del Hongo” en la carretera que va de Apizaco a Chignahuapan (km 119) en Puebla. Este lugar era anteriormente una parada del camión donde desde hace 18 años se venden hongos silvestres comestibles. Posteriormente, la Presidencia Municipal por iniciativa de 20 familias de hongueros y hongueras, arregló este lugar para que pudieran vender sus hongos en un puesto comunitario. Así mismo, adaptaron el espacio para cocinar los hongos ahí mismo, para todo visitante que quisiera comerlos en el sitio. Desde entonces, las familias de hongueros y hongueras se organizan unos meses antes de la temporada de lluvias. Así, pueden establecer días en la semana para que cada familia pueda vender y cocinar sus recolectas. En este gran grupo que se compone principalmente por mujeres, se hizo contacto con la actual presidenta doña Verónica. Esta colaboradora fue la que reconoció al hongo bajo el nombre de “escorpión” (nombre actualmente usado también en el Edo. Mex., específicamente en Villa del Carbón para referirse a las especies del complejo *T. equestre* s.l.). Lo identificó como un hongo que se consumía en la región, pero no lo reconoció con el nombre de “canario” o “calandria”.

Nuevamente, como lo había mencionado la colaboradora del mercado de Jamaica, doña Vero comentó que era un hongo escaso en los bosques. Comentó que crecía de manera solitaria entre el “ocoxal” (acículas de pino en el suelo del bosque). También dijo que cuando se lo encontraban, usualmente era consumido por ella y su familia o vendido junto con otros hongos como el “venadito” (*Amanita fulva*) en pequeños trozos limpios. Ella y otro honguero de la “Parada del Hongo” proporcionaron en el año 2022 dos cubetas de este hongo, de las cuales se analizaron ejemplares que aparecen en este trabajo (Figura 22 y 26).



Figura 31. Cubetas de hongos silvestres comestibles vendidas en la Parada del Hongo, septiembre de 2022.

Como parte de los datos que la honguera proporcionó sobre este hongo, mencionó que su temporada de mayor crecimiento en esos bosques era en septiembre. Así mismo, dijo que también solía crecer entre las plantas conocidas como “escobillas” (presuntamente *Baccharis conferta*). En torno a la recolección de hongos silvestres en esta región, por lo general las hongueras suelen reconocer que muchos hongos tienen su doble malo “hongo de hierba” que no es consumido y puede ser venenoso. Cuando se le preguntó a la colaboradora si el “escorpión” tenía su doble malo, ella afirmó que sí existía. Mencionó que el hongo de hierba que se parece al “escorpión” es muy similar, pero en ocasiones más pálido o incluso morado. Además, mencionó que, por lo general, lo comen frito o asado con sal y que era un hongo bastante apreciado por su sabor.



Figura 32. Fotografías de los “escorpiones” proporcionados por un honguero de la Parada del Hongo, los cuales se identifican en la fotografía de la izquierda como hongos de tonalidades amarillas intensas y en la fotografía de la derecha como hongos de coloraciones amarillentas pálidas. Los hongos de que aparecen en la fotografía de la izquierda fueron identificados en este estudio bajo el concepto de *Tricholoma equestre* 1.

9.8 Mortalidad con los extractos de tricolomas amarillos en el modelo *Artemia salina*

Los cuatro extractos que se pusieron a prueba en el bioensayo, presentaron valores de Concentración letal media (CL_{50}) inferiores a 100 $\mu\text{g/mL}$, lo que hace que los consideremos como altamente tóxicos, según la clasificación presentada por Meyer *et al.*, (1982). Extractos que den valores de $CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ se consideran no tóxicos, extractos con una CL_{50} de 500-1000 $\mu\text{g/mL}$ se clasifican de débil toxicidad, el rango de 100-500 $\mu\text{g/mL}$ indica una moderada

toxicidad y finalmente, una $CL_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ denota una alta toxicidad (Nguta y Mbaria, 2013; Karchesy *et al.*, 2016)

($\mu\text{g/mL}$)	Nauplios muertos E1	Nauplios muertos E2	Nauplios muertos E3	Nauplios muertos E4	Nauplios muertos DP
1000	30	30	30	30	30
500	29	30	30	30	30
100	29	29	25	17	30
50	20	27	19	16	30
10	12	15	16	13	30
5	14	14	9	6	17

Tabla 8. Mortalidad de los nauplios resultante de la exposición a los extractos: Extracto 1 (E1), Extracto 2 (E2), Extracto 3 (E3), Extracto 4 (E4) y Dicromato de Potasio (DP), a seis concentraciones distintas, a partir de una solución stock de cada uno de los extractos.

Pozo	Nauplios muertos C-
1	0
2	0
3	1
4	1
5	0
6	0

Tabla 9. Mortalidad de los nauplios en el control positivo: Agua marina artificial preparada con alimento y previamente oxigenada.

Extracto	Identificación voucher	Identificación molecular	Procedencia	CL ₅₀ µg/mL	Nivel de significancia	Clasificación
Extracto 1	<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma aestuans</i>	Mercado de Jamaica CDMX	37.613	0	Altamente tóxico
Extracto 2	<i>Tricholoma equestre</i>	–	Lagunas de Zempoala, Edo. Mex.	19.216	0	Altamente tóxico
Extracto 3	<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre 2</i>	Feria del Hongo Cuajimalpa, CDMX	37.722	0.001	Altamente tóxico
Extracto 4	<i>Tricholoma equestre</i>	<i>Tricholoma equestre 1</i>	Chignahuapan, Puebla	79.227	0.002	Altamente tóxico

Tabla 10. Clasificación de la toxicidad de los extractos obtenidos a partir de su Concentración Letal media.

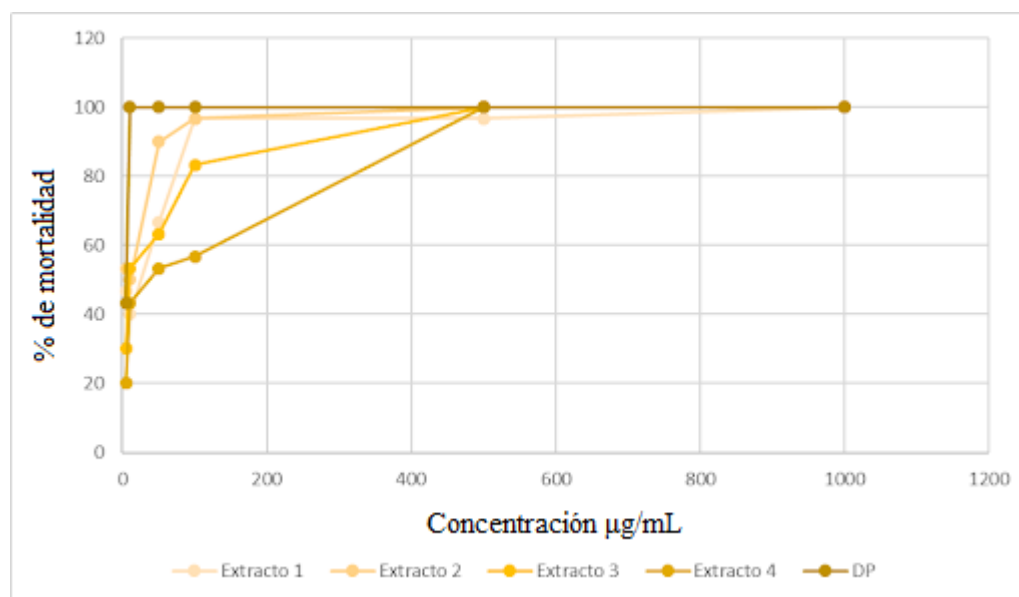


Figura 33. Porcentaje de mortalidad de nauplios por cada uno de los extractos después de una exposición de 24 horas, donde DP hace referencia al Dicromato de Potasio.

10. DISCUSIÓN

10.1 Sistemática del complejo y especies cercanas que se consumen en México

10.1.1 Taxonomía de los tricolomas estudiados

A continuación, en la tabla 11, se presenta una síntesis de las características macro, microscópicas, ecológicas y de comestibilidad de las especies del complejo. También se incluyen especies fuera del complejo, que son tricolomas amarillos con similitudes al grupo estudiado. Toda esta información está basada principalmente en las descripciones realizadas por Bigelow (1979) y Trudell *et al.* (2013).

Tabla 11. Caracteres macroscópicos diagnósticos para *Tricholoma equestre* s.l. y otros tricolomas amarillos

Carácter	<i>T. equestre/ flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosae</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacereum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
Píleo forma	Diámetro: 4 a 18cm. Forma: De convexo a ampliamente campanulado, cambiando a plano o plano-convexo. Con un umbo bajo y ancho		Diámetro: 5 a 12cm. Forma: De cónica a convexa y cuando madura es aplanado con umbo bajo y ancho	Diámetro: 4 a 9cm. Forma: Convexo a ampliamente convexo, con un umbo central, puede presentar forma de campana o verse casi plano	Diámetro: 5 a 12cm. Forma: Convexo, hemisférico o plano-convexo	Diámetro: 2.5 a 15 cm. Forma: Convexo cuando es joven y se va haciendo aplanado con el tiempo, con un amplio umbo	Diámetro: 4 a 10 cm. Forma: Cuando es joven se presenta convexo y se va haciendo plano al madurar. Tiene un amplio umbo	Diámetro: 1.5 a 9 cm. Forma: Obtuso a hemisférico a convexo. Su umbo se hace superficialmente deprimido con la edad
Coloración	Oliváceo, sulfuroso a amarillo dorado, con tinte marrón oscuro, marrón anaranjado o marrón rojizo en el centro, conforme madura el esporoma	Amarilla rojiza o amarilla brillante	Color muy variado, de amarillo pálido a amarillo verdoso amarillo mostaza	Amarillo a amarillo oliva. Moderadamente cubierto de fibras adpresas radiantes de gris a verde oliva (sobre todo en el centro)	De color crema a amarillo pálido, también se puede presentar parduzco	Tiene coloración amarilla verdoso-pálido, verde-grisáceo, oliva-grisáceo, gris plomo, azul grisáceo, gris verdoso o marrón o	Amarillento	Es de tonalidades amarillo-verdoso a amarillo-grisáceas. Su umbo es opaco y se va haciendo parduzco en la madurez

<i>Carácter</i>	<i>T. equestre/ flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosae</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacervum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
						incluso negruzco		
Superficie textura	Glutinoso a viscoso		Pegajosa o viscosa	Viscosa cuando el esporoma es joven y fresco, pero se seca pronto	Seca a ligerament e viscosa cuando está húmeda	Cuando es joven es húmeda y resbaladiza , a menudo se observa agrietada en la madurez	Este hongo es glabro y ligerament e viscido cuando es joven o está húmedo	La superficie es opaca en el umbo y brillante en el margen
Escamas	Adpresas y dispuestas de manera concéntrica, en ocasiones en todo el píleo, de coloraciones marrones		Adpresas y dispuestas de manera concéntrica. Más densas en la parte central. De amarillo pardo a un amarillo-oliváceo			Puede presentar escamas grisáceas, densament e distribuidas en la superficie	Puede presentar escamas muy pequeñas en su superficie de color marrón-amarillento , dorado o rojizo	.
Fibrillas	Con fibrillas marrones en algunos casos						También presenta fibrillas de color marrón-amarillento o rojizo	
Margen	Ligeramente afelpado y curvado al inicio, lobulado y flexionado con la edad, también fisurado en ocasiones		Ligeramente afelpado y curvado al inicio, después lobulado y flexionado	Amarillo, en ocasiones más brillante que el resto del hongo, está enrollado cuando el ejemplar es joven	Ligeramente curvado y estriado	Enrollado cuando es joven y se va expandiendo o al madurar. A veces tiene coloración blanquecinas o marrón-rosado	Es enrollado al principio y conforme pasa el tiempo se hace decurvado	De curvado a enrollado. Con la edad se puede volver ondulado o irregular
Láminas	Anchas, apiñadas y gruesas. Esporádicam	Sinuosas o emarginadas, un	Emarginadas, de medio a	Unidas al píleo por una muesca, son	De juntas a muy juntas, adnadas-	Emarginadas casi adnadas o anexadas,	Se encuentran apiñadas libres o	Son casi libres, luego son sinuosas y

<i>Carácter</i>	<i>T. equestre/ flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosae</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacervum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
	ente anastomosadas y con dientes o muescas	poco espaciadas	estrechas y apiñadas	cortas y frecuentes	emarginadas	son láminas amplias	ligeramente adosadas. Son sinuosas con el tiempo, cerradas y con lamélulas. Sus bordes a menudo se erosionan al madurar	anchas y sus bordes pueden ser ondulados o erosionados
Coloración	Con tonos sulfurosos al principio y con el tiempo de un amarillo pardo, que en ocasiones se observa oliváceo	De color amarillo sulfuroso, pero en ocasiones manchadas	Con diversas tonalidades de amarillo	De coloración blanca, a veces desarrollando manchas amarillas hacia el margen	Por lo general coloración es blancas a blanco-amarillentas	Por lo general son blancas o amarillentas, en ocasiones con tonalidades verdosas, pero conforme maduran van tomando tonos marrón-rosado o marrón-anaranjado	Blanquecinas	De color verde-amarillento, ocasionalmente parduzcas y ligeramente grises en los bordes
Contexto	De blanquecina a amarilla pálida	Blanquecina	Blanquecina o ligeramente amarilla	Blanquecino	Grueso en el estípite, blanquecino, sólido	Es blanco a verde-pálido, generalmente marrón-rosado o anaranjado en la base del estípite	Blanquecino	Blanco a blanco-grisáceo e incluso verde-grisáceo. Delgado y firme
Esporada	Blanca	Blanca	Blanca	Blanca				
Estípite forma	Longitud: 4 a 10 cm. Forma: Cilíndrico, a menudo	Longitud: Forma: A menudo bulboso y fistuloso.	Longitud: de 5 a 13 cm. Forma: Cilíndrico,	Longitud: 3 a 10 cm Forma: Cilíndrico o	Longitud: 7 a 11 cm Forma: Cilíndrica,	Longitud: 3.5 a 10 cm Forma: A veces	Longitud: 3 a 9 cm	Longitud: 1.5 a 5 cm Forma: Clavado, cilíndrico o

Carácter	<i>T. equestre/ flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosae</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacerbum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
	engrosado en la base o en el medio, fibroso	Fibroso, tierno	seco, a menudo bulboso en la base. Fibriloso a glabro	ligeramente clavado	clavada y es seco	ventricoso, a veces clavado. Su base suele ser cónica o ligeramente bulbosa		estrechándose en la base
Coloración	De amarillo pálido a amarillo sulfuroso	Blanquecino y amarillo en la base	De amarillo pálido a amarillo sulfuroso	Blanquecino, a veces con tintes amarillos o amarillentos en general.	De color blanco opaco a blanquecino	Suele ser blanco a verde pálido, en muchas ocasiones se presenta rosado o naranja cerca de la base	De coloración es blanquecinas o amarillentas pero tiende a teñirse de color marrón cerca de la base	Ligeramente amarillo, blanco, o con tonos grises en la base
Ornamentación	A veces con escamas diminutas					En ocasiones puede presentar escamas negras y peludas		
Aroma	Farináceo	Inodoro	Farináceo	Farináceo	Aroma acre muy fuerte, especialmente seco	Aroma a jabón neutro	Farináceo	Inodoro o no distintivo
Sabor	Suavemente farináceo	Sabor agradable a hongo	Suavemente farináceo	Suavemente farináceo	Sabor amargo o acre	Sabor similar a un jabón neutro	Farináceo	No distintivo o acre al final

Tabla 11. Carácteres macroscópicos con información basada principalmente en las descripciones realizadas por Bigelow (1979) y Trudell *et al.* (2013).

Tabla 12. Caracteres microscópicos diagnósticos para *Tricholoma equestre* s.l. y otros tricolomas amarillos cercanos al complejo

Carácter	<i>T. equestre/flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosae</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacerbum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
Pileipellis	Medidas: Hifas de 3.5 a 5 µm de diámetro Forma: Delgadas, cilíndricas y pocas veces con incrustación o amuralladas. Hialina en H ₂ O		Medidas: Hifas de 3.5 a 5 µm de diámetro Forma: Delgada, cilíndricas	Medidas: Hifas de 2.5 a 8 µm de diámetro Forma: Delgada, cilíndricas. Con paredes de tonos pardos, lisos o un poco incrustados pero hialinos en KOH. Sin aparentes conexiones de abrazadera	Medidas: Hifas de 3 a 6 µm de diámetro Forma: Con ixotricodermos. Hifas libremente dispuestas, con hifas filamentosas, cilíndricas y a menudo ramificadas. Hialina en H ₂ O	Forma: Son elementos anchos, hialinos y lisos	Hifas cilíndricas. Hipocutis de hifas cilíndricas. Paredes engrosadas o con incrustaciones pigmentadas	Forma: Sus hifas son cilíndricas. Epicutis subgelatinoso en KOH. Sus paredes están engrosadas o pueden presentar incrustaciones pigmentadas
Reacción en KOH					Coloraciones amarillentas			En ocasiones se presenta con algunos lugares rojizos
Trama	Trama himenoforal paralela y regular. Con hifas cilíndricas muy largas o infladas		Trama himenoforal entrecruzada y regular. Con hifas ligeramente infladas		Trama himenoforal de hifas paralelas, regulares y densamente dispuestas	Trama himenoforal paralela		Trama himenoforal paralela con hifas cilíndricas o algo infladas
Basidios	Medidas: 29-34 x 6-6.5 µm. Forma: Delgados a subcilíndricos con cuatro basidiosporas		Medidas: 24-33 x 5-6.5 µm. Forma: Delgados, subcilíndricos, con cuatro basidiosporas		Medidas: 22-27 x 5-7 µm. Forma: Clavados a estrechamente clavados, hialinos o amarillo-pálido. Con cuatro esterigmas principalmente, pero puede presentar tres o dos	Forma: De cuatro esterigmas y ocasionalmente dos		Forma: Mayoritariamente de cuatro basidiosporas y rara vez presenta dos

Carácter	<i>T. equestre/ flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosae</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacerbum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
Basidio sporas	Coloración: Hialina Forma: Elíptica con paredes delgadas y sin ornamentación Medidas: 7.14 x 4.44 µm. Reacciones: Acianófilo, inamiloide		Coloración: Blanca o hialina Forma: Elíptica con paredes delgadas y sin ornamentación Medidas: (Más pequeñas que las de <i>T. equestre</i>) 5.73 x 3.75 µm. Reacciones: Acianófilo, inamiloide	Coloración: Hialina Forma: Elipsoide a subglobosa con paredes delgadas y sin ornamentación Medidas: 6.5 x 4.5 µm. Reacciones: Acianófilo, inamiloide	Coloración: Forma: De ovoides a elipsoides, con pared delgada y sin ornamentación Medidas: 4.5x 3.7 µm Reacciones: inamiloides	Coloración: Hialinas Forma: De ovoides a elipsoides, con pared delgada y sin ornamentación Medidas: 5-7 x 3-7 - 4.8 µm	Forma: Elípticas y lisas. Medidas: 5-7 - 7 x 3-7 - 4.8 µm Reacciones: inamiloides	Forma: Elipsoides Medidas: 5 - 7 x 4.5- 5.5 µm Reacciones: inamiloides
Valor Q	1.6		1.2-1.8	1.6	1.18-1.25			
Cistidios	Queilo y pleurocistidios ausentes		Queilo y pleurocistidios ausentes	Queilocistidios a veces presentes de 15 a 40x 5 a 15µm. Claviformes, cilíndricos o algo irregulares. De paredes delgadas, sin ornamentación y hialinos en KOH	Queilo y pleurocistidios ausentes	Queilo y pleurocistidios ausentes	Puede tener queilocistidios de formas variantes	Queilocistidios pedicelados, claviformes, lisos, delgados y hialinos

Tabla 12. Caracteres microscópicos con información basada principalmente en las descripciones realizadas por Bigelow (1979) y Trudell *et al.* (2013).

Tabla 13. Caracteres ecológicos de las especies del complejo *T. equestre* s.l. y otros tricolomas amarillos cercanos al complejo

Carácter	<i>T. equestre/ flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosa</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacerbum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
Hospedero	<i>Pinus Pinus sylvestris</i> o <i>Abies alba</i> para los de origen europeo y asiático	<i>Pinus Pinus pinaster</i> para los de origen mediterráneo	Álamo temblón (<i>Populus tremula</i>) y a un en menor medida con <i>Picea</i> y <i>Abies</i>	Robles y otros árboles de madera dura en zonas templadas como pinos	En bosques subtropicales bajo árboles de las especies <i>Castanopsis fissa</i> , <i>C. chinensis</i> , <i>C. fabri</i> y <i>Schima superba</i>	Prolifera tanto en bosques de coníferas como en bosques de árboles caducifolios	Crece bajo coníferas	Principalmente con árboles de coníferas como <i>Pinus</i> y <i>Picea</i>
Micorriza	Raíces ramificadas dicotómicamente en ramas de la misma longitud, terminaciones de color café amarillento. Tienen un manto denso y blanquecino							
Sustrato	Suelos arenosos, rocosos y secos	Suelos arenosos	Suelos calcáreos, ricos en nutrientes y humus					
Distribución	En Europa, América del Norte, países nórdicos y bálticos. Asia Central y Japón. En bosques mixtos y	Costa sur de Europa, específicamente en Francia, la Península Ibérica y Japón. En bosques de pinos jóvenes	Europa (común en el sur de Suecia, Finlandia, Dinamarca, Rusia, Lituania,	Distribución en Norteamérica, Europa e incluso con reportes en Japón	Actualmente solo hay registros en Xiangtoushan Reserva Natural Nacional. provincia	En toda Europa, América del Norte, y Japón. Con algunos registros en Latinoamérica y en Oceanía	Distribuido o principalmente en EUA y Canadá. En Europa se encuentran registros en países	Distribuido principalmente en Europa, en países como Suecia, Noruega, Dinamarca y Finlandia. En Norteamérica está en EUA y Canadá.

Carácter	<i>T. equestre/ flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosa e</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacerbum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
	tundras forestales		Letonia, Estonia y al norte de Polonia). En bosques de coníferas caducifolios, mixtos y dominados por <i>Picea</i>		de Guandong del sur de China		como Finlandia, Estonia, Letonia y Rusia	También se reporta en Japón
Época de fructificación	De septiembre a noviembre	Se encuentra fructificando con mayor abundancia entre octubre y noviembre	Desde finales de julio hasta octubre	Finales de verano y otoño	De final de verano a mediados de otoño	Es común encontrarlo en primavera	Se puede encontrar de mayo a noviembre, pero sobre todo es abundante en agosto	Se puede encontrar principalmente en septiembre.
Crecimiento	Solitario, disperso o gregario			Solitario, disperso o gregario		Crece solitario, disperso o en grupos	Disperso o en grupos	De crecimiento gregario.
Comestibilidad	Considerado tradicionalmente como un buen comestible, pero no recomendable, su inocuidad está en duda				Dudosa, pero no se recomienda por su sabor acre	Clasificado como no comestible	Dudosa, pero reportado como comestible	
Consumo en el mundo	Polonia, España, Francia. Lituania, E.U.A, Japón, Lituania. Además se ha reportado su venta en			Considerado como un comestible de baja calidad, descrito en ocasiones				

Carácter	<i>T. equestre/ flavovirens</i>	<i>T. auratum</i>	<i>T. frondosa</i>	<i>T. sejunctum</i>	<i>T. sinoacerbum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>
	mercados de México y Guatemala			con sabor amargo				

Tabla 13. Caracteres ecológicos y datos sobre comestibilidad con información basada principalmente en las descripciones realizadas por Bigelow (1979) y Trudell *et al.* (2013).

10.1.2 La macromorfología como origen de caracteres diagnósticos

En el género *Tricholoma*, la determinación taxonómica a partir de caracteres morfológicos es muy compleja y poco confiable debido a las variaciones tan amplias. Esto se refleja principalmente en la coloración tan variable que caracteriza a estos hongos. En el caso del complejo *Tricholoma equestre s.l.*, una de sus particularidades, es la coloración amarilla en su píleo, estípites e incluso láminas. Entre los autores que han discutido el problema del complejo, en un principio trataron de diferenciar a las especies de tricolomas amarillos por variaciones específicas en su coloración; no obstante, siempre se presentan diferencias entre sus clasificaciones e interpretaciones.

En particular Kalamees (2001) y Moukha *et al.* (2013), reconocen en sus trabajos sobre el complejo, dos grandes grupos que diferencian por sus coloraciones sobre todo de láminas. Puede que este sea un carácter bueno para diferenciar al menos a las especies del complejo, de otros tricolomas amarillos. En este estudio sí se observaron diferencias entre los tricolomas con láminas pálidas y pardas, en comparación a los que se encuentran dentro del complejo que presentan tonalidades amarillas más intensas. Sin embargo, también hay que contemplar que es un carácter muy variable entre las especies que presentan el color amarillo e incluso teniéndolo puede cambiar dependiendo de la madurez de los esporomas (Hosen *et al.*, 2016; Trudell *et al.*, 2013; Bigelow, 1979). Por esta misma razón, este carácter puede no ser muy fiable para diferenciar a las especies dentro del complejo *T. equestre s.l.*

En este trabajo, se encontraron esporomas identificados previamente como *Tricholoma equestre s.l.* que pertenecen a clados fuera del complejo. Estos se agrupan con especies como *Tricholoma intermedium*, *Tricholoma sinoacerbum* o *Tricholoma aestuans*, los cuales pertenecen a los tricolomas de láminas blancas según la clasificación de Moukha *et al.* (2013).

Así mismo, la coloración de las láminas en los ejemplares mexicanos se presentó de color amarillo-crema pálido o pardo, dependiendo del clado al que pertenecieran. Otro carácter de importancia es la superficie víscida que puede diferenciar a *T. equestre* s.l. de otras especies fuera del complejo como *T. populinum* que siempre conserva una superficie seca (Noordeloos y Christensen, 1999).

10.1.3 La microscopía como origen de caracteres diagnósticos

Por lo regular, debido a que los caracteres microscópicos son muy similares dentro del género *Tricholoma*, estos no se han utilizado para diferenciar a las especies del complejo. Las especies de este género muestran una limitada variación microscópica. Se caracterizan por basidiosporas hialinas, subglobosas a oblongas, junto con una pileipellis simple. También se describen marcados por la ausencia de elementos estériles bien diferenciados, como los cistidios (Heilmann-Clausen *et al.*, 2017).

Por esta razón, cuando en este estudio se realizó la microscopía de los ejemplares seleccionados y se encontró presencia de cistidios incrustados en el himenio y cambios de coloración en KOH, se pensó que podrían ser utilizados para diferenciar las especies europeas de las americanas. Aunque tampoco se mencionan en la mayoría de trabajos relacionados con el género *Tricholoma*, se encontraron descripciones de Bigelow (1979), donde los menciona como caracteres presentes en tricolomas como *T. intermedium* y *T. aestuans* de Norteamérica; sin embargo, este autor lo describe en la pileipellis, pero no en el himenio.

Pese a que es un carácter potencialmente útil para identificar nuevas especies o para diferenciar los tricolomas amarillos de América en relación a los de Europa y Asia; no es funcional para distinguir entre los dos clados nuevos del complejo identificados en México (*Tricholoma equestre* 1 y *T. equestre* 2), ya que ambos presentan cistidios incrustados. Esto lleva a pensar que no los podemos considerar como un carácter diagnóstico para identificar una especie, ya que están compartidos en los clados de lo que se pueden considerar especies distintas. Aunque estas características no sean diagnósticas para diferenciar especies dentro del género, pueden ser consideradas para una futura investigación sobre los patrones y las razones de expresión fenotípica tan variante de los tricolomas, que a su vez diferencian a los grupos mexicanos de los del resto del mundo.

10.1.4 La ecología como origen de caracteres diagnósticos

Uno de los caracteres que también cobra importancia para la taxonomía es la ecología del organismo que se está estudiando, sobre todo en el caso de los hongos ectomicorrízicos se vuelve determinante debido a la interacción que llevan con su hospedero. En muchos de los casos suele ser muy especializada y conlleva una especificidad genética que puede determinar cambios importantes en la biología de las especies (Tovar *et al.*, 2004). Estos hongos en general presentan endemismo continental y en el caso del complejo *T. equestre* s.l, si se han observado diferencias entre los hospederos con los que se relacionan sus especies (Moukha *et al.*, 2013; Kalamees, 2001; Reschke *et al.*, 2018).

En particular, de los ejemplares mexicanos que sabemos su procedencia o de los que se recolectaron en campo, se concluye que proceden de bosques mixtos de *Abies*, *Pinus* y *Quercus*. Comúnmente, se ha dicho en la literatura que este grupo de hongos puede crecer en sustratos muy diversos como arena, suelos ricos en humus, suelos calcáreos y pantanosos. Moukha *et al.* (2013) establecieron en su estudio que lo que ellos reconocen como el complejo *Tricholoma equestre*, se relaciona principalmente con *Pinus sylvestris* y *Abies alba* cuando se trata del grupo conformado por *T. equestre* y *T. flavovirens*, mientras que en el caso de *T. auratum* se asocia con *Pinus pinaster*. También describieron un caso particular donde uno de los ejemplares recolectado en Francia (que en nuestro estudio también se posiciona dentro del complejo) que, aunque se encontraba en un bosque de *Abies alba*, también se rodeaba de pequeños ejemplares de *Quercus pubescens*.

Este caso se repite en los ejemplares que provienen de Chignahuapan, Puebla, que se recolectaron en bosques mixtos de *Pinus-Quercus*, los cuales mediante los análisis filogenéticos se identificaron como especies también dentro del complejo, a lo que se nombró como *T. equestre* y *T. flavovirens*. La relación con los *Quercus* es de vital importancia, ya que las especies europeas del complejo se ven asociadas principalmente con coníferas y no con angiospermas como el encino (Moukha *et al.*, 2013; Deng y Yao, 2005).

Por las anteriores razones, es importante que para futuros trabajos y para subir datos taxonómicos sobre las especies del complejo a las bases de datos mundiales, tanto en México como en América, se incluyan datos ecológicos que podrían brindar mayor información sobre la identidad de los esporomas observados en campo. Este particular punto también debe ser abordado con los ejemplares que venden los hongueros ya que los árboles con los que se

relaciona a este hongo podrían ser clave para diferenciar especies que se consideran comestibles de otras muy similares morfológicamente.

10.1.5 Las secuencias como un carácter para diferenciar a las especies

10.1.5.1 Los árboles obtenidos vs los antecedentes

Muchos de los macro hongos de Norteamérica se identificaron en el pasado bajo nombres europeos; sin embargo, los nuevos datos aportados por la sistemática molecular en muchos casos demuestran que esos nombres están mal aplicados, como bien lo señalan Nguyen *et al.*, (2013). Esto en parte se debe a un uso de conceptos únicamente morfológicos de especie y en casos como el de *Tricholoma equestre* s.l. donde su variación fenotípica es amplia puede variar según las interpretaciones, razón por la cual causa confusión y controversia entre los micólogos.

Al realizar la filogenia de ITS tanto con máxima verosimilitud como con el método bayesiano, los árboles inferidos de manera separada (Figura 3), revelaron un patrón concordante de topología con buenos valores de soporte. Este patrón indica que al menos hay siete especies distintas de tricolomas amarillos que han sido identificados bajo el nombre de *T. equestre* s.l. en el territorio mexicano. También del árbol se puede inferir que hay al menos dos nuevas potenciales especies dentro del complejo que son exclusivamente mexicanas (*T. equestre* 1 y 2). Estos grupos, aunque presentan una morfología similar a lo que se nombró como *T. equestre* s.s de Europa, se diferencian del mismo por ciertas características. Entre ellas se encuentran variantes en su color, cistidios incrustados en el himenio y también su distribución geográfica, junto con vegetación asociada.

Así mismo, hay diferencias en sus secuencias y es un patrón que se recupera tanto en los árboles como en la red de haplotipos. Se tomó como punto de comparación sobre todo las secuencias de Moukha *et al.* (2013) debido a que sí consideraron el factor biogeográfico para sus secuencias de referencia de Francia y el mundo. En este mismo trabajo, para representar a las especies de *T. equestre* s.s. usaron únicamente secuencias de ejemplares de procedencia continental europea. De este modo, excluyeron a otros tricolomas; un ejemplo es a todo aquello que consideraban como *T. auratum* de la costa Suroeste de Francia y Japón.

El caso de *T. flavovirens*, que se ha considerado como un sinónimo, puede ponerse en duda. Mediante los análisis filogenéticos de este trabajo, así como los presentados por autores anteriores (Moukha *et al.*, 2013; Heilmann-Clausen *et al.*, 2017; Reschke *et al.*, 2018 y Cui *et*

al., 2022) se puede encontrar un patrón, que es la agrupación de este tipo de secuencias en un clado de origen claramente norteamericano. Este grupo se separa de las secuencias europeas de *T. flavovirens* o del grupo *T. equestre* europeo, lo cual sugiere que se trata de una especie hermana de distribución norteamericana.

10.1.5.2 La red de Haplotipos vs la filogenia del complejo *T. equestre* s.l.

Varios grupos que se segregan en la red de haplotipos, muestran un patrón similar en el análisis filogenético. También aparecen como grupos diferenciados dentro del complejo *Tricholoma equestre* s.l., lo cual refuerza la idea de que se trata de conjuntos biológicos ligeramente distintos. Otra de las interpretaciones que podría tener el patrón conformado, es que este grupo de tricolomas amarillos está pasando por un proceso de especiación. Aunque esta última posibilidad no lleva directamente a la conclusión de que son diferentes especies, puede explicar la amplia variación tanto morfológica como fisiológica.

En la red se genera un grupo de cuatro haplotipos que conforman lo que identificamos como el grupo asiático, los cuales se separan del resto de la red por cuatro mutaciones. Este grupo está formado por Hap_1, de donde descienden Hap_2 y Hap_3, este primer haplotipo se encuentra en las tres de las cinco secuencias de *T. auratum* provenientes de Japón. Hap_4 es el más cercano y se encontró en la secuencia china de *T. equestre* MW724470. Todo lo anterior se respalda en el árbol bayesiano, ya que también se forma un clado con esa distribución, el cual tiene un soporte de 100% de MV y 1 de PP dentro del gran clado del complejo *Tricholoma equestre* s.l.

Dentro de la red se observan dos grandes haplotipos que se identificaron como europeos. De estos, se desprenden más haplotipos que solo están contenidos en secuencias europeas, estos son el Hap_37 y Hap_38. El segundo está en la mayor parte de las secuencias de *T. flavovirens* y *T. equestre* procedentes de Portugal y Polonia principalmente. Estas secuencias junto con los haplotipos descendientes de Hap_37 y 38, pertenecen a las secuencias a las que en el árbol denominamos como el clado de *Tricholoma equestre* s.s. A este clado lo identificamos también como un grupo europeo que se separa del resto y la red muestra que estos haplotipos no se encuentran ni en secuencias norteamericanas ni en asiáticas.

El siguiente grupo está conformado por un haplotipo ancestral Hap_6. De este se desprenden el mayor número de conexiones con haplotipos norteamericanos, europeos y asiáticos. Lo cual

nos puede estar hablando de un intercambio genético entre poblaciones. Este haplotipo se encuentra principalmente en las secuencias norteamericanas de Canadá, México y EUA; de este se desprenden haplotipos norteamericanos, aunque también se encuentran excepciones con algunos haplotipos de origen chino y finlandés.

Otro caso interesante es el Hap_16, ya que en el árbol bayesiano concuerda con una serie de secuencias que se observan en peine provenientes de E.UA., Noruega, Finlandia y China. En esa agrupación, se encuentran secuencias de China que se identificaron como *T. frondosae* y el resto de los nombres varían de *T. equestre* a *T. flavovirens* e incluso a *Tricholoma sp.* Este caso puede reflejar una historia biogeográfica común de la región holártica del planeta; de otro modo, el intercambio genético entre estos grupos sería poco probable.

Finalmente, el conjunto de secuencias mexicanas en el árbol se encuentran en una sección más interna y forman parte de lo que se considera como un grupo principalmente norteamericano derivado del Hap_6. Este haplotipo es compartido por secuencias procedentes de los tres países norteamericanos, los cuales se segregan por países. En relación con el árbol bayesiano, este conjunto de haplotipos, se encuentra en secuencias que aparecen en el grupo de lo que se identificó como *T. flavovirens* de Norteamérica y el resto de especies dentro del complejo *T. equestre s.l.* Es de destacar que, aunque la mayor parte de las secuencias provienen de Europa, la mayor cantidad de haplotipos son norteamericanos, lo que es un reflejo de que esa región es el centro de diversificación del género. En conclusión, se puede observar que tanto en la red de haplotipos como en el árbol bayesiano se muestra un patrón de segregación geográfica. Lo anterior se puede interpretar como una segregación al menos continental de varias especies dentro del complejo *equestre* que en trabajos como el de Kalamees (2001) y el de Deng y Yao (2005), se han tomado como sinónimos.

10.2 Diversidad de tricolomas amarillos y su aprovechamiento en México

Se sabe que el centro de riqueza del género *Tricholoma* se encuentra en Norteamérica, donde más de 100 especies han sido reportadas, mientras que en Europa se enlistan de 68 a 88 (Trudell *et al.*, 2013; Kibby, 2012). Por esta razón, es necesario explorar a mayor profundidad la diversidad en el continente americano, de la cual se tiene poca información en comparación con los estudios europeos de la funga. Además, es de esperarse que existan especies norteamericanas nuevas bajo nombres europeos.

Partiendo de los análisis de las secuencias estudiadas, se decide considerar a *T. flavovirens* como una especie distinta de *T. equestre* y no como un sinónimo, como lo habían considerado Deng y Yang (2005). Esto se debe a que, en los árboles obtenidos, ambas especies se separan en dos clados. Uno compuesto principalmente por secuencias bajo el nombre de *T. equestre* que se encuentran por lo general en el centro de Europa y que podríamos nombrar como *Tricholoma equestre sensu stricto*. Por otro lado, *Tricholoma flavovirens* se separa en otro gran clado dentro del complejo que se establece como un grupo principalmente norteamericano.

Un punto importante en la discusión del complejo *Tricholoma equestre*, es que entre las secuencias mexicanas que se buscaron mediante el algoritmo BLAST, no se encontró ninguna coincidencia con *Tricholoma auratum*. El anterior es un clado que en los análisis siempre se agrupa y genera un grupo japonés de buen soporte en los análisis filogenéticos, mismo que no se mezcla con el resto de secuencias del mundo, excepto con algunas chinas. Esto puede ser un argumento que respalde la idea de endemismo regional característico de los hongos ectomicorrízicos.

Se tiene que explorar la diversidad genética de todo el género ya que una posibilidad dentro de este trabajo, es que se estén considerando como especies nuevas a aquellas que no empatan con secuencias de tricolomas amarillos que se incluyeron dentro del estudio. Empero que podrían empatar con otras secuencias de tricolomas ligeramente parecidos en su morfología a un “tricoloma amarillo” como es el caso de *Tricholoma sulphureum* y *Tricholoma odorum*, los cuales pertenecen al grupo de tricolomas malolientes o *Tricholoma arvernense* que se considera cercano a *T. sejunctum*, un tricoloma amarillento comestible.

10.3 Distribución de las especies de tricolomas amarillos en México

En el caso específico de México encontramos la presencia de siete especies de tricolomas amarillos, siendo el Estado de México el sitio donde hay un mayor esfuerzo de muestreo. A continuación, se presenta la tabla 14, donde se resume la presencia de las especies identificadas en los distintos estados de donde obtuvimos los datos.

Estado	<i>T. cf. sinoacerbum</i>	<i>T. saponaceum</i>	<i>T. aff. intermedium</i>	<i>T. aestuans</i>	<i>T. flavovirens</i>	<i>T. equestre 1</i>	<i>T. equestre 2</i>
CDMX	0	1	0	0	0	0	2
Edo. Mex.	1	2	2	2	0	3	5
Puebla	0	0	0	0	1	1	0
Tlaxcala	0	1	0	0	0	0	0
Hidalgo	0	0	0	0	0	0	1*
Jalisco	0	0	0	0	0	0	0
Oaxaca	0	0	0	3*	0	0	0

Tabla 14. Distribución de las distintas especies de Tricolomas amarillos en México de acuerdo a los materiales estudiados. Los asteriscos representan al menos un registro proveniente de secuencias del suelo.



Figura 34. Mapa de la distribución de las distintas especies identificadas en este estudio como tricolomas amarillos en el territorio mexicano.

A partir de la Tabla 10 y la Figura 26, se puede observar que la generalidad es que en las regiones estudiadas del país (con excepción de Jalisco y Oaxaca) se registra más de una especie de tricoloma amarillo, de los cuales hay hongos que tanto en la Ciudad de México, como en Puebla y el Estado de México se consumen como alimento. En este sentido, los hongos identificados dentro del complejo (*T. flavovirens*, *T. equestre 1* y *T. equestre 2*) tuvieron registro en la Ciudad de México, el Estado de México, Puebla, Hidalgo y Jalisco, teniendo en los casos de *T. equestre 1* y *2*, al menos una secuencia del suelo. Dentro de este grupo, sabemos que *T. flavovirens* se consume en Puebla *T. equestre 1* se consume en Puebla y Estado de México y *T. equestre 2* en Ciudad de México y Estado de México.

Las otras especies que no están dentro del complejo pero que se comen en el territorio, identificadas bajo los nombres comunes de “canario” y “escorpión” (usados también para las especies del complejo) son: *T. saponaceum* con un registro como hongo comestible en Cuajimalpa, CDMX. y *T. aestuans* con registro de comestibilidad en Río Frío, Edo. Mex. Teniendo en total cinco especies de tricolomas amarillos que se consumen en el centro del país.

10.4 Comestibilidad e inocuidad alimenticia de los tricolomas amarillos en México

10.4.1 Resultados de este bioensayo, contrastados con los realizados anteriormente.

El bioensayo realizado con los nauplios de *Artemia salina* y las especies *Tricholoma aestuans*, *Tricholoma equestre 1* y *2*, dio como resultado un rango de la Concentración Letal media de 19.2 a 79.2 µg/mL, lo cual deja a todos los extractos dentro de la clasificación de altamente tóxicos. Esto coincide con los trabajos de Bedry *et al.* (2001), Nieminen *et al.* (2005; 2008), Muszyńska *et al.* (2018) que encontraron toxicidad de este hongo en modelos murinos. También el resultado de este estudio, se podría comparar con el de Qiu *et al.* (2014) donde obtuvieron inhibición del crecimiento vegetal con los compuestos $C_{12}H_{15}NO$ y 4-metoximetil-2-metilindol, los cuales fueron aislados de hongos identificados bajo el nombre de *Tricholoma flavovirens*.

No obstante, hay que contemplar ciertos factores que pueden diferenciar los resultados del presente trabajo en comparación a sus antecedentes. En primer lugar, en el ensayo toxicológico realizado en este trabajo, se pusieron a prueba extracciones con metanol y no compuestos aislados. Además, se trabajó con el modelo *Artemia salina* que no había sido utilizado para poner a prueba el potencial tóxico del complejo *T. equestre s.l.*

En principio, se desconoce si realmente los hongos utilizados en los trabajos que se tomaron como referencia, pertenecían a la especie *Tricholoma equestre sensu stricto* descrita de Europa o si se trata de especies cercanas. Mientras que en el caso de este estudio en México, en primer lugar, no se encontraron secuencias a las que se les pudiera asignar el nombre de *Tricholoma equestre* s.s. También se evidenció que se consumen en el territorio otros tricolomas amarillos de especies fuera del complejo. De algunas de estas especies consumidas en el centro de México, se sabe que se han reportado en Europa y Asia como no comestibles como *Tricholoma saponaceum* o *Tricholoma aestuans* (Trudell *et al.*, 2013).

Por otro lado, nuestros resultados son diferentes de lo que plantean Klimaszyk y Rzymiski (2018). Ellos realizaron una parte experimental donde dieron el hongo con identificación molecular de *Tricholoma equestre* a varios voluntarios como desayuno durante un día. Debido a que no encontraron elevaciones de la ceratin quinasa en sangre, llegaron a la conclusión de que no se encontró evidencia de la toxicidad de este hongo. Sin embargo, en principio no se puede considerar replicable este experimento en otras partes del mundo donde está prohibida la venta de *T. equestre* como comestible.

Además, el anterior es un experimento que sin estar seguros de la inocuidad del consumo de estos hongos, puede poner en riesgo la salud de los implicados. Así mismo, en este estudio solamente se dio una proporción de 300 g del hongo durante un desayuno, lo cual no reflejaría el efecto tóxico acumulativo citado en otros trabajos. Sumado a todo lo anterior, los efectos de este grupo de hongos se deben probar con más modelos animales para que reflejen resultados robustos, antes de hacer experimentos con seres humanos.

10.4.2 Tipo de consumo de los hongos del complejo en torno a su potencial tóxico

En torno a los efectos tóxicos acumulativos que desembocan en rabdomiólisis, se tiene que discutir que pueden tener una explicación biocultural. En principio, se tiene que tomar en cuenta la biodiversidad del sitio y el actuar de la cultura que convive con ese medio. Las intoxicaciones reportadas en el mundo son principalmente de Europa en un contexto donde las familias que recolectan el hongo, llegan a comer una porción de 300 g diarios en un rango de tres a siete días. Esto último puede significar que el hongo es muy abundante en esos bosques o que tienen en esas regiones la costumbre de consumir pocas especies en grandes cantidades. Estos hechos son importantes ya que contrastan con el consumo de este hongo en el centro de México.

En principio, hay una mayor diversidad de hongos comestibles durante la temporada de lluvias en los bosques mexicanos. Por lo tanto, las personas que los consumen como alimento, suelen variar las especies y las preparaciones, dependiendo de la disponibilidad y preferencias. En general, los reportes etnomicológicos del consumo de *Tricholoma equestre* s.l. en México, apuntaban a que no son hongos tan apreciados en la culinaria de los hongos silvestres. Esto debido a que usualmente se suelen encontrar revueltos con otras especies en montones de hongos. Estos montones por lo regular, tienen precios más baratos en comparación a otros hongos cercanos a la especie, como lo es *Tricholoma mesoamericanum* (Montoya *et al.*, 2008; Pérez-Moreno *et al.*, 2008).

No obstante, en este trabajo se llegó a observar, que las y los hongueros que consumen el “escorpión” lo aprecian como un buen comestible. En general tanto en Chignahuapan, como en Villa del Carbón, Estado de México y la Ciudad de México, lo siguen vendiendo en montones con otros hongos. Pero al contrario de lo que se pudiera pensar, no lo hacen porque lo consideren un hongo de baja calidad culinaria; este tipo de venta se relaciona más con que no es un hongo tan abundante en el bosque y a que crece de manera dispersa, de modo que no se consiguen grandes cantidades de sus esporomas.

Además, es de resaltar que particularmente en la Parada del Hongo pueden vender cubetas solo del “escorpión” bajo pedido y en su temporada que es principalmente en el mes de septiembre. Tal es el aprecio a este hongo que, incluso cuando los recolectores llegan a encontrar pocos esporomas, prefieren guardarlo para consumo personal. Si asumiremos que las especies de tricolomas amarillos que se consumen en el centro de México también pueden tener un efecto tóxico acumulativo, es menos probable que se den intoxicaciones debido a que es un hongo que no suele consumirse en abundancia.

Por lo anterior, es posible que la toxicidad asociada con estos hongos no esté relacionada particularmente con una especie, sino con la cantidad de hongos consumidos; sobre todo, si consideramos el efecto acumulativo reportado en los casos de intoxicaciones en Europa. Sin embargo, ya que todos los extractos de las especies evaluadas en el bioensayo resultaron altamente tóxicos en crudo, se deben contemplar como potencialmente tóxicas bajo ese contexto. Así mismo, ya que la mayoría de los morfos se encontraban mezclados con otras especies, no sabemos exactamente cuáles de ellas pueden presentar esta toxicidad. A pesar de esto, tenemos este resultado con un conjunto de especies que se nombran, se venden y se comen

bajo la misma identidad. También cabe la posibilidad que es una característica compartida por varios tricolomas amarillos presentes en México.

Ramírez-Terrazo *et al.* (2014), mencionan que los hongos pueden causar una serie de falsos envenenamientos que no necesariamente corresponden a un micetismo. Además, los falsos micetismos no indican el nivel de riesgo, sino que solo pueden dar indicios de sus causas. Entre dichas causas se pueden enumerar una mala digestión y consumo excesivo (asociada a una respuesta individual). También se puede producir un envenenamiento psicosomático y un envenenamiento causado por hongos en mal estado (Bresinsky y Besl, 1990).

De las tres posibilidades antes mencionadas, se puede descartar la segunda. Esto debido a que, en los casos clínicos relacionados con intoxicaciones con especies del complejo de interés, si hay una respuesta en sangre donde suben drásticamente los niveles de creatina quinasa en los pacientes (Bedry *et al.*, 2001). Así mismo, se puede descartar la última posibilidad ya que las intoxicaciones no solo se quedan en malestares gastrointestinales, sino que presentan un patrón que desemboca en rabdomiólisis, sin embargo no se descarta la posibilidad de una respuesta individual ante los componentes del esporoma.

Sin duda alguna, todo lo anterior nos indica que también se debe poner atención en la necesidad de recuperar y revalorizar el conocimiento tradicional, ya que en la práctica podemos responder preguntas relacionadas a porqué en algunos sitios estos hongos que son potencialmente tóxicos se siguen consumiendo como alimento en la actualidad. Nos recuerda que estos conocimientos están en riesgo debido a la erosión continua y acelerada a la que se han sometido, vinculada con la pérdida de hábitats naturales y aculturación (López-García *et al.*, 2020)

10.4.3 Ejemplares de *Entoloma* a la venta entre tricolomas amarillos

Debido a que se encontraron dos ejemplares cuyas secuencias empataron en un 90% con secuencias del género *Entoloma* (FA-2021-001 y FA-2022-002), es necesario hacer una pequeña recapitulación del potencial tóxico de estos hongos que también se están consumiendo bajo el concepto de “escorpión” o “canario” en la CDMX. En el mundo se han reportado intoxicaciones con algunas especies del género *Entoloma*, entre ellas se encuentran *Entoloma niphoides* en Europa, *Entoloma omiense* en China, *Entoloma rhodopolium* y *Entoloma sinuatum* en Japón. Aunado a esto, se sabe de otros entolomas tóxicos como *Entoloma crassum*,

Entoloma lividum, *Entoloma nidorosum*, *Entoloma verum* y *Entoloma lividoalbum* (Becker, 1960; Chunlei *et al.*, 2021).

Las especies anteriores son los entolomas tóxicos conocidos y algunos como *E. lividum*, *E. verum*, *E. sinuatum* se distribuyen en América. Esta última especie sí tiene registros en México. Este último es relevante ya que las intoxicaciones más severas a nivel mundial son causadas por esta especie, su micetismo provoca lesiones hepáticas graves, hemorragias, diarrea y uremia. Los síntomas anteriores, entran dentro de un síndrome conocido como “síndrome resinoideo severo”. Este hongo tiene el mayor número de registros de intoxicaciones por su consumo en Europa y Asia. Se sabe que, en el territorio español, provoca los micetismos más frecuentes en Navarra donde suele ser confundido con la especie comestible *Clitocybe nebularis* (Pinillos *et al.*, 2003).

Se considera como una de las principales toxinas en este género a la vinilglicina (ácido 2-amino-3-butenico) aislada de *E. nidorosum*. Además de esta toxina, se han encontrado alcaloides en *E. sinuatum* y una acumulación alta de mercurio en registrada en algunos esporomas provenientes de Polonia (Pomillo *et al.*, 2019). La mayoría de los hongos tóxicos de este género producen síntomas de intoxicaciones gastrointestinales y otros como hemólisis, pero nada semejante a la rhabdomiólisis. Además de esto, la única especie que podría ser confundida por las coloraciones amarillentas con algún tricoloma amarillo es *Entoloma crassum*.

En Norteamérica algunas especies registradas como comestibles del género son *Entoloma abortivum*, *Entoloma subvile*, *Entoloma carneogriseum* y *Entoloma clypeatum*. Este último, es el caso de un entoloma representado en el territorio mexicano y considerado como buen comestible. Solo existe un reporte de intoxicación en Turquía. Sin embargo, los síntomas que se presentaron fueron visión borrosa en ambos ojos y dolor abdominal leve. Además, es necesario remarcar que esta es la única intoxicación a nivel mundial relacionada con este hongo, lo que no necesariamente apunta a un potencial tóxico. Aunque en muchos reportes a nivel mundial se considera como un buen comestible, existen dudas sobre su potencial tóxico que se mantienen en discusión (İşiloglu, *et al.*, 2011).

11. PERSPECTIVAS

11.1 Perspectivas a futuro sobre su estudio toxicológico

11.1.1 Mejoras metodológicas generales

Fuentes *et al.* (2001) en su trabajo titulado “La Etnofarmacología y los bioensayos como nuevas estrategias en la investigación fitoquímica de la flora medicinal peruana”, proponen una serie de pasos para analizar la química de plantas de importancia etnobotánica por sus usos medicinales, que son los siguientes: 1) Selección, recolección, identificación, secado y preparación del material. 2) Extracción con solventes (preparación del extracto adecuado) y análisis preliminar en cromatografía de capa fina (TLC) o cromatografía líquida de alta presión (HPLC). 3) Screening biológico y farmacológico de los extractos crudos. 4) Separación cromatográfica de los constituyentes bioactivos puros (fraccionamiento guiado por el bioensayo). 5) Verificación de la pureza de los compuestos aislados y determinación de la estructura química por métodos químicos y espectroscópicos. 6) Análisis y perfil farmacológico de compuestos puros. 7) Examen toxicológico y 8) Síntesis total y/o parcial.

El protocolo anterior contempla varias pruebas que al llevarlas a cabo pueden dar una idea completa de la química de un organismo. Es un buen referente que se puede replicar para tener un análisis químico completo de los hongos estudiados. Identificando los compuestos químicos de estos hongos, se podría reconocer el o los componentes responsables de la supuesta toxicidad en el grupo de tricolomas amarillos. Además, con esto se pueden ampliar las investigaciones no solo al ámbito del potencial tóxico de estos hongos, sino también al potencial medicinal de sus componentes. Tal es el ejemplo de su posible actividad anticancerígena estudiada por Pachón-Peña *et al.* (2009), el cual no se relaciona directamente con su consumo como alimento.

Así mismo, podemos observar que también puede influir un factor de respuesta individual involucrado en los casos de rabdomiólisis que quizás no tenga que ver directamente con una toxina, sino con otra sustancia y la reacción individual ante ella en grandes cantidades. Lo anterior, se tendría que estudiar con relación a la susceptibilidad que tienen distintas poblaciones humanas con el consumo de ciertos hongos silvestres. Una problemática asociada con esto y con que no se ha encontrado la identidad de la o las sustancias que están involucradas en las intoxicaciones, es que no es posible establecer un umbral exacto para el consumo seguro de este hongo.

11.1.2 Procesamiento de los extractos

Los factores más comunes que afectan al proceso de extracción de cualquier sustancia son el solvente, la temperatura, la presión y el tiempo (Hernández *et al.*, 2009). Los bioproductos encontrados en los extractos de plantas, o en este caso hongos, se caracterizan por la presencia de determinadas sustancias como compuestos fenólicos, terpenoides, compuestos nitrogenados o alcaloides. Estos tienen una naturaleza química diferente en cuanto a su polaridad, efectos biológicos, volatilidad, entre otras características. Por lo tanto, la elección del método de extracción dependerá de la naturaleza química de las sustancias presentes, su afinidad molecular con el solvente, la transferencia de masa, la toxicidad de los solventes y la viabilidad financiera (Azmir *et al.*, 2013).

Considerando todo lo anterior y el método de maceración utilizado, donde el tipo de solvente es crucial para la obtención de los compuestos, se tiene que ampliar el tipo de solventes utilizados en el bioensayo para extraer los componentes químicos de los hongos de interés. Cada solvente tiene una polaridad particular y por tanto, se tiende a arrastrar cierto tipo de compuestos:

Agua	Metanol	Etanol	Cloroformo	Hexano
Terpenoides	Terpenoides	Terpenoides	Terpenoides	Terpenoides
Taninos	Taninos	Taninos	-	-
Antocianinas	Antocianinas	-	-	-
Saponinas	Saponinas	-	-	-
-	Polifenoles	Polifenoles	-	-
-	-	Alcaloides	-	Alcaloides
-	-	Flavonol	-	-
-	Flavonas	-	-	-
-	-	-	Flavonoides	-
-	-	-	-	Hidrocarburos terpénicos

Tabla 15. Clasificación de algunos compuestos bioactivos extraídos a partir de diferentes solventes (Modificada de Cowan, 1999).

Usando únicamente metanol (como se hizo en este estudio) se extraen compuestos polares. Sin embargo, se requiere de otro tipo de solventes como el hexano para que se arrastren componentes químicos no polares. Esta modificación al protocolo utilizado, aportaría una idea más completa sobre los componentes químicos que poseen estos hongos. Por otro lado, es importante siempre considerar que los solventes orgánicos que se utilizan para los extractos suelen ser tóxicos a determinadas concentraciones. Por esta razón, en este trabajo se tomaron todas las medidas posibles para que los extractos estuvieran secos por completo, eliminando restos del solvente que pudiesen crear un sesgo en los resultados de la mortalidad asociada a los extractos.

Otro punto importante a considerar dentro de estos resultados, es que los extractos analizados se deben considerar como crudos. Si efectivamente el extracto resulta con una toxicidad similar para otros modelos animales como murinos que, son más cercanos a los seres humanos; podemos considerar la hipótesis de que se trata de una toxina que se volatiliza en su mayoría durante la cocción de los hongos. Empero que puede permanecer en pequeñas cantidades que se van acumulando en el organismo si se consumen estos hongos por un tiempo prolongado.

Otro de los factores más importantes que influyen en el proceso de extracción es la temperatura. La infusión o el cocimiento a una temperatura cercana a los 100° C favorece las extracciones de ciertos componentes que solo pasarían al solvente con ayuda de calor (Guerra, 2005), pero también es importante saber que componentes en crudo podrían modificar el potencial tóxico sobre todo en especies de hongos silvestres que son consumidas como alimento. Retomando la información anterior, se requieren pruebas a futuro donde se procese el hongo de manera que se imite el proceso de cocción, donde se utilicen solventes con distinta polaridad. Finalmente, se resalta la necesidad de contrastar estos resultados con otros modelos animales como los murinos o embriones de pez cebra.

11.1.3 Respuesta individual de los organismos ante el consumo de *T. equestre* s.l.

Analizando las posibles causas relacionadas a las intoxicaciones provocadas por el consumo de hongos bajo el nombre de *T. equestre* s.l., es importante resaltar que existe una variabilidad de la respuesta individual de manera repetida. Tanto en los estudios de los polacos como en los finlandeses, lo cual sugiere que puede haber un factor de susceptibilidad individual. En los casos clínicos abordados por Laubner y Mikulevičienė (2016); Chodorowski *et al.* (2002)

observan como algo repetitivo el hecho de que a pesar de que hay familias que consumen cantidades similares del hongo, no todos son susceptibles a desarrollar un cuadro de intoxicación severo que desemboque en rabdomiólisis.

12. CONCLUSIONES

El complejo *Tricholoma equestre* está conformado por más de una especie e incluye a *Tricholoma equestre* s.s. en Europa, *Tricholoma auratum* en Asia, *Tricholoma flavovirens* en Norteamérica, *Tricholoma frondosae* y al menos dos especies potencialmente nuevas de México. En el territorio mexicano se consumen cinco tricolomas amarillos que se encuentran tanto dentro como fuera del complejo *Tricholoma equestre* s.l. (*T. saponaceum*, *T. aestuans*, *T. flavovirens*, *T. equestre 1* y *T. equestre 2*). Dos de estas especies no se habían considerado antes para la discusión de la identidad taxonómica de este hongo amarillo: *Tricholoma aestuans*, y *Tricholoma saponaceum*. El potencial tóxico de las especies del complejo sigue en duda; sin embargo, en este estudio se encontró que los cuatro extractos analizados en el modelo animal *Artemia salina*, de las especies *Tricholoma aestuans*, *Tricholoma equestre 1* y *Tricholoma equestre 2*, son altamente tóxicos en crudo y se tienen que hacer más bioensayos con otros modelos como el murino.

13. REFERENCIAS

- Ángeles-Argáiz R. E. y Garibay-Orijel R. (2020). Capítulo VII. La biología molecular como vínculo entre patrimonio micocultural y el aprovechamiento de hongos. F. Ruan-Soto, A. Ramírez Terrazo, A. Montoya Esquivel y R. Garibay-Orijel (Eds.). Métodos en la etnomicología. (pp.153-179). México. IB UNAM, Sociedad Mexicana de Micología y GIDEM.
- Aranda, M., Gual D. M., Monroy V. O., Silva, L., y Velázquez, A. (1999). Aspectos etnoecológicos: aprovechamiento de la flora y fauna silvestres en el sur de la Cuenca de México. *Biodiversidad de la región de montaña del sur de la Cuenca de México*, 264-283.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., y Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Baeza G. Y., Medel O. R., y Garibay-Orijel R. (2017). Caracterización morfológica y genética de los hongos ectomicorrízicos asociados a bosques de *Pinus hartwegii* en el

Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz. *Revista mexicana de biodiversidad*, 88, 41-48.

- Becker, G. (1960). Collective poisoning by *Entoloma niphoides*. *Rev. Mycol., Pans.*, 25(3-4).
- Bedry, R., Baudrimont, I., Deffieux, G., Creppy, E. E., Pomies, J. P., Ragnaud, J. M., y Chapalain, J. C. (2001). Wild-mushroom intoxication as a cause of rhabdomyolysis. *New England Journal of Medicine*, 345, 798-802.
- Bedry, R., y Gromb, S. (2009). Intoxications specific to the Aquitaine region. *La Revue de Médecine Interne*, 30(7), 640-645.
- Ben Hassine Ben A., M., y Garrett Kluthe, B. (2016). Reliable protocols for DNA extraction from freeze-dried macrofungal samples used in molecular macrofungal systematics studies. *Current Research in Environmental and Applied Mycology*, 6(1), 45-50.
- Bernaś, E., Słupski, J., y Gębczyński, P. (2022). Edible Mushrooms of the Polish Carpathians. In *Cultural Heritage—Possibilities for Land-Centered Societal Development* (pp. 259-268). Springer, Cham.
- Bidartondo, M. I., y Bruns, T. D. (2001). Extreme specificity in epiparasitic Monotropoideae (Ericaceae): widespread phylogenetic and geographical structure. *Molecular Ecology*, 10(9), 2285-2295.
- Bigelow, H. E. (1979). Contribution to Tricholoma. *Sydowia; annales mycologici, Beihefte*.
- Boa, E. R. (2005). Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. Food and Agriculture Organization (Non-wood products, 17), Roma
- Boege E. (2017). Patrimonio biocultural y los derechos culturales de los pueblos indígenas, comunidades locales y equiparables. *Diario de campo*, 1(1), 39-70 Mimeo; Ciudad de México.
- Bresinsky, A. y H. Besl. (1990). A colour atlas of poisonous fungi: a handbook for pharmacists, doctors, and biologists. Wolfe, Londres, Inglaterra.
- Bruns, T. D., Bidartondo, M. I., y Taylor, D. L. (2002). Host specificity in ectomycorrhizal communities: what do the exceptions tell us?. *Integrative and comparative biology*, 42(2), 352-359.
- Brzezicha-Cirocka, J., Mędyk, M., Falandysz, J., y Szefer, P. (2016). Bio-and toxic elements in edible wild mushrooms from two regions of potentially different

environmental conditions in eastern Poland. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 21517-21522.

- Cáceres, R. A. (2011). Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de la comunidad de Xetono, San Juan Comalapa, Chimaltenango, Guatemala (*Tesis de licenciatura*). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Carballo, J. L., Hernández-Inda, Z. L., Pérez, P., y García-Grávalos, M. D. (2002). A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC biotechnology*, 2(1), 1-5.
- Chodorowski, Z., y Waldman, W. (2002). Acute poisoning with *Tricholoma equestre*. *Przegląd lekarski*, 59(4-5), 386-387.
- Chodorowski, Z., Anand, J. S., y Grass, M. (2003). Acute poisoning with *Tricholoma equestre* of five-year old child. *Przegląd lekarski*, 60(4), 309-310.
- Chodorowski, Z., Sznitowska, M., Wiśniewski, M., Waldman, W., y Ronikier, A. (2004). *Tricholoma equestre*--animal toxicity study. *Przegląd Lekarski*, 61(4), 351-352.
- Christensen, M., y Noordeloos, M. E. (1999). Notulae ad Floram agaricinam neerlandicam—XXXVI. *Tricholoma*. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 17(2), 295-317.
- Chunlei, W. U., Huang, X., Zhang, Z., Feng, L. I. N., Jianlong, G. A. O., Huang, M., y Zhang, Y. (2021). Investigation and analysis on the poisoning of *Entoloma omiense*.
- Comandini, O., Ingeborg, H. A. U. G., Rinaldi, A. C., y Kuyper, T. W. (2004). Uniting *Tricholoma sulphureum* and *T. bufonium*. *Mycological Research*, 108(10), 1162-1171.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Cui, Y. Y., Ding, X. X., Kost, G., y Yang, Z. L. (2022). *Tricholoma* sect. *Tricholoma* (*Tricholomataceae*) from China: molecular phylogeny and taxonomy. *Mycological Progress*, 21(3), 35.
- Déciga-Campos, M.; Rivero-Cruz, I.; Arriaga-Alba, M.; Castañeda-Corral, G.; Angeles-López, G.E.; Navarrete, A. y Mata, R. (2007). Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.*, 110:334-342.
- Demirbaş, A. (2001). Concentrations of 21 metals in 18 species of mushrooms growing in the East Black Sea region. *Food Chemistry*, 75(4), 453-457.

- Deng, H., y Yao, Y. J. (2005). *Tricholoma equestre*, the correct name for *T. flavovirens* (Agaricales). *Mycotaxon*, 94, 325-330.
- Dentinger, B. T., Didukh, M. Y., y Moncalvo, J. M. (2011). Comparing COI and ITS as DNA barcode markers for mushrooms and allies (Agaricomycotina). *PLoS one*, 6(9), e25081.
- Diaz, J. H. (2021). Nephrotoxic Mushroom Poisoning: Global Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management. *Wilderness & Environmental Medicine*, 32(4), 537-544.
- Dospatliev, L., Ivanova, M., y Gavazov, K. (2018). Correlation between Cambisols soil characteristics and lead content in wild edible mushrooms (*Cantharellus cibarius*, *Tricholoma equestre*, *Craterellus cornucopioides*). *Bulg Chem Commun*, 50, 32.
- Dospatliev, L., Ivanova, M., y Papazov, P. (2019). Fatty acids, phospholipids, health risk index and daily intake of metals in edible wild mushroom (*Tricholoma equestre*) from the Batak mountain, Bulgaria. *Bulg Chem Commun*, 51, 229.
- Endere, M. L., y Mariano, M. (2013). Los conocimientos tradicionales y los desafíos de su protección legal en Argentina. *Quinto sol*, 17(2), 1-20.
- Estrada-Torres, A. y R. M. Aroche (1987). Acervo etnomicológico en tres localidades del municipio de Acambay, Estado de México. *Rev. Mex. Mic.* 3: 109-132.
- Fajardo, J., Verde, A., Valdés, A., Rivera, D., y Obón, C. (2010). Etnomicología en Castilla-La Mancha (España). *Boletín de la Sociedad Micológica Madrid*, 34, 341-360.
- FAO. (2004). Wild Edible Fungi, a Global Overview of Their Use and Importance to People. Non-Wood Forest Products 17. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Favilla, M., Macchia, L., Gallo, A., y Altomare, C. (2006). Toxicity assessment of metabolites of fungal biocontrol agents using two different (*Artemia salina* and *Daphnia magna*) invertebrate bioassays. *Food and Chemical Toxicology*, 44(11), 1922-1931.
- Fernández-Calienes Valdés, A., Mendiola Martínez, J., Monzote Fidalgo, L., García Parra, M., Sariego Ramos, I., Acuña Rodríguez, D. y Gutiérrez Gaitén, Y. (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(3), 254-258.

- Florczak, J., Karmanska, A., y Wędzisz, A. (2004). A comparison of chemical composition of selected wild-growing mushrooms. *Bromatologia i Chemiczna Toksykologia*, 37, 365–370.
- Franco M. S., Burrola A.C., Arana G. Y., Arredondo A. G., y Cruz B. Y. (2019). Local knowledge and potential use as a pigment of edible mushrooms in the state of Mexico. *Agro Productividad*, 12(5).
- Fuertes, C. M., Angulo, P., y De Jesús, L. H. (2001). La Etnofarmacología y los bioensayos como nuevas estrategias en la investigación fitoquímica de la flora medicinal Peruana. *Ciencia e Investigación*, 4(2), 20-36.
- García Bona, L. M. (1987). Catálogo micológico de Navarra. *Cuadernos de la Sección de Ciencias Naturales*, 3, 9-287
- Garibay- Orijel R. (2000). *La etnomicología en el mundo, pasado, presente y futuro, Distrito Federal, México (Tesis de licenciatura)*. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- Garibay-Orijel, R., Morales-Marañón, E., Domínguez-Gutiérrez, M., y Flores-García, A. (2013). Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de basidiosporas en la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista mexicana de biodiversidad*, 84(1), 153-169.
- Giusti, A., Ricci, E., Gasperetti, L., Galgani, M., Polidori, L., Verdigi, F., ... *et al.*, Armani, A. (2021). Building of an Internal Transcribed Spacer (ITS) gene dataset to support the Italian Health Service in mushroom identification. *Foods*, 10(6), 1193.
- Gomes, S. I. F. (2011). Caracterização morfológica e molecular de *Tricholoma equestre*/T. *auratum* para uma abordagem taxonómica (Doctoral dissertation).
- Guerra, A. (2005). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos, así como de las tinturas del 74 rizoma y de la fronda de calahuala (*Phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Guilhermino, L., Diamantino, T., Silva, M. C., y Soares, A. M. V. M. (2000). Acute toxicity test with *Daphnia magna*: an alternative to mammals in the prescreening of chemical toxicity?. *Ecotoxicology and environmental safety*, 46(3), 357-362.
- Guzmán, G. (1995). La diversidad de los hongos en México. *Ciencias* 39: 52-57
- Harwig, J. y Scott, P.M. Brine shrimp (*Artemia salina* L.) larvae as a screening system for fungal toxins. *Appl Microbiol.* (1971); 21:1011–6.

- Heilmann-Clausen J., Christensen M., Frøslev T. G. y Kjøller R. (2017). Taxonomy of *Tricholoma* in northern Europe based on ITS sequence data and morphological characters. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 38, 38–57. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5645187/pdf/per-38-38.pdf>
- Herrera, T., y Guzmán, G. (2018). Taxonomía y ecología de los principales hongos comestibles de diversos lugares de México. *Anales del Instituto de Biología, UNAM, Vol. 1-37*, 32(1-2), 33-135.
- Hernández, Y., Lobo, M. G., y González, M. (2009). Factors affecting sample extraction in the liquid chromatographic determination of organic acids in papaya and pineapple. *Food Chemistry*, 114(2), 734-741.
- Horton, T. R. (2002). Molecular approaches to ectomycorrhizal diversity studies: variation in ITS at a local scale. In *Diversity and Integration in Mycorrhizas: Proceedings of the 3rd International Conference on Mycorrhizas (ICOM3) Adelaide, Australia, 8–13 July 2001* (pp. 29-39). Springer Netherlands.
- Hosen, M. I., Li, T. H., Li, T., Zhong, X. J., y Chen, Y. (2016). *Tricholoma sinoacerbum*, a bitter species from Guangdong Province of China. *Mycoscience*, 57(4), 233-238.
- INDEX FUNGORUM. (2020). <http://www.speciesfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=176119> (consultado, de octubre de 2020).
- Işiloglu, M., Semenli, H. B., Şenol, A., y İşler, M. (2011). *Entoloma* mushroom poisonings in Mediterranean Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 35(2), 247-249.
- Jedidi, I. K., Ayoub, I. K., Philippe, T., y Bouzouita, N. (2017). Chemical composition and nutritional value of three Tunisian wild edible mushrooms. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 2069-2075.
- Jiménez Ruiz, A. E., Thomé Ortiz, H., y Burrola Aguilar, C. (2016). Patrimonio biocultural, turismo micológico y etnoconocimiento. *El periplo sustentable*, (30), 180-205.
- Jo, W. S., Hossain, M. A., y Park, S. C. (2014). Toxicological profiles of poisonous, edible, and medicinal mushrooms. *Mycobiology*, 42(3), 215-220.
- Jones, M. D., Twieg, B. D., Durall, D. M., y Berch, S. M. (2008). Location relative to a retention patch affects the ECM fungal community more than patch size in the first season after timber harvesting on Vancouver Island, British Columbia. *Forest ecology and management*, 255(3-4), 1342-1352.

- Kalač, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food chemistry*, 113(1), 9-16.
- Kalamees K. (2001). Taxonomy and ecology of the species of the *Tricholoma equestre* group in the Nordic and Baltic countries, en *Folia Cryptog* 38, 13-23.
- Karchesy, Y. M., Kelsey, R. G., Constantine, G., y Karchesy, J. J. (2016). Biological screening of selected Pacific Northwest forest plants using the brine shrimp (*Artemia salina*) toxicity bioassay. *Springerplus*, 5, 1-9.
- Karlson-Stiber, C., y Persson, H. (2003). Cytotoxic fungi—an overview. *Toxicon*, 42(4), 339-349.
- Karunarathna, S. C., Mortimer, P. E., y Xu, J. C. (2021). How to be a ‘fungi and not a dead guy: a catalogue of 71 of the world’s deadliest macrofungi.
- Kasper P. R., Pietras, M., y Łuczaj, Ł. (2016). Wild and native plants and mushrooms sold in the open-air markets of south-eastern Poland. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 12, 45.
- Kibby, G. (2012). The Genus *Tricholoma* in Br. *The Genus Tricholoma in Br.*
- Kikuchi, K., Matsushita, N., y Suzuki, K. (2007). Discrimination of *Tricholoma* species by species-specific ITS primers. *Mycoscience*, 48(5), 316-320.
- Klimaszyk, P., y Rzymski, P. (2018). The yellow knight fights back: toxicological, epidemiological, and survey studies defend edibility of *Tricholoma equestre*. *Toxins*, 10, 468.
- Kranabetter, J. M., Durall, D. M., y MacKenzie, W. H. (2009). Diversity and species distribution of ectomycorrhizal fungi along productivity gradients of a southern boreal forest. *Mycorrhiza*, 19, 99-111.
- Kuo, M. (octubre, 2019). *Tricholoma equestre*. Recuperado de: *MushroomExpert.Com*
Sitio web: http://www.mushroomexpert.com/tricholoma_equestre.html
- Laubner, G., y Mikulevičienė, G. (2016). A series of cases of rhabdomyolysis after ingestion of *Tricholoma equestre*. *Acta Médica Lituanica*, 23, 193.
- Lechner, B. E., y Albertó, E. (2008). Especies tóxicas de Agaricales halladas en la Argentina: nueva cita de *Amanita pantherina* y reevaluación de la comestibilidad de *Tricholoma equestre*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 43, 227-235.
- López-García, A., Pérez-Moreno, J., Jiménez-Ruiz, M., Ojeda-Trejo, E., Delgadillo-Martínez, J., y Hernández-Santiago, F. (2020). Conocimiento tradicional de hongos de

importancia biocultural en siete comunidades de la región chinanteca del estado de Oaxaca, México. *Scientia fungorum*, 50.

- Maćkiewicz, D., Dryżałowska, A., Mielewska, D., y Falandysz, J. (2006). Selected elements content of the fruiting bodies of Sand Knight-cap *Tricholoma equestre* from the surroundings of community Hel. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 39, 333–338.
- Maćkiewicz, D., y Falandysz, J. (2012). Total mercury in Yellow Knights (*Tricholoma equestre*) mushrooms and beneath soils. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 89, 755-758
- Martín del Campo, R. M. (1968). Contribución al conocimiento de la nomenclatura micológica náhuatl. *Rev. Mex. Mic* (2), 25-36
- Martínez-Alfaro, Á. M., Pérez-Silva, E., y Aguirre-Acosta, E. (1983). Etnomicología y exploraciones micológicas en la Sierra Norte de Puebla. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología*, 18, 51-63
- Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M., y Martínez, W. (2007). México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción y consumo de los hongos comestibles. *JMC Sánchez, El cultivo de las setas Pleurotus spp. en México*, 20-40.
- Martínez, E. E., Guzmán, G., Tovar, D. C., y Paczka, R. O. (2009). Contribución al conocimiento etnomicológico de los hongos comestibles silvestres de mercados regionales y comunidades de la Sierra Nevada (México). *Interciencia*, 34, 25-33.
- Matheny, P. B., Curtis, J. M., Hofstetter, V., Aime, M. C., Moncalvo, J. M., Ge, Z. W., ... y Hibbett, D. S. (2006). Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. *Mycologia*, 98(6), 982-995
- Melgar, M. J., Alonso, J., y García, M. A. (2009). Mercury in edible mushrooms and underlying soil: bioconcentration factors and toxicological risk. *Science of the Total Environment*, 407(20), 5328-5334.
- Méndez, R. M., Pérez, L. M. S., y Montes, C. A. C. (2001). Proceso de recolección y comercialización de hongos comestibles silvestres en el Valle de Toluca, México. *CIENCIA ergo-sum*, 8, 30-40.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. J., y McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45(05), 31-34.

- Ministère de la Sante et des Solidarites. (2004). NOR: ECOC0400035A Arrête' du 16 juin 2004 portant suspension d'importation et de mise sur le marché du *Tricholoma equestre* et ordonnant son retrait. *Journal Officiel* 142: 11099
- Ministerio de Sanidad y Consumo. (2006). ORDEN SCO/3303/2006, de 23 de octubre, por la que se prohíbe cautelarmente la comercialización de la seta *Tricholoma equestre*. *Boletín Oficial del Estado* 258: 37607-37608.
- Ministero della Salute. (2002). Ordinanza 20 agosto 2002. Divieto di raccolta, commercializzazione e conservazione del fungo epigeo denominato *Tricholoma equestre*. *Gazzetta Ufficiale* 201
- Montoya, A., C. Méndez-Espinoza, R. Flores-Rivera, A. Kong y A. Estrada-Torres. (2007). Hongos tóxicos de Tlaxcala. Libro técnico No 2. Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias-Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.
- Montoya, A., Hernández, N., Mapes, C., Kong, A., y Estrada, A. (2008). The collection and sale of wild mushrooms in a community of Tlaxcala, Mexico. *Economic Botany*, 62, 413.
- Moreno-Fuentes, Á. M. (2014). Un recurso alimentario de los grupos originarios y mestizos de México: los hongos silvestres. In *Anales de Antropología* (Vol. 48, No. 1, pp. 241-272). No longer published by Elsevier.
- Moukha, S., Férandon, C., Beroard, E., Guinberteau, J., Castandet, B., Callac, P., ... y Barroso, G. (2013). A molecular contribution to the assessment of the *Tricholoma equestre* species complex. *Fungal Biology*, 117 145-155.
- Muszyńska, B., Kała, K., Radović, J., Sułkowska-Ziaja, K., Krakowska, A., Gdula-Argasińska, J., ... y Kundaković, T. (2018). Study of biological activity of *Tricholoma equestre* fruiting bodies and their safety for human. *European Food Research and Technology*, 244, 2255-2264.
- Mycobank. (s.f.). *Tricholoma equestre* var. *populinum*. <https://www.mycobank.org/page/Simple%20names%20search>
- Nieminen, P., Mustonen, A.-M., Kirsi, M., (2005). Increased plasma creatine kinase activities triggered by edible wild mushrooms. *Food Chem. Toxicol.* 43, 133–138.
- Nieminen, P., Kärjä, V., y Mustonen, A. M. (2008). Indications of hepatic and cardiac toxicity caused by subchronic *Tricholoma flavovirens* consumption. *Food and chemical toxicology*, 46, 781-786.

- Nieminen, P., y Mustonen, A. M. (2020). Toxic potential of traditionally consumed mushroom species—a controversial continuum with many unanswered questions. *Toxins*, 12(10), 639.
- Nguta, J. M., Mbaria, J. M., Gakuya, D. W., Gathumbi, P. K., Kabasa, J. D., y Kiama, S. G. (2011). Biological screening of Kenya medicinal plants using *Artemia salina* L.(Artemiidae). *Pharmacologyonline*, 2, 458-478.
- Nguta, J. M., y Mbaria, J. M. (2013). Brine shrimp toxicity and antimalarial activity of some plants traditionally used in treatment of malaria in Msambweni district of Kenya. *Journal of ethnopharmacology*, 148(3), 988-992.
- Nguyen, N. H., Landeros, F., Garibay-Orijel, R., Hansen, K., y Vellinga, E. C. (2013). The *Helvella lacunosa* species complex in western North America: cryptic species, misapplied names and parasites. *Mycologia*, 105(5), 1275-1286.
- Nygren, C. (2008). Functional diversity in nutrient acquisition by ectomycorrhizal fungi. Department of Forest Mycology and Pathology, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Pachón-Peña, G., Reyes-Zurita, F. J., Deffieux, G., Azqueta, A., de Cerain, A. L., Centelles, J. J. y Cascante, M. (2009). Antiproliferative effect of flavomannin-6, 6'-dimethylether from *Tricholoma equestre* on Caco-2 cells. *Toxicology*, 264, 192-197.
- 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, 27-36.
- Parra, A. L., Yhebra, R. S., Sardiñas, I. G., y Buela, L. I. (2001). Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*, 8(5), 395-400.
- Peay, K. G., Bruns, T. D., Kennedy, P. G., Bergemann, S. E., y Garbelotto, M. (2007). A strong species–area relationship for eukaryotic soil microbes: island size matters for ectomycorrhizal fungi. *Ecology letters*, 10(6), 470-480.
- Pérez, Y. G., y Gilling, P. A. (2001). Determinación de la toxicidad aguda del dicromato de potasio en larvas de *Artemia salina*. *Anuario Toxicología*, 1(1), 4-108.
- Pérez-Moreno J., Martínez R., M., Yescas P. A., Delgado A, A., y Xoconostle C., B. (2008). Wild mushroom markets in central México and a case study at Ozumba. *Economic Botany*, 62, 425-436.

- Periódico la Jornada. (jueves 6 de julio de 2017). México, segundo reservorio de hongos comestibles más grande del mundo. *La Jornada*. <https://www.jornada.com.mx/2017/07/06/ciencias/a02n1cie>
- Pickles, B. J., Genney, D. R., Anderson, I. C., y Alexander, I. J. (2012). Spatial analysis of ectomycorrhizal fungi reveals that root tip communities are structured by competitive interactions. *Molecular Ecology*, 21(20), 5110-5123.
- Pinillos, M. A., Gómez, J., Elizalde, J., y Dueñas, A. (2003). Intoxicación por alimentos, plantas y setas. In *Anales del sistema sanitario de Navarra* (Vol. 26, pp. 243-263). Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.
- Pomilio, A. B., Battista, S. M., y Alonso, Á. (2019). Micetismos: Parte 3: Síndromes tempranos gastrointestinales. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 53(2), 217-244.
- Qiu, W., Kobori, H., Suzuki, T., Choi, J. H., Deo, V. K., Hirai, H., y Kawagishi, H. (2014). A new compound from the mushroom *Tricholoma flavovirens*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 78(5), 755-757.
- Ramírez-Terrazo, A., Montoya, A., y Caballero, J. (2014). Una mirada al conocimiento tradicional sobre los hongos tóxicos en México. La Etnomicología en México, estado del arte. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Cd. Mx., México, 113-141.
- Reschke, K., Popa, F., Yang, Z. L., y Kost, G. (2018). Diversity and taxonomy of *Tricholoma* species from Yunnan, China, and notes on species from Europe and North America. *Mycologia*, 110(6), 1081–1109. <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1512295>
- Ribeiro, B., de Pinho, P. G., Andrade, P. B., Baptista, P., y Valentão, P. (2009). Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study. *Microchemical Journal*, 93(1), 29-35.
- Robaszkiewicz, A., Bartosz, G., Ławrynowicz, M., y Soszyński, M. (2010). The Role of Polyphenols, β -Carotene, and Lycopene in the Antioxidative Action of the Extracts of Dried, Edible Mushrooms. *Journal of nutrition and metabolism*, 2010
- Ruan-Soto F. y Méndez R. M. (2012). El mundo de los hongos comestibles. *Ecofronteras*. 8-11.
- Ruan-Soto F., Ordaz V. M. y Garibay-Orijel R. (2014). Apuntes de Etnomicología. GIDEM

- Ruan-Soto, F, Ramírez-Terrazo, A. R., Montoya-Esquivel, A. M., y Garibay-Orijel, R. G. (Eds.). (2020). *Métodos en etnomicología*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rzymiski, P., y Klimaszyk, P. (2018). Is the yellow knight mushroom edible or not? A systematic review and critical viewpoints on the toxicity of *Tricholoma equestre*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(5), 1309-1324.
- Sánchez, D. R., Zavala, J. T., Vega, J. T. S., y García, H. M. (1999). Los micetismos y su relevancia en medicina. *Revista Iberoamericana de Micología*, 16, 121-125.
- Sánchez-García, M., y Matheny, P. B. (2017). Is the switch to an ectomycorrhizal state an evolutionary key innovation in mushroom-forming fungi? A case study in the Tricholomatineae (Agaricales). *Evolution*, 71(1), 51-65.
- Sartory A. y Mairr L. (1918). *Synopsis du genre Tricholoma*. Saint-Nicolas-de-Port. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/90917#page/5/mode/1up>
- Širić, I., Kos, I., Kasap, A., Kaić, A., Držaić, V., y Rakić, L. (2017). Mercury bioaccumulation by wild edible mushrooms. 52. *HRVATSKI I 12. MEĐUNARODNI SIMPOZIJ AGRONOMA*, 91.
- Širić, I., y Falandysz, J. (2020). Contamination, bioconcentration and distribution of mercury in *Tricholoma* spp. mushrooms from southern and northern regions of Europe. *Chemosphere*, 126614.
- Solis, P. N., Wright, C. W., Anderson, M. M., Gupta, M. P., y Phillipson, J. D. (1993). A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (brine shrimp). *Planta medica*, 59(03), 250-252.
- Sommerkamp, Y. (1990). Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. Guatemala, 1.
- Steiger, Y. S. (1991). Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Tedersoo L, May TW y Smith ME. 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20: 217–263
- Tedersoo, L., Mikryukov, V., Anslan, S. et al. The Global Soil Mycobiome consortium dataset for boosting fungal diversity research. *Fungal Diversity* 111, 573–588 (2021). <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00493-7>
- Toledo, V. M., Barrera-Bassols, N., y Boege, E. (2019). ¿Qué es la diversidad biocultural? México: Universidad Nacional Autónoma de México.

- Tovar, A. R., Cásarez, B. X., y Valdés, M. (2004). Ecología molecular de los hongos ectomicorrízicos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(3), 267-278.
- Trudell, S. A. V., Bessette, A. R., y Roody, W. C. (2013). *Tricolomas of North America: a mushroom field guide*. University of Texas Press.
- Uhl M (1988) Identifizierung und Charakterisierung von Ektomykorrhizen an *Pinus silvestris* und von Ektomykorrhizen aus der Gattung *Tricholoma*. Diss Uni München.
- Wright, J. E. y E. Albertó. (2002). Guía de hongos de la región pampeana. I. Hongos con laminillas. L.O.L.A., Buenos Aires.

14. Anexos

Descripciones originales de cada especie

Tricholoma c.f. sinoacerbum Hosen, M. I., Li, T. H., Li, T., Zhong, X. J., y Chen, Y. *Tricholoma sinoacerbum*, a bitter species from Guangdong Province of China. *Mycoscience*: 57(4), 233-238 (2016).

Carácteres macromorfológicos. Basidiomas con píleo de 5 a 12 cm de ancho, es convexo cuando es joven y se va haciendo plano-convexo, de color crema a amarillo pálido, ligeramente más oscura en el centro. Su superficie es seca, pero es ligeramente viscosa cuando está húmedo. Es generalmente estriado y ligeramente curvado hacia el margen, el cuál es de color crema a amarillo pálido o ante parduzco. Su contexto es sólido, de color blanco y no presenta cambios de coloración debido al maltrato y tiene un aroma muy fuerte sobre todo al secarse. Sus láminas se encuentran muy juntas, son adnadas-emarginadas y su coloración va de blanco a blanco-amarillento. Su estípite es de 7-12x 1-1.8 cm igual o finamente engrosado en la base. Es también seco, blanco opaco o blanquecino y su sabor es amargo.

Carácteres micromorfológicos. Pileipellis con ixotricodermos. Las hifas están libremente dispuestas, se observan como hifas filamentosas, cilíndricas y a menudo ramificadas. Son de incoloras a amarillo pálido en KOH. La trama himenoforal es ancha, regular y compuesta por hifas paralelas densamente dispuestas. Los basidios son clavados, estrechamente clavados, hialinos o amarillo pálido, con generalmente cuatro esterigmas, pero puede presentar tres o dos. Sus basidiosporas son de ovoides a elipsoides, de pared delgada y amarillas pálidas en H₂O, con un valor Q de 1.18. No presenta ningún tipo de cistidios en el himenio.

Carácteres ecológicos y comestibilidad. Habita en suelos subtropicales del bosque siempre verde latifoliado, bajo los árboles de *Castanopsis fissa*, *C. chinensis*, *C. fabri*,

Schima *superba* y algunos otros árboles frondosos. Solo se conoce en la Reserva Nacional Natural de Xiangtoushan de la Provincia de Guangdong en China.

Tricholoma saponaceum (Fr.) P. Kumm, sensu Trudell, S. A. V., Bessette, A. R., y Roody, W. C. *Tricolomas of North America: a mushroom field guide*: 134 (2013).

Carácteres macromorfológicos. Basidiomas de coloraciones muy variables: amarillo verdoso pálido, verde grisáceo, oliva grisácea, gris plomo, azul grisáceo, gris verdoso o marrón, grisáceo marrón o incluso negruzcos. A menudo son agrietados o escamosos en la madurez, estas escamas pueden ser grisáceas y estar ampliamente distribuidas en su superficie. Posee un amplio y bajo umbo de superficie lisa húmeda-resbaladiza cuando es joven y agrietada cuando llega a su madurez. Tiene un diámetro de 2.5 a 15cm o más, es convexo y cuando madura llega a ser aplanado. Su margen es enrollado cuando es joven y se va expandiendo al madurar, puede presentar coloraciones de blanquecinas a marrón-rosado decolorado. Sus láminas son emarginadas, casi adnadas o anexadas y amplias, aunque pueden empezar siendo amarillentas o blancuzcas, van tomando con la madurez tonos marrón-rosados o marrón-anaranjado y también pueden presentar coloraciones verdosas. Su contexto es de blanco a verde-pálido, puede presentarse marrón rosado o anaranjado en su base con el paso del tiempo. El estípite tiene una longitud de 3.5 a 10 cm, con un grosor de 1 a 4 cm, es ventricoso o clavado con una base que, si no se observa cónica, puede ser bulbosa y a menudo presenta escamas negras en su superficie. Su aroma y sabor son distintivos ya que son similares a un jabón neutro, aunque puede también presentarse levemente farináceo o no distintivo.

Carácteres micromorfológicos. La pileipellis de estos hongos se describe como compuesta por hifas anchas, hialinas y lisas. Su trama himenoforal es paralela, sus basidios son por lo general de cuatro esterigmas y ocasionalmente dos. Las basidiosporas son hialinas, inamiloides, de ovoides a elipsoides, con pared delgada y no presentan ornamentación, sus medidas van de 5-7.6 x 3.5 -5 µm. No presenta ni queilo ni pleurocistidios, pero sí conexiones de abrazadera esparcidas por todas partes.

Carácteres ecológicos y comestibilidad. Crece solitario, disperso o en grupos bajo coníferas, incluso a veces en maderas duras. Está distribuido ampliamente en Norteamérica, también es común en Europa, así como en Japón y existen algunos registros en Latinoamérica y Oceanía. Estos hongos proliferan sobre todo en primavera y en general se encuentra clasificado como no comestible.

Tricholoma intermedium Peck, sensu Trudell, S. A. V., Bessette, A. R., y Roody, W. C. *Tricolomas of North America: a mushroom field guide*: 134 (2013).

Carácteres macromorfológicos. Basidioma de coloraciones amarillentas, su píleo es de 4 a 10cm, convexo cuando es joven y se va haciendo plano en la madurez. Su superficie es ligeramente viscosa cuando está húmedo en ejemplares jóvenes y se va haciendo seca con el paso del tiempo. Se presenta con un amplio umbo y su superficie está cubierta por diminutas escamas y fibrillas aplanadas de color marrón-dorado a marrón-amarillento o marrón-rojizo. Su margen es enrollado al principio y luego decurvado. Su contexto es blanco con un sabor y aroma farináceo. Sus láminas son sinuosas, apiñadas, libres o ligeramente adosadas, cerradas, de coloraciones blancas a blanquecinas, con lamelulas y sus bordes a menudo se erosionan al madurar. Su estípite mide de 3-9cm de largo y de 1 a 2.5cm de grosor, es de colores blancos y cerca de la base tiende a teñirse de marrón, es glabro y firme.

Carácteres micromorfológicos. Sus basidiosporas son hialinas, elípticas de 5-7 x 3.7-4.8 μm y a veces puede presentar queilocistidios de formas variadas en abundancia.

Carácteres ecológicos y comestibilidad. Crece disperso o en grupos bajo coníferas, es un hongo ampliamente distribuido en Norteamérica. Se clasifica como posiblemente comestible, pero no se ha puesto a prueba.

Tricholoma aestuans (Fries) Gillet, sensu Bigelow, H. E. *Contribution to Tricholoma*. Sydowia; Annales mycologici, Beihefte: 56 (1979).

Carácteres macromorfológicos. Basidiomas con un píleo obtuso o hemisférico a convexo que mide de 1.5 a 9 cm de diámetro, con un margen curvado y enrollado cuando es joven, este último se va expandiendo e incluso pasa a ser plano, ondulado o irregular, no se hace estriado, pero puede expandirse e incluso pasar a levemente elevado. Su superficie es brillante en las periferias, donde presenta coloraciones amarillo-verdosas a amarillo-grisáceas, mientras que en el umbo es opaco y se observa parduzco con la edad. Tiene un umbo bajo y ancho que se vuelve deprimido con la edad. Sus láminas son casi libres en esporomas jóvenes, luego pasan a ser sinuosas y anchas, con coloraciones amarillo-pálidas, también presentan tonalidades amarillo-verdosas e incluso grises-pardas donde puede presentar bordes erosionados y ondulados. Su contexto es blanco a blanco-grisáceo e incluso se puede observar de color verde-

grisáceo, es delgado y de textura firme, estos hongos no tienen un aroma distintivo y su sabor puede no ser distintivo, pero también puede ser suave en principio y luego acre. Su estípite es de 1.5 a 5 cm de largo, clavado del mismo grosor o estrechándose hacia la base. Es sólido, blanco, hueco por dentro y de superficie fibrilosa, ligeramente amarillo como el píleo, verde blanquecino o con tonalidades grisáceas cerca de la base conforme va madurando.

Carácteres micromorfológicos. Epicutis subgelatinoso en KOH, amarillento o en lugares rojizo en KOH, sus hifas son cilíndricas con pigmento incrustado o con paredes engrosadas. Su trama himenoforal está compuesta por hifas cilíndricas o ligeramente infladas en un arreglo paralelo. Basidios en su mayoría de cuatro esterigmas y en algunas ocasiones de dos. Basidiosporas elipsoides inamiloides de 5.5-7-7 x 4.5-5.5 μm . Queilocistidios pedicelados, calviformes, lisos, delgados, amurallados, hialinos de 10-15 μm .

Carácteres ecológicos y comestibilidad. Gregarios, creciendo entre hojas y musgos, bajo árboles de maderas duras. Se encuentra en Norteamérica y en Europa, sobre todo en hábitats boreales y montañosos.

***Tricholoma flavovirens* (Peck), Bull sensu Bigelow, H. E. contribution to Tricholoma. Sydowia; Annales mycologici, Beihefte: 55 (1979)**

Carácteres macromorfológicos Basidioma con un píleo de 3-11.5 cm de diámetro, es convexo o cónico cuando es joven. Se caracteriza por una superficie víscida cuando está húmedo, mientras que es glabro cuando está seco. Tiene escamas adpresas cerca del umbo posee coloraciones de amarillo pálido a un amarillo sulfuroso en el píleo, el cual puede volverse rojizo a ligeramente marrón en el umbo y su margen ampliamente ondulado. Sus láminas son sinuadas, cerradas, estrechas hacia el borde del píleo de color amarillo sulfuroso. El contexto de estos hongos es blanco, firme pero quebradizo y tanto su aroma como sabor son levemente farináceos. Estípite de 4 a 9 cm de largo, de tipo fibriloso, igual de grosor en la base que en el resto del estípite o engrosado en la base. Se describe que en “variedades” como *T. flavovirens var albipes* se diferencia de la especie *T. flavovirens* por tener tonalidades más blanquecinas que amarillentas.

Carácteres micromorfológicos Epicutis gelatinosa en KOH, compuesta por hifas cilíndricas, lisas y paredes delgadas, con hipocutis vináceo en KOH de hifas paralelas, las cuales pueden tener paredes engrosadas con incrustaciones. Su trama himenoforal, se compone por hifas en un arreglo paralelo, en su mayoría infladas. Tiene basidios con

cuatro basidiosporas y sus basidiosporas son elípticas, inamiloides de 6.5-7.5 x 4-4.5µm. Abrazadera conexiones presentes.

Carácteres ecológicos y comestibilidad Se distribuye típicamente en Norteamérica. Es de gregario a cespitoso, se le encuentra creciendo en suelo y humus bajo pino o abeto o en maderas mixtas de pino-abetul-álamo temblón, en los meses de septiembre a noviembre.

***Tricholoma equestre* (L.) P. Kummer sensu Klimaszyk, P., y Rzymiski, P..** The yellow knight fights back: toxicological, epidemiological, and survey studies defend edibility of *Tricholoma equestre*. Toxins (2018)

Carácteres macromorfológicos Basidioma con un píleo ampliamente convexo a casi plano con la edad, con un margen enrollado en ejemplares jóvenes y casi plano en los más viejos, su diámetro varía de 3 a 15cm. Las coloraciones de su superficie van de amarillo brillante a amarillo-verdoso cuando están inmaduros y su umbo suele presentar coloraciones marrones. Conforme va pasando el tiempo, su color suele cambiar a verde oliva con tonos marrón o marrón-rojizo. La superficie en los ejemplares jóvenes o húmedos es pegajosa y se van secando cuando maduran. Sus láminas son marginadas, anchas, medianamente espaciadas y con bordes enteros. Pueden presentar en un inicio colores de amarillo a amarillo-pálido, que se pueden tornar en un amarillo pardo con tintes verdosos conforme el ejemplar madura. El estípite suele ser de amarillo a amarillo-verdoso de 3 a 10 cm de largo. Su contexto es de color blanco a blanco-amarillento muy pálido cerca de la superficie del píleo y no cambia con el maltrato.

Carácteres micromorfológicos Las basidiosporas son elípticas, blancas, de 5-8.5 x 3 a 6 µm

Carácteres ecológicos y comestibilidad Es un hongo que se encuentra asociado con coníferas, específicamente con especies de los géneros *Pinus*, *Abies* y *Picea*, a menudo asociados con suelos pobres en humus y nutrientes. Usualmente en bosques fríos y altos al norte. Su época de fructificación comienza a finales de verano y otoño, durando hasta principios de noviembre, es tradicionalmente considerado como un hongo comestible, pero se ha estado cuestionando su comestibilidad.