

00345

//  
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO Y MORFOLÓGICO  
DE ALGUNAS ESPECIES DEL GÉNERO *COLLYBIA*  
(FUNGI: AGARICALES) EN EL CENTRO DE MÉXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

BIÓL. JOSÉ LUIS VILLARRUEL ORDAZ

(Biotecnología vegetal)



## **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 está 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.



00345  
11  
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO Y MORFOLÓGICO  
DE ALGUNAS ESPECIES DEL GÉNERO *COLLYBIA*  
(FUNGI: AGARICALES) EN EL CENTRO DE MÉXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS (Biología)

P R E S E N T A : vegetal)

BIÓL. JOSÉ LUIS VILLARRUEL ORDAZ

DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. JOAQUÍN CIFUENTE BLANCO

LA PRESENTE TESIS FUE DESARROLLADA BAJO LA DIRECCIÓN DEL M.  
EN C. JOAQUÍN CIFUENTES BLANCO EN LA SECCIÓN DE MICOLOGÍA DEL  
HERBARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM Y LA COTUTORIA DE LA DRA.  
MA. CRISTINA PÉREZ-AMADOR BARRON DEL LABORATORIO DE QUÍMICA DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

ESTE TRABAJO SE LOGRÓ REALIZAR GRACIAS AL APOYO FINANCIERO  
OTORGADO POR LA DIRECCIÓN GENERAL DE ASUNTOS DEL PERSONAL  
ACADÉMICO (DGAPA) Y EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
(CONACYT).

## DEDICATORIA

A MIS PADRES: JOSEFINA Y JOSÉ LUIS, POR TODO ESE CARIÑO, PACIENCIA Y APOYO QUE ME HAN BRINDADO, LOS CUALES SON MI PRINCIPAL MOTIVACIÓN.

A MIS HERMANOS: LOURDES, FERNANDO Y JAVIER POR SER TAN "BUENA ONDA" CONMIGO Y POR SU APOYO INCONDICIONAL; A MIS SOBRINOS: MARILUI, MA. FERNANDA, SARAI Y DIEGO POR AGUANTAR MIS TRAVESURAS.

A MIS AMIGOS Y COLEGAS: JOAQUÍN CIFUENTES, ROSALVA VÁZQUEZ, GUADALUPE VIDAL, LILIA PÉREZ-RAMÍREZ, ARACELI POMPA, EDITH MÉNDEZ, MARGARITA VILLEGAS, GEMA GALINDO, SIGFRIDO SIERRA, MARCO ANTONIO HERNÁNDEZ, ANGEL MORENO, JAIME GUTIÉRREZ, ALFONSO MONTAÑEZ, JOSEFINA HERRERA, CRISTINA ADRIANO, PATRICIA GUEVARA, AIDA NELLY GARCÍA, DIEGO AMOR, JOSÉ LUIS CONTRERAS Y ADRIAN RAMÍREZ, POR SU APOYO, CONFIANZA, AMISTAD Y CARIÑO QUE ME HAN DEMOSTRADO.

A CLAUDITA: POR HABER LLEGADO EN EL MOMENTO MÁS OPORTUNO Y POR DEJARME COMPARTIR SU JUVENTUD.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE ESCAPAN DE MI MEMORIA Y QUE DE UNA U OTRA MANERA HAN COLABORARON PARA REALIZAR UNA MÁS DE MIS METAS.

## AGRADECIMIENTOS

AL M. EN C. JOAQUÍN CIFUENTES BLANCO Y A LA DRA. MA. CRISTINA PÉREZ-AMADOR BARRON POR SU DISPOSICIÓN EN TODO MOMENTO.

A LOS MIEMBROS DEL JURADO: M. EN C. ELVIRA AGUIRRE-ACOSTA, DR. DIEGO AMOR-PRATS, M. EN C. LUCÍA DEL CARMEN MÁRQUEZ ALONSO, DRA. PATRICIA GUEVARA FEFER Y M. EN C. MARGARITA VILLEGAS RÍOS, POR LA CORRECCIÓN DEL MANUSCRITO Y SUS OBSERVACIONES AL MISMO.

A LA DIRECCIÓN GENERAL DE APOYO AL PERSONAL ACADÉMICO (DGAPA) Y AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT) POR LAS BECAS OTORGADAS PARA LA REALIZACIÓN DEL PRESENTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.

Y A TODA AQUELLA GENTE QUE ME HA AYUDADO DE UNA U OTRA FORMA A LO LARGO DE MI CARRERA COMO ESTUDIANTE.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
I. INTRODUCCIÓN .....	2
I.I. JUSTIFICACIÓN .....	2
II. ANTECEDENTES .....	4
II.I FUNDAMENTOS TAXONÓMICOS .....	4
II.II GENERALIDADES DEL GÉNERO <i>COLLYBIA</i> .....	5
II.III CONSIDERACIONES QUÍMICAS .....	8
II.IV IMPORTANCIA DE GÉNERO .....	10
III. OBJETIVOS .....	11
IV. METODOLOGÍA .....	12
IV.I ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO .....	12
IV.II ANÁLISIS MORFOLÓGICO .....	13
V. RESULTADOS .....	15
V.I CONSIDERACIONES GENERALES .....	15
V.II COMPLEJO <i>C. BUTYRACEA</i> .....	15
V.III COMPLEJO <i>C. DRYOPHILA</i> .....	22
V.IV RELACIONES INTERESPECÍFICAS .....	30
V.V RELACIONES INTERGENÉRICAS .....	34
VI. DISCUSIÓN .....	40
VII. CONCLUSIÓN .....	42
VIII. LITERATURA CITADA.....	43

## RESUMEN

Se realizó la extracción con cloroformo-metanol de 88 especímenes del género *Collybia* (Fr.) Staude y 8 de géneros afines con la finalidad de determinar sus perfiles cromatográficos, los cuales fueron usados junto con los caracteres morfológicos para tratar de establecer límites discretos entre los taxa.

El análisis fenético de los perfiles cromatográficos permite segregar grupos, de los cuales los más inclusivos permiten observar la posibilidad de que este tipo de caracteres sean usados para el reconocimiento y/o separación de niveles específicos y supraespecíficos (secciones, subgéneros y géneros, entre otros).

La revisión de los caracteres morfológicos de las especies estudiadas permitió reconocer las dos variedades citadas para México de *Collybia butyracea* Fr. (variedad *asema* Fr. y variedad *butyracea* Fr.); esta última, en el presente trabajo se logra separar 2 formas distintas, una representada por los especímenes con esporas grandes y la otra con los de esporas pequeñas. En los especímenes de *Collybia dryophila* (Bull.: Fr.) Kummer no se logró reconocer ningún grupo infraespecífico (subespecies, variedades y formas) reportados por algunos autores. De hecho, la revisión de dichos caracteres hizo evidente la enorme plasticidad fenotípica de la especie.

Los grupos formados por la similitud química y aquellos reconocidos por caracteres morfológicos a niveles infraespecíficos no demuestran estar correlacionados por lo que es difícil establecer unidades discretas tomando en cuenta ambos criterios.



## I. INTRODUCCIÓN

Una de las principales aportaciones de los investigadores en taxonomía es la elaboración de metodologías por las cuales se logre una rápida y certera identificación de los seres vivos. Sin embargo no se limitan sólo a determinar sistemáticamente a las especies, sino que también se encargan de implementar metodologías apropiadas que permiten establecer posibles relaciones naturales (de semejanza y/o parentesco) entre ellas.

El trabajo que desarrolla el taxónomo juega un papel muy importante para el conocimiento de la biodiversidad, ya que dentro de sus metas están el determinar el número, la variación, y la variabilidad de los seres vivos (World Conservation Monitoring Centre, 1992). Sin embargo, el conocimiento que se tiene de esta diversidad aún es incompleto si nos basamos en la idea de que existen grupos que todavía no se han estudiado o que requieren de tratamientos especiales (Toledo, 1988).

Dentro de los macromicetos el reconocimiento de las especies se basa principalmente en la comparación de los caracteres morfológicos, sin embargo muchos de estos caracteres son demasiado variables lo que ocasiona serios problemas al momento de querer establecer criterios discretos de separación entre los taxa. Por otro lado, existen otras fuentes de información (como los datos citológicos, genéticos, químicos, ultraestructurales, reproductivos, etc.) que pueden contribuir a establecer nuevos criterios de separación entre las especies (Radford, 1986).

La manipulación de evidencia química ha dado origen a la quimiotaixonomía, la cual se define como la disciplina que usa los caracteres químicos de los organismos para determinar su posición en una clasificación jerarquizada. La utilización de este tipo de caracteres en la mayoría de los casos sólo ha añadido evidencia confirmatoria a las clasificaciones taxonómicas clásicas, pero es indudable que la adición de información química a los caracteres macro y micromorfológicos hará más seguras las decisiones taxonómicas (Domínguez, 1988).

### I.1 Justificación

Los criterios morfológicos en los que se basa la taxonomía clásica algunas veces no permiten establecer límites bien definidos entre algunas taxa debido a que los caracteres morfológicos son en algunos casos muy variables, siendo evidente con esto la necesidad de aplicar nuevos tópicos que permitan establecer nuevos criterios de separación. Caso concreto tenemos al género *Collybia* (Fr.) Staude, taxon aparentemente bien definido a pesar de que existe cierta dificultad para distinguir y delimitar a las especies, debido a que muchos de los caracteres morfológicos considerados con valor taxonómico no permiten establecer límites discretos entre las especies, lo que hacen al grupo muy complejo (Villarruel-Ordaz *et al.*, 1993).

Además, el manejo de nuevas ponderaciones en la sistemática de macromicetos tiene vital importancia en los estudios evolutivos y filogenéticos, ya que la utilidad de los caracteres morfológicos como criterio primario para este tipo de estudios es frecuentemente limitados debido a la ausencia de conocimiento concierne a la homología de los caracteres (Vilgalys, 1991).

## II. ANTECEDENTES

### II.1 Fundamentos taxonómicos

Los investigadores interesados en la clasificación biológica al menos deben estar convencidos de que la variación entre los organismos en la naturaleza no es continua. Esto permite que los especímenes sean arreglados en un sistema jerárquico donde la unidad básica y fundamental es la especie, y la cual existe en la naturaleza como una entidad real e independiente de nuestra habilidad para percibirlas (Kuyper, 1988).

La delimitación de especies está trazada por el uso de una combinación de caracteres, los cuales son definidos como cualquier atributo del organismo. Bajo ese contexto los caracteres químicos son tan válidos como cualquier otro carácter morfológico, citológico o reproductivo, por mencionar algunos.

El problema que existe en determinar qué carácter tiene mayor peso taxonómico no depende de que tipo sea (morfológico o químico), sino a que nivel taxonómico se puede aplicar; de esta manera los caracteres llegan a ser herramientas útiles en sistemática cuando ellos muestran variación en estados discretos y en un determinado rango taxonómico.

Kohn (1992) propone un protocolo general para determinar el nivel resolutivo de un carácter potencial de ser usado en taxonomía y que permita responder las preguntas apropiadas a ese rango. Dicho protocolo se fundamenta en los siguientes tres pasos:

- 1) Definición del problema taxonómico y determinación del nivel resolutivo deseado para el carácter.
- 2) Diseño de un estudio comparativo preliminar en donde el nivel resolutivo de los caracteres potenciales son probados.
- 3) Análisis de los datos usando las técnicas más apropiadas para probar las hipótesis correspondientes.

La formación de grupos y asignación de categorías taxonómicas es el paso posterior a la selección de los caracteres dentro del proceso taxonómico. A este respecto, las clasificaciones biológicas son un tipo de hipótesis científica acerca del orden natural, por lo tanto una clasificación está sujeta a producir predicciones que pueden ser falseadas o

refutadas (Kuyper, 1988), por lo que una agrupación jerarquizada es mejor que otra en la medida que resista y sugiera mejores hipótesis explicativas de ese orden natural.

La organización jerárquica de los seres vivos es una característica intrínseca derivada de procesos naturales. Esta visión es congruente con la premisa de la biología evolutiva de que el ordenamiento de los organismos es el resultado combinado de procesos históricos (herencia con modificación) y procesos ecológicos. Bajo esta visión evolutiva, las unidades (naturales) existen aún sin que el investigador pueda reconocerlas (Ogata y Luna, 1995).

Los grupos naturales puede ser conceptualizados como entidades con límites temporales y espaciales bien definidos. Estas entidades se denominan "clases" y pueden ser reconocidas por una serie de atributos exclusivos. De esta manera, los organismos se ordenan en grupos que son reconocidos por un cierto número de características que los definen (Cracraft, 1983), pero también pueden ser conceptualizados como "individuos", los cuales son reconocidos por "conectores" espacio-temporales entre el estado (e1) de una propiedad en un tiempo-espacio (te1) y su nuevo estado (e2) en un tiempo-espacio (te2). "Los individuos" tienen realidad en el sentido de que existen independientemente de nuestra capacidad para reconocerlos (Ogata y Luna, 1995).

Un aspecto difícil de comparar son los criterios para el reconocimiento de grupos y la asignación de rangos diferentes. Algunos taxónomos asignan el rango de especie a algunos grupos con base en procesos, como el aislamiento reproductivo, y otros, de acuerdo a discontinuidades en los patrones de similitud principalmente morfológica (Ogata y Luna, 1995).

## II.11 Generalidades del género *Collybia*

El género *Collybia* (Fr.) Staude (Halling, 1983) representa un grupo de Agaricales donde existe cierta dificultad para delimitar y distinguir a sus especies. Basándose únicamente en su morfología macroscópica, algunas especies de este género con frecuencia pueden ser confundidas con algunos miembros de los géneros *Tricholoma* (Fr.) Qué!, *Clitocybe* Kumm. y *Marasmius* Fr.; sin embargo, de acuerdo con Lennox (1979), la utilización de los caracteres microscópicos ha permitido establecer límites bien definidos

con dichos géneros y con otros como *Oudemansiella* Speg., *Calocybe* Kühn. ex Donk, *Lyophyllum* Karst., *Clitocybula* (Sing.) Metr. y *Marasmiellus* Murr.

Recientemente se han propuesto tres clasificaciones diferentes para este género. Lennox (1979) segrega el género *Rhodocollybia* Sing. por presentar una reacción dextrinoide en las esporas (positiva con el reactivo de Melzer) y por la coloración rosada de la esporada. En este género él reconoce dos secciones: *Maculatae* (Sing.) Lennox y *Butyracea* (Sing.) Lennox basadas en la coloración y talla del basidioma, mientras que el género *Collybia*, Lennox no proporciona una clasificación infragenérica. Halling (1983) en cambio reconoce dos subgéneros: *Rhodocollybia* (Sing.) Halling y *Collybia* reconocidas de igual manera por la coloración de la esporada y reacción de las esporas con el reactivo de Melzer. *Rhodocollybia* presenta una sola sección *Maculatae* (Sing.) Lennox ex Halling y *Collybia* seis secciones *locephalae* Sing. ex Halling, *Collybia*, *Vestipedes* (Fr.) Quéll., *Subfumosae* Sing. ex Halling, *Stripedes* (Fr.) Quéll. y *Levipedes* (Fr.) Quéll., las cuales se separan por características del pileipelis. Por último Singer (1986) considera al género *Collybia* Kumm. dividido en nueve secciones, seis corresponden a las mismas que Halling propone para el subgénero *Collybia* y tres secciones más que son: *Cystidiatae* Sing., *Dictyoplocae* (Mont.) Sing. e *Ixotrama* Sing.; Singer no reconoce subgéneros ni la sección *Maculatae*, en cambio a la sección *Stripedes* la divide en tres estirpes: *Maculatae*, *Butyracea* y *Fusipes*. El reconocimiento de secciones por Singer se basa principalmente en caracteres macroscópicos.

A nivel mundial existen varios trabajos morfodescriptivos de algunas especies del género *Collybia* como los de Murrill (1916), Coker y Beardslee (1921), Lennox (1979) y Halling (1983); sin embargo cuando se comparan las descripciones de las especies y las claves taxonómicas que se presentan en algunos de estos trabajos, se hace evidente el manejo de un concepto morfológico muy amplio en la delimitación de algunas de ellas, siendo necesario evaluar otros criterios para la separación de las especies.

Tanto Hawksworth *et al.* (1983) como Singer (1986) consideran 74 especies reconocidas a nivel mundial, algunas de ellas con amplia distribución; sin embargo, aún se desconocen muchas especies, especialmente las tropicales, las cuales todavía no han sido descritas y/o requieren de observaciones adicionales. Actualmente Antonín y Noordeloos están desarrollando una revisión de las especies europeas mientras que Halling lo está

haciendo para América, principalmente en Centro y Sudamérica (Antonín y Noordeloos, 1993).

En México son escasas las publicaciones que sobre la problemática que existe en delimitar a las especies del género *Collybia*. Estos trabajos son del tipo descriptivo y de inventariado de algunas especies, basándose principalmente en el análisis de los caracteres macro y microscópicos con valor taxonómico, como por ejemplo los trabajos realizados por Murrill (1916), Guzmán (1980), Halling (1990), Guzmán *et al.* (1992) y Villaruel-Ordaz *et al.* (1993).

A nivel nacional se citan a la fecha 20 especies reportadas en 19 estados, pero el conocimiento taxonómico que se tiene de ellas es escaso, ya que muchas de estas especies requieren de mayores observaciones (Villaruel-Ordaz *et al.*, 1993), como son los casos de *Collybia butyracea* Fr. y *Collybia dryophila* (Bull.: Fr.) Kumm. las cuales son particularmente abundantes en los bosques caducifolios y de coníferas, principalmente en los estados del centro de México.

*C. dryophila* es quizá la especie de este género más comúnmente recolectada y más ampliamente distribuida a nivel mundial, y aún cuando numerosos taxa han sido segregados, el alto nivel de plasticidad fenotípica dentro del grupo hace difícil la comparación y circunscripción taxonómica, por lo que generalmente es referida como una especie polimórfica (Vilgalys y Miller, 1987).

La variabilidad dentro de *C. dryophila* es más clara con algunos ejemplos: el color del pileo puede variar desde color de ante claro hasta color café castaño en la misma recolecta, como también varios especímenes pueden presentar sombras de color ocre, amarillo y rojizo. Las asociaciones ecológicas también pueden variar, el sustrato puede ser terrícola, humícola o lignícola (madera en descomposición), presentándose en una gran variedad de bosques de coníferas y bosques deciduos (Vilgalys y Miller, 1983).

Estudios de compatibilidad reproductiva han mostrado que el grupo de *C. dryophila* en Norte América está compuesto de por lo menos 4 especies biológicas taxonómicamente distinguibles (Vilgalys y Miller, 1983), mientras que las especies biológicas presentes en Europa pueden ser diagnosticadas por una combinación de criterios morfológicos, ecológicos y reproductivos (Vilgalys y Miller, 1987).

Vilgalys (1991) ha logrado determinar que bajo un concepto amplio de *C. dryophila* se han incluido varias especies morfológicamente similares, sin embargo se ha logrado

corroborar su separación principalmente por los trabajos realizados sobre capacidad de entrecruzamiento biológico, hibridación de ADN y análisis de isoenzimas. Se piensa que bajo este criterio es probable que algunos de los materiales mexicanos se adscriban a algunos de los grupos considerados por dicho autor.

En el caso de *C. butyracea* es factible que también bajo un concepto amplio se esté incluyendo a varias especies, a juzgar por la variación que se observa en algunos caracteres morfológicos, como por ejemplo el tamaño de las esporas. Una comparación de los intervalos en los tamaños de esporas citados para algunos especímenes de Norte América, Europa y México, permite observar que los ejemplares mexicanos son más parecidos a los representantes europeos (Villarruel-Ordaz *et al.*, 1993); sin embargo, la dificultad para la separación morfológica de esta especie ocasiona que en determinado momento exista una gran confusión para determinar si se trata de especies diferentes o si sólo representan una variedad, una forma o una mera variante, como lo citan Breitenbach y Kränzlin (1991).

En los trabajos donde se provee una descripción de *C. butyracea* invariablemente se hace una comparación con *C. dryophila*. Las diferencias entre estas dos especies son fundamentales; *C. dryophila* se distingue por la coloración café amarillenta a naranja que presenta el estípote, así como la esporada blanca y la reacción inamiloide de las esporas, a diferencia del color café rojizo a café rosado del estípote, la esporada con tintes rosados y esporas dextrinoides que presenta *C. butyracea* (Villarruel-Ordaz *et al.*, 1993).

### II.III Consideraciones químicas

El uso de los datos químicos (en particular los metabolitos secundarios) en taxonomía ha sido fuertemente criticado por los taxónomos clásicos debido a que existen algunos problemas de índole biológico como son:

a) Presencia o ausencia de ciertos caracteres químicos. Aunque es relativamente sencillo demostrar la presencia de una sustancia, es difícil demostrar en forma definitiva su ausencia. La ausencia de un compuesto en un grupo de organismos que en general lo presenta, se puede deber a la sustitución de uno parecido, desempeñando la misma función y el cual hay que detectar.

b) Variación de estructura a estructura. Existen compuestos que sólo aparecen en determinada estructura por lo cual es deseable estudiar por separado las partes constituyentes de los organismos.

c) Variación intra e interespecífica de los componentes. Estas pueden ser tanto en calidad como en cantidad y pueden depender de la ubicación en el espacio de las poblaciones.

Todos estos factores se deben de tomar en cuenta al hacer los estudios quimiotaixonómicos, puesto que se trabaja con seres vivos que no se encuentran estáticos, además de que se trabaja con muestras de individuos de una población.

La utilización de los metabolitos secundarios con fines taxonómicos ofrece una alternativa para tratar de clasificar a los seres vivos de una manera natural no sin antes considerar los problemas antes mencionados (Domínguez, 1988).

De las técnicas químicas la que presenta grandes ventajas es el análisis de los metabolitos secundarios por métodos cromatográficos, ya que además de ser un método de alto grado de confiabilidad y precisión, da la oportunidad de ser aplicada con fines tanto cualitativos como cuantitativos. De los diferentes tipos de cromatografía la que más aplicación ha alcanzado en los más variados campos, es la cromatografía en capa fina (CCF) debido fundamentalmente a la sencillez, rapidez, reproductividad y sensibilidad que ofrece (Huerta y Madero, 1992).

Una de las aplicaciones de la CCF como método cualitativo y con aplicación en la taxonomía se basa en la comparación de los perfiles cromatográficos de las especies. Se ha observado con bastante frecuencia que dos especies poseen uno o más metabolitos en común; sin embargo, se presentan otros que permiten discriminar entre ellas, por lo que se dice que cada especie posee un perfil cromatográfico único (Andersen, 1994).

También existe la posibilidad de identificar una serie de compuestos y compararlos con otros de referencia permitiendo establecer una separación entre los taxa, esto implica que es necesario conocer de antemano que compuestos están presentes en las especies a estudiar. Para *Collybia* existe información en cuanto a la presencia de algunos compuestos dentro de las especies, como por ejemplo los trabajos de Aguilar (1967) quien reporta algunos esteroides en *Collybia albuminosa* Petch; Bui *et al.* (1974) determinan la existencia de dos sesquiterpenos (colibólido e isocolibólido) en *Collybia maculata* (Alb. *et* Sch.: Fr.) Kummer, mientras que Fogedal y Norberg (1986) reportan la presencia de otro sesquiterpeno denominado desoxicolibólido en *Collybia peronata* (Bolt.:Fr.) Sing.;



Stadelmann *et al.* (1976) reportan muscarina, epí y alo-muscarina (estereoisómeros de la muscarina) y Higham *et al.* (1974) denotan la presencia de poliacetilenos en esa misma especie; Domínguez *et al.* (1981) detectan la presencia de manitol y ergosterol en *Collybia acervata* (Fr.) Kummer.

En referencia a los trabajos relacionados con el uso de los caracteres químicos con fines taxonómicos aplicados en el género *Collybia* solo un trabajo se reporta y es el de Tyler *et al.* (1965) quienes determina la existencia de urea en algunos grupos de Ascomycetes y Basidiomycetes. En este trabajo *Collybia confluens* (Fr.) Kummer y *C. dryophila* se reportan como especies que acumulan urea mientras que *C. acervata* y *C. maculata* no lo hacen.

#### II.IV Importancia del género

Existen trabajos de bastante interés para otras áreas de investigación como lo describen los trabajos de Higham *et al.* (1974) quienes reportan la presencia de poliacetilenos con actividad antibiótica en *C. peronata* y Leonhardt *et al.* (1987) denotan la actividad antiviral de algunos metabolitos de *C. maculata*, así como el trabajo de Pemberton (1994) quien describe la existencia de compuestos hemolíticos en *C. butyracea* y *C. maculata*.

Muchas de las especies de género *Collybia* representan a los descomponedores primarios de la hojarasca y son ampliamente distribuidos en climas templados, por los que su importancia biológica se sustenta en el hecho de ser de los principales organismos que incorporan nutrientes a los suelos forestales mediante la degradación de la materia orgánica.

En México algunas especies como *C. butyracea* y *C. dryophila* se reportan como comestible de acuerdo a los trabajos de Guzmán-Davalos y Guzmán (1979), Guzmán y Villarreal (1984), Aroche *et al.* (1984) y Estrada-Torres y Aroche (1987), entre otros.

### III. OBJETIVOS

Con la finalidad de contribuir a un mejor conocimiento del género *Collybia* y establecer nuevos criterios en la definición e identificación de las especies se propone que el presente trabajo cubra los siguientes objetivos:

- Contribuir al conocimiento de la diversidad macrofúngica de México.
- Determinación taxonómica de algunos ejemplares herborizados pertenecientes al género *Collybia* depositados en el herbario FCME.
- Describir y analizar la variación morfológica entre diferentes especímenes del grupo *C. dryophila* y *C. butyracea* en el centro de México.
- Valorar el criterio cromatográfico para distinguir a los taxa del grupo de *C. dryophila* y *C. butyracea* con respecto a los criterios morfológicos.

Bajo este contexto, en el presente trabajo los lineamientos que se siguieron (análisis fenético de los perfiles cromatográficos, análisis estadístico del largo de las esporas y la comparación de grupos formados con los perfiles cromatográficos y los formados por caracteres morfológicos) fueron para responder los siguientes cuestionamientos:

- ¿Los especímenes de *C. dryophila* depositados en el Herbario FCME son una misma especie o es un complejo de especies?
- ¿Se pueden reconocer categorías infraespecíficas dentro de los especímenes de *C. butyracea* del Herbario FCME con base en los análisis cromatográficos y morfológicos?
- ¿Los datos cromatográficos permiten segregar categorías específicas y supraespecíficas (especies, secciones, subsecciones y géneros) como lo sugiere los datos morfológicos?

#### IV. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó particularmente material biológico del género *Collybia* y algunos géneros afines depositado en el herbario de la Facultad de Ciencias (FCME) UNAM, el cual se ha venido recolectando por el personal de la sección de Micología principalmente en el centro de México (particularmente la franja central del Eje Neovolcánico y la parte guerrerense de la Sierra Madre del Sur), abarcando al Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Puebla y Tlaxcala.

Para la determinación de las especies se utilizaron guías de campo, claves y descripciones especializadas como las de Dennis (1970), Pegler (1977, 1983, 1986), Moser (1978), Cetto (1979), Lennox (1979), Smith *et al.* (1979), Guzmán (1980), Miller (1980), Halling, (1981), Lincoff (1981), Halling (1983), Phillips (1983, 1991), Vilgalys y Miller (1983, 1987), Bessette y Sundberg (1987), Bon (1987), Breitenbach y Kränzlin (1991), Vilgalys (1991), Guzmán *et al.* (1992), Villarruel-Ordaz (1992) y Villarruel-Ordaz *et al.* (1993), entre otras.

##### IV.1 Análisis cromatográfico

Los especímenes de estudio se seleccionaron teniendo en cuenta que cada recolecta presentara por lo menos 4 ó 5 basidiomas para que existiera suficiente material como referencia de herbario.

El método de extracción empleado constituye una modificación de la técnica propuesta por Fogedal y Norberg (1986) para la extracción del metabolito secundario llamado desoxicolibolidol (lactona sesquiterpénica aislada de *C. peronata*).

La técnica consistió en realizar una extracción de aproximadamente 150 mg de pileo herborizado y pulverizado, utilizando 5 ml de cloroformo-metanol (2:1) como solvente. Este procedimiento se realizó por triplicado, combinando los extractos para posteriormente concentrarlos usando el rotavapor.

Una vez concentrado el extracto se redisolvió en 15 ml de cloroformo-metanol-agua (8:4:3). En esta mezcla de solventes se forman dos fases, de las cuales se separa la porción inferior (fase clorofórmica) para ser concentrada nuevamente con el rotavapor.

Este concentrado se disuelve con 1 ml de metanol para hacer las aplicaciones a las placas, usando en cada corrimiento 5  $\mu$ l.

Se usaron placas "activadas" de gel de sílice 60 para cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC), las cuales fueron desarrolladas en una sola dirección utilizando cloroformo-metanol (9:1) como sistema de eluyentes.

La "activación" de las placas consistió en colocarlas dentro de un horno a una temperatura de 100-120  $^{\circ}$ C por lo menos 1 hora antes de ser aplicados los extractos. El objeto de esto es el de eliminar la humedad que pueda haber absorbido el gel de sílice.

Concluido el corrimiento se procedió a observar las placas bajo la luz U.V. (365 nm) para evidenciar algunas manchas cromatográficas y posteriormente rociarlas con sulfato cérico que actúa como revelador.

La técnica para hacer evidente el perfil cromatográfico consistió en colocar la placa, una vez que se aspersó con el revelador, en una parilla eléctrica y calentar hasta que las manchas tengan su máxima coloración.

Ya una vez determinados los perfiles en cada ejemplar se procedió a calcular los valores de  $R_f$  (distancia recorrida por la mancha entre la distancia recorrida por el solvente empleado) de cada una de las manchas observadas con los cuales se elaboró una matriz de presencia-ausencia la cual se analizó fenéticamente, empleando el coeficiente de similitud de Jaccard y el método de agrupamiento UPGMA para elaborar el dendrograma correspondiente.

En cada uno de los corrimientos se utilizó un marcador químico de referencia el cual sirvió para tener un marco de comparación entre las manchas que se presentan. El marcador que se empleó fue la lactona sesquiterpénica aislada de *C. maculata* (colibólido) el cual fue proporcionado por el Dr. Pierre Potier del Centre National de la Recherche Scientifique en Francia.

La metodología antes descrita fue aplicada también a especímenes pertenecientes de otros géneros que están cercanamente relacionados, como son algunos miembros de *Marasmius*, *Laccaria* Berk. & Br., *Lyophyllum* Karsten y *Mycena* (Fr.) S.F. Gray para observar las diferencias a nivel genérico.

#### IV. II Análisis morfológico

Los ejemplares de estudio se revisaron macro y microscópicamente siguiendo las técnicas convencionales para la descripción de los caracteres morfológicos propuestas por Largent y Johnson (1977), Largent y Thiers (1977), Largent *et al.* (1979), Cifuentes *et al.* (1988) y Largent y Baroni (1988).

Particularmente en los ejemplares pertenecientes al complejo *C. dryophila* se aplicaron los criterios que proponen Vilgalys (1991) y Vilgalys y Miller (1983, 1987), los cuales consisten en la revisión de ciertos caracteres morfológicos cuyas combinaciones permiten segregar especies afines.

En el caso de *C. butyracea* se realizó un análisis estadístico del tamaño de las esporas para tratar de separar grupos discretos basados en ese carácter.

Se conoce que el número mínimo de esporas para ser utilizadas en un estudio estadístico depende del intervalo en el cual se desea estimar la longitud media para una población (Parmasto y Parmasto, 1987). El tamaño de la muestra se determina con la fórmula  $n = (Z_{(0.95)}^2(S)^2/\hat{\epsilon}^2)$ , donde  $n$  = tamaño de muestra requerida,  $Z_{(0.95)}$  = nivel de significación (1.96),  $S$  = desviación estándar y  $\hat{\epsilon}$  = intervalo de error deseado (para nuestro caso se consideró 0.5  $\mu$ m). Ya una vez determinado el tamaño de la muestra se realizaron las mediciones apropiadas, haciendo notar que las medidas se tomaron sólo en aquellas esporas observadas en posición lateral.

El largo esporal promedio de los especímenes estudiados se sometió a pruebas de hipótesis de igualdad entre dos muestras mediante la prueba estadística:  $Z = (X_1 - X_2) / \sqrt{(S_1^2/n + S_2^2/n)}$ , donde  $X_1$  y  $X_2$  corresponden al valor promedio de la variable de las muestras a contrastar,  $S_1$  y  $S_2$  la varianza respectivas de cada variable y  $n$  = al tamaño de la muestra. La hipótesis nula a probar es que  $X_1 = X_2$  a un nivel de significación de  $Z_{(0.95)} = 1.96$

## V. RESULTADOS

Para este trabajo se utilizaron 96 especímenes herborizados, de los cuales 88 corresponden al género *Collybia* y los 8 restantes a géneros afines (2 especímenes de *Laccaria*, 2 de *Lyophyllum*, 2 de *Marasmius* y 2 más de *Mycena*). De los 88 especímenes de *Collybia*, la mayor parte pertenecen a los grupos de *C. butyracea* (28) y *C. dryophila* (44), mientras que los restantes corresponden a las especies *Collybia alkalivirens* Sing. (1), *Collybia fuscopurpurea* (Pers.: Fr.) Kummer (1), *C. maculata* (3), *Collybia polyphylla* (Pk.) Sing. ex Halling (2), *Collybia subdryophila* Atkinson (7) y *Collybia subnuda* (Ellis ex Pk.) Guilliam (2).

### V.I Consideraciones generales

En cada uno de los corrimientos se trató de determinar la presencia del marcador (colibólido) y aún cuando no se pudo precisar con exactitud se piensa que realmente puede estar presente en la mayoría de los especímenes. El marcador utilizado sólo es evidente cuando la placa es revelada con sulfato cérico y no presenta fluorescencia cuando es irradiada con luz U.V. En los perfiles estudiados se presenta una serie de manchas denotadas con las letras J, K y L las cuales representan compuestos de mediana polaridad cuyos valores de Rf se aproximan al valor del marcador taxonómico. Considerando que cada mancha puede estar constituida de 1 ó más compuestos es posible que cualquiera de estas manchas represente o incluyan al colibólido (tablas 1, 4, 7 y 8).

### V.II Complejo *Collybia butyracea*

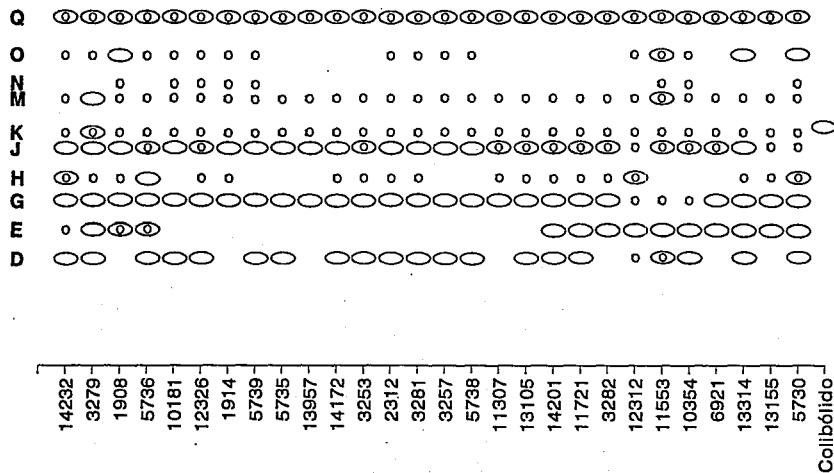
En los perfiles cromatográficos se determinó la presencia de 10 manchas, 5 de las cuales (G, J, K, M y Q) están presentes en todos los especímenes, mientras que las 5 restantes varían dependiendo de la concentración a la cual se encuentren dentro del organismo (tabla 1, figura 1).

Tabla 1. Rf de las manchas observadas en los especímenes estudiados pertenecientes al complejo *C. butyracea*. Para estandarizar los valores se multiplicó por un factor de 10 para trabajar con unidades y dos decimales.

C. butyracea # Ejemplar (FCME)	Mancha									
	D	E	G	H	J	K	M	N	O	Q
14232	2,70	3,24	4,05	4,59	5,27	5,81	6,62		7,84	8,78
3279	2,70	3,11	4,05	4,73	5,27	5,88	6,62		7,84	8,78
1908		3,15	4,11	4,79	5,40	5,84	6,58	7,26	7,81	8,77
5736	2,88	3,25	4,11	4,66	5,48	5,89	6,71		7,95	8,84
10181	2,84		3,97		5,32	5,41	6,35	6,89	7,73	8,60
12326	2,84		3,97	4,46	5,14	5,54	6,51	7,03	7,84	8,81
1914			4,05	4,51	5,27	5,59	6,49	7,05	7,86	8,73
5739	2,84		4,11		5,41	5,68	6,62	7,03	7,76	8,72
5735	2,78		4,21		5,64	5,84	6,83			8,44
13957			4,05		5,56	5,71	6,72			8,49
14172	2,64		4,10	4,74	5,51	5,77	6,79			8,40
3253	2,64		4,15	4,87	5,53	5,92	6,79			8,34
2312	2,60		3,84	4,38	5,29	5,67	6,58		7,73	8,68
3281	2,59		3,81	4,50	5,18	5,50	6,40		7,66	8,65
3257	2,58		3,89		5,19	5,56	6,44		7,69	8,75
5738	2,70		3,81		5,27	5,54	6,35		7,57	8,58
11307			3,97	4,41	5,41	5,81	6,62			8,68
13105	2,84		4,11	4,51	5,64	6,08	6,89			8,92
14201	2,84	3,38	4,46	5,27	5,79	6,04	7,03			8,92
11721	2,80	3,47	4,29	4,93	5,87	6,27	7,07			8,87
3282		3,78	4,46	5,00	5,88	6,22	7,05			8,92
12312	2,97	3,78	4,59	5,21	5,54	6,35	7,16		7,70	8,61
11553	2,56	3,87	4,27		5,33	5,65	6,47	6,93	7,60	8,55
10354	2,27	3,92	4,59		5,29	5,73	6,40	7,07	7,52	8,55
6921		3,11	4,19		5,41	5,81	6,62			8,85
13314	2,50	2,89	3,95	4,34	5,39	5,71	6,58		7,63	8,55
13155		3,59	4,23	4,74	5,69	5,95	6,79			8,46
5730	2,97	3,25	3,86	4,33	5,41	5,68	6,35	6,89	7,70	8,34
Colibóido						5,92				

	D	E	G	H	J	K	M	N	O	Q
Mínimo	2,27	2,89	3,81	4,33	5,14	5,41	6,35	6,89	7,52	8,34
Promedio	2,72	3,41	4,12	4,68	5,44	5,80	6,66	7,02	7,73	8,66
Máximo	2,97	3,92	4,59	5,27	5,88	6,35	7,16	7,26	7,95	8,92
N	21	14	28	19	28	28	28	8	17	28
Desv. Estándar	0,17	0,33	0,22	0,28	0,20	0,23	0,23	0,12	0,11	0,18
Varianza	0,03	0,11	0,05	0,08	0,04	0,05	0,05	0,01	0,01	0,03

**Figura 1. Perfil cromatográfico de los especímenes estudiados pertenecientes al complejo *C. butyracea*. Las letras indican un valor promedio de Rf (ver tabla 1).**



**EJEMPLAR DE HERBARIO**

○ señala las manchas evidenciadas con luz U.V.; ◯ indica las manchas reveladas con sulfato cérico, y ◐ representa a las manchas evidenciados tanto con luz U.V. como reveladas con sulfato cérico.



Fig. 2. Fenograma mostrando las relaciones de similitud química entre los especímenes de *Collybia butyracea*.

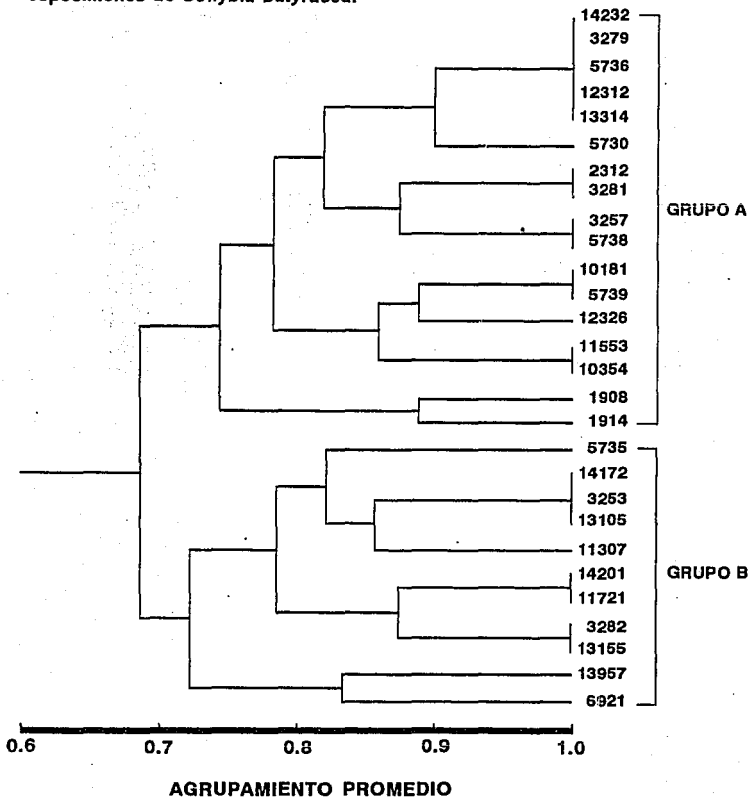


Tabla 2. Datos estadísticos para el largo de las basidiosporas de los especímenes de *C. butyracea*.

# Ejemplar (FCME)	L <sub>min.</sub>	L <sub>prom</sub>	L <sub>máx.</sub>	S
2312	6,4	6,6	6,7	0,46
5738	7,1	7,3	7,5	0,43
3281	6,2	6,4	6,5	0,37
3257	7,0	7,2	7,3	0,37
13155	6,3	6,5	6,6	0,46
1908	6,3	6,4	6,5	0,37
10181	6,0	6,2	6,3	0,41
12326	6,4	6,6	6,7	0,51
1914	6,1	6,2	6,3	0,34
5736	6,3	6,5	6,7	0,59
3279	6,3	6,4	6,5	0,37
13957	7,1	7,3	7,4	0,35
13314	6,2	6,4	6,5	0,38
14172	6,2	6,3	6,5	0,37
5735	6,6	6,8	7,0	0,61
5739	6,4	6,7	6,9	0,63
3253	6,2	7,5	7,6	0,46
14232	7,3	7,5	7,6	0,43

Figura 3. Promedio del largo de las esporas de algunos especímenes de *C. butyracea*.

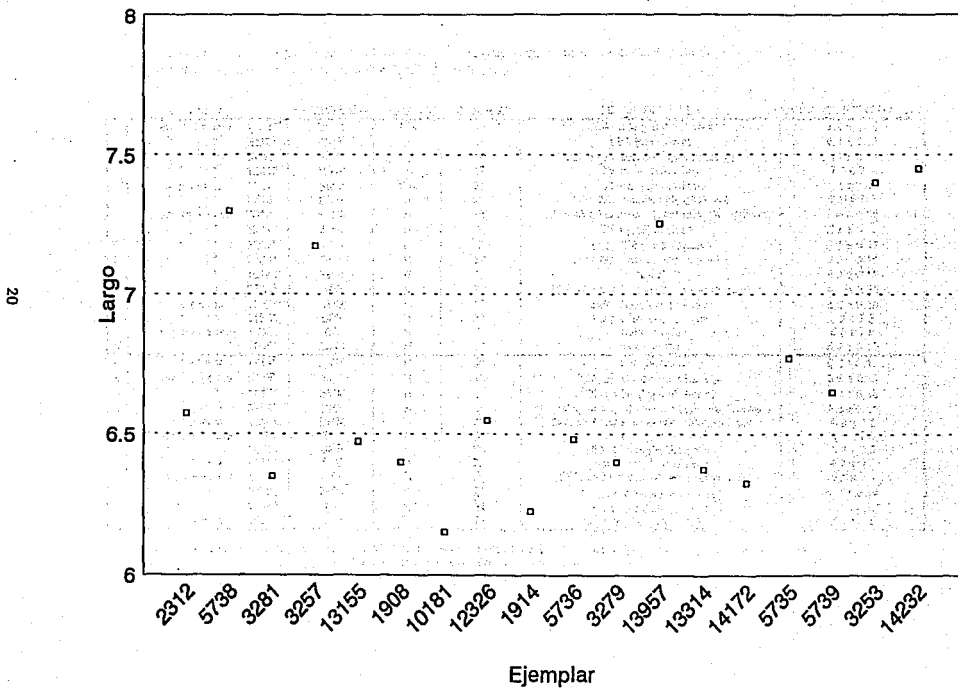


Tabla 3. Caracteres considerados en la comparación con los grupos químicos de los especímenes del complejo *C. butyracea*.

\* Ejemplares considerados en el análisis estadístico de las esporas.

	# Ejemplar	VEGETACIÓN	SUSTRATO	LOCALIDAD	COLOR DEL PÍLEO	LARGO DE ESPORAS (µm)		
G R U P O Q U Í M I C O	<i>var. butyracea</i>	14232 <sup>a</sup>	BMM	T-H	30	6F8, 6D4 (café grisáceo, "camello")	7.4 ± 0.15	
	"	3279 <sup>a</sup>	BPA	H	3	6D8 (café claro)	6.4 ± 0.13	
	"	5736 <sup>a</sup>	BPE	H	10	6E7, 6F7 ("cognac", café obscuro)	6.5 ± 0.21	
	"	12312	BMM	H	17	Naranja, café claro	7.0 ± 7.7	
	<i>var. asoma</i>	13314 <sup>a</sup>	BMM	T-H	23	5B3 (naranja-grisáceo)	6.4 ± 0.13	
	"	5730	BMM	H	23	5F4, 5E3 (sepia, café grisáceo)	6.0 ± 7.5	
	<i>var. butyracea</i>	2312 <sup>a</sup>	BMM	H	15	6D8, 3, 4A4, 3 (café claro, amarillo claro-pálido)	6.6 ± 0.16	
	"	3281 <sup>a</sup>	BPA	H	2	7F8 (café obscuro)	6.4 ± 0.13	
	"	3257 <sup>a</sup>	BPA	H	2	6E8, 7E8 (café, "ágata", siena)	7.2 ± 0.13	
	"	5738 <sup>a</sup>	BPA	H	37	7D6, 6D6 (café rojizo, "canela")	7.3 ± 0.15	
	"	10181 <sup>a</sup>	BMM	H	27	"paja"	6.2 ± 0.15	
	"	5739 <sup>a</sup>	BPE	H	37	6C7, 7F7, 8 (dorado rojizo, café obscuro)	6.7 ± 0.23	
	<i>var. asoma</i>	12326 <sup>a</sup>	BMM	H	17	café chocolate, grisáceo	6.6 ± 0.16	
	"	11553	BPE	H	33	café grisáceo, oliváceo	5.2 ± 7.5	
	<i>var. butyracea</i>	10354	BE	H	1	café rosado	6.0 ± 7.5	
	"	1908 <sup>a</sup>	BMM	H	18	café-naranja	6.4 ± 0.13	
	B	<i>var. asoma</i>	1914 <sup>a</sup>	BMM	H	18	café grisáceo	6.2 ± 0.12
		<i>var. butyracea</i>	5735 <sup>a</sup>	BPE	H	10	7E7, 5C5 (café, café-naranja)	6.8 ± 0.22
		"	14172 <sup>a</sup>	BMM	H	30	7E8, 6D7 ("ágata", siena)	6.3 ± 0.13
		"	3253 <sup>a</sup>	BPA	H	2	6F7, 6E8, 4A3 (café obscuro grisáceo, "crema")	7.5 ± 0.16
<i>var. asoma</i>		13105	BMM	H	22	6F4, 6E3 (café chocolate, café grisáceo)	6.0 ± 7.5	
<i>var. butyracea</i>		11307	BPA	H	31	6D7 (siena)	6.3 ± 7.0	
"		14201	BPE	H	36	7E5, 6D4 (café, "camello")	5.6 ± 7.0	
<i>var. asoma</i>		11721	BPE	H	32	4B5 (amarillo grisáceo)	4.2 ± 6.3	
<i>var. butyracea</i>		3282	BPA	H	2	5B6, 3A3 ("durazno", amarillo pálido)	5.6 ± 7.7	
"		13155 <sup>a</sup>	BMM	H	22	4A4, 3 (amarillo claro-pálido)	6.5 ± 0.16	
"		13957 <sup>a</sup>	BA	H	34	7E5, 6D8 (café, café claro)	7.2 ± 0.13	
<i>var. asoma</i>		6921	BPE	T-H	21	café obscuro, naranja grisáceo	6.0 ± 7.5	

BA: Bosque de abeto; BE: Bosque de encino; BMM: Bosque mesófilo de montaña; BPA: Bosque de pino-abeto, BPE: Bosque de pino-encino.

H: Humicola; T-H: Terfícola-Humicola. Las localidades de recolección están citadas en la tabla 6.

El color de los especímenes está dado con el libro de color Methuen Handbook of colour (1978).

El análisis fenético de los valores de Rf segregó 2 grupos más inclusivos (A y B) tomando como criterio un 60 a 80% de similitud en los perfiles (figura 2).

Por otro lado, el tamaño de muestra requerido en el análisis estadístico fue de 16 esporas; sin embargo, para hacer más representativa la muestra se optó por considerar la medición de 30 esporas como lo propone Parmasto y Parmasto (1987). Considerando los resultados de las pruebas estadísticas se logró determinar que los ejemplares FCME 3257, FCME 3253, FCME 5738, FCME 14232 y FCME 13957 forman un grupo de especímenes con esporas grandes (mayor de 7  $\mu\text{m}$ ) (tabla 2, figura 3).

Se pueden establecer otros criterios de agrupación entre los especímenes como por ejemplo la coloración del píleo, la cual permite la separación de la especie en dos variedades: *C. butyracea* var. *asema* Fr. (coloraciones café grisáceo-olivo) y *C. butyracea* var. *butyracea* Fr. (coloraciones café naranja-rosado). Si se considera la coloración del píleo y el tamaño de las esporas, se pueden segregar 2 grupos dentro de la variedad *butyracea*, uno correspondiendo a los especímenes con el largo promedio de las esporas mayor de 7  $\mu\text{m}$  y otro con esporas pequeñas menor de 7  $\mu\text{m}$ , observándose estados intermedios entre estas dos medidas.

Tomando como criterio el agrupamiento promedio, los dos grupos segregados en el análisis fenético no muestran correlación con los grupos elaborados con base en los criterios morfológicos. De hecho, dichos grupos químicos no permiten establecer una relación con otros atributos como son la vegetación y sustrato. Con respecto al sitio de recolecta, los especímenes recolectados en una misma localidad pueden quedar dentro de un mismo grupo químico o en grupos separados (tabla 3).

### V.III Complejo *Collybia dryophila*

Los perfiles cromatográficos permiten establecer la presencia de 12 manchas, 5 de las cuales (A, J, K, M y Q) están presentes en todos los especímenes y las 7 restantes varían dependiendo de la concentración a la cual se encuentren dentro del organismo (tabla 4, figura 4).

El agrupamiento fenético de los valores de Rf segregó 4 grupos más inclusivos (A, B', B'' y C) tomando como criterio un nivel de similitud en los perfiles de 60 a 80%. Existe un ejemplar (FCME 5731), el cual no quedó incluido en los grupos antes

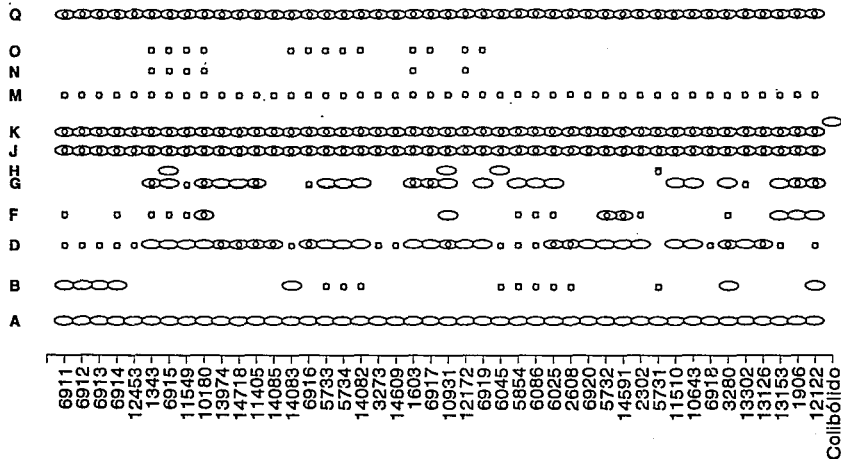
Tabla 4. Rf de las manchas observadas en los especímenes estudiados pertenecientes al complejo *C. dryophila*. Para estandarizar los valores se multiplicó por un factor de 10 para trabajar con unidades y dos decimales.

<i>C. dryophila</i> #Ejemplar (FCME)	Mancha											
	A	B	D	F	G	H	J	K	M	N	O	Q
6911	0.89	1.74	2.60	3.56			4.79	5.34	6.31			8.49
6912	0.89	1.74	2.74				5.07	5.48	6.44			8.63
6913	0.89	1.74	2.74				5.07	5.52	6.58			8.77
6914	0.89	1.74	2.78	3.89			5.29	5.83	6.67			8.75
12453	0.89		3.19				5.14	5.69	6.86			8.75
1343	0.89		2.88	3.42	4.52		5.34	5.75	6.85	7.40	7.95	8.94
6915	0.89		2.78	3.47	4.36	4.72	5.28	5.69	6.67	7.36	8.06	8.89
11549	0.89		2.92	3.82	4.72		5.28	5.83	6.86	7.50	8.06	8.89
10100	0.89		2.92	3.47	4.65		5.28	5.83	6.67	7.36	7.92	8.89
13974	0.89		3.01		4.46		5.61	6.01	6.89			8.45
14718	0.89		3.01		4.32		5.61	5.95	6.89			8.51
11405	0.89		3.00		4.60		5.47	5.73	6.67			8.33
14085	0.89		2.92				5.28	5.76	6.86			8.61
14083	0.89	1.74	2.57				4.80	5.26	6.18		7.24	8.42
6918	0.89		2.74		4.20		5.34	5.89	6.71		7.95	8.77
5733	0.89	1.74	2.43		3.92		5.00	5.61	6.49		7.57	8.65
5734	0.89	1.74	2.47		3.97		4.93	5.48	6.44		7.67	8.63
14082	0.89	1.74	2.50		3.75		5.00	5.42	6.39		7.78	8.61
3273	0.89		3.03				5.42	5.92	6.77			8.94
14609	0.89		3.10				5.49	5.99	7.04			8.94
1603	0.89		2.95		4.32		5.20	5.82	6.49	6.89	7.73	8.58
6917	0.89		2.87		4.27		5.27	5.73	6.53		7.60	8.73
10931	0.89		2.80	3.33	4.40	4.93	5.33	5.87	6.80			8.87
12172	0.89		2.53				5.13	5.73	6.40	6.93	8.00	8.87
6919	0.89		2.50		3.95		4.93	5.39	6.45		7.50	8.49
8045	0.89	1.67	2.56			4.62	5.26	5.84	6.67			8.72
5854	0.89	1.54	2.56	3.59	4.24		5.06	5.45	6.54			8.85
6088	0.89	1.58	2.63	3.55	4.14		5.06	5.59	6.58			8.88
6025	0.89	1.43	2.60	3.56	4.03		4.89	5.39	6.23			8.57
2608	0.89	1.56	2.66				4.85	5.19	6.14			8.44
6920	0.89		2.50				5.28	5.72	6.58			8.68
5732	0.89		2.40	3.87			5.13	5.60	6.53			8.93
14591	0.89		2.30	3.92			5.07	5.57	6.35			8.78
2302	0.89		2.19	3.56			4.79	5.25	6.16			8.63
5731	0.89	1.73				4.53	4.73	5.47	6.58			8.07
11510	0.89		3.24		4.19		5.57	5.96	7.03			8.45
10543	0.89		3.24		4.59		5.57	6.06	7.35			8.65
6918	0.89		3.22				5.53	5.86	6.84			8.49
3280	0.89	1.97	3.16	3.68	4.76		5.59	5.99	6.97			8.75
13302	0.89		3.18		4.86		5.50	6.01	6.76			8.65
13126	0.89		2.88				5.26	5.77	6.67			8.29
13153	0.89		2.83	3.46	4.24		5.38	5.71	6.67			8.46
1906	0.89			3.56	4.35		5.39	5.71	6.49			8.51
12122	0.89	1.84	2.89	3.29	4.21		5.26	5.66	6.45			8.62
Coibitico								5.92				

	A	B	D	F	G	H	J	K	M	N	O	Q
Mínimo	0.66	1.43	2.19	3.29	3.75	4.53	4.73	5.19	6.14	6.69	7.24	8.07
Promedio	0.89	1.74	2.79	3.59	4.32	4.70	5.22	5.69	6.61	7.24	7.77	8.66
Máximo	1.11	2.27	3.24	3.92	4.86	4.93	5.51	6.08	7.04	7.50	8.06	8.94
N	44	16	42	17	25	4	44	44	44	5	13	44
Desv. Estándar	0.13	0.25	0.27	0.19	0.28	0.17	0.24	0.22	0.23	0.26	0.25	0.20
Varianza	0.02	0.06	0.07	0.04	0.08	0.03	0.06	0.05	0.05	0.07	0.06	0.04

Figura 4. Perfil cromatográfico de los especímenes estudiados pertenecientes al complejo *C. dryophila*. Las letras indican un valor promedio de Rf (ver tabla 4).



#### EJEMPLAR DE HERBARIO

o señala las manchas evidenciadas con luz U.V.; ○ indica las manchas reveladas con sulfato cérico, y ⊙ representa a las manchas evidenciados tanto con luz U.V. como reveladas con sulfato cérico.

**Fig. 5. Fenograma mostrando las relaciones de similitud química entre los especímenes de *Collybia dryophila*.**

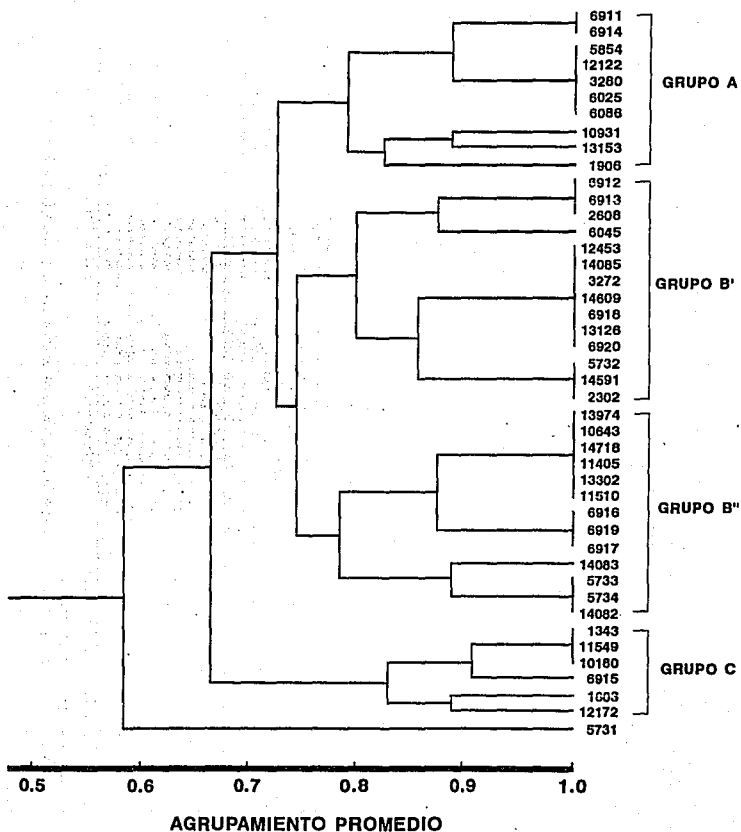




Tabla 5. Caracteres considerados en la comparación con los grupos químicos de los especímenes del complejo *C. dryophila*.  
 \* especímenes no revisados microscópicamente

		# EJEMPLAR	VEGETACIÓN	SUSTRATO	LOCALIDAD	COLOR DEL PILEO	RIZOMORFOS	QUELEOCISTIDOS
A		6911*	BE	T	38	8D-E6, 7C6, 6A5 (café rojizo, café-naranja claro)	blanquecinos	
		8914	BE	H	6	2.5YR4/6, 7.5YR6/6 (rojo, amarillo rojizo)	blanco-amarillentos	cilíndricos-clavados
		5854	BE	H	5	6B-G7 (naranja "caramelo", dorado rojizo)	blanquecinos	clavados-globosos
		12122	BMM	H	17	café amarillento, pálido	no evidentes	cilíndricos
		3260	BPA	H	3	7F8, 5C6 (café oscuro, café-naranja)	amarillentos	clavados-cilíndricos
		6025	BE	H	8	6D-E6, 5A2,3 (café "canela", blanco-naranja)	amarillentos	cilíndricos-clavados
		6086	BE	T-H	5	7E7, 5B5,4 (café, naranja grisáceo)	amarillentos	filamentosos
		10931*	BPE	H	28	café naranja pálido, café rosado	amarillentos	globosos-cilíndricos
		13153	BMM	H	22	7D5, 6D5 (café claro)	no evidentes	*
		1206*	BMM	H	17	café-naranja	no evidentes	*
B		6912	BE	H	6	5YR8,5/6, 10YR7/6 (rojo amarillento, amarillo)	amarillentos	cilíndricos-clavados
		6913	BE	T	8	7.5YR5/6, 7.5YR5/6 (café fuerte, amarillo rojizo)	blanco-rozados	clavados-subglobosos
		2808	BPE	H	4	5A3,4, 5B4 (blanco naranja pálido, naranja grisáceo)	no evidentes	cilíndricos-globosos
		6045	BE	T	8	7D-E5, 6D5 (café claro, café "cuneta")	blanco-amarillentos	clavados-subglobosos
		12453*	BMM	H	19	6C4 (café-naranja "palúcio")	amarillentos	clavados-filamentosos
		14085	BPE	H	36	4D4 (amarillo grisáceo)	amarillentos	clavados
		3273	BPA	H	3	5A4,5, 6D8 (naranja claro, café claro)	amarillentos	clavados
		14609	BPE	H	12	5A3, 4A3, 5B4 (naranja pálido grisáceo, amarillo pálido)	blanco-amarillentos	filamentosos-globosos
		6918	BPE	H	13	6D7 (café claro "siena")	no evidentes	cilíndricos-clavados-globosos
		13126	BMM	H	20	7D6 (café rojizo)	no evidentes	cilíndricos-filamentosos
C		6920	BPE	H	13	5A4, 7D7 (naranja claro, café claro)	blanco-amarillentos	cilíndricos-clavados-globosos
		5732	BPE	H	12	6D8 (café claro)	blanquecinos	cilíndricos-globosos
		14591	BPE	H	12	7E8 (café)	blanquecinos	clavados-globosos
		2302	BMM	T-H	15	7C7 (café-naranja)	amarillentos	globosos
		13974	BA	H	35	6D7, 6C7 (café claro, dorado rojizo)	amarillentos	cilíndricos
		10543	BE	H	9	café naranja pálido	no evidentes	filamentosos-cilíndricos
		14718	BPA	H	36	6D7 (café "siena")	no evidentes	cilíndricos-clavados
		11405*	BPE	H	29	6D7 (café claro)	amarillentos	*
		13302	BPE	H	23	sin datos de campo	amarillentos	cilíndricos
		11510	BPA	H	7	6C8 (café-naranja)	blanco-amarillentos	cilíndricos
D		6916	BPA	H	11	6C5,6 (café "caramelo")	no evidentes	clavados-subglobosos-filamentosos
		6919	BMM	H	24	6D5, 4A4 (café canela, amarillo pálido)	no evidentes	cilíndricos-globosos
		6917*	BE	H	25	café claro	no evidentes	*
		14083	BPE	H	36	5C7 (amarillo ocre)	amarillentos	clavados-cilíndricos
		5733*	BPE	H	37	7E7, 5B5 (café, naranja grisáceo)	blanquecinos	*
		5734*	BPE	H	37	7E-F7, 7E6 (café oscuro, café)	amarillentos	*
		14082	BPE	H	36	6D7 (café "siena")	amarillentos	cilíndricos-clavados
		1343	BP	H	7	sin datos de campo	blanco-amarillentos	cilíndricos
		11549*	BPE	H	33	café naranja claro	no evidentes	*
		10180	BE	H	9	café naranja claro	no evidentes	cilíndricos-filamentosos
E		6915*	BMM	T-H	16	5C6 (amarillo-café)	amarillentos	*
		1603*	BEJ	H	26	café amarillento	no evidentes	*
		12172	BMM	H	17	café-naranja pálido	no evidentes	filamentosos-globosos
		5731	BPE	H	10	5A5 (naranja claro)	amarillentos	cilíndricos

BA: Bosque de abeto; BE: Bosque de encino; BEJ: Bosque de encino-junípero; BMM: Bosque mesófilo de montaña; BPA: Bosque de pino-abeto; BPE: Bosque de pino-encino. H: Humícola; T-H: Terfocta-Humícola. Las localidades de recolección están citadas en la tabla 6.

El color de los especímenes está dado con el libro de color Methuen Handbook of Colour (1976) y Munsell Soil Colour Charts (1992).

Figura 6. Tipos de quelocistidios observados en algunos especímenes del complejo *Collybia dryophila*. (A): Quelocistidios cilíndricos con proyecciones cortas (FCME 5731). (B): Quelocistidios clavados-subglobosos con proyecciones irregulares (FCME 6913). (C): Quelocistidios clavados-cilíndricos con proyecciones (FCME 3280). (D): Quelocistidios filamentosos diverticulados y globosos con proyecciones (FCME 12172). (E): Quelocistidios clavados-subglobosos con proyecciones irregulares y filamentosos diverticulados (FCME 6916). Línea de escala= 10µm.

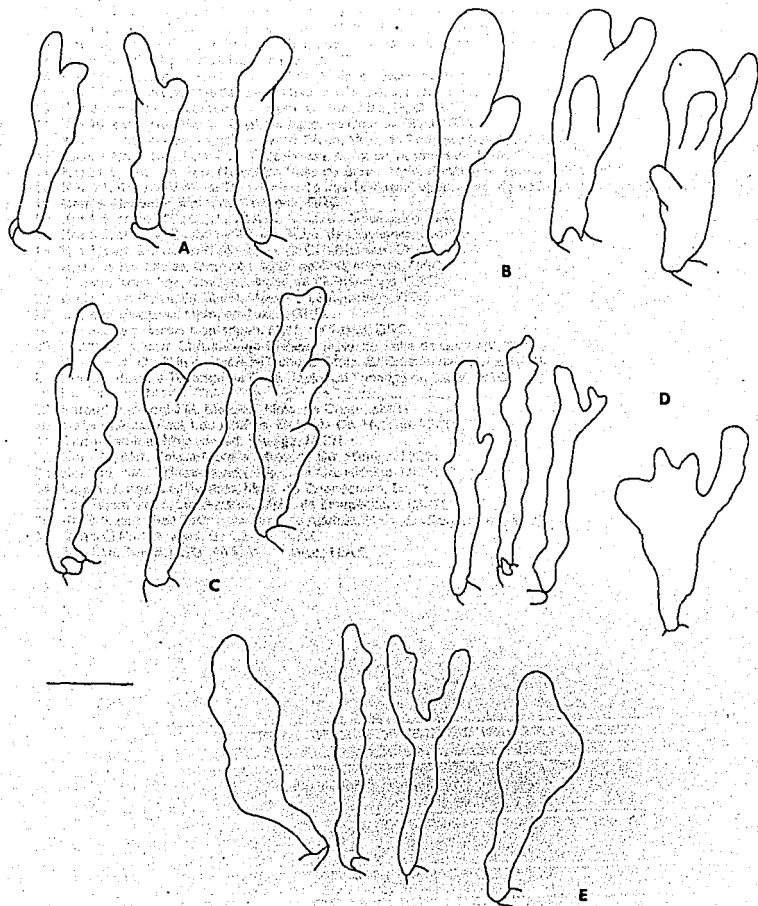


Tabla 6. Lista de las localidades geográficas de los especímenes estudiados del género *Collybia*.

- 1 Km 1, desv. a Pathe, carr. a Ixtlahuaca. Mpio. de Acambay, EDO. MÉX.
- 2 Poblado Agua Bendita. Mpio. de Amanalco, EDO. MÉX.
- 3 Km 39, Toluca-Amanalco-Valle de Bravo. Mpio. de Amanalco, EDO. MÉX.
- 4 Km 31.5, carr. Jilotepec-Añacumulco, Cerro de la Rosa. Mpio. de Añacumulco, EDO. MÉX.
- 5 Km 1, cam. al Observ. Astron., Chapa de Mota. Mpio. de Chapa de Mota, EDO. MÉX.
- 6 Km 4.5, cam. al Observ. Astron., Chapa de Mota. Mpio. de Chapa de Mota, EDO. MÉX.
- 7 Llano Grande. Mpio. de Ixtapañuca, EDO. MÉX.
- 8 Km 7.5, carr. Jilotepec-Chapa de Mota. Mpio. de Jilotepec, EDO. MÉX.
- 9 Km 15, carr. Jilotepec-Ixtlahuaca. Mpio. de Jilotepec, EDO. MÉX.
- 10 Cerro Jocotitlán, "Microondas". Mpio. de Jocotitlán, EDO. MÉX.
- 11 Km 10, carr. Tres Marías-Chalma. Mpio. de Ocuilán, EDO. MÉX.
- 12 Km 71, carr. Toluca-Tejupulco, Presa Chica. Mpio. de Temascaltepec, EDO. MÉX.
- 13 Ladera Este, Cerro Sn. Fco. Tepexoxuca. Mpio. de Tenango del Valle, EDO. MÉX.
- 14 Km 21.5, carr. Sn. Fco. Ocotitlán-Valle de Bravo. Mpio. de Valle de Bravo, EDO. MÉX.
- 15 Km. 21, desv. a Valle de Bravo, carr. Toluca-Temascaltepec. Mpio. de Valle de Bravo, EDO. MÉX.
- 16 Carr. a Tlacoapa, Mpio. de Alpoyeca, GRO.
- 17 Km 4.5, entre el Carrizal y Atoyac. Mpio. de Chichiuaco, GRO.
- 18 Km 8.5, entre el Carrizal y Atoyac. Mpio. de Chichiuaco, GRO.
- 19 Km 3, carr. a Pto. del Gallo. Mpio. de Chichiuaco, GRO.
- 20 Agua de las Tablas, Omiltemi. Mpio. de Chilpancingo, GRO.
- 21 Cañada Agua Fria, Omiltemi. Mpio. de Chilpancingo, GRO.
- 22 Cañada La Perra, Omiltemi. Mpio. de Chilpancingo, GRO.
- 23 Cerro El Huizteco. Mpio. de Taxco, GRO.
- 24 Km 32, carr. Taxco-Ixcateopan. Mpio. de Taxco, GRO.
- 25 El Ahuejote, carr. Chilpancingo-Chilapa. Mpio. de Tixtla de Guerrero, GRO.
- 26 Km 5, carr. Omilán de Juárez-Pachuca. Mpio. de Omilán de Juárez, HGO.
- 27 Km. 24, desv. a Tenango de Doria. Mpio. de Tenango de Doria, HGO.
- 28 Km 84, carr. México-Tulancingo. Mpio. de Tulancingo, HGO.
- 29 Parque Nacional J.M. Morelos. Mpio. de Charo, MICH.
- 30 Cañada Agua Azul, Los Azufres. Mpio. de Cd. Hidalgo, MICH.
- 31 Cerro Garmica. Mpio. de Cd. Hidalgo, MICH.
- 32 Km 170, carr. Toluca-Morelia. Mpio. de Cd. Hidalgo, MICH.
- 33 Km 186, carr. Toluca-Morelia. Mpio. de Cd. Hidalgo, MICH.
- 34 Laguna Larga, Los Azufres. Mpio. de Zinapécuaro, MICH.
- 35 Los Tejamaniles, Los Azufres. Mpio. de Zinapécuaro, MICH.
- 36 Km 5.5, carr. San Pedro Jácuaro-Los Azufres. Mpio. de Zinapécuaro, MICH.
- 37 Cerro El Peñón. Mpio. de Tlaxco, TLAX.
- 38 San Fco. Temetzontla. Mpio. de Tototlac, TLAX.

mencionados (figura 5). Una explicación puede estar basada en el hecho de que la recolecta contenga solamente especímenes en etapas tempranas de desarrollo, a juzgar por la talla pequeña que presentan. Un detalle interesante también de este ejemplar es la reacción macroquímica positiva con KOH (10%) que se presenta en el contexto de los especímenes en fresco. Hesler (1957) reporta una coloración similar (grisácea-oliváceo) con KOH (15%) en ejemplares de *Collybia agricola* (Murr.) Murrill, y Vilgalys y Miller (1983) en especímenes de *Collybia earleae* (Murr.) Murrill con KOH (3%). La misma reacción aunque mucho más evidente (verde intenso) se observa en *C. alkalivirens* y especies relacionadas (Halling, 1981), y es significativo que la reacción verdosa es común a varios miembros de la sección *Levipedes* incluyendo a *C. dryophila*.

Los criterios morfológicos que propone Vilgalys (1991) para el reconocimiento de especies y subespecies entre grupos biogeográficamente distintos del complejo *C. dryophila* permiten segregar a *C. ocior* (Pers.) Vilgalys & Miller, *C. alpina* Vilgalys & Miller, *C. aquosa* (Bull.: Fr.) Kummer *C. dryophila* s.s. y *C. earleae* (Murr.) Murr.

*C. dryophila* en Norte América, Europa, Japón y Corea presenta la siguiente combinación de caracteres: color del pileo ocre u ocre-castaño, láminas blancas, rizomorfos blancos, sustrato variable, largo de las esporas de 5 a 7  $\mu\text{m}$  y quelocistidios filamentosos y globosos (Vilgalys, 1991). La mayoría de los especímenes mexicanos se apegan a esta delimitación pero existen algunos detalles interesantes; por ejemplo, el espécimen FCME 6913 presenta un color blanco-rosado en los rizomorfos, sustrato terrícola, pileo color castaño, láminas amarillentas y quelocistidios filamentosos y globosos, por lo que se apega a la delimitación de *Collybia ocior* ssp. *ocior*, sin embargo el ejemplar FCME 6045, el cual fue recolectado en la misma localidad (probablemente la misma población biológica), presenta la misma combinación de caracteres a excepción del color de los rizomorfos los cuales son de color blanco amarillento. La gran mayoría de los especímenes estudiados presentan rizomorfos de color amarillento, pero cabe hacer notar que también en muchos de esos casos el color está caracterizado en material herborizado y que también en muchas de las etiquetas descriptivas de campo no se hace mención a la presencia y color de los rizomorfos. Aún así, el ejemplar FCME 6913 es potencial de ser considerado como *C. ocior* ssp. *ocior* (tabla 5).

De igual manera se presentan otros caracteres que son difíciles de trabajar sistemáticamente como el color de las láminas, el cual es considerado actualmente como un carácter polimórfico. Se puede presentar toda una gama de colores que van desde el

blanco hasta el amarillo pálido. La coloración amarillenta de las láminas se presenta en *C. oclor* ssp. *ocio*, *Collybia alpina* ssp. *subsulphurea* (Peck) Vilgalis y *C. earleae*, pero la combinación con otros caracteres no permiten reconocer a estas especies en los especímenes estudiados.

Un carácter que muestra bastante inconsistencia es la forma de queilocistidios. Aun cuando se reportan dos estados fundamentales para *C. dryophila* en sentido estricto: globosos o globosos y filamentosos (Vilgalys, 1991), en los especímenes revisados se presentan hasta 4 diferentes tipos de queilocistidios (filamentosos, cilíndricos, clavados y globosos) los cuales se distribuyen de manera heterogénea dentro de los ejemplares, es decir, dentro del mismo espécimen se puede presentar cualquier combinación de formas de los cistidios (figura 6).

Tomando como criterio los cuatro grupos más inclusivos segregados en el análisis fenético no permiten establecer una relación con otros atributos como son la morfología, vegetación y sustrato. Con respecto al sitio de recolecta, los especímenes recolectados en una misma localidad pueden quedar incluidos dentro de un mismo grupo químico o en grupos separados (tabla 5).

#### V.IV Relaciones interespecíficas

Los perfiles cromatográficos señalan la presencia de 16 manchas, de las cuales 6 manchas (A, J, K, N, O y Q) son comunes en todas las especies consideradas en este trabajo (tabla 7, figura 7).

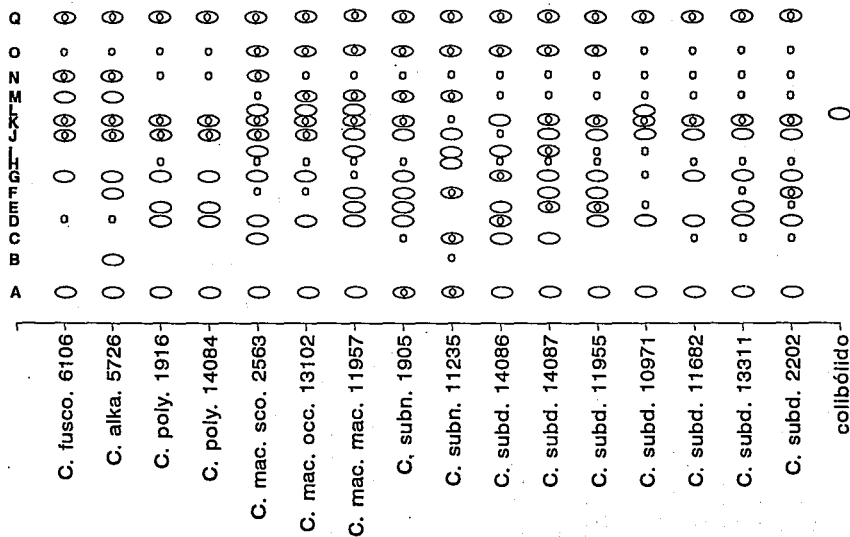
La similitud química determinada por métodos fenéticos permite segregar dos grandes grupos más inclusivos; uno constituido por la mayor parte de los especímenes de *C. dryophila* y con 3 especímenes de *C. butyracea*, y el otro formado por el resto de los especímenes, en donde se puede reconocer un grupo constituido por varios especímenes de *C. butyracea*. En relación con las especies restantes es poco lo que se puede discernir; el análisis fenético no permite reconocer similitudes químicas entre los especímenes pertenecientes a la misma especie; de hecho no se logra tampoco correlacionar a las especies que pertenecen a la misma sección o incluso a nivel de subgéneros (figura 8).

Tabla 7. Rf de las manchas observadas en los especímenes estudiados pertenecientes a varias especies del género *Collybia*. Para estandarizar los valores se multiplicó por un factor de 10 para trabajar con unidades y dos decimales.

# Ejemplar (FCME)	Mancha															
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	Q
<i>C. ruscopurpurea</i> 6106	1,10			3,15			4,11			5,34	5,68		6,16	6,71	7,81	8,84
<i>C. aikaiwrens</i> 5726	1,08	1,89		3,11		3,78	4,46			5,54	5,81		6,35	6,89	7,97	8,78
<i>C. polyphylla</i> 1916	1,07			3,20	3,73		4,53	4,93		5,60	5,93			6,80	7,47	8,67
14084	1,11			3,42	4,08		4,74			5,66	6,05			6,84	7,76	8,97
<i>C. maculata</i> var. <i>scorzoneræ</i> 2533	0,83		2,64	3,06		3,81	3,92	4,31	5,00	5,31	5,69	6,11	6,67	6,94	7,76	8,54
<i>C. maculata</i> var. <i>boodensis</i> 13102	0,83			2,78		3,89	4,17	4,58		5,14	5,89	6,03	6,46	6,94	7,57	8,61
<i>C. maculata</i> var. <i>maculata</i> 11957	0,81			2,84	3,38	3,92	4,32	4,88	5,00	5,41	5,81	5,95	6,35	7,03	7,57	8,45
<i>C. subnuda</i> 1805	1,11		2,36	2,78	3,06	3,75	4,17	4,44		5,14	5,50		6,45	6,94	7,57	8,75
11235	0,90	1,81	2,36			3,61			4,44	4,88	5,47	5,56	6,25	7,00	7,50	8,61
<i>C. subdryophila</i> 14086	0,81		2,43	2,84	3,38		3,99	4,59	4,86	5,27	5,81		6,22	6,89	7,30	8,51
14087	0,82		2,47		3,01	3,56	3,84	4,25	4,79	5,21	5,75		6,44	6,99	7,53	8,63
11955	0,82			2,60	3,08	3,70	3,97	4,25	4,79	5,21	5,82		6,44	7,12	7,87	8,63
10971	0,81			2,70	3,11		4,05		4,73	5,14	5,54	6,08	6,35	7,03	7,70	8,58
11682	1,00		2,43	3,00			4,31	4,86		5,71	6,07		6,71	7,43	8,14	9,00
13311	1,11		2,36	3,06	3,61	3,89	4,44	4,86		5,56	5,90		6,67	7,36	7,92	8,82
2202	0,97		2,22	2,92	3,06	3,68	4,17	4,72		5,42	5,90		6,67	7,36	8,06	8,96
<i>Collybia</i>																5,92

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
Mínimo	0,61	1,81	2,22	2,60	3,01	3,56	3,84	4,25	4,73	5,14	5,50	5,95	6,16	6,71	7,30	8,45
Promedio	0,95	1,85	2,41	2,96	3,35	3,74	4,21	4,59	4,86	5,38	5,77	6,04	6,44	7,02	7,71	8,68
Máximo	1,11	1,89	2,64	3,42	4,08	3,92	4,74	4,93	5,00	5,71	6,07	5,11	6,71	7,43	8,14	9,00
N	16	2	8	14	10	10	15	12	7	16	16	4	14	16	16	16
Desv. Estándar	0,13	0,04	0,11	0,21	0,34	0,12	0,24	0,24	0,10	0,19	0,17	0,06	0,17	0,20	0,22	0,15
Varianza	0,02	0,00	0,01	0,05	0,13	0,02	0,06	0,06	0,01	0,04	0,03	0,01	0,03	0,04	0,05	0,03

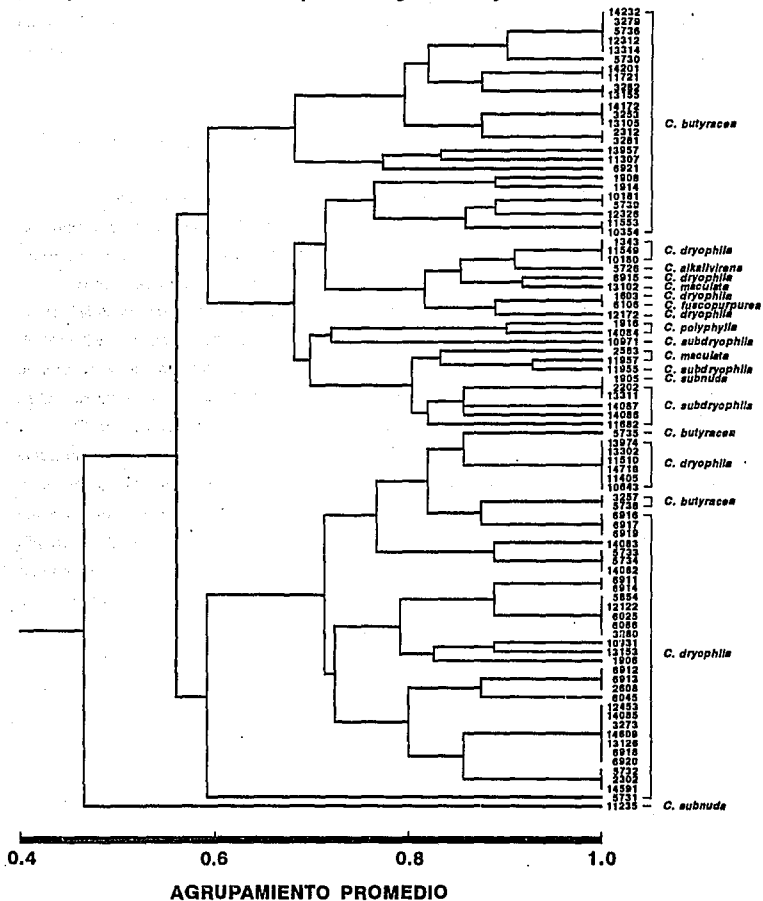
Figura 7 Perfil cromatográfico de los especímenes estudiados pertenecientes a varias especies del género *Collybia*. Las letras indican un valor promedio de Rf (ver tabla 7).



### EJEMPLAR DE HERBARIO

○ señala las manchas evidenciadas con luz U.V.; ○ indica las manchas reveladas con sulfato cérico, y ⊙ representa a las manchas evidenciadas tanto con luz U.V. como reveladas con sulfato cérico.

Fig. 8. Fenograma mostrando las relaciones de similitud química entre los especímenes de diferentes especies del género *Collybia*





Morfológicamente las especies del género *Collybia* se separan en subgéneros por la reacción microquímica de las esporas con Melzer, y en secciones por las características del pileipellis, sin embargo no se logran corroborar dichas separaciones con los datos cromatográficos.

## V.V Relaciones intergenéricas

La revisión de los perfiles cromatográficos de géneros afines a *Collybia* permite determinar la presencia de 15 manchas, 8 de las cuales (E, H, I, K, N, Q) son constantes en todos los especímenes (tabla 8, figura 9).

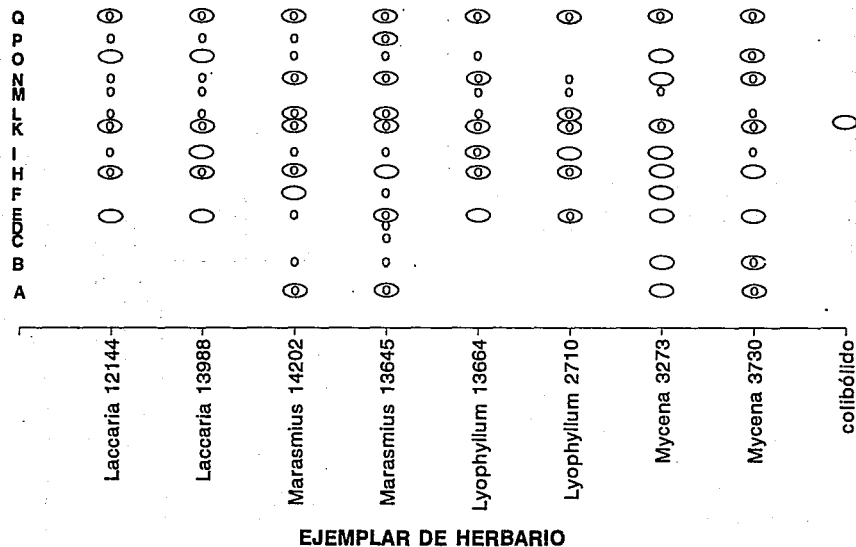
Todas las manchas observadas en los perfiles cromatográficos presentan una cierta distribución dentro de los especímenes estudiados. Un detalle interesante es que de las 16 manchas identificadas solo la denotada con la letra P no se presenta en el género *Collybia*. También es notable que la diferencia entre *C. butyracea* y *C. dryophila* es la presencia o ausencia de 4 manchas denotadas con las letras A, B, E y F (tabla 9).

El análisis fenético de los valores de  $R_f$  permite reconocer al género *Collybia* como un grupo en donde quedan incluidos casi todos los especímenes de las especies estudiadas, a excepción de un ejemplar (*C. subnuda* FCME 11235) el cual se agrupa con los especímenes pertenecientes a otros géneros, en particular a *Marasmius* y *Mycena* (figura 10). Este ejemplar de igual manera se segrega de todos los grupos posibles que se pueden formar en el análisis de la similitud química entre las especies (ver figura 8). Un detalle importante para *C. subnuda* es que varios autores la han considerado como miembro del género *Marasmius* por lo que su posición taxonómica aún permanece incierta. Posiblemente se trate de una especie que forma un enlace natural entre *Collybia* y *Marasmius*.

Tabla 8. Rf de las manchas observadas en los especímenes estudiados pertenecientes a géneros afines a *Collybia*. Para estandarizar los valores se multiplicó por un factor de 10 para trabajar con unidades y dos decimales.

# Ejemplar (FCME)	Mancha														
	A	B	C	D	E	F	H	I	K	L	M	N	O	P	Q
<i>LACCARIA</i> 12144 13988					3,24		4,32	5,27	5,74	6,18	6,76	7,30	7,84	8,11	9,05
<i>MARASMIUS</i> 14202 13645	1,18	1,71			3,95	3,82	4,74	5,13	5,72	6,12		6,97	7,63	8,18	8,86
<i>LYOPHYLLUM</i> 13884 2710			2,57	2,97	3,78	4,19	4,85	5,27	6,01	6,42		6,82	7,03	7,70	8,75
<i>MYCENA</i> 3273 3730	0,97	1,81			2,92	3,61	4,31	4,86	5,83		6,81	7,08	7,84		8,89
<i>Collybia</i>	0,99	1,97			3,08		4,51	4,93	5,92	6,20		7,25	8,03		9,15
	A	B	C	D	E	F	H	I	K	L	M	N	O	P	Q
Mínimo	0,97	1,71	2,57	2,97	2,84	3,61	4,27	4,80	5,40	5,13	6,62	6,97	7,63	8,11	8,78
Promedio	1,07	1,88	2,57	2,97	3,22	3,87	4,48	5,04	5,80	6,15	6,80	7,17	7,83	8,32	8,98
Máximo	1,18	2,03	2,57	2,97	3,78	4,19	4,85	5,27	6,01	6,42	7,03	7,43	8,03	8,51	9,15
N	4	4	1	1	8	3	8	8	6	7	5	8	7	4	8
Desv. Std.	0,11	0,15	0,00	0,00	0,34	0,29	0,21	0,18	0,19	0,15	0,15	0,16	0,17	0,22	0,15
Varianza	0,01	0,02	0,00	0,00	0,11	0,09	0,05	0,03	0,04	0,02	0,02	0,02	0,03	0,05	0,02

Figura 9. Perfil cromatográfico de los especímenes estudiados pertenecientes a varios géneros afines a *Collybia*. Las letras indican un valor promedio de Rf (ver tabla 8).



○ señala las manchas evidenciadas con luz U.V.; ○ indica las manchas revelados con sulfato cérico, y ○ representa a las manchas evidenciadas tanto con luz U.V. como reveladas con sulfato cérico.

Fig. 10. Fenograma mostrando las relaciones de similitud química entre algunas géneros afines a *Collybia*.

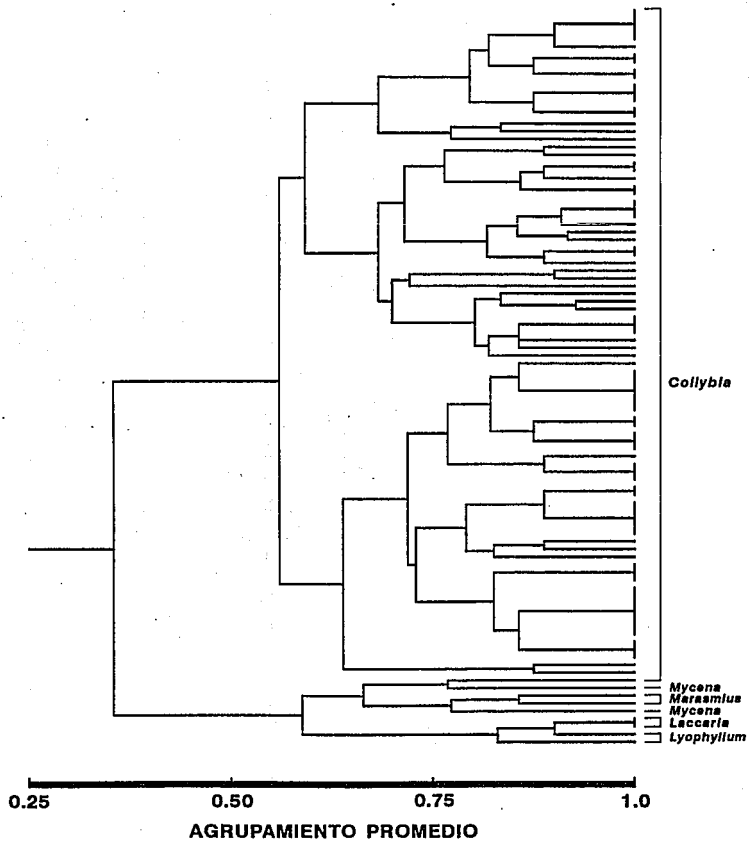


Tabla 9. Comparación de los valores de  $r_f$  determinados en cada una de las manchas observadas en diferentes rangos taxonómicos. Para estandarizar los valores se multiplicó por un factor de 10 para trabajar con unidades y dos decimales.

Mancha

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
<i>Colybia</i> spp.	0,95	1,85	2,41	2,96	3,35	3,74	4,21	4,59	4,86	5,38	5,77	6,04	6,44	7,02	7,71		8,68
<i>C. butyracea</i>				2,72	3,41		4,12	4,68		5,44	5,81		6,66	7,02	7,73		8,66
<i>C. dryophila</i>	0,89	1,74		2,79		3,59	4,32	4,71		5,22	5,69		6,61	7,24	7,77		8,66
Géneros afines	1,07	1,88	2,57	2,97	3,22	3,87		4,48	5,04		5,81	6,15	6,79	7,17	7,83	8,32	8,98

## VI. DISCUSIÓN

Los grupos de especímenes reconocidos por su similitud química dentro de *C. butyracea* y *C. dryophila* se consideran como "clases" los cuales son reconocidos por una serie de características que las definen, en este caso los perfiles cromatográficos; sin embargo, estos grupos no pueden ser categorizados dentro de un esquema taxonómico donde impera la morfología, además de que no existe correlación entre los criterios químicos y los criterios morfológicos. Aún así, los grupos químicos formados pueden ser considerados como hipótesis de semejanza en estudios posteriores si se toma en cuenta que, puede haber diferenciación morfológica sin que haya diferenciación química o viceversa.

Se puede decir que es difícil que los perfiles cromatográficos, al menos en estas especies, puedan segregar grupos infraespecíficos reconocidos taxonómicamente ya que estas unidades son las que presentan mayor variación, a juzgar por los resultados obtenidos.

Una de las limitantes para aplicar los criterios químicos en la taxonomía está dada por el manejo del concepto de especie morfológica. Clásicamente se han reconocido y delimitado a las especies con base en la combinación de ciertos caracteres morfológicos, por lo cual se refieren como morfoespecies. De igual manera, el manejo de cualquier otro concepto de especie (biológica, filogenética, química, ecológica, entre otros) permite reconocer grupos que comparten ciertas características; sin embargo el problema resurge cuando se requieren categorizarlos. En este punto la formación de grupos basados en criterios químicos, biológicos, morfológicos, etc. pueden corresponder a categorías taxonómicas diferentes, por ejemplo, un grupo reconocido por sus características reproductivas puede incluir a varios grupos morfológicos con un diferente rango taxonómico.

Tal es el caso del complejo *C. dryophila* en donde los aspectos reproductivos permiten segregar subespecies, mientras que algunas de estas subespecies pueden ser segregadas en variedades considerando los caracteres morfológicos.

Con base en el protocolo propuesto por Kohn (1992) y en los cuestionamientos planteados en los objetivos de este trabajo, los resultados aquí obtenidos permiten determinar en términos generales la potencialidad de usar los datos químicos a niveles específicos y supraespecíficos, siempre y cuando los tamaños de las muestras de especímenes sean representativos, de tal manera que puedan ser comparables entre sí, además de estudiar con más detalle los perfiles cromatográficos, como por ejemplo la identificación de algunos compuestos que permitan corroborar dicha aseveración.

## VII. CONCLUSIÓN

El presente trabajo puede ser considerado como prospectivo y a este respecto es necesario mencionar que los resultados obtenidos sólo reflejan parcialmente la potencialidad del uso de los caracteres químicos y morfológicos en la taxonomía.

En relación al agrupamiento de los perfiles cromatográficos por métodos fenéticos se puede decir que la elaboración de un dendrograma de agrupamiento promedio es suficiente criterio para establecer límites de separación, sin embargo la taxonomía fenética no solo consta de la elaboración de dicho dendrograma, sino que también implica el desarrollo de otras metodologías como es el análisis de componentes principales, entre otras.

De igual manera los análisis estadísticos de los perfiles cromatográficos pueden arrojar datos interesantes, por lo que se recomiendan análisis específicos (análisis no variado, multivariado y de varianza) utilizando los datos aquí presentados. Estos mismos análisis pueden ser recomendados para analizar los datos obtenidos en la medición de las esporas.

Como conclusión final se puede decir que se cumplió con el objetivo principal de contribuir al conocimiento del género *Collybia* y valorar algunos criterios de separación entre las especies.



### VIII. LITERATURA CITADA

- Aguilar, I. 1967. Extraction and identification of the sterol in *Collybia albuminosa*. *Chem. Quart.* 8(3-4): 61-72.
- Andersen, B. 1994. Taxonomy on Cereal-Borne *Alternaria* based on morphology, metabolite profiles and physiognomy. Fifth International Mycological Congress. August, 1994. Vancouver. Abstracts.
- Antonín, V. & M.E. Noordeloos. 1993. A monograph of *Marasmius*, *Collybia* and related genera in Europa. Part 1: *Marasmius*, *Setulipes* and *Marasmiellus*. Libri Botanici Vol. 8. IHW-Verlag. Eching.
- Aroche, R.M., J. Cifuentes, F. Lorea, P. Fuentes, J. Bonavides, H. Galicia, E. Menendez, O. Aguilar & V. Valenzuela. 1984. Macromicetos tóxicos y comestibles de una región comunal del Valle de México. I. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 19: 291-318.
- Bessette, A. & W.J. Sundberg. 1987. Mushrooms. A Quick Reference Guide to Mushrooms of North America. Mc Millan Field Guides, Collier books, New York.
- Bon, M. 1987. The Mushrooms and Toadstools of Britain and North Western Europe. Hodder and Stoughton, Domino books Ltd, New Jersey:
- Breitenbach, J. & F. Kränzlin. 1991. Fungi of Switzerland. Vol. 3. Mykologia Lucerne. Lucerne.
- Bui, A.M., A. Cavé, M.M. Janot, J. Pareilo & P. Potier. 1974. Isolement et analyse structurale du Collybolide, nouveau sesquiterpene extrait de *Collybia maculata* Alb. et Sch.: Fr. (Basidiomycetes). *Tetrahedron* 30: 1327-1336.
- Cetto, B. 1979. Guía de los hongos de Europa. I, II, III. Omega S. A., Barcelona.
- Cifuentes, J., M. Villegas & L. Pérez-Ramírez, 1986. Hongos. In: A. Lot & F. Chiang (compiladores), Manual de Herbario. Cons. Nac. Fl. Méx., A. C. México, D.F..
- Coker, W.C. & H.C. Beardslee. 1921. The Collybias of North Carolina. *J. Ellsha Mitchell Sci. Soc.* 37: 83-107.
- Cracraft, J. 1983. The significance of phylogenetic classifications for systematic and evolutionary biology. In: Felsenstein, J. (ed.). Numerical Taxonomy. Springer-Verlag, Berlin.

- Dennis, R. W. G. 1970. *Fungus Flora of Venezuela and Adjacent Countries*. Kew Bull. Add. Ser. III, Cramer, Lehre.
- Domínguez, X.A. 1988. *Metodos de Investigación Fitoquímica*. Limusa. México, D.F..
- Domínguez, X.A., G. Guzmán, L. Dávalos & E. Guajardo. 1981. Estudio químico preliminar de 8 hongos macroscópicos. *Rev. Latinoam. Quím.* 12(1): 48-49.
- Estrada-Torres, A. & R.M. Aroche. 1987. Acervo etnomicológico en tres localidades del municipio de Acambay, Edo. de Méx. *Rev. Mex. Mic.* 3: 109-131.
- Fogedal, M. & T. Norberg. 1986. Deoxycollybolidol, a sesquiterpene from *Collybia peronata*. *Phytochemistry* 25(11): 2661-2663.
- Guzmán-Dávalos, L. & G. Guzmán. 1979. Estudio ecológico comparativo entre los hongos (macromicetos) de los bosques tropicales y los de coníferas del sureste de México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 13: 89-126.
- Guzmán, G. 1980. Identificación de los hongos comestibles, venenosos y alucinantes. Limusa. México, D.F..
- Guzmán, G. & L. Villareal. 1984. Estudio sobre los hongos, líquenes y mixomicetos del Cofre del Perote, Veracruz. I. Introducción a la micoflora de la región. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 19: 107-124.
- Guzmán, G., V.M. Bandala-Muñoz & L. Montoya-Bello. 1992. Noteworthy species of *Collybia* from Mexico and a discussion of the known mexican species. *Mycotaxon* 44: 391-407.
- Halling, R.E. 1981. Notes in *Collybia*. II. Additional taxa that are green in alkaline solution. *Mycologia* 73: 634-642.
- Halling, R.E. 1983. *The Genus Collybia in the Northeastern United States and Adjacent Canada*. Mycol. Mem. (8). Cramer. Braunschweig.
- Halling, R.E. 1990. *Collybia fuscopurpurea* in the Americas. *Mycol. Res.* 94(5): 671-674.
- Hawksworth, D.C., B.C. Sutton & G.C. Ainsworth, 1983. *Dictionary of the Fungi*. Commonwealth Agricultural Bureaux. London.
- Hesler, L.R. 1957. Notes on southeastern Agaricales I. *J. Tennessee Acad. Sci.* 32: 198-207.
- Higham, C.A., E.R.H. Jones, J.W. Keeping & V. Tjaller. 1974. Natural acetilenes XLY, Polyacetilenes from cultures of the fungus *Collybia peronata*. *J. Chem. Soc. Pertin. Trans.* 1(16): 1991-1994.

- Huerta, F. P. & S. Madero. 1992. **Curso básico de cromatografía en capa fina I.** Merck México, S. A. México, D.F..
- Kohn, L.M. 1992. Developing new characters for fungal systematics: An experimental approach for determining the rank of resolution. *Mycologia* **84**(2): 139-153.
- Kuyper, T.W. (1988). **Specific and infraspecific delimitation.** In: Bas C., T.H. Kuyper, M.E. Noordeloos & E.C. Vellinga (Ed.). *Flora Agaricina Neerlandica*. Balkema. Rotterdam.
- Largent, D. & D. Johnson. 1977. **How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic Features.** Mad River Press. Eureka.
- Largent, D. & H.D. Thiers. 1977. **How to Identify Mushrooms to Genus II: Field identification of Genera.** Mad River Press. Eureka.
- Largent, D., D. Johnson & R. Watling. 1979. **How to Identify Mushrooms to Genus III: Microscopic Features.** Mad River Press. Eureka.
- Largent, D. & T. Baroni. 1988. **How to Identify Mushrooms to Genus IV: Modern Genera.** Mad River Press. Eureka.
- Lennox, J.W. 1979. Collybioid Genera in the Pacific Northwest. *Mycotaxon* **9**: 117-231.
- Leonhardt, K., T. Anke, E. Hillen-Maske and W. Steglich. 1987. 6-Methylpurine, 6-methyl-9-beta-D-ribofuranosylpurine and 6-hydroxymethyl-9-beta-D-ribofuranosylpurine as antiviral metabolites of *Collybia maculata* (Basidiomycetes). *Z. Naturforsch., C. Biosci.* **42**(4): 420-424.
- Lincoff, G.H. 1981. **The Audubon Society Field Guide to North American Mushrooms.** Alfred A. Knopf. New York.
- Miller, O.K. 1980. **Mushrooms of North America.** E. P. Dutton. New York.
- Moser, M. 1978. **Keys to Agaric and Boletl.** Roger Phillips. Tonbridge.
- Murrill, W.A. 1916. Agaricales. *North American Flora* **9**(5): 297-374.
- Ogata, N. & E. De Luna, 1995. **Implicaciones ontológicas y epistemológicas del uso de clasificaciones en estudios ecológicos de biodiversidad.** In: Halffter, La diversidad biológica de Iberoamérica. Vol. II. CYTED-D. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo, Inst. de Ecología, Sedesol. México, D.F..
- Parmasto, E. & I. Parmasto. 1987. **Variation of basidiospores in the Hymenomyces and its significance to their taxonomy.** Cramer. Berlin.

- Pegler, D.N. 1977. **A Preliminary Agaric Flora of East Africa**. Kew Bull. Add. Ser. VI, Her Majesty's Stat. Off. London.
- Pegler, D.N. 1983. **Agaric Flora of the Lesser Antilles**. Kew Bull. Add. Ser. IX, Her Majesty's Stat. Off. London.
- Pegler, D. N. 1986. **Agaric Flora of Sry Lanka**. Kew Bull. Add. Ser. XII, Her Majesty's Stat. Off. London.
- Pemberton, R.T. 1994. Agglutinins (lectins) from some British higher fungi. *Mycol. Res.* 98(3): 277-290.
- Phillips, R. 1983. **Mushrooms and Other Fungi of Great Britain and Europe**. Pan Books. London.
- Phillips, R. 1991. **Mushrooms of North America**. Little, Brown and Company. Boston.
- Radford, A.E. 1986. **Fundamentals of Plant Systematics**. Harper & Row. New York.
- Singer, R. 1986. **The Agaricales in Modern Taxonomy**. Koeltz Scientific Books. Berlin.
- Smith, A.H., H.V. Smith & N.S. Weber. 1979. **How to Know the Gilled Mushrooms**. Wm. C. Brown Company Publishers, Dubuque.
- Stadelmann, R.J., E. Müller & C.H. Eugster. 1976. Muscarine and related substances 38. The distribution of stereoisomeric muscarines within order Agaricales. *Helv. Chim. Acta* 59(7): 2432-2436.
- Toledo, V.M. 1988. La diversidad biológica de México. *Ciencia y Desarrollo*. 81(24): 17-30.
- Tyler, V.E. Jr., R.G. Benedict & D.E Stuntz. 1965. Chemotaxonomic Significance of Urea in the Higher Fungi. *Lloydia* 28 (4): 342-353.
- Vilgalys, R. 1991. Speciation and species concepts in the *Collybia dryophila* complex. *Mycologia* 83(6): 758-773.
- Vilgalys, R. & O.K. Miller, Jr. 1983. Biological species in the *Collybia dryophila* group in North America. *Mycologia* 75: 707-722.
- Vilgalys, R. & O.K. Miller, Jr. 1987. Morphological studies on the *Collybia dryophila* group in Europe. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 89: 461-472.
- Villarruel-Ordaz, J.L. 1992. **Contribución al conocimiento del género *Collybia* (*Tricholomataceae*) en el centro y sur de México**. Tesis de Licenciatura, Biología. Facultad de Ciencias, UNAM.

Villaruel-Ordaz, J.L., L. Pérez-Ramírez & J. Cifuentes. 1993. Nuevos registros del género *Collybia* (*Tricholomataceae*) y descripción de especies poco estudiadas de México. *Rev. Mex. Mic.* 9: 139-164.

World Conservation Monitoring Centre. 1992. **Global Biodiversity: Status of the Earth's living resources**. Chapman & Hall, London.