

00387



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DEL GÉNERO  
*RAMARIOPSIS SENSU LATO* (FUNGI)

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA

**RICARDO GARCÍA SANDOVAL**

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOAQUÍN CIFUENTES BLANCO

MEXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2005



0350087



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo reespecial.  
NOMBRE: Ricardo García Sandoval  
FECHA: 09-11-2005  
FIRMA: [Firma]

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 29 de agosto del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de DOCTOR EN CIENCIAS del alumno GARCÍA SANDOVAL RICARDO con número de cuenta **88240893**, con la tesis titulada: "Análisis filogenético del género *Ramariopsis sensu lato* (Fungi)", bajo la dirección del Dr. Joaquín Cifuentes Blanco.

Presidente:	Dr. Juan José Morrone Lupi
Vocal:	Dra. Virginia León Regagnon
Vocal:	Dra. Helga Ochoterena Booth
Vocal:	Dr. Efraín de Luna García
Secretario:	Dr. Joaquín Cifuentes Blanco
Suplente:	Dra. Margarita Hermelinda Villegas Rios
Suplente:	Dr. Arturo Estrada Torres

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 20 de octubre del 2005.

  
Dr. Juan Núñez Farfán  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

## Reconocimientos

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo económico proporcionado por:

Programa de Becas Nacionales para Estudios de Posgrado-DGEP

Proyectos CONACyT

29011-N

34313-V

Proyectos DGAPA

IN 217198

IN 206901

IN 209605-3

Así mismo deseo expresar mi más sincero agradecimiento a los miembros del jurado:

Dr. Juan José Morrone Lupi

Dra. Virginia León Règagnon

Dra. Helga Ochoterena Booth

Dr. Efraín de Luna García

Dr. Joaquín Cifuentes Blanco

Dra. Margarita Hermelinda Villegas Rios

Dr. Arturo Estrada Torres

A la memoria de:

María Celia Sandoval Flores 1944-2003

Iván García Sandoval 1964-2005

A la presencia de:

Iván García Solís

Beatriz García Sandoval

## Agradecimientos

Violeta por todo lo que ya sabes.

Joaquín por ser un excelente maestro, tutor y sobre todo un amigo fetén.

Margarita por tanta ayuda, aliento, confianza y amistad.

Arturo por el apoyo y amistad incondicionales a lo largo tantos años.

Juan José por sacarme de tantas dudas con gran paciencia y amabilidad.

Efraín por aceptarme como su alumno y por toda la paciencia y atenciones.

Helga por ser para mí una excelente profesora, ejemplo de sinceridad y entereza.

Virginia por su amistad y entusiasmo contagioso.

Mis amigos de toda la vida: Pablo, Agustín, Floria y Patricia.

Compañeros y amigos, que siempre me alentaron y apoyaron: Lilia, Julian y Claudia, José Luis, Layhi, Mariana, América, Sigfrido, Lupita, Edmundo y Felipe.

Muchas otras personas han contribuido de una u otra manera para que este trabajo culminara, aunque no pueda nombrarlas a todas en este momento les agradezco profundamente todo lo que hicieron por mí.

*A man of genius makes no mistakes.  
His errors are volitional and are the  
portals to discovery.*

Stephen Dedalus

## Resumen

En el presente trabajo se investigan las relaciones filogenéticas de *Ramariopsis sensu lato* con base en un análisis de máxima parsimonia. A partir del estudio comparado de *Ramariopsis* y géneros afines se construyó una matriz de treinta y seis caracteres morfológicos, citológicos y bioquímicos codificados para veintiseis taxones. La selección de taxones para el grupo externo fue sustentada en un protocolo de muestreo diseñado específicamente para esta investigación, el cual incluyó una prospección filogenética para la familia Clavariaceae. Los resultados obtenidos muestran un grupo monofilético congruente con la delimitación de Corner (1950) para *Ramariopsis* y estrechamente vinculado con *Scytinopogon*. Los presentes resultados también muestran un grupo monofilético congruente con la delimitación de Petersen (1978) para *Clavaria*. Los caracteres empleados tradicionalmente en la sistemática del grupo se discuten con referencia a la filogenia obtenida.

Se incluye una discusión sobre la distinción entre grupo externo operativo y grupos externos taxonómicos, argumentándose a favor de la diversidad morfológica como un criterio eficiente para fundamentar el muestreo de estos grupos.

Se presenta una breve revisión sobre la historia taxonómica de la familia Clavariaceae Chevall., que comprende desde las clasificaciones friesianas del s. XIX hasta el conocimiento que actualmente tenemos de su filogenia.

Así mismo se presentan nuevos registros de *Ramariopsis* y *Scytinopogon* para México, descubiertos durante la presente investigación, discutiéndose el estado actual del conocimiento de estos grupos en el país, caracteres relevantes para su taxonomía y una breve revisión de su historia taxonómica.



## Abstract

In the present study the phylogenetic relationships of *Ramariopsis sensu lato* are investigated performing a maximum parsimony analysis. Based on a comparative study of *Ramariopsis* and allied genera, a matrix of thirty-six characters coded for twenty-six taxa was elaborated. Characters in the matrix include morphological, cytological, and biochemical data obtained from direct observations of herbarium specimens and several mycological references. Taxon sampling for the outgroups was conducted with a protocol modified specially for this project, which included a preliminary phylogenetic survey for the family Clavariaceae. Results show one monophyletic group congruent with the original proposal of Corner (1950) for the genus, and closely related with *Scytinopogon*. Results also show another monophyletic group congruent with the proposal of Petersen (1978) for *Clavaria*. An extensive discussion about relevance of characters traditionally used in clavarioids systematics is also included.

A discussion about the distinction between operative outgroup and taxonomical outgroups is also comprised, arguing in support of morphological diversity as the most proper criterion for taxonomical outgroups sampling.

A brief review of the taxonomical history of Clavariaceae Chevall. is included as well, comprising since first classifications of XIX s. to current knowledge of its phylogeny.

Furthermore, new records discovered in the course of present research for *Ramariopsis* and *Scytinopogon* in Mexico are presented. A brief discussion about the state of mycological knowledge of these taxa in Mexico is included, as well as a discussion about relevant taxonomical characters and a short review of the taxonomical history of *Scytinopogon*.

# Índice

Prólogo .....	<i>i</i>
1.- Introducción .....	1
2.- Historia taxonómica y conocimiento actual de Clavariaceae Chevall. ....	4
3.- La diversidad morfológica como criterio para selección de grupos externos taxonómicos: Un ejemplo en <i>Ramariopsis sensu lato</i> (Clavariaceae: Fungi) .....	16
4.- Phylogenetic relationships among <i>Ramariopsis</i> and allied taxa .....	39
5.- New records of <i>Ramariopsis</i> from Mexico .....	89
6.- First record of <i>Scytinopogon</i> from Mexico, with notes on its systematics .....	100
7.- Discusión y conclusión .....	109
8.- Referencias generales .....	113

## Prólogo

La sistemática en lo general incluye muy diversas actividades y constituye la ciencia de la biodiversidad por excelencia. Los productos de esta ciencia tienen muy variadas aplicaciones, no solo para la clasificación biológica—materia central de la presente investigación—sino también como marco de referencia obligado para estudios evolutivos, ecológicos, biogeográficos, de la biología del desarrollo y en lo general para cualquier explicación científica de la biodiversidad. Así mismo el grado de desarrollo de esta ciencia—entendido como formalización de la disciplina—ha permitido que sus métodos y productos tengan aplicaciones en diversos campos que parecerían no estar relacionados, como la arqueología o la epidemiología, y es por esto que la sistemática hoy en día, lejos de ser una disciplina meramente descriptiva constituye una de las áreas más robustas de la biología contemporánea.

La clasificación biológica es sin lugar a duda el ámbito de la sistemática que mayor desarrollo ha tenido. La incorporación paradigmática de la inferencia filogenética a la clasificación biológica ha dado el impulso decisivo a un área anteriormente considerada más un arte que una ciencia. Hoy en día no se puede concebir una opinión taxonómica científica sin el apoyo de la inferencia filogenética —en por lo menos alguna de sus diversas modalidades— y es de esta manera que el presente estudio pretende brindar un marco científico contemporáneo a una añeja polémica. La historia taxonómica de *Ramariopsis* constituye un claro ejemplo de una disputa pre-filogenética, donde a pesar de existir un profundo conocimiento del taxón no existía un árbitro común aceptado por las partes en contienda; el análisis de la información relevante para la clasificación dependía del criterio de autoridad y no de un método robusto de análisis.

La presente investigación se divide en cinco capítulos centrales, capítulos dos al seis, antecedidos por una introducción y seguidos de una conclusión. El capítulo dos expone una breve revisión de la historia taxonómica de la familia Clavariaceae Chevall.— así como del conocimiento actual que tenemos de la filogenia de los géneros que ha incluido—y sirve como antecedente para el capítulo tres, en donde se desarrolla una argumentación

fundamentalmente teórica sobre la estrategia empleada para el muestreo de los llamados grupos externos taxonómicos —término acuñado durante el presente estudio. Los siguientes capítulos corresponden formalmente a la *litis* de la obra y han sido enviados o publicados en revistas científicas indizadas —ver capítulos para referencia. El capítulo cuatro presenta una filogenia para *Ramariopsis* y taxones aliados, la cual hace uso de los resultados descritos y argumentados en el capítulo previo. Los capítulos cinco y seis corresponden a nuevos registros fúngicos para México, descubiertos en el transcurso del presente trabajo de tesis (*Ramariopsis* y *Scytinopogon*) y en cierta medida, constituyen el aporte de la presente investigación al conocimiento de los Fungi del país.

## 1. Introducción.

Se calcula que existen alrededor de 1.5 millones de especies de hongos en el mundo, de las cuales actualmente se han descrito no más de 120 mil (Hawksworth 2001). Dentro de este taxón megadiverso encontramos una gran variedad de formas, ciclos de vida, patrones fisiológicos y reproductivos (Alexopoulos et al. 1996, Taylor et al. 2004), los cuales están involucrados en una amplia gama de procesos e interacciones biológicas (Hock 2001). En contraste con el grado de conocimiento sobre la biología de estos organismos, nuestro conocimiento sobre sus relaciones filogenéticas todavía es insuficiente.

La importancia de profundizar nuestro conocimiento sobre la filogenia radica en la amplia variedad de campos en los que pueden aplicarse estos conocimientos (Cracraft 2002). Estos van desde aspectos teóricos como la taxonomía de algún grupo (e.g. Estrada-Torres et al. 2005), la evolución de patrones morfológicos (e.g. Hibbett 2004, Liu & Hall 2004), la evolución del genoma (Liberles 2005) o el estudio de patrones coevolutivos (e.g. Currie et al. 2003), hasta aquellos aspectos aplicados como la medicina (e.g. Stringer 1996, Berbee 2001) o la conservación (e.g. Faith et al. 2004), inclusive hoy en día es posible vincular a la epidemiología con la filogenia a través del estudio de la coevolución entre patógenos humanos y sus huéspedes (e.g. Siddall 1997, Charleston y Robertson 2002, Hugot et al. 2003).

A partir de los estudios pioneros a principios de la década de los noventa (Bruns et al. 1991, Swan & Taylor 1993) se registró un rápido avance en el estudio de la filogenia de los hongos, el cual nos ha permitido tener un panorama general de las relaciones de parentesco entre estos organismos (Tehler et al. 2003, Lutzoni et al. 2004, Taylor et al. 2004). A pesar de este vertiginoso desarrollo, todavía existen áreas de la filogenia donde nuestro conocimiento del patrón general de relaciones es poco preciso. Ejemplo de ello son grupos como Zygomycetes y Chytridiomycetes, donde a pesar de contar con estudios generales (Li y Healt 1993, James et al. 2000, Benny et al. 2001, O'Donnell et al. 2001), todavía existen diversas interrogantes. Esta situación persiste aun en grupos aparentemente bien estudiados como los Homobasidiomycetes. En este grupo nuestras

ideas sobre la filogenia ha sufrido diversas modificaciones desde los primeros trabajos a finales de los noventa (cf. Hibbett et al. 1997, Larsson et al. 2004); por lo que a pesar de contar con un esquema general de relaciones, todavía existe un gran número de taxones dentro de este grupo que permanecen poco estudiados.

Una de las familias tradicionales de Homobasidiomycetes cuya sistemática ha resultado compleja es Clavariaceae Chevall. Las primeras clasificaciones para este grupo (Fries 1821) incluían hongos de esporomas clavados y ramificados con himenio anfigeno, sin importar el tipo de espora que presentaban —basidio o ascospora. Posteriormente durante el siglo XX se propusieron diversas delimitaciones para este taxón (e.g. Donk 1933, 1964; Corner 1970; Jülich 1981; Hawksworth et al. 1995; Kirk et al. 2001) —por lo general sin el apoyo de un esquema de relaciones filogenéticas— y en la actualidad han sido escasos y poco fructíferos los esfuerzos por dilucidar las afinidades filogenéticas de esta familia (Boidin et al. 1998, Pine et al. 1999, Kim & Jung 2000).

Dentro de Clavariaceae tradicionalmente se ha incluido a *Ramariopsis* (Donk 1964, Corner 1970, Jülich 1981, Hawksworth et al. 1995). Si bien otras propuestas lo consideran dentro de Gomphaceae (Petersen 1988, Kirk et al. 2001), Villegas et al. (1999) realizaron un análisis filogenético para esta familia y encontraron que este género no pertenece a ella. La historia taxonómica de *Ramariopsis* ha sido polémica casi desde sus inicios a mediados del siglo XX (Corner 1950). Actualmente existen dos delimitaciones propuestas para el género (cf. Corner 1950, 1970; Petersen 1966, 1978), las cuales involucran a su vez a los géneros *Clavaria* y *Clavulinopsis* (Petersen 1978), y no existe hoy en día algún intento por aproximarse a esta polémica aplicando alguna metodología filogenética —cualesquiera sea. La relevancia de esta polémica radica en que en ella están involucrados los géneros que consituyen propiamente el núcleo taxonómico de la familia Clavariaceae —*Ramariopsis*, *Clavaria* y *Clavulinopsis*, únicos taxones comunes a casi todas las delimitaciones modernas de la familia— de esta forma, el aproximarse a esta disputa taxonómica a través de una metodología filogenética implica comenzar a desenmarañar el gran dilema taxonómico que representa Clavariaceae, familia de la cual tenemos un conocimiento insuficiente.

Al abordar la delimitación de *Ramariopsis* desde un punto de vista filogenético, uno de los primeros problemas que enfrentamos es la selección de grupos externos. El objetivo central de la presente investigación es someter a prueba la monofilia putativa de las delimitaciones tradicionales, por lo que una adecuada selección de grupos externos es crucial. Actualmente contamos con un protocolo para realizar esta selección (Nixon & Carpenter 1993) pero, como se argumentará a lo largo del presente trabajo, este protocolo resultó insuficiente debido fundamentalmente a la complejidad en torno a las relaciones dentro de esta familia (Pine et al. 1999). Debido a esto, durante el desarrollo de la presente investigación se implementaron modificaciones y adiciones que incluyeron la diferenciación entre grupo externo operativo y grupos externos taxonómicos, este último término acuñado durante la investigación y derivado en cierta medida de los trabajos de de Pinna (1994), Weston (1994) y Keller (1998).

## 2. Historia taxonómica y conocimiento actual de Clavariaceae Chevall.

### Resumen

Se presenta una breve revisión de la historia taxonómica de la familia Clavariaceae, desde las primeras clasificaciones del s. XIX hasta el conocimiento que se tiene de su filogenia, con énfasis en las propuestas elaboradas durante el s. XX. La familia Clavariaceae en el último siglo incluyó, en sus distintas delimitaciones, hasta treinta géneros, de los cuales trece han sido incluidos en diversos trabajos filogenéticos. Estos trabajos nos indican que Clavariaceae es polifilética bajo todas sus delimitaciones y únicamente los generos *Clavaria* y *Clavulinopsis* conforman un grupo monofilético consistente en todos los análisis que los han incluido.

### Introducción

Los hongos clavarioides en sentido amplio constituyó (e.g. Fries 1821) un conjunto heterogéneo de especies sin relación filogenética entre sí, en el cual se incluyeron todas las especies con esporomas de forma clavada —clavas simples o con una bifurcación apical— o ramificada, independientemente del tipo de esporas que produzcan —e.g. asco o basidiospora. El término clavarioide actualmente se emplea para referirse al conjunto de Homobasidiomycetes con basidiomas erectos en columnas o arbúsculos (Petersen 1988) —también denominados basidiomas columnares (Cléménçon et al. 2004)— de himenio liso, aunque también puede incluir formas pendientes (Corner 1950). El tipo de geotropismo del basidioma marca dos acepciones contemporáneas de hongo clavarioide: Petersen (1988) lo circunscribe a los de geotropismo negativo —basidiomas erectos— refiriendo a los de geotropismo positivo —basidiomas pendiente— como hongos hericioides; en tanto que Corner (1950, 1970) incluye ambos tipos de geotropismo en el término clavarioide. En ambas acepciones hongos clavarioides representa un término descriptivo —dada la evidente heterogeneidad de relaciones filogenéticas. Algunos autores (e.g. Hibbett 2004) han empleado el término en el sentido de un “gremio” —especies con estructuras que experimentan presiones selectivas semejantes (Harvey y Pagel 1991)— con la finalidad de estudiar la evolución de este patrón morfológico. Como señaló Petersen



(1988), es necesario hacer énfasis en la distinción entre clavarioides y Clavariaceae, el primero es un término informal y el segundo un nombre científico — con todas sus implicaciones. El presente trabajo se circunscribe únicamente a la historia taxonómica de Clavariaceae, pero evidentemente ésta se traslapa en múltiples ocasiones con la evolución del término “clavarioide”.

## El siglo XIX, periodo “friesiano” de la clasificación

La primer clasificación de Fries (1821) reconoce al orden de los Clavati, dentro del cual incluye diversos géneros que comprenden tanto especies con ascas (e.g. *Geoglossum*) como especies con basidios (e.g. *Clavaria*), basándose fundamentalmente en la forma del esporoma y la disposición del himenio — liso y recubriendo toda la superficie.

Posteriormente, Fries y Karsten durante el s. XIX emplean rasgos como el color de las esporas a manera de caracteres auxiliares en la clasificación de las *Clavariella* (Petersen 1971).

El nombre Clavariaceae es comúnmente referido a la autoría de Chevallier (1826), quien a su vez se refirió a este taxón como el orden Clavariae, empleando una clasificación equivalente en lo general a la propuesta por Fries (1821) poco antes. El Código de Nomenclatura (Anónimo 2002) indica que los taxones referidos en la categoría de órdenes deben ser considerados con el rango de familia (Art. 18.2) y se les aplican los mismos principios de tipificación y prioridad (Art. 18). Pero a pesar de que Fries publicó previamente su ordo Clavati, el nombre que se emplea hoy en día es Clavariaceae Chevall. Fries refiere su ordo a *Clavaria* Vaill. de 1727, el cual es un nombre ilegítimo (Donk 1954) y el código especifica que los nombres de familias basados en nombres genéricos ilegítimos son a su vez ilegítimos (Art. 18.3), por lo que la combinación aceptable sería Clavariaceae Chevall. tipificado con *Clavaria* Fr., el cual es un nombre conservado (Donk 1933, 1954).

La clasificación de Clavariaceae seguía siendo muy heterogénea, y el primer autor en excluir explícitamente a los Ascomycetes en la clasificación fue Berkeley en su *Outlines of British Fungology* de 1860 (Jülich 1981); trayendo como consecuencia que los géneros de Ascomycetes con ascomas clavarioides fueran segregados. Aunque esto significó un avance en la clasificación, todavía no se incluía un estudio detallado del basidio, por lo que

en el orden Clavarieti de Berkeley seguían incluyéndose géneros morfológicamente muy heterogéneos —e.g. *Clavaria* y *Calocera*.

## El siglo XX

En el siglo XX la primera clasificación relevante es la de Patouillard (1900), la cual representa un avance significativo con respecto a los esquemas predominantes que le precedieron (Donk 1971) —e.g. Persoon (1801), Fries (1821)— y su influencia alcanza las clasificaciones modernas (e.g. Donk 1964). Patouillard incluye un mayor número de especies en la clasificación, pero deja de lado géneros que habían sido delimitados previamente (Petersen 1971). A pesar de ello, su esquema de clasificación se considera como una contribución mayor en tanto empleó diversos caracteres microscópicos y acuñó términos de uso frecuente hoy en día —e.g. Hétérobasidiés y Homobasidiés— (Jülich 1981). Entre los grupos que segregó se encuentran los Aphylophorales —como un grupo distinto de Agaricales y Gasteromycetes— dentro del cual ubicó a la tribu Clavariés, que contenía las series Theléphorés, Clavariés y Physalacries. Más adelante la clasificación siguió perfeccionándose, ejemplo de ello es el trabajo de Coker (1923) quien incluyó dentro de la familia únicamente hongos Homobasidiomycetes, aunque continuó delimitando a la familia únicamente con base en caracteres macroscópicos, considerando a las especies erectas, simples o clavadas, dendroides, o compuestas por múltiples ramas filiformes, de tamaño y consistencia variables. Con base en esta delimitación Coker incluyó cinco géneros (ver tabla 1), todos ellos con homobasidios. Cabe señalar que Coker excluye *Physalacria* a pesar de ser un género considerado de manera informal en Clavariaceae señalando que podría representar un agaricoide primitivo.

Donk (1933) desarrolla una clasificación para los Aphylophoraceae, fuertemente influida por el trabajo de Patouillard (1900), donde reconoce siete subfamilias, entre las que incluye a Clavarioideae, delimitada con base en caracteres macroscópicos —forma del basidioma e himenio anfigeno— pero también considerando estructuras microscópicas —e.g. cistidios, hifas modificadas, características del basido. Esta subfamilia fue dividida en tres tribus, Maseeoleae (= *Sparassis*), Clavarieae y Ramarieae. Esta clasificación representaba algunas ventajas con respecto de las precedentes, en tanto hizo uso de una mayor cantidad de caracteres y los grupos delimitados tendían a ser más coherentes.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	1
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6
Coker 1923	△	△	△	△	⊖ = 20	○	⊖ = 6	△	△	△	△	△	○	△	□	△
Donk 1933	△	△	△	△	⊖ = 20	○	□	⊖ = 7	○	△	△	△	○	△	□	△
Corner 1950	△	□	□	□	□	○	○	○	□	□	□	□	□	△	□	△
Donk 1964	○	○	○	○	○	○	□	○	○	○	⊖ = 1	○	□	△	○	△
Corner 1970	⊖ = 11	□	□	□	□	○	□	○	□	□	□	□	□	△	□	⊖ = 6, 8, *
Jülich 1981	△ ? = 11	□	□	△	□	○	□	○	□	□	□	□	□	□	□	○
Hawksworth et al. 1995	□	□	□	□	□	○	□	○	□	□	⊖ = 1	□	□	○	□	○
Kirk et al. 2001	□	□	□	□	□	○	□	○	□	□	⊖ = 1	⊖ = **	□	○	□	○

Tabla 1. Géneros incluidos en las principales propuestas de clasificación para Clavariaceae en el siglo XX. La delimitación de cada género sigue la propuesta original de cada autor mencionado (ver texto). ○ Género incluido dentro de la familia, ⊖ Género no aceptado por el autor □ Género reconocido pero excluido de la familia △ Género desconocido o no mencionado por el autor. \* *Lentaria* Corner, \*\* *Physalacria* Peck. 1.- *Actiniceps* Berek. & Broome, 2.- *Allantula* Corner, 3.- *Aphelaria* Corner, 4.- *Araecoryne* Corner, 5.- *Ceratellopsis* Konr. & Maubl., 6.- *Clavaria* L: Fr., 7.- *Clavulina* J. Schoet., 8.- *Clavulinopsis* Over., 9.- *Clavariadelphus* Donk, 10.- *Deflexula* Corner, 11.- *Dimorphocystis* Corner, 12.- *Hormomitaria* Corner, 13.- *Lachnocladium* Lév., 14.- *Macrotyphula* R.H. Petersen, 15.- *Mucronella* Fr., 16.- *Multiclavula* R.H. Petersen.

	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3
	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1
Coker 1923	□	△	△	○	□	△	○	△	⊙ = 6	△	△	□	△	△	○
Donk 1933	△	△	△	○	⊙ = 20	△	□	△	○	△	△	○	△	△	○
Corner 1950	□	△	△	□	□	△	□	□	□	○	△	□	□	□	□
Donk 1964	○	○	○	○	○	○	○	○	□	○	△	□	□	○	○
Corner 1970	□	□	□	□	□	□	□	□	□	○	△	□	○	□	□
Jülich 1981	⊙ = 15	□	□	□	□	□	□	□	□	○	△	□	□	□	□
Hawksworth et al. 1995	⊙ = 15	□	○	⊙ = 31	□	□	□	□	□	○	○	□	○	□	□
Kirk et al. 2001	⊙ = 15	□	□	⊙ = 31	□	□	□	□	□	□	○	□	○	□	□

Tabla 1(continuación). Géneros incluidos en las principales propuestas de clasificación para Clavariaceae en el siglo XX. La delimitación de cada género sigue la propuesta original de cada autor mencionado (ver texto). ○ Género incluido dentro de la familia, ⊙ Género no aceptado por el autor □ Género reconocido pero excluido de la familia △ Genero desconocido o no mencionado por el autor. 17.- *Myxomycidium* Mass., 18.- *Parapterulicium* Corner, 19.- *Phaeoaphellaria* Corner, 20.- *Pistillaria* Fr., 21.- *Pistillina* Quéél., 22.- *Pseudotyphula* Corner, 23.- *Pterula* Fr., 24.- *Pterulicium* Corner, 25.- *Ramaria* Fr. ex Bonord., 26.- *Ramariopsis* Corner, 27.- *Setigeroclavula* Petersen, 28.- *Sparassis* Fr., 29.- *Scytinopogon* Singer, 30.- *Tumidapexus* D.A. Crawf., 31.- *Typhula* Fr.

Un ejemplo de ello fue *Clavaria*, que se dividió en tres secciones y un subgénero —*Clavaria* subg. *Ramariopsis*. Pero aún así, Donk no hizo uso de algunos géneros que ya habían sido delimitados y algunos otros fueron puestos en sinonimia —e.g. *Clavulinopsis* es considerado como sinónimo de *Clavulina* en Cantharelloideae trib. Clavulineae.

## La época moderna

Sin lugar a dudas, el trabajo de Corner (1950) marca un hito en la clasificación de los hongos clavarioides. En su monografía, Corner reconoce veintisiete géneros en vez de los once o doce tradicionalmente empleados; entre los géneros reconocidos se encuentra *Ramariopsis*. Corner fundamentó su clasificación principalmente en caracteres microscópicos, como la trama hifal, modificaciones hifales, características del basidio y caracteres esporales, empleando de manera auxiliar caracteres macroscópicos. Uno de los avances sobresalientes en el trabajo de Corner, lo representa el estudio detallado de los patrones morfológicos macroscópicos —tradicionalmente esta familia se delimitaba con base en la presencia de basidiomas clavados o ramificados— describiendo patrones ontogenéticos del basidioma que permiten distinguir varias categorías de basidiomas —e.g. los patrones radial y aplanado en basidiomas ramificados. A pesar del avance que significó su clasificación, Corner elude delimitar familias y agrupa los géneros en series. En la serie-*Clavaria* incluye a *Clavaria*, *Clavulinopsis*, *Ramariopsis* y *Clavulina*, aunque también plantea que dentro de esta serie podrían reconocerse tres sub-series, *Clavaria*, *Clavulina* y *Ramariopsis-Clavulinopsis*, esta última con base en su construcción hifal —no especializada, monomítica, fibulada e inflada.

Donk (1964) presenta una modificación de su clasificación previa (Donk 1933), reconociendo a los Aphyllophorales como un orden, todavía con cierta influencia del esquema general de Patouillard (1900). Dentro de Clavariaceae, Donk reconoce dos subfamilias Pteruloideae y Clavarioideae, la primera de su autoría y la segunda correspondiente con el taxón delimitado por Gray en 1821. Además de las dos subfamilias Donk incluye siete géneros que no clasifica en ninguno de los taxones. En su delimitación Donk reconoce que Clavariaceae en sentido amplio —especies clavadas o ramificadas de himenio anfigeno— es un grupo conveniente (e.g. práctico) pero ostentosamente artificial como había sido argumentado previamente (Donk 1933, Corner 1950). La nueva

propuesta de Donk (1964) se estructura a partir de caracteres macroscópicos tradicionales — clavados o ramificados, geotropismo del basidioma, distribución del himenio— pero emplea abundantes caracteres microscópicos de manera secundaria — trama hifal, fíbulas, modificaciones hifales, características del basido, caracteres esporales y reacciones microquímicas. Esta nueva propuesta constituye una ampliación de la tribu Clavarie (Donk 1933), pero se diferencia en que excluye especies con himenio aplanado no anfígenos —e.g. *Sparassis*— o demasiado divergentes microscópicamente —e.g. *Ramaria*—; así mismo, incluye diversos géneros delimitados por Corner (1950), aunque las subfamilias que propone no corresponden con las series que Corner reconoce ya que "... another modern school of thought prefers a very comprehensive family rather than this splitting up. ..." (Donk 1964 p. 253).

Corner (1970) formaliza la delimitación de familias y circunscribe a Clavariaceae a partir de en la presencia de basidiomas clavados o ramificados, caracteres esporales y la presencia de hifas infladas. Con base en estos caracteres Clavariaceae incluye solamente cuatro géneros que difieren ligeramente de su propuesta original (Corner 1950), pero no considera algunos géneros modernos —e.g. *Multiclavula* Petersen— (ver tabla 1). Corner (1970) señala que la familia podría representar un relicto de un grupo clavarioide ancestral que hubiese originado a los Agaricales.

Jülich (1981) propone una nueva delimitación para Clavariaceae incluyendo géneros clavados o ramificados, con geotropismo positivo o negativo e hifas infladas con septos de constricción conspicuos. Este autor enumera cuatro géneros (ver tabla 1) de manera explícita y a pesar de que incluye entre los caracteres diagnósticos la presencia de geotropismo negativo —basidiomas pendientes—, ninguno de los géneros enlistados exhibe esta característica; Jülich señala además que esta familia tradicionalmente incluía diversos géneros no relacionados (cf. Donk 1964) y que posiblemente su ancestría pueda ubicarse en los Auriculariales. Esta propuesta se asemeja a la de Corner (1970), pero difiere en que *Scytinopogon* se excluye, con base en el patrón de ornamentación de las esporas y la forma y talla de los basidios. Jülich erige la familia Scytinopogonaceae para ubicar a este último taxón e incluir en la clasificación el grado de divergencia que percibe.

No existen trabajos taxonómicos formales posteriores a la clasificación de Jülich (1985) que argumenten una nueva clasificación para Clavariaceae. Las únicas delimitaciones adicionales para la familia son las incluidas en el tradicional *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*, el cual a través de sus últimas ediciones (Hawksworth et al. 1995, Kirk et al. 2001) pretende actualizar la clasificación con base en las propuestas disponibles a la fecha de publicación (ver tabla 1). La clasificación propuesta en la 8a edición (Hawksworth et al. 1995) difiere ligeramente de la propuesta de Corner (1970), pero incluye géneros modernos que en algunos casos Corner excluyó —e.g. *Multiclavula* Petersen— o no habían sido circunscritos —e.g. *Setigeroclavula* Petersen. Para la 9a edición (Kirk et al. 2001) la clasificación de la familia coincide en lo general pero excluye algunos géneros —e.g. *Ramariopsis*— coincidiendo parcialmente con otras propuestas, *Ramariopsis* en Gomphaceae acorde con Petersen (1988) y *Phaeoaphelaria* en Aphelariaceae acorde con Corner (1970).

A lo largo del siglo XX fueron incluidos un total de treinta géneros en las principales clasificaciones para Clavariaceae (ver tabla 1), pero cabe mencionar que existen discrepancias en la delimitación de varios de ellos —e.g. *Pistillaria* y *Pistillina* (Berthier 1976), *Ramariopsis*, *Clavaria* y *Clavulinopsis* (Petersen 1978)— por lo que los taxones listados corresponden únicamente con la propuesta de cada autor, ya que una revisión exhaustiva de la delimitación de cada género comprendido en Clavariaceae a través de su historia va más allá del objetivo de la presente revisión.

## Filogenia y clasificación

Actualmente existen algunos trabajos filogenéticos que han incluido hongos considerados en la familia Clavariaceae, sobresaliendo los de Pine et al. (1999) y Humpert et al. (2001). Otra fuente de información filogenética proviene de los trabajos generales para Homobasidiomycetos; donde sobresalen los trabajos de Hibbett y Thorn (2001), Hibbett y Binder (2002) y recientemente el de Larsson et al. (2004). Con base en estos últimos se ha logrado dilucidar un esquema general de relaciones entre los Homobasidiomycetos. Aunque cada trabajo han generado diferentes hipótesis (cf. Hibbett y Binder 2002, Larsson et al. 2004), existe congruencia en lo general entre los esquemas descubiertos (ver figura 1)

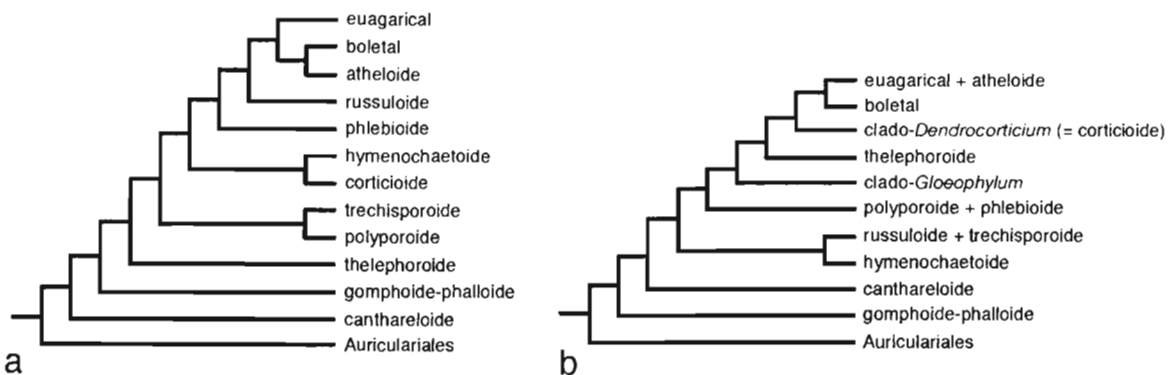


Figura 1. Dos de los principales esquemas de relaciones filogenéticas para los Homobasidiomycetes. a) esquema propuesto por Larsson et al. (2004), corresponde al análisis de la matriz completa con esquema de exclusión de datos “liberal” b) esquema propuesto por Hibbett y Binder (2002), corresponde al análisis de parsimonia igualmente pesada. Los nombres de los clados en el esquema **b** fueron homologados siguiendo la nomenclatura de Larsson et al. (2004) —e.g. el clado ateloide de Larsson et al. (2004) se encuentra incluido en el clado euagarical de Hibbett y Binder (2002) y no recibió un nombre por parte de estos autores—.

en tanto se reconocen básicamente los mismos clados pero las relaciones entre y dentro de estos difieren.

Estos esquemas generales nos brindan un marco de referencia para ubicar a los géneros de Clavariaceae que han sido incluidos en trabajos filogenéticos. De los treinta géneros referidos a esta familia (ver tabla 1), trece han sido incluidos en los principales trabajos filogenéticos disponibles ya sea para hongos clavarioides en particular o para Homobasidiomycetes en general, ubicándose la mayoría de éstos en el clado Euagarical (ver tabla 2).

En general, estos trabajos han confirmado la polifilia de la familia en cualesquiera de sus delimitaciones, algo que parecía evidente desde tiempo atrás (Donk 1933, Corner 1950). De los estudios disponibles, son pocos los que han incluido representantes de *Clavaria sensu stricto* —e.g. *sensu* Corner (1950)— a pesar de que este género es de capital importancia, ya que nomenclaturalmente constituye el género tipo de Clavariaceae y cualquier propuesta que pretenda fundamentar una delimitación filogenética para la familia debería incluirlo. En los estudios donde se han incluido representantes de *Clavaria*, éstos aparecen conformando un grupo monofilético con representantes de *Clavulinopsis* dentro



	Principales clados				
	euagarical	russulal	poliporoide	gomphoide-phaloide	canthareloide
<i>Clavaria</i>	3, 5, 9*			9*	
<i>Clavulina</i>					1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10
<i>Clavulinopsis</i>	3, 5, 7, 9				
<i>Clavariadelphus</i>				1, 2, 3, 4, 5, 9, 10	
<i>Deflexula</i>	1, 8*				
<i>Lachnocladium</i>		5, 11			
<i>Macrotyphula</i>	1, 3, 5, 9				
<i>Multiclavula</i>					1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10
<i>Mucronella</i>	5				
<i>Pterula</i>	3, 8*, 9				
<i>Ramaria</i>				1, 2, 3, 4*, 5, 6, 7, 9, 10	
<i>Sparassis</i>			2, 3, 6, 9*, 10, 12	9*	
<i>Typhula</i>	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10				

Tabla 2. Ubicación de los géneros referidos en Clavariaceae en los clados reconocidos en las principales propuestas filogenéticas para Homobasidiomycetes. Los números en cada celda corresponden a alguno de los trabajos enlistados a continuación: <sup>1</sup> Hibbett y Binder (2002), <sup>2</sup> Hibbett et al. (1997), <sup>3</sup> Hibbett y Thorn (2001), <sup>4</sup> Humpert et al. (2001), <sup>5</sup> Larsson et al. (2004), <sup>6</sup> Lutzoni et al. (2004), <sup>7</sup> Moncalvo et al. (2002), <sup>8</sup> Munkacsí et al. (2004), <sup>9</sup> Pine et al. (1999), <sup>10</sup> Tehler et al. (2003), <sup>11</sup> Larsson y Larsson 2003, <sup>12</sup> Wang et al. (2004). \* Género no monofilético/resultados ambiguos (ver texto).

del clado euagarical (Pine et al. 1999, Larsson et al. 2004), pero en el caso del estudio de Pine et al. (1999) *Clavaria* aparece como un género no monofilético. Este último resultado aparentemente deriva de los efectos del fenómeno de atracción de ramas largas (Pine et al. 1999) e involucra también a *Sparassis*; pero considerando que solamente se han incluido dos especies de *Clavaria* por trabajo en un género que contiene por lo menos veinticinco especies (Corner 1970, Kirk et al. 2001); los resultados son todavía preliminares.

El único estudio filogenético enfocado primordialmente a los hongos clavarioides es el de Pine et al. (1999). Los resultados de ese trabajo indican que existe un núcleo de Clavariaceae —e.g. un grupo monofilético que incluye representantes de *Clavaria sensu stricto*— que coincide parcialmente con la delimitación de Kirk et al. (2001), pero el estudio general para Homobasidiomycetes de Larsson et al. (2004) difiere en el contenido de este núcleo (ver figura 2).

Con base en los análisis disponibles, *Macrotyphula* y *Typhula* conforman un grupo monofilético; pero posiblemente éste no forma parte del núcleo de Clavariaceae debido a que a medida que se incrementa el muestreo (cf. Pine et al 1999 y Larsson et al 2004) *Macrotyphula*+*Typhula* parecen alejarse del núcleo de Clavariaceae (ver Figura 2). Cabe mencionar que la afinidad entre *Clavaria* y *Clavulinopsis* había sido reconocida tiempo atrás (Corner 1950) e inclusive Petersen (1978) transfirió parte de *Clavulinopsis* hacia *Clavaria* subg. *Clavulinopsis*, aunque es necesario un estudio más detallado antes de aceptar este cambio nomenclatural.

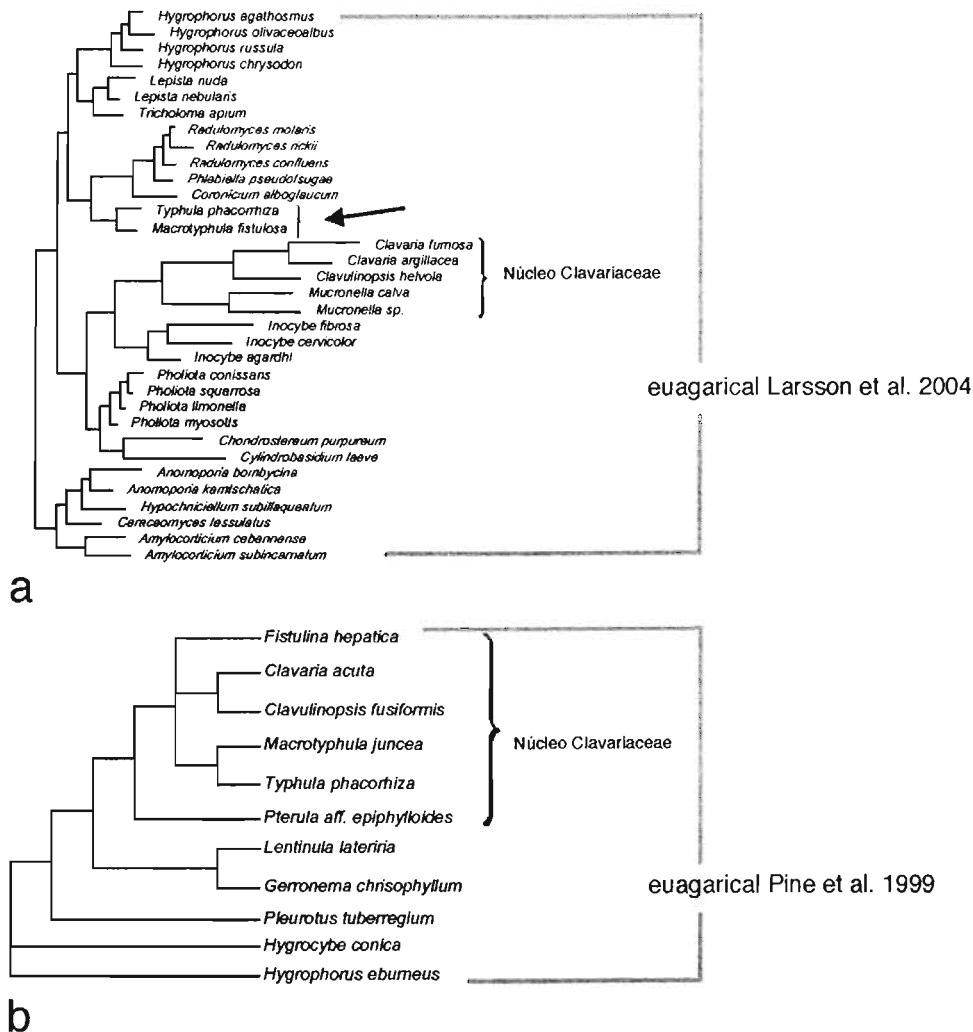


Figura 2. Clado euagarical según dos estudios filogenéticos relevantes para Clavariaceae. a) euagaricales sensu Larsson et al. (2004), corresponde con el análisis de la matriz completa con esquema de exclusión de datos "liberal", b) euagaricales sensu Pine et al. (1999), corresponde con el consenso estricto del análisis de la matriz completa. La flecha en **a** indica la posición del clado *Macrotyphula*+*Typhula*.

La filogenia y clasificación de Clavariace se han demostrado ser los problemas taxonómicos más apasionantes y complicados de la micología contemporánea y constituyen un ejemplo claro del avance de la sistemática como ciencia, en tanto se ha beneficiado de los avances técnicos, metodológicos y conceptuales. Actualmente sabemos que esta familia muy posiblemente se ubique dentro del clado Euagarical, pero no conocemos cuál podría ser su mejor circunscripción.

Cabe mencionar que había sido propuesto con anterioridad un vínculo entre clavarioides y agaricales (Corner 1970), afirmandose que estos dos grupos compartirían un ancestro clavarioide. Actualmente el conocimiento que tenemos de la evolución de la forma del basidioma todavía no es satisfactorio (Hibbett 2004), pero seguramente al abordar filogenéticamente la delimitación de Clavariaceae generaremos un marco de referencia satisfactorio para un estudio formal de la evolución de estos organismos.

### 3. La diversidad morfológica como criterio para selección de grupos externos taxonómicos: Un ejemplo en *Ramariopsis sensu lato* (Clavariaceae: Fungi).

#### Resumen

Los grupos externos han sido empleados en los análisis cladísticos para la polarización de caracteres, ya sea por contrastación o como orientadores y/o enraizadores de cladogramas. Su relevancia para corroborar la monofilia del grupo interno ha sido señalada solamente de manera marginal. El presente trabajo argumenta la importancia de la distinción entre grupos externos taxonómicos y operativo, así como la importancia de un muestreo adecuado. Se argumenta a favor de la diversidad morfológica como criterio para la selección de grupos externos taxonómicos, ejemplificándose a través de la prueba de monofilia de *Ramariopsis sensu lato*.

#### Diferentes funciones del grupo externo

Los grupos externos han sido empleados fundamentalmente para la polarización de caracteres en los análisis filogenéticos, pero su función ha sido interpretada de diferentes maneras, a veces divergentes (ver de Pinna 1996, Keller 1998 y referencias ahí citadas). Keller (1998) reconoció en lo general tres formas de operación de los grupos externos en los análisis cladistas: polarización individual de caracteres (e.g. por contrastación con el grupo interno), enraizamiento de cladogramas y orientación de cladogramas. La polarización individual de caracteres por contrastación con el grupo interno había sido hasta hace algunos años la interpretación más frecuente del empleo de los grupos externos (Crisci & Stuessy 1980, Watrous & Wheeler 1981, Donoghue & Cantino 1984, Maddison et al. 1984, Colless 1985, Wiley et al. 1991, Forey et al. 1992), en tanto que la polarización a través de la orientación y/o enraizamiento de cladogramas (Farris 1982, 1983; Nixon & Carpenter 1993; De Pinna 1994; Struwe et al. 1994; Barriel & Tassy 1998; Kitching et al. 1998; Bryant 2001) constituye una interpretación más reciente y común hoy en día. Esta, así mismo, tiene la ventaja adicional de constituir una aplicación directa de la parsimonia para la inferencia de la polaridad (Farris 1982).

A pesar del aparente consenso en la función del grupo externo, existen todavía diferencias con respecto a la forma precisa en que actúa, interpretándose por un lado como enraizador (Nixon & Carpenter 1993, Donoghue & Cantino 1984, Maddison & Maddison 2001) y por otro como orientador de cladogramas (de Pinna, 1994; Weston 1994). La diferencia entre estas dos posiciones reside en si es posible o no inferir una raíz total para el cladograma (de Pinna 1994, Weston 1994, Keller 1998) (e.g. una raíz tanto para el grupo interno como para el grupo externo).

Aquéllos que argumentan a favor del grupo externo como enraizador sostienen por un lado que la raíz se encuentra en un nodo adicional creado entre el nodo del grupo externo y el nodo del grupo interno —y por lo tanto se requiere de más de un grupo externo para obtener un nodo— (Donoghue & Cantino 1984), y por otro lado se encuentran aquellos autores que afirman que la raíz se encuentra en un nodo adicional localizado en la interfase que conecta a un grupo externo —un único taxon que funciona como grupo externo operativo— y el resto de los taxones (Nixon & Carpenter 1993) —que funcionan como un grupo interno operativo.

En contraste, autores como de Pinna (1994) y Weston (1994) sostienen que es imposible crear un nodo adicional (e.g. una raíz total) debido a que este requeriría de información no contenida en la matriz y por lo tanto, el nodo que en realidad se optimiza para obtener la polaridad es aquél que conecta al grupo externo operativo con el grupo interno operativo, de esta manera la red obtenida tras un análisis de parsimonia es orientada y no enraizada como se había argumentado. Una consecuencia fundamental de esta afirmación es que el empleo del método de grupo externo presupone que el conjunto de los taxones orientados (grupo interno operativo) es monofilético con respecto al grupo externo operativo —el taxón empleado para orientar la red (de Pinna 1994, Keller 1998). Esta posición coincide con la de Nixon y Carpenter (1993), ya que estos autores parten del supuesto que el grupo interno debe ser monofilético y en el caso que se incluya más de un grupo externo y alguno de éstos se “mezcle” con el grupo interno debe tomarse como evidencia de que el grupo interno no es monofilético.

Al respecto de incluir más de un grupo externo, Barriol y Tassy (1998) señalaron tres de los principales beneficios derivados de esta práctica: permite prevenir los efectos nocivos de una mala selección, aumenta el nivel de generalidad del análisis y en permite poner a prueba la monofilia putativa del grupo interno. Adicionalmente, Barriol y Tassy (1998) reconocen de manera intuitiva el drástico efecto que puede tener la selección de un grupo externo en particular para enraizar los cladogramas –selección del grupo externo operativo– en la monofilia putativa de componentes del grupo interno. Por otro lado, Grandcolas et al. (2004) señalaron que un mayor número de grupos externos proporcionan un espectro más amplio de comparación en estudios enfocados al análisis de la evolución de caracteres y por tanto incrementan la severidad de la prueba.

### Grupos externos: grupo externo operativo y grupos externos taxonómicos.

Nixon y Carpenter (1993) señalaron que los taxones incluidos como grupos externos no deben conformar necesariamente un grupo monofilético, más aun “In fact, it is not necessary to have more than one outgroup” (p.423), pero así mismo señalan que un muestreo amplio es preferible bajo la lógica de “Basic sampling theory predicts that denser samples are better...” (p.421), lo cual nos permitiría someter a prueba la monofilia putativa del grupo interno. Estos señalamientos hacen referencia a dos propiedades relevantes de la orientación/enraizamiento de cladogramas por el método del grupo externo: a) un solo taxón es empleado para orientar/enraizar el o los cladogramas —grupo externo operativo *sensu* de Pinna (1994) y Keller (1998)— lo cual presupone la monofilia putativa del grupo interno operativo —el resto de los taxones— por lo menos con respecto al grupo externo (Keller 1998) y b) la inclusión de más de un grupo externo —grupos externos taxonómicos— es la estrategia más eficiente para someter a prueba la monofilia putativa del grupo interno, por lo que un muestreo más amplio de grupos externos taxonómicos —no sólo en cantidad sino fundamentalmente en diversidad— permitirá una prueba más severa de la monofilia putativa del grupo interno. Con base en estas propiedades la estrategia de muestreo de grupos externos debe considerar la diferencia metodológica que existe entre el grupo externo operativo y los grupos externos taxonómicos.

La importancia de hacer una distinción explícita entre grupo externo operativo y grupos externos taxonómicos, reside en que al tener funciones distintas, los criterios de selección y el empleo de cada uno debe corresponder con las funciones y propiedades que los caracterizan. La selección del grupo externo operativo necesariamente parte del supuesto de que el grupo interno operativo (grupos externos taxonómicos + grupo interno) es monofilético en contraste con el grupo externo operativo, lo cual implica que esta monofilia putativa no será sometida a prueba y por tanto la selección de este taxón constituye una presuposición adicional —semejante al conocimiento de respaldo en el sentido de Kluge (1997). Caracterizar la selección de grupos externos como una presuposición adicional es una idea que también ha sido esbozada por Barryel y Tassi (1998), pero estos autores no distinguen entre los dos diferentes tipos de grupos externos —cuya función y proceso de selección difieren.

De esta manera, en función de estas propiedades, en un análisis tenemos un grupo externo operativo —para orientar el cladograma— y un grupo interno operativo —monofilético en contraste con el grupo externo operativo. Este último incluye los grupos externos taxonómicos y al grupo interno taxonómico —e.g. nuestro grupo de interés (ver Figura 1).

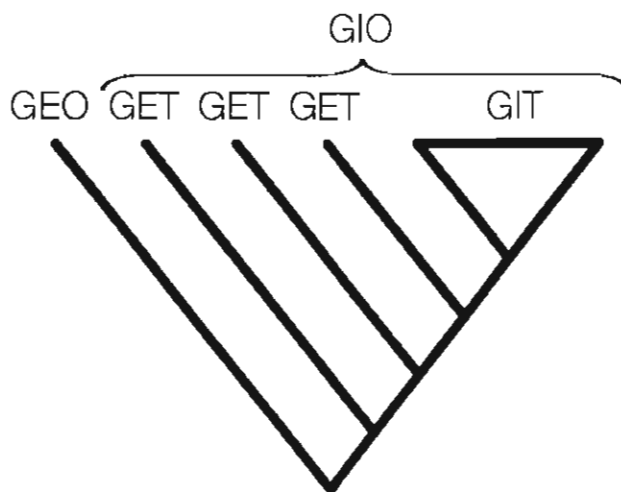


Figura 1. Diagrama esquematizando los diferentes tipos de grupos externos e internos. GEO = grupo externo operativo, GIO = grupo interno operativo, GET = grupo externo taxonómico, GIT = grupo interno taxonómico.

Como lo habían señalado Nixon y Carpenter (1993), existe confusión alrededor de algunas de las características que debe presentar el grupo externo operativo para cumplir su función, esta confusión parece extenderse hasta nuestros días con pertinacia (e.g. Brooks & McLennan 2002). Dos de las de nociones erróneas que han permanecido y se encuentran más ampliamente distribuidas señalan que: el grupo externo operativo debe ser el grupo hermano, o por lo menos un taxón plesiomórfico con respecto al grupo interno operativo (Watrous & Wheeler 1981; Donoghue & Cantino 1984; Maddison et al. 1984; Colless 1985; Lyons-Weiler et al. 1996, 1998; Tarrío et al. 2000; Dalevi et al. 2001; Graham et al. 2002). Nixon y Carpenter (1993) así como Eldredge y Cracraft (1980) argumentan que no es necesario que el grupo externo sea el grupo hermano del grupo interno, sino que únicamente se requiere que no forme parte del grupo interno y que exhiba algunos caracteres que puedan ser comparables con el grupo interno.

Así mismo, tampoco se requiere que el grupo externo sea plesiomórfico con respecto al grupo interno ya que el grupo externo tiene la función de servir como punto de contacto entre el grupo interno y el resto del árbol de la vida (Weston 1994). Pongamos como ejemplo la matriz y el cladograma de la figura 2. En la figura 1a se observa que los taxones A1, A2 y A3 —nuestro grupo interno o grupo de interés que denominaremos  $A_{123}$ — conforman un grupo monofilético soportado por la sinapomorfía del estado 1. El grupo  $A_{123}$  puede reconocerse como monofilético sin necesidad de orientar el árbol, ya que los taxones son adyacentes en la topología sin orientar (figura 2c) pero más aun, si el cladograma es orientado con un grupo externo apomórfico, digamos el taxón E (figura 2b), se deducen las mismas conclusiones básicas con respecto de  $A_{123}$ : que es un grupo monofilético y es soportado por la sinapomorfía del estado 1. El estado 1 no pierde su cualidad de estado derivado compartido (sinapomórfico) y el grupo  $A_{123}$  no pierde su estatus de grupo monofilético. Cabe mencionar que la cualidad apomórfica de E deriva de la topología en 2a, e información adicional (e.g. sinapomorfías propias de E) que se omiten en el presente ejemplo para poder centrar nuestra atención en lo que sucede con la sinapomorfía del grupo  $A_{123}$ . Como podemos observar, las conclusiones sobre la monofilia de  $A_{123}$  y la sinapomorfía que lo soporta son independientes de la cualidad apomórfica o plesiomórfica del taxón empleado como grupo externo operativo, este taxón simplemente



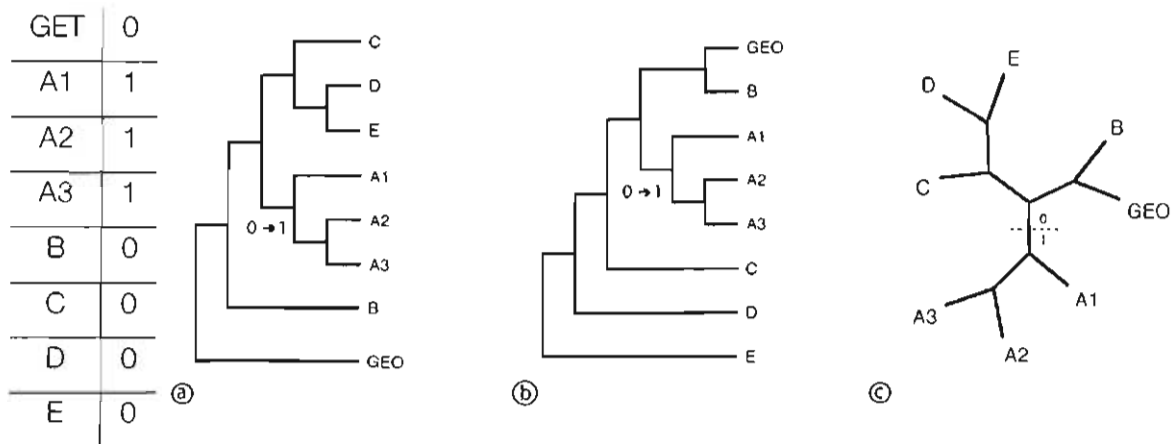


Figura 2. Matriz para ocho taxones y un carácter. a) cladograma orientado con el grupo externo operativo, b) mismo cladograma orientado con el grupo externo E, c) mismo cladograma sin orientación. GEO= grupo externo operativo.

cumple las funciones de permitirnos reconocer la polaridad del carácter por medio de la orientación del cladograma.

La decisión con respecto a la polaridad o la monofilia podría cambiar en el presente ejemplo únicamente en el caso de que seleccionáramos como grupo externo operativo a algún taxón del grupo  $A_{123}$  — digamos A1 en la figura 3. Esto resulta, en el presente caso, como consecuencia de violar el supuesto que nos indica que el grupo externo operativo no debe formar parte del grupo interno operativo — a manera de una presuposición adicional no sujeta a prueba. En este caso (figura 3) A1 forma parte del grupo  $A_{123}$ , por lo que el grupo interno operativo no es monofilético con respecto del grupo externo operativo.

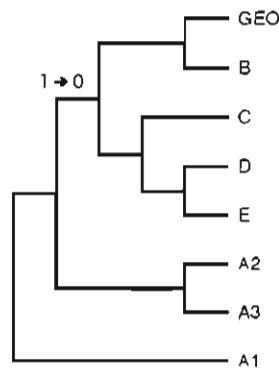


Figura 3. Mismo cladograma de la figura 1, orientado con un taxón del grupo interno — grupo de interés. Obsérvese el cambio de polaridad en comparación con la figura 2.

Imaginemos que la situación ilustrada corresponde con una situación en la que deseamos inferir la filogenia del género A y deseamos saber si nuestro grupo externo operativo debe pertenecer al género B, C, D o E. Con base en la literatura convencional (e.g. Kitching et al. 1998, Schuh 2000), deberíamos seleccionar un taxón plesiomórfico —digamos el taxón B— pero como se demuestra en el ejemplo, las conclusiones no varían en el caso de seleccionar como grupo externo operativo a un taxón apomórfico —el taxón E en este caso. Este ejemplo únicamente atañe a lo relacionado con la selección del grupo externo operativo, en el caso de que el objetivo de nuestra investigación sea someter a prueba la monofilia del género A —o sospechemos de su monofilia putativa— la selección del grupo externo operativo deberá complementarse con una amplia selección de grupos externos taxonómico.

Cabe señalar que el cambio en la polaridad no solamente es un resultado de violar el supuesto de monofilia del grupo interno operativo con respecto al grupo externo operativo, sino que fundamentalmente refleja la relación intrínseca que existe entre la orientación y la polaridad de los caracteres, como se mencionó anteriormente.

Algunos autores (Wheller 1990, Nixon & Carpenter 1993, Schuh 2000) han argumentado que en el caso de que la selección del grupo externo operativo no sea clara —e.g. por el grado de divergencia del grupo interno— se debe recurrir al empleo de un grupo externo hipotético, pero debido a que el grupo externo operativo no necesariamente debe ser plesiomórfico con respecto al grupo interno, la opción de emplear un ancestro hipotético como grupo externo operativo no puede considerarse como preferible frente a la opción de emplear un taxón real. Inclusive el empleo de un ancestro hipotético construido con base en diversos grupos externos "candidatos" consituye un empleo inadecuado de esta estrategia (Bryant 1997). De manera semejante, las estrategias diseñadas para cuantificar las plesiomorfías-apomorfías aparentes para seleccionar al grupo externo operativo (Lyon-Weiler et al. 1996, 1998) tampoco cubren un criterio necesario para seleccionar entre diversas opciones de grupo externo operativo, ya que parten del supuesto de que el grupo externo debe ser un taxón con un mayor número de plesiomorfías aparentes (sensu Lyon-Weiler), aunado a las limitaciones inherentes a la metodología (Faivovich 2002, Farris 2002, Simmons et al. 2002).

Otra opción propuesta para situaciones en que la selección del grupo externo no parece ser "evidente" es el enraizamiento en el punto medio (Swofford et al. 1996, Tarrío et al. 2000), en esta opción se descarta el empleo de un grupo externo y se localiza la raíz arbitrariamente en un punto del cladograma no orientado — el punto medio. Esta propuesta no constituye en sí misma una alternativa para la selección del grupo externo, ya que simplemente argumenta a favor de un método distinto al de grupo externo para enraizar los cladogramas, favoreciendo una opción arbitraria.

En el caso de existir una aparente alta divergencia entre el grupo interno y el grupo externo operativo seleccionado, se puede complementar el muestreo con grupos externos taxonómicos intermedios entre el grupo interno y el grupo externo operativo, aun y cuando nuestro objetivo no sea someter a prueba la monofilia del grupo interno, seleccionando al más lejano — con base en información filogenética o propuestas de clasificación previas — como grupo externo operativo. Esta opción — incluir grupos externos taxonómicos cercanos y lejanos — resulta preferible sobre la opción de inferir un ancestro hipotético o renunciar al empleo de un grupo externo, como lo han demostrado estudios de caso (e.g. Graham et al. 2002).

Otra metodología para seleccionar un grupo externo operativo fue propuesta por Barriel y Tassy (1998). Estos autores sostienen que en el caso de existir dudas sobre cual debe ser el grupo externo operativo, se deben incluir diversos taxones "candidatos" en la matriz y orientar los cladogramas alternativamente con cada taxón, realizando un consenso estricto con las diferentes orientaciones. Esta propuesta tiene la limitación de obtener cladogramas poco resueltos, fundamentalmente en el caso de que uno de estos grupos externos "candidatos" se "mezcle" con el grupo interno — evidencia de que el grupo interno no es monofilético; esto es una consecuencia de la limitante teórica de no reconocer las diferencias operativas entre los distintos tipos de grupos externos — taxonómicos y operativo.

Dadas las cualidades del grupo externo operativo, los criterios para su selección deberán restringirse fundamentalmente a información filogenética e hipótesis clasificatorias disponibles, siempre teniendo presente que la función de este taxón será la de orientar los

cladogramas —polarizando los caracteres en consecuencia— y no la de someter a prueba la monofilia del grupo interno.

Por otro lado, los grupos externos taxonómicos son aquellos taxones incluidos en el muestreo cuya función principal es la de someter a prueba la monofilia putativa del grupo interno, aunque adicionalmente pueden servir como un complemento para estudios posteriores (e.g. Grandcolas et al. 2004). Mientras más diversa sea la selección de grupos externos taxonómicos mayor será la severidad de la prueba de monofilia para el grupo interno. Dada la principal función de los grupos externos taxonómicos, ninguno de estos taxones deberá ser empleado para orientar los cladogramas ya que esa es la función del grupo externo operativo —contrario a lo sugerido por Barriel y Tassy (1998).

Para fundamentar la selección de grupos externos, actualmente contamos con el protocolo propuesto por Nixon y Carpenter (1993). Este sugiere seleccionar más de un grupo externo en lo general —sin distinguir explícitamente entre ambos tipos— brindando los criterios generales de sinapomorfías más inclusivas, hipótesis taxonómicas previas —e.g. clasificaciones— y similitud. Si bien la selección más apropiada depende del objetivo concreto del estudio, diversos autores han señalado que mientras más amplio sea el muestreo de taxones incluidos más precisos serán los resultados (Hillis 1998, Hillis et al 2003 para una revisión más detallada). En consecuencia, el muestreo de grupos externos taxonómicos deberá ser amplio, pero éstos no serán seleccionados solamente con base en el criterio de número —e.g. varias especies del mismo género— sino fundamentalmente con base en la diversidad —e.g. una o pocas especies de varios géneros. La diversidad puede ponderarse con base en diversidad filogenética —e.g. especies de diversos clados cercanos y lejanos— o en ausencia de información filogenética una combinación de clasificaciones previas y diversidad morfológica —e.g. representantes de la variación morfológica en taxones del mismo rango, una o varias especies por taxón dependiendo de la diversidad morfológica. En el caso de fundamentar el muestreo con base en información filogenética también resulta recomendable ponderar la selección con base en la diversidad morfológica de los grupos externos taxonómicos seleccionados por ejemplo representando la diversidad morfológica observada en cada clado. La relevancia de un muestreo que pondere la diversidad —filogenética y/o morfológica— sobre el número

radica en que de esta manera se logra incrementar la severidad de la prueba de monofilia putativa del grupo interno.

Si bien el muestreo de grupos externos taxonómicos debe ponderar la diversidad, siempre es necesario un marco de referencia, por lo que el muestreo puede auxiliarse de dos elementos en lo general: a) Información filogenética; contar con una filogenia previa que incluya algún taxón de nuestro grupo de interés resultará de gran ayuda. Una filogenia previa puede tomarse como evidencia de la monofilia del grupo interno, pero en este caso debe tenerse presente que ésta no sería sometida a prueba y que el grupo externo seleccionado será de tipo operativo únicamente. En diversos casos la información filogenética puede no estar disponible, por lo que una prospección filogenética puede brindar información relevante. Ésta consiste en un estudio preliminar que incluye representantes de la diversidad morfológica del grupo interno y de los potenciales grupos externos, lejanos y cercanos. Puede realizarse con base en información previa —secuencias de DNA disponibles al público o información bibliográfica sobre la morfología— y su principal objetivo es brindarnos un panorama preliminar de la diversidad filogenética y morfológica que se debe muestrear, un ejemplo de este tipo de trabajos prospectivos es el de Humpert et al. (2001) para el género *Ramaria*. b) Clasificaciones previas, en el caso de no contar con filogenias previas de referencia, también pueden emplearse las hipótesis de clasificación disponibles, el considerar más de una clasificación —situación frecuente— tiene la ventaja de permitirnos someter a prueba la monofilia putativa del grupo interno desde la perspectiva de diferentes especialistas —sometiendo a prueba varias hipótesis simultáneamente.

Como se mencionó previamente un muestreo adecuado de grupos externos taxonómicos es crucial para someter a prueba la monofilia de un taxón, a continuación se presenta un ejemplo real para el género *Ramariopsis* donde se ejemplifican los efectos de un muestreo insuficiente de grupos externos taxonómicos.

### El caso de *Ramariopsis* y la prueba de monofilia

*Ramariopsis* fue delimitado como un subgénero de *Clavaria* por Donk (1933) y posteriormente elevado a la categoría de género por Corner (1950), incluyendo especies

de basidiomas ramificados y esporas ornamentadas, ubicándolo tiempo después en la familia Clavariaceae (Corner 1970). Petersen (1966, 1978), propone una enmienda al género incluyendo especies de esporas lisas y basidiomas simples —las cuales previamente se ubicaban en el género *Clavulinopsis*— y ubicando al género en la familia Gomphaceae; así mismo (Petersen 1978), propone modificar el género *Clavaria* incluyendo en él al resto de las especies de *Clavulinopsis* con la categoría de subgénero —*Clavaria* subg. *Clavulinopsis*— y detalla la enmienda de *Ramariopsis* delimitando los subgéneros *Laevispora* —especies de esporas lisas fundamentalmente provenientes de *Clavulinopsis*— y *Ramariopsis* —especies de esporas ornamentadas que corresponden a la delimitación original de Corner (1950). Con base en estas hipótesis de clasificación tenemos dos delimitaciones para *Ramariopsis*, a *Clavulinopsis* como el género más cercanamente relacionado y a *Clavaria* como un taxón también relacionado (ver Figura 4 para un esquema de las relaciones entre estos géneros).

El objetivo de este estudio es entonces someter a prueba las hipótesis en disputa (Corner 1950, Petersen 1978). Dado que la segunda propuesta (Petersen 1978) constituye una ampliación de la delimitación original (Corner 1950) —y por lo tanto incluye a las especies originales— el grupo interno o grupo de interés corresponde a *Ramariopsis sensu* Petersen (ver figura 4) y el principal objetivo es someter a prueba su monofilia putativa.

*Muestreo amplio de grupos externos con base en una prospección filogenética y diversidad.* La selección de grupos externos se dividió en dos partes: a) selección del grupo externo operativo y b) selección de los grupos externos taxonómicos. a) Para la selección del grupo externo operativo se emplearon dos criterios: i) propuestas filogenéticas previas; las propuestas filogenéticas disponibles que incluyen a alguno de los taxones del grupo interno —*Ramariopsis sensu* Petersen (1978)— son la de Pine et al. (1999) para Homobasidiomyceteos clavarioides y cantharelloides —que incluye a *Clavulinopsis fusiformis* (= *Ramariopsis fusiformis*)— y la de Villegas et al. (1999) para

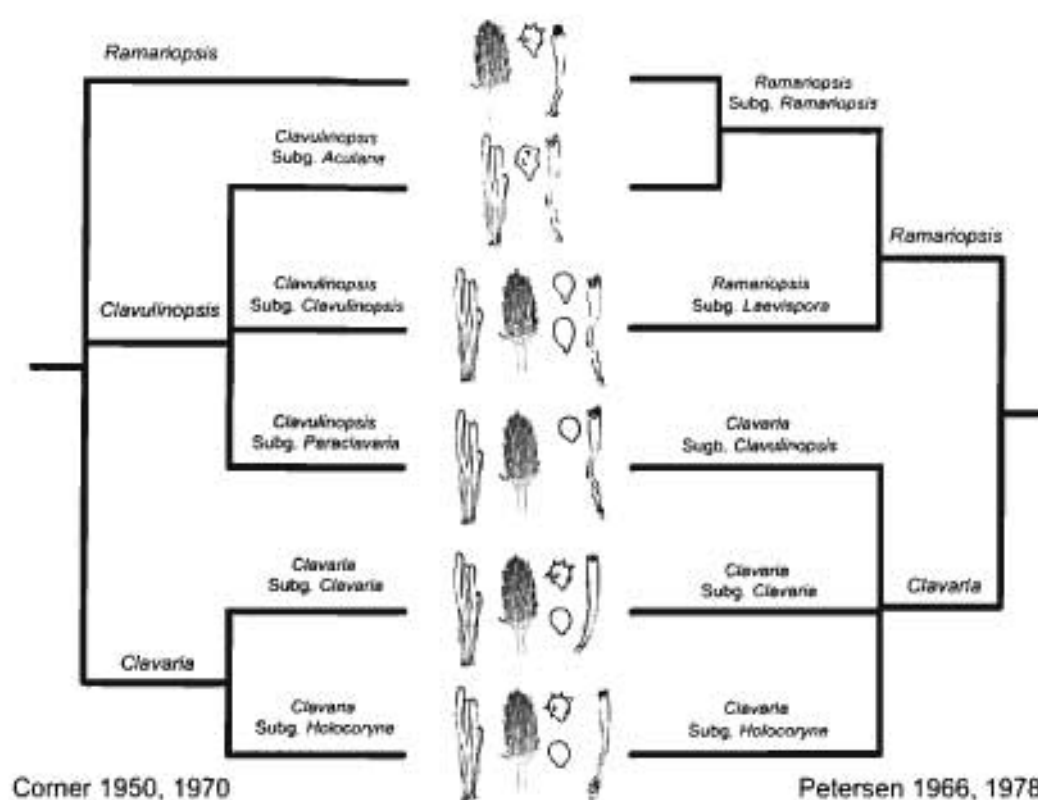


Figura 4. Esquema de las relaciones taxonómicas entre *Clavulinopsis*, *Clavaria* y *Ramariopsis*, representando las propuestas de Petersen y Comer, ver figura y texto para detalles.

Gomphaceae — que incluye a *Ramariopsis kunzei*—; como una referencia general se corroboró la selección con las hipótesis para Homobasidiomyceteos de Binder y Hibbett (2002) y Larsson et al. (2004); ii) clasificaciones previas, *Ramariopsis* ha sido incluido en las familias Clavariaceae y Gomphaceae, sobre la primera familia no existe un consenso con respecto a su delimitación y en consecuencia no existe información robusta para sustentar la selección de un taxón apropiado para fungir como grupo externo operativo —un taxón por fuera del grupo interno operativo— por lo que representantes de esta familia deberán fungir como grupos externos taxonómicos. Por otro lado, sobre Gomphaceae existe una hipótesis filogenética (Villegas et al. 1999) que señala que el grupo interno no pertenece a esta familia, por lo que representantes de esta familia podrían ser empleados como grupo externo operativo. Adicionalmente, la hipótesis general para Homobasidiomyceteos de

Binder y Hibbett (2002) señala que varios de los géneros incluidos en las distintas delimitaciones de Clavariaceae se encuentran distribuidos heterogéneamente entre los ocho grandes clados de homobasidiomycetos —misma situación en la topología ampliada de Larsson et al. (2004)— por lo que al incluir representantes de Clavariaceae *sensu lato* —como grupos externos taxonómicos— necesitamos un taxón que se encuentre por fuera de la mayor parte de los homobasidiomyceteos para que funcione como grupo externo operativo; esta situación corresponde a los representantes de Gomphaceae —clado Gomphoide-Phaloide *sensu* Binder y Hibbet (2002). Con base en lo anterior se incluye una especie de *Gomphus* como grupo externo operativo. b) Selección de los grupos externos taxonómicos. Esta selección se sustentó en dos elementos adicionales i) una prospección taxonómica, ii) información filogenética previamente referida. La prospección filogenética se elaboró con la finalidad de seleccionar representantes de los géneros incluidos en las diferentes delimitaciones de Clavariaceae que incluyen a *Ramariopsis* (Donk 1964, Corner 1970, Jülich 1981, Hawksworth et al. 1995), ya que estas propuestas constituyen hipótesis que vinculan a *Ramariopsis* con los demás taxones considerados en la familia. La prospección se realizó tomando en cuenta la totalidad de géneros incluidos en todas las propuestas (veintisiete) y seleccionando especies representativas de la variación morfológica observada; el grupo externo operativo empleado en la prospección fue un taxón compuesto representativo de Auriculariaceae —una familia que no pertenece a los homobasidiomyceteos (Weiß y Oberwinkler 2001)— debido a las evidencias de la polifilia de Clavariaceae *sensu lato*. Se construyó una matriz de veintiseis taxones y veintisiete caracteres macro y micromorfológicos (ver Apéndice), obtenidos de literatura especializada y observación directa de ejemplares de herbario; con base en la matriz se realizó una búsqueda de branch and bound en PAUP\* versión 4b10 (Swofford 2002) con todos los caracteres igualmente pesados, de tipo desordenado, opción MulTree. Esta búsqueda resultó en 300 árboles igualmente parsimoniosos. Con base en los resultados (ver Figura 5) se realizó una selección de grupos externos taxonómicos que incluyó a los géneros *Scytinopogon*, *Clavariadelphus*, *Lactarius* (representando a Russulaceae), *Clavaria*, *Clavulinopsis* y un representante adicional de *Gomphus* incluido a partir de la propuesta de Petersen (1978) que ubica a *Ramariopsis* en la familia Gomphaceae.



Con base en la selección de grupos externos taxonómicos y la selección del grupo externo operativo se completó el muestreo y se realizó una selección de veintitres taxones (ver Tabla 1), para los que se codificaron treinta y seis caracteres, incluyendo caracteres morfológicos —macro y microscópicos— citológicos, bioquímicos y ultraestructurales, resultado de la observación directa de ejemplares de herbario y registros previos de caracteres selectos —e.g. citología o ultraestructura. Con la matriz se realizó una búsqueda de branch and bound en PAUP\* versión 4b10 (Swofford 2002) con todos los caracteres igualmente pesados, de tipo desordenado, opción MulTree activa.

Adicionalmente, se realizó una segunda serie de búsquedas incluyendo en el muestreo únicamente una especie por cada uno de los géneros seleccionados como grupos externos taxonómicos e incluyendo una especie adicional como grupo externo operativo (cinco especies como grupos externos taxonómicos y una como grupo externo operativo); las condiciones de búsqueda empleadas fueron las mismas que para las demás búsquedas. El objetivo de esta segunda búsqueda fue evidenciar la relevancia de un muestreo que pondere la diversidad morfológica sobre el número para la selección de grupos externos taxonómicos.

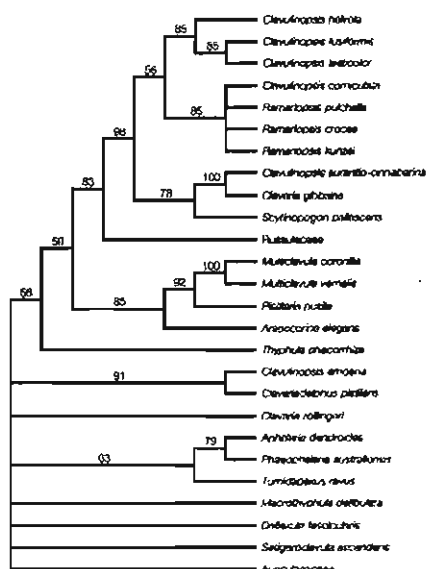


Figura 5. Consenso de mayoría de 300 árboles igualmente parsimoniosos encontrados después de la búsqueda de branch and bound durante la prospección taxonómica de la familia Clavariaceae. Los números indican la frecuencia de aparición de los clados.

Grupo interno taxonómico (grupo de interés)		Grupo interno operativo
<i>sensu</i> Petersen (1978, 1988a y b)	<i>sensu</i> Comer (1966, 1970)	
<i>Ramariopsis californica</i>	No considerada	
<i>Ramariopsis corniculata</i>	<i>Clavulinopsis kunzei</i>	
<i>Ramariopsis crocea</i>	<i>Ramariopsis crocea</i>	
<i>Ramariopsis fusiformis</i>	<i>Clavulinopsis fusiformis</i>	
<i>Ramariopsis helvola</i>	<i>Clavulinopsis helvola</i>	
<i>Ramariopsis kunzei</i>	<i>Ramariopsis kunzei</i>	
<i>Ramariopsis laeticolor</i>	<i>Clavulinopsis laeticolor</i>	
<i>Ramariopsis pulchella</i>	<i>Ramariopsis pulchella</i>	
<i>Ramariopsis tenuiramosa</i>	<i>Ramariopsis tenuiramosa</i>	
Grupos externos taxonómicos		Grupo externo operativo
<i>sensu</i> Petersen (1978, 1988a y b)	<i>sensu</i> Comer (1966, 1970)	
<i>Clavaria amoena</i>	<i>Clavulinopsis amoena</i>	
<i>Clavaria aurantio-cinnabarina</i>	<i>Clavulinopsis aurantio-cinnabarina</i>	
<i>Clavaria gibbsiae</i>	<i>Clavaria gibbsiae</i>	
<i>Clavaria sulcata</i>	<i>Clavulinopsis miniata</i> (= <i>Clavulinopsis sulcata</i> )	
<i>Clavaria vermicularis</i>	<i>Clavaria vermicularis</i>	
<i>Clavaria zollingeri</i>	<i>Clavaria zollingeri</i>	
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	
<i>Gomphus clavatus</i>	<i>Gomphus clavatus</i>	
<i>Lactarius indigo</i>	<i>Lactarius indigo</i>	
<i>Scytinopogon echinosporus</i>	<i>Scytinopogon echinosporus</i>	
<i>Scytinopogon dealbatus</i>	<i>Scytinopogon dealbatus</i>	
<i>Scytinopogon pallescens</i>	<i>Scytinopogon pallescens</i>	
<i>Scytinopogon robustus</i>	<i>Scytinopogon robustus</i>	
Grupo externo operativo		
<i>sensu</i> Petersen (1978, 1988a y b)	<i>sensu</i> Comer (1966, 1970)	
<i>Gomphus floccosus</i>	<i>Gomphus floccosus</i>	

Tabla 1. Muestreo taxonómico para el grupo interno y externo operativos, realizado con base en los criterios aquí propuestos.

*Muestreo restringido de grupos externos con base en similitud.* Para *Ramariopsis* — en sus dos delimitaciones — no ha sido reconocido ningún carácter derivado compartido, que pueda ayudarnos en la selección de grupos externos, por lo que generalmente ha sido

diagnosticado únicamente por la combinación de caracteres que exhibe — lo que correspondería a un metataxón en el sentido de Archibald (1994). Adicionalmente, el género ha sido ubicado en dos familias: Clavariaceae (Donk 1964, Corner 1970, Jülich 1981, Hawksworth et al. 1995) y Gomphaceae (Petersen 1978, Kirk et al. 2001), aunque como se mencionó anteriormente Villegas et al. (1999) descartó su pertenencia en Gomphaceae, por lo que el muestreo de grupos externos debería centrarse en Clavariaceae.

Con base en las hipótesis de clasificación previas, encontramos que en todas las delimitaciones de Clavariaceae los géneros en común son *Clavulinopsis* y *Clavaria*; adicionalmente contamos con evidencia filogenética (Pine et al. 1999, Larsson et al. 2004) que ubica a representantes de estos géneros como un grupo monofilético y por último, ambos géneros han estado estrechamente vinculados con *Ramariopsis* (Corner 1950, 1970, Petersen 1966, 1978). Considerando lo anterior, fueron seleccionados representantes de *Clavaria* y *Clavulinopsis*, sumando un total de nueve especies para el grupo interno y cinco especies para el grupo externo (ver Tabla 2). Posteriormente, se elaboró una matriz de veinte caracteres para los quince taxones, incluyendo caracteres macro y miscoscópicos, bioquímicos y citológicos. Esta matriz corresponde con una porción de una matriz más amplia elaborada con base en la estrategia de muestreo amplio (ver arriba). Se realizó una búsqueda simultánea que incluyó a los taxones del grupo interno y grupos externos, para lo cual se realizó una búsqueda de branch and bound en PAUP\* versión 4b10 (Swofford 2002) con todos los caracteres igualmente pesados, de tipo desordenado, opción MulTree activa.

## Resultados

En el caso de la estrategia basada en diversidad y prospección se incluyeron trece especies como grupos externos taxonómicos —representando seis géneros— y una especie como grupo externo operativo (ver Tabla 1). A partir de la búsqueda de branch and bound se encontraron 12 árboles igualmente parsimoniosos de 80 pasos de longitud (ver Figura 6). Como se mencionó anteriormente, se empleó a *Gomphus clavatus* como grupo externo operativo, con la opción de enraizar el árbol en el nodo interno con una politomía basal en PAUP\* para no dar la falsa impresión de exhibir la monofilia del grupo

## Grupo interno

Clasificación Petersen (1978, 1988)	Clasificación Corner (1970)
<i>Ramariopsis kunzei</i>	<i>Ramariopsis kunzei</i>
<i>Ramariopsis pulchella</i>	<i>Ramariopsis pulchella</i>
<i>Ramariopsis tenuiramosa</i>	<i>Ramariopsis tenuiramosa</i>
<i>Ramariopsis crocea</i>	<i>Ramariopsis crocea</i>
<i>Ramariopsis californica</i>	Nunca considerada
<i>Ramariopsis fusiformis</i>	<i>Clavulinopsis fusiformis</i>
<i>Ramariopsis laeticolor</i>	<i>Clavulinopsis laeticolor</i>
<i>Ramariopsis corniculata</i>	<i>Clavulinopsis corniculata</i>
<i>Ramariopsis helvola</i>	<i>Clavulinopsis helvola</i>

Grupos externos *sensu lato*

<i>Clavaria aurantio-cinnabarina</i>	<i>Clavulinopsis aurantio-cinnabarina</i>
<i>Clavulinopsis amoena</i>	<i>Clavulinopsis amoena</i>
<i>Clavaria sulcata</i>	<i>Clavulinopsis miniata</i> (= <i>Clavulinopsis sulcata</i> )
<i>Clavaria vermicularis</i>	<i>Clavaria vermicularis</i>
<i>Clavaria zollingeri</i>	<i>Clavaria zollingeri</i>

Tabla 2. Muestreo taxonómico para el grupo interno y los grupos externos, ponderando similitud.

interno operativo. El consenso estricto de los árboles encontrados muestra a *Ramariopsis sensu* Corner como un grupo monofilético (ver Figura 6).

La búsqueda de branch and bound con base en el muestreo que solamente incluyó una especie de cada género seleccionado como grupo externo taxonómico resultó en 22 cladogramas igualmente parsimoniosos (longitud 52, CI = 0.5192, RI = 0.6951, RC = 0.3609). El consenso estricto de los cladogramas encontrados también muestra a *Ramariopsis sensu* Corner como un grupo monofilético (ver Figura 7).

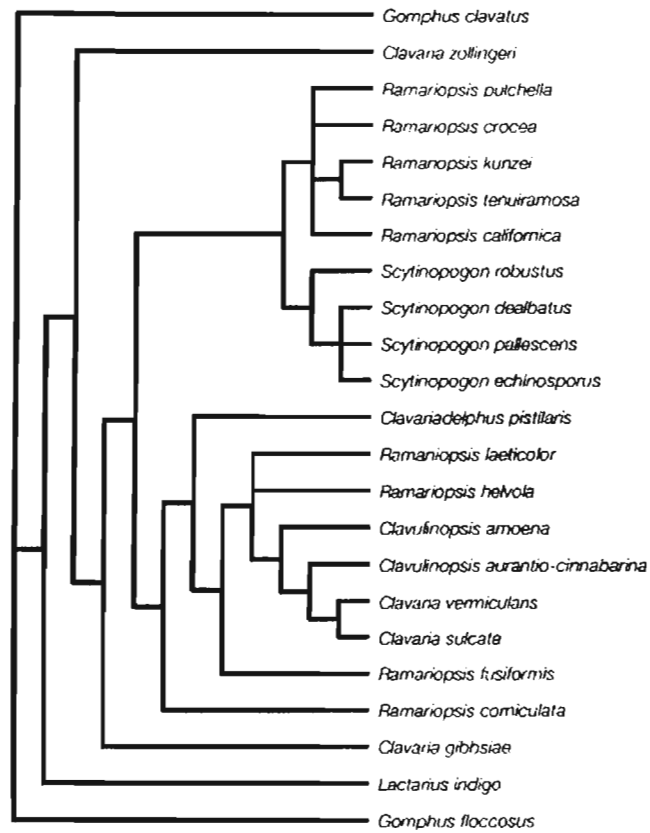


Figura 6. Consenso estricto de los 12 árboles (longitud = 80, CI = 0.4875, RI = 7153, RC = 03487) encontrados en la búsqueda de branch and bound, empleando la estrategia de muestreo con prospección filogenética y ponderando diversidad. La asignación de cada taxón del grupo interno —*Ramariopsis sensu* Petersen— a nivel de género sigue la propuesta de Petersen (1978) ver tabla 1 para detalles.

Con base en una estrategia de muestreo reducido que ponderó la similitud, la selección de grupos externos incluyó cinco especies pertenecientes a dos géneros (ver Tabla 2). Los principales criterios empleados fueron a) similitud y b) hipótesis clasificatorias previas. Con base en la matriz elaborada se encontraron 19 árboles igualmente parsimoniosos (longitud 39, CI = 0.5385, RI = 0.7429, RC = 0.4). El consenso estricto de los árboles (ver Figura 8) muestra un grupo monofilético que incluye a todos los representantes de *Ramariopsis sensu* Petersen —grupo interno taxonómico.

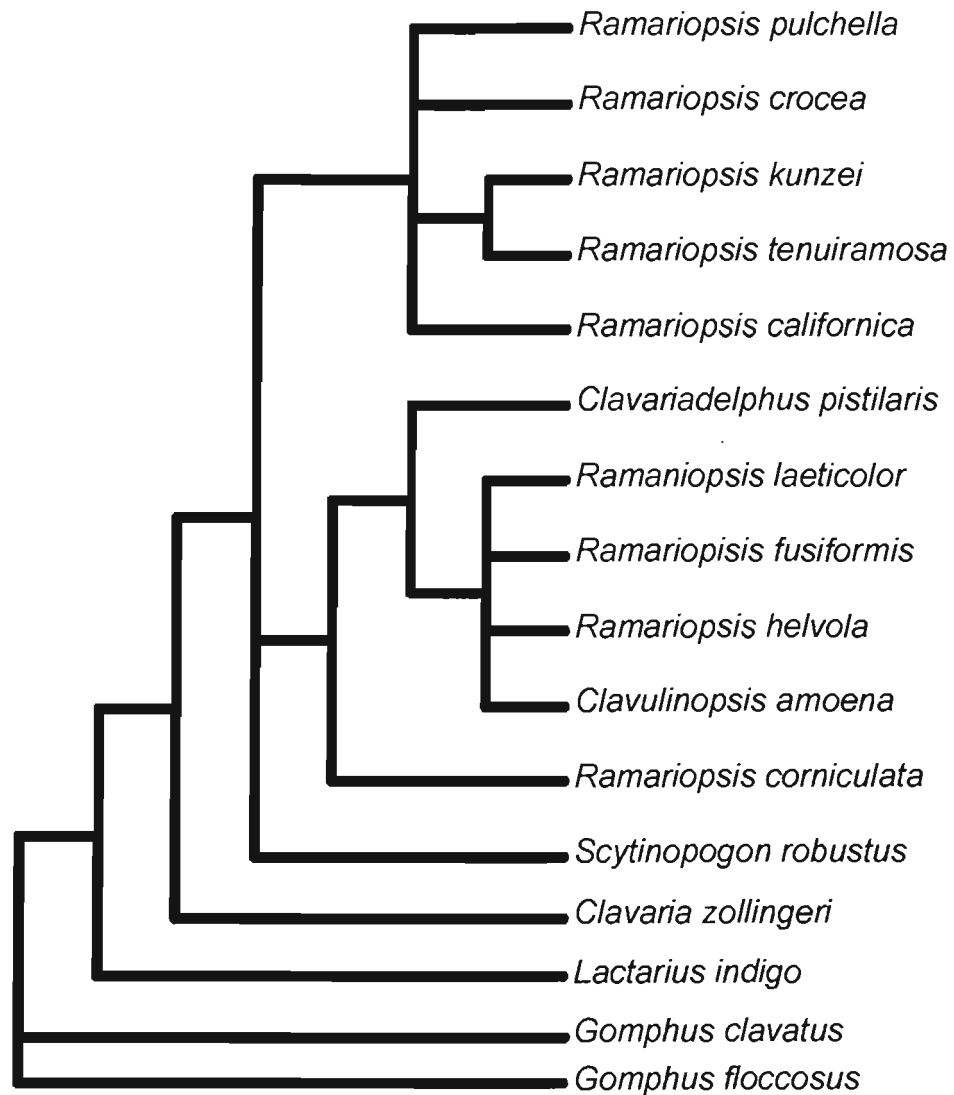


Figura 7. Consenso estricto de los 22 árboles igualmente parsimoniosos encontrados durante la búsqueda de branch and bound realizada con base en el muestreo que pondera diversidad morfológica sobre número de grupos externos taxonómicos.

## Discusión

Los resultados obtenidos a partir del muestreo de grupos externos con base en criterios de similitud y clasificaciones previas indican que estos criterios no son suficientes, ya que la monofilia de *Ramariopsis sensu* Petersen (1978) es un artefacto del muestreo, en tanto solamente es apoyada en el análisis que emplea un muestreo parcial de grupos externos taxonómicos (cf. Fig. 8 vs. 6 y 7).

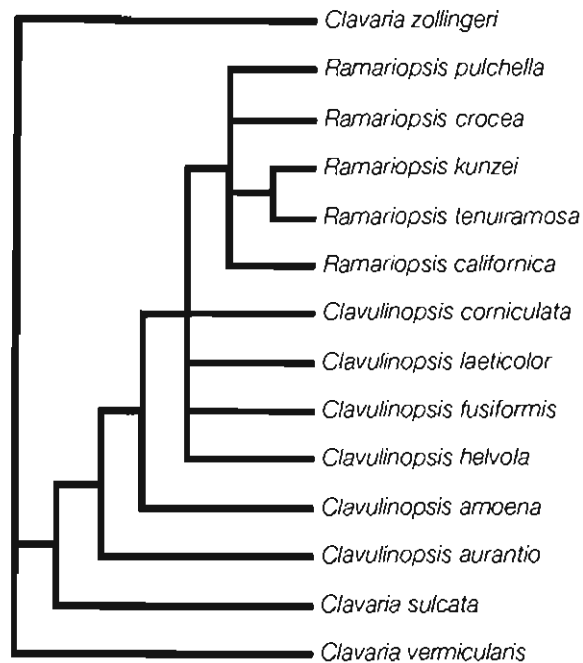


Figura 8. Consenso estricto de 19 cladogramas igualmente parsimoniosos encontrados durante la búsqueda de branch and bound empleando la estrategia de muestreo reducida.

En el caso de la estrategia de muestreo que empleó los criterios de diversidad y prospección filogenética, el resultado indica que con base en un muestreo que pondere la diversidad en sentido amplio podemos aumentar significativamente la severidad de la prueba de monofilia, aun si los grupos externos son numerosos o no (cf. Fig. 6 vs. 7). De esta manera la aplicación de estos criterios generó un muestreo caracterizado por dos aspectos: el número y la diversidad de grupos externos. De entre estas dos propiedades la diversidad de grupos externos taxonómicos —entendida fundamentalmente como diversidad morfológica— resulta el factor determinante. Al aumentar el número de grupos externos taxonómicos —e.g. más de una especie por género— lo que obtenemos es un cladograma más resuelto pero sin alterar la conclusión principal —e.g. *Ramariopsis sensu* Petersen no es monofilético.

Si consideramos que los grupos externos taxonómicos están incluidos en lo general dentro del grupo interno operativo (ver arriba), los beneficios de ampliar el muestreo en el grupo interno pueden interpretarse como un caso especial de ampliación del muestreo taxonómico en sentido amplio. Argumentos a favor de la ampliación del muestreo en lo general habían sido sugerido anteriormente para resolver diversas situaciones, como por

ejemplo el rompimiento de ramas largas (e.g. Hillis 1998, Bergsten 2005), aumentar la precisión de los resultados (e.g. Lecontrie et al. 1993, Poe 1998, Rannala et al. 1998, Zwickl & Hillis 2002) o la reconstrucción de estados ancestrales (e.g. Salisbury & Kim 2001), pero pocos estudios se han avocado a estudiar los efectos que tiene el muestreo de múltiples grupos externos (aquí reconocidos como grupos externos taxonómicos), así como de los criterios empleados para su selección, en la severidad de la prueba de monofilia.

Por otro lado, son pocos los trabajos que han hecho una distinción —explícita o implícita— entre los grupos externos taxonómicos y el grupo externo operativo (e.g. de Pinna 1994, Weston 1994, Keller 1998) y no existe a la fecha ningún otro trabajo que haya tratado de estructurar criterios explícitos para la selección de grupos externos, considerando las diferencias que existen entre ambos tipos de grupos externos. La prueba de monofilia de *Ramariopsis sensu* Petersen ejemplifica la importancia de distinguir entre ambas formas de grupo externo y nos permite reconocer la relevancia de la diversidad —morfológica, filogenética, etc.— como criterio auxiliar para el muestreo de grupos externos taxonómicos.

## Apéndice

Caracteres y matriz empleados durante la prospección taxonómica de la familia

Clavariaceae.

- 1.- Geotropismo. 0: positivo, 1: negativo.
- 2.- Basidioma capitado. 0: presente, 1: ausente.
- 3.- Basidioma capitado—truncado. 0: presente, 1: ausente.
- 4.- Basidioma simple clavado. 0: presente, 1: ausente.
- 5.- Basidioma profusamente ramificado. 0: presente, 1: ausente.
- 6.- Estípite bien diferenciado. 0: presente, 1: ausente.
- 7.- Forma de las ramificaciones. 0: cilíndricas, 1: aplanadas.
- 8.- Basidioma sulcado. 0: presente, 1: ausente.
- 9.- Basidioma menor a 20mm. 0: presente, 1: ausente.
- 10.- Reacción a las sales de Fe. 0: positiva, 1: negativa.
- 11.- Fragma basidios. 0: presentes, 1: ausentes.



- 12.- Basidios fibulados. 0: presentes, 1: ausentes.
- 13.- Esporas lisas. 0: presentes, 1: ausentes.
- 14.- Esporas globosas. 0: presentes, 1: ausentes.
- 15.- Apéndice hilar prominente. 0: presente, 1: ausente.
- 16.- Hifas generativas fibuladas. 0: presentes, 1: ausentes.
- 17.- Hifas generativas de pared engrosada. 0: presentes, 1: ausentes.
- 18.- Hifas infladas. 0: presentes, 1: ausentes.
- 19.- Hifas esqueléticas. 0: presentes, 1: ausentes.
- 20.- Hifas gleopleróticas. 0: presentes, 1: ausentes.
- 21.- Cistidios en el himenio. 0: presentes, 1: ausentes.
- 22.- Caulocistidios. 0: presentes, 1: ausentes.
- 23.- Pared de las esporas ligeramente engrosada. 0: presente, 1: ausente.
- 24.- Basidios urnulados. 0: presentes, 1: ausentes.
- 25.- Esporas asimétricas. 0: presentes, 1: ausentes.
- 26.- Basidioma clavado a poco ramificado. 0: presente, 1: ausente.

										1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7
<i>Ramariopsis helvola</i>	1	1	1	1	1	1	?	0	1	1	1	0	1	1	0	0	?	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0
<i>Ramariopsis fusiformis</i>	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0
<i>Ramariopsis corniculata</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1
<i>Ramariopsis pulchella</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1
<i>Ramariopsis laeticolor</i>	1	1	1	0	1	1	?	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0
<i>Ramariopsis crocea</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	?	?	1	1	1	1	0	1	1	0	1
<i>Ramariopsis kunzei</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1
<i>Clavulinopsis amoena</i>	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
<i>Clavulinopsis aurantio-cinnabarina</i>	1	1	1	0	1	1	?	0	1	1	1	0	0	1	1	0	?	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1
<i>Clavaria gibbseae</i>	1	1	1	0	1	1	?	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	?	1
<i>Clavaria zollingeri</i>	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	?	0
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	1	1	1	0	1	1	?	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0
<i>Scytinopogon pallescens</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1
<i>Aphelaria dendroides</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Typhula phacorrhiza</i>	1	0	1	1	1	0	?	1	1	1	1	?	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Multiclavula corinilla</i>	1	0	1	1	1	0	?	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
<i>Multiclavula vemalis</i>	1	0	1	1	1	0	?	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
<i>Pistilaria pusilla</i>	1	0	1	1	1	0	?	1	0	1	1	?	0	1	?	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Aræocoryne elegans</i>	1	1	0	1	1	0	?	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
<i>Macrotyphula defibulata</i>	1	1	1	0	1	1	?	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	?	1	1	0	0	1	1	1	1	1
<i>Deflexula fascicularis</i>	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	?	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	?	1	1	1	0
<i>Phaeophelania australiensis</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	?	1
<i>Tumidapexus ravus</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	?	0	1	1	?	0	1	1	1	1	1	?	1	1	1	1
<i>Setigeroclavula ascendens</i>	1	0	1	0	1	0	?	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0
Russulaceae	1	1	1	1	1	0	?	1	1	0&1	1	0&1	1	0&1	?	0&1	?	?	?	?	0&1	?	0	1	1	1	1
Auriculariaceae	1	1	1	1	1	1&0	?	1	1	1	0	0&1	0	1	?	0	1	1	1	?	0	1	1	1	1	1	1

Matriz elaborada durante la prospección taxonómica para la familia Clavariaceae.

#### 4. Phylogenetic relationships among *Ramariopsis* and allied taxa

García-Sandoval R., J. Cifuentes, E. De Luna, A. Estrada-Torres and M. Villegas

Enviado a FUNGAL DIVERSITY

---

1 **Phylogenetic relationships among *Ramariopsis* and allied taxa**

2

3

4

---

5 **Ricardo García-Sandoval<sup>1</sup>, J. Cifuentes<sup>1</sup>, E. DeLuna<sup>2</sup>, A. Estrada-Torres<sup>3</sup>**  
6 **and M. Villegas<sup>1</sup>**

7

8 <sup>1</sup>Herbario FCME, UNAM. Apto. Post. 70-181, México DF., 04510, México

9 <sup>2</sup>Instituto de Ecología A.C., Apto. Post. 63, Xalapa, Veracruz, 91000, México

10 <sup>3</sup>Laboratorio de Sistemática, Centro de Investigaciones en Ciencias Biológicas, UAT. Km. 10.5  
11 autopista San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Felipe Ixtacuixtla, Tlaxcala, 90120, México

12

13 **Abstract.** The phylogenetic relationships of *Ramariopsis* and related taxa were studied through  
14 a cladistic analysis of 36 morphological, cytological, and biochemical characters among 23  
15 species in six genera. Two of these genera were directly studied as groups of interest, three as  
16 external taxonomic outgroups, and one as a functional outgroup. Representatives of  
17 *Ramariopsis sensu* Corner formed a monophyletic group with *Scytinopogon*, supported by the  
18 cyanophyllic nature of their basidiospores and the partial or total derivation of their  
19 ornamentation from the corio-tunica.

20

21 **Key words:** *Clavariaceae*, Homobasidiomycetes, spore ultrastructure.

22

23 **Introduction**

24           *Ramariopsis* was described as a subgenus of *Clavaria* by Donk (1933),  
25 who selected *Clavaria kunzei* Fr. as the type species; the name refers to its  
26 macromorphological similarity to the genus *Ramaria* (Donk, 1954). The taxon  
27 originally included, in addition to the type species, *Clavaria subtilis* Pers.,  
28 *Clavaria pixidata* Pers., *Clavaria angulispora* Pat. & Gaillard and *Clavaria*  
29 *pulchella* Boud.

30           Corner (1950) elevated the taxon to the genus level and included several  
31 fibulate species with branched, whitish basidiomes, monomitic hyphal systems,  
32 and echinulate spores. He conserved *Clavaria kunzei* [= *Ramariopsis kunzei*  
33 (Fr.) Corner] as the type species, segregating out three species —*C. subtilis*, *C.*  
34 *pixidata* and *C. angulispora*— and adding eight more for a total of ten species in  
35 the genus. Petersen (1964) added two more species after examining the type  
36 specimens of various species of the genus *Clavulinopsis*.

37           Petersen (1966) later proposed a new emendation to the original  
38 delimitation of the genus, including smooth spores and hysterochroic  
39 basidiomes as characters acceptable for *Ramariopsis*. Petersen considered the  
40 size of the basidia, the thickness of the spore wall, the composition of the  
41 ornamentation —when present— and the pattern of coloration of the  
42 basidiomes as the relevant characters for delimiting the genus. He proposed the  
43 subgenera *Levispora*, typified by *Ramariopsis minutula* (Bourdot & Galzin)

44 R.H. Petersen, consisting of smooth-spored species, and *Ramariopsis*,  
45 consisting of species with echinulate spores.

46 Corner (1970) maintained the original circumscription of the genus,  
47 recognizing that it might be an artificial group, closely related with *Scytinopogon*  
48 and *Clavulinopsis*. Corner argued that his circumscription conformed to a  
49 homogeneous group that was of much utility for field work.

50 Petersen (1978a) proposed a new delimitation for the genera  
51 *Ramariopsis*, *Clavulinopsis*, and *Clavaria* based on the size of the hilar  
52 appendix, the type of pigments present in the basidiome and the number of  
53 remaining nuclei in the basidium after the formation of spores. He transferred  
54 species with globose spores and a conspicuous hilar appendix from  
55 *Clavulinopsis* to *Ramariopsis*, and species with elongate spores and a small  
56 hilar appendix from *Clavulinopsis* to a new subgenus: *Clavaria* subg.  
57 *Clavulinopsis*. He additionally proposed designating *Clavaria corniculata*  
58 Schaeff.: Fr. [= *Ramariopsis corniculata* (Schaeff.: Fr.) R.H. Petersen] as the  
59 type species of *Ramariopsis*.

60 Based on this revision, *Ramariopsis* should include hysterochroic  
61 species with branched or simple basidiomes, with whitish or bright coloration,  
62 globose or subglobose and smooth or ornamented spores, and a conspicuous  
63 hilar appendix (see Fig. 1). Petersen argued that this circumscription permitted a

64 continuum among related species, from smooth-spored species with a large  
65 basidiome, to species with a small basidiome and echinulate spores.

66         There are only a few additional contributions to this polemic. Jülich  
67 (1985) transferred all of the species of *Ramariopsis* to *Clavulinopsis* based on  
68 nomenclatural arguments, but this interpretation apparently has not been  
69 followed by the majority of taxonomists (Hawksworth *et al.*, 1995; Kirk *et al.*,  
70 2001). Pegler and Young (1985), in an electron microscopy (EM) study of  
71 several species of *Ramariopsis*, *Clavulinopsis*, and *Scytinopogon*, described  
72 three ultrastructural patterns of spore ornamentation which corresponded with  
73 the three genera mentioned before. They also observed that several apparently  
74 smooth-spored species, such as *Ramariopsis californica* R.H. Petersen, actually  
75 possessed ornamentation. The observed ornamentation was very small and  
76 covered by a thin myxosporium, such that the spores appear smooth under a  
77 light microscope even at magnifications above 1000x. Pegler and Young (1985)  
78 recognized the delimitation proposed by Corner (1950) for *Ramariopsis*, but  
79 not the relationship between this genus and *Scytinopogon*.

80         The genus *Ramariopsis* has been included in the *Clavariaceae* in the  
81 majority of the treatments of this family (Donk, 1964; Corner, 1970; Jülich,  
82 1981; Hawksworth *et al.*, 1995), with the exception of Petersen (1978a, 1988a)  
83 and Kirk *et al.* (2001), who placed *Ramariopsis* in the *Gomphaceae*. A

84 phylogenetic study of the *Gomphaceae* (Villegas *et al.*, 1999), however,  
85 indicates that *Ramariopsis* —at least *sensu* Corner— should not be considered  
86 as part of the family. Pine *et al.* (1999), on the other hand, studied the clavarioid  
87 and cantharelloid Homobasidiomycetes, and found that *Clavulinopsis fusiformis*  
88 (Fr.) Corner [= *Ramariopsis fusiformis* (Fr.) R.H. Petersen] nested within the  
89 euagarical clade, forming a monophyletic group with *Clavaria acuta* Fr.,  
90 indicating that *Ramariopsis* subgenus *Laevispora* R.H. Petersen is related to  
91 *Clavaria*, or at least to representatives of *Clavaria* subg. *Holocoryne*.  
92 Additionally results of Larsson *et al.* (2004) relate *Clavulinopsis helvola* (Fr.)  
93 Corner with *Clavaria argillacea* Fr. —*Clavaria* subgenus *Holocoryne*— and  
94 *Clavaria fumosa* Fr. —*Clavaria* subgenus *Clavaria*— on a monophyletic group  
95 nested in the euagarics clades, this results points to a close relationship between  
96 *Clavulinopsis* and at least some part of *Clavaria*.

97         There are currently only a few works which have attempted to study  
98 the phylogeny of clavarioid and gomphoid macromycetes in general (Pine *et al.*,  
99 1999; Villegas *et al.*, 1999; Humpert *et al.*, 2001), and there is no consensus  
100 about the phylogenetic delimitation of these taxa.

101         Given that there is no consensus delimitation for *Ramariopsis*, the  
102 number of species in this genus depends on the source consulted (i.e. Jülich,  
103 1981, 1985; Hawksworth *et al.*, 1995; Kirk *et al.*, 2001). The number varies



104 from 24 to 45 species, with a distribution that stretches from sub-Arctic regions  
105 to the forests of New Zealand (Corner, 1950, 1967a, 1970; Thin, 1961;  
106 Petersen, 1968, 1969, 1971a, 1978b, 1979, 1988a, 1989; Pilát, 1971; Gómez,  
107 1972; García-Sandoval *et al.*, 2002).

108         The principal objective of the present work is to determine a more  
109 robust delimitation of *Ramariopsis*, based on a phylogenetic analysis of the  
110 available information and new morphological characters that result from direct  
111 observation of herbarium specimens. The use of morphological characters  
112 presents some advantages (see Jenner, 2004; Wiens, 2004, for an extensive up-  
113 to-date review) and for this particular case these include a wide sampling of  
114 species thanks to the availability of herbarium material and the opportunity to  
115 directly test the hypothesis of homology for diverse characters considered  
116 taxonomically relevant.

117

## 118 **Materials and Methods**

119

120         Selection of outgroups and taxonomic sampling. The selection of  
121 outgroups was critical for the present study since a reference phylogenetic  
122 framework is lacking and an inadequate or insufficient selection of external  
123 groups could result in the forced monophyly of the group of interest (Nixon

124 and Carpenter, 1993; Hopple and Vilgalys, 1999). Selection was based on three  
125 criteria a) a phylogenetic survey of the family *Clavariaceae sensu lato* (results  
126 not shown) b) previous phylogenies of the clavarioid Homobasidiomycetes,  
127 and c) previous classification proposals to include the genus *Ramariopsis* in  
128 some specific family.

129 a) The phylogenetic survey was conducted based on diverse  
130 delimitations of the family *Clavariaceae* (Donk, 1964; Corner, 1970; Jülich,  
131 1981; Hawksworth *et al.*, 1995). All of the genera included in these proposals  
132 were considered, and representatives of the observed variation were selected for  
133 study. A matrix of 26 taxa and 30 morphological characters was elaborated, and  
134 an initial selection of taxonomic outgroups and a functional outgroup was made  
135 based on the strict consensus of the trees obtained from the analysis b) The  
136 selection of outgroups, especially the functional outgroup, was complemented  
137 based on the phylogenetic analyses by Hibbett *et al.* (1997), Pine *et al.* (1999),  
138 Humpert *et al.* (2001) and Binder and Hibbett (2002) c) Based on Petersen's  
139 (1978a, 1988a) proposal of the phylogenetic affinities of *Ramariopsis*, one  
140 additional representative of *Gomphus* were selected to complete the taxonomic  
141 outgroups. Sampling of the ingroup was made based on Petersen's (1978a)  
142 proposed delimitation of *Ramariopsis*, which includes the species considered

143 by Corner (1950). Taxa representative of the observed variation and with  
144 available herbarium specimens were chosen for analysis.

145 For a few confusing species [*Clavaria sulcata* (van Over.) R.H.  
146 Petersen, *Clavaria vermicularis* Fr., *Clavaria amoena* Zoll. & Mor. and  
147 *Clavaria aurantio-cinnabarina* Schw.], assignment of specific epithets and the  
148 concepts used to delimit species followed Petersen (Petersen, 1967a, 1976,  
149 1979, 1980a, 1988a).

150 Analysis of characters and elaboration of the data matrix. Morphological  
151 observations were analyzed and interpreted in the framework of cladistic  
152 ontology (Hennig, 1966; Farris, 1983; De Pinna, 1991; De Luna and Mishler,  
153 1996). The selection and analysis of characters was based on the variation  
154 observed among sampled species, without excluding a priori any sources of  
155 information (Poe and Wiens, 2000). Hypotheses of homology were elaborated  
156 based on the homology criteria proposed by de Pinna (1991), employing  
157 similarity, conjunction, independence, variability, and heritability as auxiliary  
158 criteria (Patterson, 1988; Rieppel, 1988; Brower and Schawaroch, 1996;  
159 Hawkins *et al.*, 1997; Rieppel and Kearney, 2002).

160 Codification of characters was performed according to the criteria  
161 proposed by de Pinna (1991) and later additions (Hawkins *et al.*, 1997;  
162 Hawkins, 2000; Kluge, 2003; Grant and Kluge, 2004). Characters were not

163 ordered nor polarized a priori to avoid bias in the exploration of tree space  
164 (Hauser and Presch, 1991). Similarly, no weighting scheme was applied a priori  
165 to avoid ad hoc hypotheses that would constrain the results (Farris, 1983).  
166 Character states were analyzed by directly observing herbarium specimens from  
167 distinct collections (see Table 1); this data was complemented by previous  
168 descriptions (Coker, 1923; Singer, 1945, 1986; Corner, 1950, 1957, 1966,  
169 1967a, b, 1970; Thin, 1961; Petersen, 1964, 1965, 1966, 1967a 1968, 1969,  
170 1971a, b, 1978b, c, d, 1979, 1980b, 1984, 1985, 1988a, b, 1989; Petersen and  
171 Olexia, 1967, 1969; Bataile, 1969; Fiasson *et al.*, 1970; Schild, 1971; Kühner,  
172 1977; Hubbard and Petersen, 1979; Claus, 1983; Pegler and Young, 1985; Gill  
173 and Steglich, 1987; Hansen and Knudsen, 1997; García-Sandoval *et al.*, 2002;  
174 Gill, 2003; Bertagnolli and Novello, 2004).

175         Tree searches, robustness, and topology test. A series of heuristic  
176 searches were performed with 1,000 replicates in PAUP\* 4.0b10 (Swofford,  
177 2002), using TBR, random addition, and MAXTREE set to auto-increase. A  
178 branch and bound search was performed using as an upper limit the observed  
179 tree length from the heuristic searches, and characters were optimized with the  
180 ACCTRAN option.

181 Interpretation of the change of character states along phylogenies was  
182 made using one of the most parsimonious trees encountered in the branch and  
183 bound search in WinClada (Nixon, 2002).

184 Bremer's support index (Bremer, 1994) was calculated to evaluate the  
185 robustness of the observed clades. The analysis was conducted using  
186 AutoDecay 4.0 (Eriksson, 1999) with 100 heuristic replicates per search, using  
187 random addition, MAXTREE set to auto-increase, the ACCTRAN option for  
188 optimization, and equally weighted characters. Bootstrap values (Felsenstein,  
189 1985) were also calculated using 10,000 replicates sampling all characters, with  
190 10 heuristic searches for each bootstrap replicate, TBR branch rearrangement,  
191 and MAXTREE set to 100 trees. These parameters were selected to allow for a  
192 large number of bootstrap replicates and a reasonably accurate search procedure  
193 for each replicate (as opposed to the "fast bootstrap" option), thus avoiding the  
194 underestimation of clade support (DeBry and Olmstead, 2000; Mort *et al.*,  
195 2000).

196 Templeton's topology test (Templeton, 1983) was used to evaluate  
197 differences between the observed phylogenetic hypothesis and that of Petersen  
198 (1978a), employing a two-tailed Wilcoxon's signed rank test following  
199 Templeton (1983). To conduct the test, a branch and bound search was  
200 performed constraining monophyly of the representatives of *Ramariopsis sensu*

201 Petersen. To select a subgroup of equally parsimonious trees for topology  
202 testing, a second branch and bound search was conducted using ACCTRAN to  
203 optimize characters and successive weighting (Farris, 1969) following Carpenter  
204 (1988, 1994), using the RI to calculate reweighting. Each of the most  
205 parsimonious trees thus encountered was compared with each of the most  
206 parsimonious trees from the branch and bound search with successive weights  
207 (see above) using the Templeton test implemented in PAUP\*b10 (Swofford,  
208 2002), and the results were compared to tables of critical values of T for the  
209 Wilcoxon test.

210         Diverse methods exist to evaluate the stability of a phylogeny with  
211 respect to the inclusion/exclusion of taxa (see Grant and Kluge, 2003 for an  
212 extensive review). The present study assessed the impact of taxonomic  
213 outgroups sampling with a selective inclusion/exclusion of those taxa, followed  
214 with branch and bound searches of all of the combinations of taxonomic  
215 outgroups: *Clavaria*, *Clavariadelphus*, *Gomphus*, *Lactarius*, and *Scytinopogon* .

216

## 217 **Results**

218

219         Outgroup selection, taxonomic sampling, and character analysis. Based  
220 on the criteria employed, twenty three species were chosen for analysis. On the

221 group of interest: *Clavulinopsis corniculata* (Schaeff.: Fr.) Corner,  
222 *Clavulinopsis fusiformis*, *Clavulinopsis laeticolor* (Sowerby per Fr.) Corner,  
223 *Clavulinopsis helvola*, *Ramariopsis californica* R.H. Petersen, *Ramariopsis*  
224 *crocea* (Fr.) Corner, *Ramariopsis kunzei*, *Ramariopsis pulchella* (Boud.)  
225 Corner and *Ramariopsis tenuiramosa* Corner (all the species are included in  
226 *Ramariopsis sensu* Petersen); outgroup species: *Clavaria amoena*, *Clavaria*  
227 *aurantio-cinnabarina*, *Clavaria gibbsiae* Ramsb. in Gibbs, *Clavaria sulcata*,  
228 *Clavaria vermicularis*, *Clavaria zollingeri* Lév., *Clavariadelphus pistillaris*  
229 (Fr.) Donk, *Scytinopogon dealbatus* (Berk.) Corner, *Scytinopogon echinosporus*  
230 (Berk. & Br.) Corner, *Scytinopogon pallescens* (Bres.) Singer, *Scytinopogon*  
231 *robustus* (Rick) Corner, *Lactarius indigo* (Schwein.) Fr., *Gomphus floccosus*  
232 (Schwein.) Singer, and the functional outgroup species *Gomphus clavatus* S.F.  
233 Gray. A matrix of 36 characters (see Appendix and Table 2) was constructed,  
234 including observations of macro- and micro-morphology, macro- and micro-  
235 chemical reactions, and biochemical, cytological, and ultrastructural characters.  
236 Data presented are from direct observation and analysis of herbarium  
237 specimens, and only in exceptional cases previously reported data were used  
238 (see Appendix).

239 Tree searches, test of robustness, and topology tests. The branch and  
240 bound search resulted in 12 trees of 80 steps in length (CI 0.4875, RI 0.7153,

241 RC 0.3487). The strict consensus of these (see Fig. 2) shows *Ramariopsis*  
242 *sensu* Corner (1950, 1970) as a monophyletic group. This group then forms a  
243 monophyletic clade with the representatives of *Scytinopogon*. Bootstrap  
244 analysis indicated a generally low level of support across the observed clades  
245 (see Fig. 2); only the clades containing representatives of *Ramariopsis sensu*  
246 Corner, and *Scytinopogon* showed bootstrap support above 50%. Interestingly,  
247 there was no significant support for the clade that includes most of the  
248 representatives of *Clavaria sensu* Petersen. On the other hand, Bremer support  
249 indices also showed relatively low support for the clades, and the highest values  
250 of the Bremer support index corresponded to the clade of *Scytinopogon*.

251       During the constrained analysis conducted for topology tests, 1540  
252 equally parsimonious trees of length 85 (CI 0.4535, RI 0.6781, RC 0.3075)  
253 were encountered, five steps longer than those in the unconstrained search. The  
254 application of successive weightings allowed selection of a subset of 8 most  
255 parsimonious trees from those found in the original branch and bound search.  
256 Application of the topology test, however, did not indicate significant  
257 differences between the hypotheses. Comparison of all topologies resulted in no  
258 significant values of  $N = 16-14$ ,  $T = 53-39.5$ ,  $P = 0.4545-0.4220$ .



259           The combinations of selective inclusion/exclusion tested (not shown) did  
260 not modify the monophyly of *Ramariopsis sensu* Corner, but decrease the  
261 resolution of analysis.

262

## 263 **Discussion**

264

265           The phylogenetic analyses performed support the monophyletic status  
266 of the representatives of *Ramariopsis sensu* Corner (1950), though with only  
267 moderate bootstrap support (56%). Based on these results, the most robust  
268 delimitation of *Ramariopsis* is limited to species with branched basidiomes,  
269 echinulate spores, cyanophyllic ornamentation, and whose composition is  
270 fundamentally derived from the tunica (Pegler and Young, 1985). The  
271 ultrastructural composition of the ornamentation is the synapomorphy of the  
272 group (see Fig. 3). Although Corner did not include *Ramariopsis californica* in  
273 his most recent treatment of the genus (Corner, 1970), this species exhibits all  
274 of the distinctive characters of the genus and the present results support its  
275 inclusion in this taxon. On the other hand, Petersen included *Clavulinopsis*  
276 *helvola* in *Ramariopsis* [= *Ramariopsis helvola* (Fr.) R.H. Petersen], though  
277 this species has simple basidiomes and spores with thick tuberculous  
278 ornamentation. Later work (Pegler and Young, 1985) established that this

279 ornamentation is formed from growth of the corium, whereas ornamentation in  
280 *Ramariopsis* is formed via growth of the tunica (see Fig. 4). Results of the  
281 present study are congruent with segregation of *C. helvola* from *Ramariopsis*.

282         The representatives of *Scytinopogon* make up a well-supported group  
283 (81% bootstrap support), consistent with the original delimitation of Singer  
284 (1945) based on the presence of branched, telephoroid basidiomes and verrucose  
285 ornamentation. In the present results *Ramariopsis sensu* Corner forms a  
286 monophyletic group with the representatives of *Scytinopogon*. These taxa share  
287 cyanophyllic spores and ornamentation partially derived from the tunica,  
288 though in *Scytinopogon* the ornamentation also seems to be composed of a thick  
289 core of corium (Pegler and Young, 1985). It is worth mentioning that most of  
290 the species of *Scytinopogon* included in the present analysis have not been  
291 studied ultrastructurally —such data exist for only a single species of the genus.

292         The observed relationship between *Ramariopsis* and *Scytinopogon* was  
293 suggested first by Corner (1970), but this link should only be considered  
294 tentative due principally to the fact that the taxonomic sampling of this analysis  
295 was designed to determine a robust delimitation of the genus *Ramariopsis* and  
296 not to identify its sister taxon. However, the clade *Ramariopsis+Scytinopogon*  
297 doesn't show bootstrap support but shows one of the highest Bremer support  
298 index observed. Even so, without a broader taxonomic sampling designed to

299 establish the affinities of *Ramariopsis* with other taxa, it is preferable to  
300 consider these results as preliminary.

301         One of the principle consequences of the results of this study is that  
302 *Ramariopsis sensu* Petersen is not a monophyletic group. Petersen (1978a)  
303 used diverse sources of information for his delimitation, including the absence of  
304 carotenoid pigments. Pigment composition has been a frequently-used auxiliary  
305 character in fungal systematics (Arpin and Fiasson, 1971; Tyler, 1971; Gill and  
306 Steglich, 1987; Frisvad *et al.*, 1998; Gill, 2003), but recent studies indicate that  
307 phylogenetic patterns inferred in the Homobasidiomycetes based on this type  
308 of character are often incongruent with the results obtained using other sources  
309 of information (Hibbett and Thorn, 2001; Pine *et al.*, 1999).

310         Nonetheless, the presence of certain types of pigments can be a very  
311 useful auxiliary character in studies aimed at generic delimitation (e.g. Feibelman  
312 *et al.*, 1997; Weinstein *et al.*, 2002), and the taxonomic relevance of this type of  
313 characters should not be discarded completely, but perhaps restricted to use at  
314 lower taxonomic levels. In the case of *Ramariopsis*, the delimitation proposed  
315 by Petersen (1978) is based on the absence of carotenoid compounds, without  
316 specifying the nature of the pigments that are present and without explicit  
317 reference to a concrete character, and the inferred pattern thus cannot be directly  
318 confirmed or refuted. In the present study this character was included coded as

319 the presence or absence of carotenoid pigments —character 11, CI = 1.0— (see  
320 Appendix for a discussion about codification) with the goal of evaluating the  
321 impact of this source of information. Based on its observed distribution, this  
322 character does not show evidence of homoplasy in the present study, although  
323 optimization of the character is not definitive due to the absence of information  
324 in several of the species considered. Similarly, the distribution of this character  
325 in the present study supports the relationship between *Clavaria aurantio-*  
326 *cinnabarina*, *C. amoena* and *C. sulcata* and is congruent with a monophyletic  
327 group that includes representatives of *Clavaria* (see Fig. 2). This latter group is  
328 consistent with Petersen's (1978a, 1988a) delimitation of *Clavaria*. It is worth  
329 mentioning that the aforementioned results should be considered as preliminary  
330 due to the lack of bootstrap support for this group and the taxonomic sampling  
331 of the present study.

332 Petersen (1978a) also employed the presence of chiasmic basidia with a  
333 mitotic post-meiotic division and four nuclei remaining in the basidia as a  
334 cytological pattern that supported the delimitation of *Ramariopsis*. Recent  
335 phylogenetic studies (Hibbett *et al.*, 1997; Pine *et al.*, 1999) confirm the utility  
336 of these cytological characters in the delimitation of taxonomic groups among  
337 the clavarioid and cantharelloid Homobasidiomycetes, but this utility has been  
338 observed in greater measure for the stictic pattern and not as much for the

339 chiastic pattern, which is widely distributed among the Homobasidiomycetes in  
340 general and does not seem to follow a clear phylogenetic pattern (Hibbett and  
341 Thorn, 2001). As with the presence of carotenoid pigments, the utility of this  
342 character should be noted, though more studies are necessary. On the other  
343 hand, the pattern of four remaining nuclei reported for *Ramariopsis crocea*  
344 (Penancier, 1961) results from a mitotic post-meiotic division, also reported in  
345 other taxa (Küner, 1977), and in the case of the four remaining nuclei —post-  
346 meiotic pattern "A" of Duncan and Galbraith (1972)— seems to be widely  
347 distributed among the genera of the Aphyllphorales (Penancier, 1961; Restivo  
348 and Petersen, 1976). Both the meiotic pattern (chiastic/stictic) and the number  
349 of remaining nuclei (see Appendix for discussion and codification) were included  
350 as characters in the present study.

351 All of the species considered for which data were available present a  
352 chiastic pattern, such that this character was of no phylogenetic relevance in the  
353 present study. Very possibly this character could have relevance at other  
354 hierarchical levels when studying the taxonomic affinities of the genus  
355 *Ramariopsis*. The number of remaining nuclei (character 29 CI=1.0) did not  
356 present a homoplasious distribution, though, similar to the situation for  
357 carotenoid pigments, optimization of this character should be considered  
358 preliminary since data were not available for all species considered.

359           As part of the present results it is worth noting that the presence of a  
360 monophyletic group that includes representatives of *Clavulinopsis* and  
361 representatives of *Clavaria* is congruent with the results of Pine *et al.* (1999).  
362 *Clavariadelphus pistillaris*, *Clavaria zollingeri* and *C. gibbsiae* however, are not  
363 located in a position which agrees with a previous taxonomy (see Fig. 2), and  
364 *Clavariadelphus* is in fact found in a position incongruent with previous studies  
365 (Hibbett *et al.*, 1997; Pine *et al.*, 1999).

366           The position of *Clavariadelphus pistillaris* could be artefactual, due to  
367 the fact that the present sampling of taxonomic outgroups was widened to  
368 include distantly related groups —e.g. *Gomphus* in the clade Gomphoide-  
369 Phalloide *sensu* Hibbett and Thorn (2001). To explore this possibility, a branch  
370 and bound search was performed excluding *Clavariadelphus*, and the  
371 monophyletic group of *Ramariopsis sensu* Corner+*Scytinopogon* obtained in  
372 the main analysis was recovered (results not shown).

373           It has not been possible to clearly elucidate the phylogenetic affinity of  
374 *Clavaria zollingeri*. This taxon was included in the analysis of clavarioid and  
375 cantharelloid Homobasidiomycetes by Pine *et al.* (1999), but the results were  
376 inconclusive and this species was located outside of any recognized clade in the  
377 strict consensus analysis of combined genes. In spite of this, the aforementioned  
378 study indicated that the current delimitation of *Clavaria* (Corner, 1970)

379 —simple or branched basidiomes, monomitic hyphae in the context, fibulae  
380 absent in the context and present or absent in the base of the basidia— is not a  
381 monophyletic group; results of the present study are congruent with those of  
382 Pine *et al.* (1999).

383         On the other hand *Clavaria gibbsiae* in the present results are located  
384 next to *C. zollingeri*, out of any large clade —e.g. *Clavaria sensu* Petersen or  
385 *Ramariopsis sensu* Corner. This species is included in *Clavaria* subgenus  
386 *Holocoryne* (Corner, 1970; Petersen, 1988a). We could expect a relationship  
387 between *Clavulinopsis* and representatives of *Clavaria* based on previous  
388 results (Pine *et al.*, 1999; Larsson *et al.*, 2004), but this results also indicate that  
389 *Clavaria* is not a monophyletic group (Pine *et al.*, 1999), our results are  
390 congruent with this last statement, and shows a core group that includes part of  
391 *Clavaria* and all the included representatives of *Clavulinopsis*. This results  
392 should be considered as preliminary due to the lack of bootstrap support for  
393 this group and the taxonomic sampling of the present study.

394         In conclusion, the present results indicate that the delimitation of  
395 *Ramariopsis* proposed by Corner (1950, 1970) is the most robust given  
396 currently available data. Though the topological comparisons did not find  
397 significant differences between this hypothesis and that proposed by Petersen  
398 (1978a), analysis of the data indicates that *Ramariopsis sensu* Corner

399 represents a more parsimonious hypothesis (five steps shorter), in accordance  
400 with ultrastructural data on spore ornamentation, patterns of cyanophyllic  
401 reaction in the spores, and bootstrap support. Additionally, the test of  
402 sensitivity of the taxonomic sampling indicated that the results obtained were  
403 not an artifact of taxon selection and are stable across various resamplings of the  
404 data. Relationships among taxa outside of the clade *Ramariopsis sensu*  
405 *Comer+Scytinopogon* should be taken as tentative given that the sampling of the  
406 present study was designed for other objectives.

407

#### 408 **Acknowledgments.**

409

410 The authors wish to thank Dr. Gregory Mueller of the Field Museum of Chicago and  
411 Dr. David S. Hibbett of Clark University in Massachusetts for revision and commentary on a  
412 preliminary version of this manuscript; Dr. Ronald H. Petersen of the University of Tennessee  
413 for comments and suggestions on a previous version of this work presented at the 2004 Annual  
414 Reunion of the MSA; the curators of the herbaria E, ENCB, IBUG, L, TENN, MEXU, TLXM,  
415 XAL, especially Dr. Ronald H. Petersen for the facilities and specimens offered, Dr. Roy  
416 Watling (E) for the facilities offered for the revision of the collection of Dr. E.J.H. Comer, Dr.  
417 Machiel Noordeloos (L) and Evelyn Turnbull (E) for their help during visits to their herbaria.  
418 Funds for the present work were provided by CONACYT XXXXXX-XX, and DGAPA IN  
419 209605-3. R. G.-S. would also like to thank support from the Programa de Becas Nacionales  
420 de Posgrado UNAM. The authors would like to note that the results and conclusions presented



421 in this work are not necessarily those of colleagues that reviewed and/or commented on earlier  
422 versions of this work.

423

## 424 **Appendix. Characters and character state.**

425

### 426 *Morphological characters of the basidiome.*

427

428 1.- Simple clavate basidiome. This type of basidiome corresponds to what Petersen (1988)  
429 defined as clavarioid —holobasidiomycetes, in simple erect columns— excluding the branched  
430 forms which show a distinct ontogenetic pattern as described by Corner (1950). This includes  
431 intergradations from simple clavate forms to those with some amount of apical branching  
432 (bifurcated towards the apex). Within this general pattern are several ontogenetic variants  
433 (Corner, 1950; Cléménçon *et al.*, 2004) that could be phylogenetically informative, but to date  
434 there are too few data to recognize concrete patterns; in the present study only the general  
435 pattern was considered. States: 0: present, 1: absent.

436 2.- Profusely branched basidiomes. This character corresponds to what Petersen (1988a)  
437 described as clavarioid (see character 1), but is confined to the branched forms, since this  
438 corresponds to an ontogenetic pattern distinct from the simple forms (Corner, 1950). A  
439 basidiome was considered profusely branched when it exhibited three or more levels of  
440 branching coming from the middle or below the middle of the basidiome. States: 0: present, 1:  
441 absent.

442 3.- Basidiome pileate-stipitate. Corner (1966) defines the pileus as an apical expansion  
443 developed from a diageotropic growth that generates fan or umbrella shaped forms. This differs  
444 from the cantharelloids in the configuration of the hymenophore and the absence of a thickened  
445 hymenium. In the present study any basidiome exhibiting a pileus sensu Corner (1966) and a

446 stipe sensu Kirk *et al.* (2001) was considered as pileate-stipitate, independent of the  
447 conformation of the hymenophore. States: 0: present, 1: absent.

448 4.- Form of the hymenophore. For the present study the hymenophore was defined following  
449 Cléménçon *et al.* (2004) as the portion of the context that supports the hymenium —the layer  
450 of basidia, basidiospores, and sterile elements— in contrast to the proposal of Kirk *et al.*  
451 (2001), who considered the hymenophore the structure which supports spores —e.g. a  
452 basidiome. In the present study the hymenophore was considered to exhibit variation in form  
453 independent of that of the basidiome, and as such is an independent character (Mickey, 1982;  
454 Mickey and Limpsomb, 1991; Limpsomb, 1992; Mabee, 1993; O'Keefe and  
455 Wagner, 2001) —against Cléménçon *et al.* (2004) see character three— for example a smooth  
456 hymenophore can be present with a simple, clavate, or corticioid basidiome. The recognized  
457 states correspond in the case of gills to the description of Singer (1986), for a hymenophore in  
458 folds to Corner (1966) in cantharelloid fungi, for a smooth hymenophore to Cléménçon *et al.*  
459 (2004), and for a wrinkled hymenophore to the description of some species of *Clavariadelphus*  
460 by Corner (1950) though with a lesser grade of organization. States 0: gills, 1: folds, 2:  
461 wrinkles, 3: smooth.

462 5.- Basidiome longitudinally sulcate. This character corresponds to the description by Petersen  
463 (1988a) and represents those basidiomes that exhibit a furrow or longitudinal fold along the  
464 fertile part of the basidiome; it differs from a wrinkled hymenophore in that the furrow or fold  
465 is singular. States: 0: present, 1: absent.

466 6.- Development of the context at the level of the hymenium. This character corresponds to the  
467 presence or absence of the condition described as fistular or hollow by Kirk *et al.* (2001), but  
468 confined to the context at the level of the hymenium. The portion of the context below the  
469 hymenophore and subhymenium can exhibit distinct grades of development with two clearly  
470 recognizable states: when it is well developed, the basidiome exhibits a solid aspect in

471 transverse section, but when poorly developed the basidiome appears hollow or fistulate in  
472 transverse section. States 0: fistulate, 1: solid.

473 7.- Pattern of branching. Profusely branched basidiomes exhibit different patterns of branching  
474 derived from differences in ontogenetic development (Comer, 1950). The nomenclature and  
475 patterns described by Comer (1950) were followed for the present study. Only two states were  
476 observed among the included species in the present analysis: radial and flattened. States 0:  
477 radial, 1: flattened.

478 8.-Mycelial cords. Aggregates of linear hyphae growing away from the basidiome and visible to  
479 the naked eye were considered mycelial cords. Clémenton *et al.* (2004) and Boddy (1999)  
480 distinguish between mycelial cords and rhizomorphs based on the level of organization and the  
481 type of growth of the structure. In the present study no distinctive apical growth was identified,  
482 and the observed structures were thus only characterized as mycelial cords in the general sense  
483 of Cairney *et al.* (1991). States: 0: present, 1: absent.

484 9.-Mycelium in the base of the stipe. Basidiomes growing from a patch or pillow of mycelium  
485 were considered as exhibiting mycelia at the base of the stipe. The mycelial growth was always  
486 conspicuous and found above the substrate; this mycelium covers the base of the stipe and  
487 exhibits different types of generative hyphae. Petersen (1988a) describes as subiculate a patch of  
488 mycelia in the substrate from where the basidiome grows, but Clémenton *et al.* (2004) restrict  
489 the term subiculate to the thick layer of mycelia from which the corticioid basidiomes develop.  
490 The character considered is equivalent to what Petersen (1988a) denominates subiculate, but  
491 since Clémenton *et al.* (2004) employ the term in a different manner, the descriptor subiculate  
492 is not used in the present study. Observations were made from small samples of mycelia from  
493 the portion that covers the base of the stipe. States: 0: present, 1: absent.

494 10.-Reaction to iron salts in the hymenium. The reaction to iron salts is a widely used character  
495 in the systematics of clavarioid fungi (Comer, 1950; Donk, 1964; Petersen, 1978a, 1988a). The  
496 reagent contains ferric chloride in a 10% aqueous solution (Petersen, 1988a), and is applied

497 directly to the hymenium. A positive reaction is recognized by a color change to olive-green or  
498 grey-green. This reaction is considered indicative of the presence of the compound pistillarine  
499 (Steglich *et al.*, 1984). A positive reaction to this reagent can exhibit other color changes due  
500 to the presence of other distinct compounds (Gill and Steglich, 1987; Singer, 1986). In the  
501 present study only positive reactions that engendered olive-green or grey-green color changes  
502 were considered. States 0: positive, 1: negative.

503 11.-Carotenoid pigments in the basidiome. Along with sesquiterpinoids, carotenoids are one of  
504 the two pigments present in the macromycetes belonging to the group of compounds derived  
505 from the mevalonate pathway (Gill and Steglich, 1987; Gill, 2003). In the present study, based  
506 on the available information for the species considered, this character was coded as a nominal  
507 variable —sensu Hawkins (2000)— since other types of codification would require additional  
508 data about the specific metabolic pathways generating the compound (e.g. Barkman, 2001).  
509 States 0: present, 1: absent.

510

511 ***Micromorphological characters distinct from the hymenium and the spores.***

512

513 12.- Lacticiferous hyphae. This structure corresponds to what Singer (1986) described as  
514 lacticiferous in the strict sense —hyphae that produce latex. These hyphae can exhibit nuclei  
515 and septa and thus correspond to a specialized type of heteroplera sensu Cléménçon *et al.*  
516 (2004). States 0: present, 1: absent.

517 13.- Inflated hyphae. Inflated hyphae are those generative hyphae that exhibit increased growth  
518 behind the point of lateral growth, widening and elongating significantly (Corner, 1950; Kirk  
519 *et al.*, 2001). They are recognizable by having a considerably greater diameter than the rest of  
520 the hyphae, and by having constrictions in the zone of the septa; they may or may not be  
521 fibulate. Corner (1950) distinguished two types of monomitic contexts that present inflated  
522 hyphae based on the presence of secondary septa and clamps. In the present study this

523 classification was not used, since it mixes two independently varying characters. States 0:  
524 present, 1: absent.

525 14.- Crystals in the hyphae of the basal mycelia. The hyphae of the mycelia at the base of the  
526 stipe sometimes present amorphous crystals, similar to those reported in the context of the base  
527 of the stipe for *Ramariopsis pulchella* (Petersen, 1988a)—5-20 $\mu$ , hyaline or yellowish, and  
528 do not dissolve in 5% KOH. The crystals are found covering the exterior surface of the hyphae  
529 and are not easily removed. States 0: present, 1: absent.

530 15.-Degree of thickening in the hyphal wall. Thickening of the hyphal wall was considered  
531 only in the generative hyphae. The presence of generative hyphae with thickened walls has been  
532 a relevant systematic character in several genera (Corner, 1966; Pegler, 1996). In the present  
533 study three qualitative degrees of thickening were recognized due to the difficulty in making  
534 precise quantitative measurements. States: 0: none, 1: scarce, 2: conspicuous.

535 16.-Simple fibulae. Simple fibulae —clamp connections, clamp cells— are the most frequent  
536 among the Basidiomycetes. Cl  men  on *et al.* (2004) recognized three types of simple fibulae,  
537 of which two were observed in the present study: closed and ring or medallion fibulae. Both  
538 types were considered equivalent since there were insufficient elements to determine discrete  
539 states. States: 0: present, 1: absent.

540 17.- Genuiculate fibulae. Genuiculate fibulae are those that exhibit a marked bend at the point of  
541 inflection, giving the appearance of a bent knee. The bend partially deforms the profile of the  
542 fibulae, allowing them to be easily differentiated from simple fibulae. These structures  
543 correspond to those described in various species of *Clavulinopsis* by Petersen (1968).  
544 Genuiculate fibulae are not homologous to simple fibulae since both structures are found  
545 simultaneously in the same basidiome and are thus independent characters according to the  
546 conjunction test (Patterson, 1988; Rieppel, 1988; De Luna and Mishler, 1996; Rieppel and  
547 Kearney, 2002; Grant and Kluge, 2004). States 0: present, 1: absent.

548 18.-H connections. H connections are structure formed by the union of two parallel hyphae  
549 through a third, transverse, hypha. They can be considered functionally homologous  
550 —biologically homologous following Roth (1988)— to fibulae, but are not phylogenetically  
551 homologous *sensu de Pinna* (1991), since they are both present simultaneously with distinct  
552 types of fibulae. They should thus be considered independent characters following the  
553 conjunction test (Patterson, 1988; Rieppel, 1988; De Luna and Mishler, 1996; Rieppel and  
554 Kearney, 2002; Grant and Kluge, 2004). States 0: present, 1: absent.

555 19.-Ampulliform fibulae. This type of fibula is characterized by the presence of a marked  
556 widening, giving the appearance of an inflated fibula similar to the inflated hyphae. This  
557 corresponds to the description by Petersen (1988a) as a characteristic of *Ramaria* subg.  
558 *Lentoramaria*. This type of fibula is not phylogenetically homologous to the other types of  
559 fibulae described since it can be found present simultaneously with those other structures and  
560 should therefore be considered as an independent character by the conjunction test (Patterson,  
561 1988; Rieppel, 1988; De Luna and Mishler, 1996; Rieppel and Kearney, 2002; Grant and  
562 Kluge, 2004). States 0: present, 1: absent.

563

564 ***Hymenial characters.***

565

566 20.- Subhymenium clearly differentiated. The subhymenium was considered to be the layer of  
567 generative hyphae growing below the hymenium (Kirk *et al.*, 2001) and from which the  
568 hymenium forms (Petersen, 1988a). Several distinct anatomical patterns of the subhymenium  
569 have been described (Clémentçon *et al.*, 2004), and in the case of the clavarioid fungi, Petersen  
570 (1988a) considered three types. The variation observed in the present study, did not permit  
571 differentiation of distinct types of subhymenium; only the conspicuous presence or absence of  
572 the character was considered. States: 0: present, 1: absent.

- 573 21.-Thickening of the hymenium. Corner (1950) described the thickening of the hymenium as a  
574 pattern resulting from the sympodial growth of the hyphae of the subhymenium, generating  
575 successive superimposed layers of hymenium, collapsing on occasion to the preceding basidia.  
576 No additional patterns of variation of this type have been described to date, and in the present  
577 study no further variation was observed. States: 0: present, 1: absent.
- 578 22.-Cystidia of the hymenium. The cystidia are sterile hyphal apices, generally with a  
579 distinctive form and found in variable locations in the basidiome (Kirk *et al.*, 2001;  
580 Cléménçon *et al.*, 2004). The form and anatomic disposition of the cystidia have been relevant  
581 taxonomic characters, but for the present study only the cystidia in the hymenium were  
582 considered; no other cystidia were observed in the species studied. States: 0: present, 1: absent.
- 583 23.-Fibulate basidia. The presence of fibulae in the basidia is restricted to the base of the  
584 basidia and is independent of the presence of fibulae in the rest of the hyphae of the basidiome.  
585 As such, it was considered as an independent character. In the case of *Clavaria* subg.  
586 *Holocoryne* the basidia exhibit a fibula described as broadly free (Corner, 1950) or bifurcated  
587 (Petersen, 1988a); in the present study this structure was considered to be a fibula. States: 0:  
588 present, 1: absent.
- 589 24.-Basidia with refringent contents. This character refers to basidia with an oily, yellowish,  
590 appearance of its content, which is also homogeneous and refringent in 10% KOH. It  
591 corresponds partially to what Petersen (1988) describes as gloeoplerotic, excluding the foamy  
592 appearance. Similarly, it corresponds partially to what Cléménçon *et al.* (2004) describe as oil-  
593 producing —resinous content— and to what Singer (1986) describes as oil-producing *sensu*  
594 Fayoid, but with the particularities described here and without the positive sulfovainillin  
595 reaction. States: 0: present, 1: absent.
- 596 25.- Form of the basidia. The variation observed during the present study permitted recognition  
597 of two forms or general profiles of basidia: cylindrical and clavate. These terms correspond to  
598 those described by Kirk *et al.* (2001). States 0: clavate, 1: cylindrical.

599 26.-Base of clavate basidia. Clavate basidia exhibit variation in the size of the base. Variation  
600 of the size was codified as an independent character because it refers to a property or feature of  
601 an anatomical region particular to clavate basidia and is not homologous with terete basidia (De  
602 Pinna, 1991; De Luna and Mishler, 1996; Rieppel and Kearney, 2002; Grant and Kluge, 2004).  
603 Additionally, this codification reflects the detailed variation observed as it describes properties  
604 with independent variation. The size of the basidia exhibits variation logically independent of  
605 the form and thus can be codified as an independent character (Hawkins *et al.*, 1997; Hawkins,  
606 2000; O'Keefe and Wagner, 2001; Rieppel and Kearney, 2002). States 0: short, 1: long.

607 27.-Geniculate basidia. Geniculate basidia are those that exhibit a point of inflection in the  
608 middle part, and thus a marked bend giving the appearance of a flexed knee. This bend  
609 conspicuously deforms the profile of the basidia allowing them to be clearly differentiated. This  
610 pattern corresponds to that described in various species of *Clavulinopsis* by Petersen (1968).  
611 Geniculate basidia do not constitute a pattern or form homologous in the phylogenetic sense  
612 (de Pinna, 1991) to the previously described forms of basidia (see character 24), since both  
613 structures are simultaneously present in the same basidiome and thus constitute independent  
614 characters by the conjunction test (Patterson, 1988; Rieppel, 1988; De Luna and Mishler, 1996;  
615 Rieppel and Kearney, 2002; Grant and Kluge, 2004). States: 0: present 1: absent.

616 28.-Orientation of the achromatic spindle. Juel (1898) described two basic patterns of  
617 orientation of the meiotic spindle of basidia during meiosis: chiastic —transversal to the  
618 principal axis and situated in the apex— and stictic —parallel to the principal axis and situated  
619 in the middle. Boidin (1958) recognized an intermediate pattern which he called hemichiastic;  
620 Donk (1964) later qualified this as a homologous variant of the chiastic form. In the present  
621 study only the chiastic and stictic patterns were considered, given that those are the only  
622 patterns reported for the species studied. States 0: chiastic, 1: stictic.

623 29.-Four remaining nuclei. After meiosis a third nuclear division sometimes occurs, producing  
624 a total of eight nuclei. In some species four of these nuclei disintegrate and are termed



625 remaining nuclei (Penancier, 1961). This pattern has been reported for several of the species  
626 considered in the present study and corresponds to that described as post-meiotic pattern "A" by  
627 Duncan and Galbraith (1972) and to that described by Kühner (1977). The data available for the  
628 species considered in the present study only allowed recognition of the presence of a third  
629 division —exhibiting pattern "A"— and the absence of this division (only four nuclei form);  
630 this character was thus codified as a nominal variably (Hawkins, 2000). States: 0: present, 1:  
631 absent.

632

633 *Characters of the basidiospores.*

634

635 30.-Spore form. The variation observed during the present study allowed recognition of three  
636 spore forms: globose, subglobose, and elongate. States were assigned qualitatively, excluding  
637 the deformations produced by ornamentation when present, and correspond to the forms  
638 described by Kirk *et al.* (2001). Elongated spores correspond to the fusiform or ellipsoid forms  
639 described by Kirk *et al.* (2001). States: 0: subglobose, 1: spherical, 2: elongate.

640 31.-Size of the hilar appendix. The hilar appendix —also called the apicule, sterigmal appendix  
641 or apophysis (Kirk *et al.*, 2001; Clémenton *et al.*, 2004)— is the small conical or papilla-  
642 shaped projection which is the point of connection between the spore and the sterigma. This  
643 structure is involved in the active liberation of the spores (Clémenton *et al.*, 2004). Based on  
644 the observed variation in the species studied, two qualitative states were recognized to describe  
645 the size of the appendix. States 0: prominent 1: inconspicuous.

646 32.-Thickness of the spore wall. The species considered in the present study do not exhibit  
647 significantly thickened spore walls, but some species show a slight thickening. Based on the  
648 observed variation two qualitative states were recognized. States 0: slightly thickened, 1: thin.

649 33.-Smooth spores. Spore ornamentation has been a relevant taxonomic character for  
650 *Ramariopsis* (Corner, 1950), but several studies have shown that ornamentation can be derived

651 from different layers of the spore wall. Treating the presence of ornamentation as homologous  
652 in different taxa could thus fail the test of similarity (Rieppel, 1988; Nelson, 1994; Rieppel  
653 and Kearny, 2002). The presence of smooth spores —spores without modifications or  
654 deformations in the wall— was observed in preparations mounted in 5% KOH using a bright  
655 field light microscope at 1000x magnification. States 0: present, 1: absent.

656 34.-Ultrastructure of spore ornamentation. The spore wall has been characterized in different  
657 studies using different sources of information —light and electron microscopy— that generated  
658 different terms to denominate the ultrastructural patterns observed (Clémenton *et al.*, 2004). It  
659 is known that seemingly similar forms can exhibit different ultrastructural patterns (Clémenton  
660 *et al.*, 2004), and as such regarding these forms as homologous sensu de Pinna (1991) would  
661 be incorrect by the test of similarity (Rieppel and Kearney, 2002; Grant and Kluge, 2004).  
662 Based on this knowledge, the ultrastructure of the ornamentation was codified instead of the  
663 morphological patterns observed. In the present study the nomenclature of Pegler and Young  
664 (1985) was used, which also corresponds to the descriptions of Hawksworth *et al.* (1995).  
665 States 0: tunica, 1: corium.

666 35.-Cyanophyllic reaction of the spores. For the present study a cyanophyllic reaction was  
667 considered positive when the wall of the spore stains with cotton blue, following the  
668 nomenclature proposed by Kotlaba and Pouzar (in Donk, 1964). During the present study the  
669 reagent was prepared dissolving 1.6 g of cotton blue in 10 ml of lactic acid. After adding the  
670 reagent, the preparation was heated until boiling and then left to cool for 10 minutes before  
671 observations were made. States 0: positive, 1: negative.

672 36.- Pattern of cyanophylly in the spores. The positive reaction to cotton blue (cyanophylly)  
673 exhibits two patterns of coloring: homogeneous or more intense in the ornamentation. States 0:  
674 homogeneous coloring 1: ornamentation more cyanophyllic.

675

676 **References**

677

678 Arpin, N. and Fiasson, J.-L. (1971). The pigments of basidiomycetes: their chemiotaxonomic  
679 interest. In: *Evolution in the higher Basidiomycetes. An international symposium* (ed.  
680 R.H. Petersen). The University of Tennessee Press, Knoxville: 63-95.

681 Barkman, T.J. (2001). Character coding of secondary chemical variation for use in phylogenetic  
682 analyses. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 1-20.

683 Bataile, F. (1969). *Les reactions macrochimiques chez les champignons*. J.Cramer, Vaduz.

684 Bertagnolli, R. and Novello, L.A. (2004). Su alcune *Clavariaceae* interessanti. *Revista di*  
685 *Mycologia* XLVIII:3-24.

686 Boidin, J. (1958). Essai biotaxonomique sur les hydnés résupinés et les corticiés: etude  
687 spéciale du comportement nucléaire et des mycéliums. *Revue de Mycologie Mémoire* 6:  
688 1-387.

689 Boddy, L. (1999). Saprophytic cord-forming fungi: meeting the challenge of heterogeneous  
690 environments. *Mycologia* 91: 13-32.

691 Bremer, K. (1994). Branch support and tree stability. *Cladistics* 10: 295-304.

692 Brower, A.V.Z. and Schawaroch, V. (1996). Three steps in homology assesment. *Cladistics*  
693 12: 265-272.

694 Cairney, J.W.G., Jennings, D.H. and Agerer, R. (1991). The nomenclature of fungal multi-  
695 hyphal linear aggregates. *Cryptogamic Botany* 2: 246-251.

696 Carpenter, J. M. (1988). Choosing among equally parsimonious cladograms. *Cladistics* 4: 291-  
697 296.

698 Carpenter, J. M. (1994). Successive weighting, reliability and evidence. *Cladistics* 10: 215-  
699 220.

- 700 Claus, G. (1983). L' ancient genere *Clavaria* Fr. (ss. lato B.-C.). Documents Mycologies  
701 13:17-43.
- 702 Cléménçon, H., Emmett, V. and Emmett, E.E. (2004). *Cytology and plectology of the*  
703 *Hymenomyces*. J. Cramer, Berlin.
- 704 Coker, W.C. (1923). *The clavarias of the United States and Canada*. The University of North  
705 Carolina Press, North Carolina.
- 706 Corner, E.J.H. (1950). A monograph of *Clavaria* and allied genera. Annals of Botany  
707 Memmoirs 1: 1-740.
- 708 Corner, E.J.H. (1957). Some clavarias from Argentina. Darwiniana 11: 193-206.
- 709 Corner, E.J.H. (1966). *A monograph of cantharelloid fungi*. Oxford University Press, Oxford.
- 710 Corner, E.J.H. (1967a). Clavarioid fungi of Solomond Islands. Proceedings of the Linnean  
711 Society of London 178: 91-106.
- 712 Corner, E.J.H. (1967b). Notes on *Clavaria*. Transactions of British Mycological Society 50:  
713 33-44.
- 714 Corner, E.J.H. (1970). Supplement to "A monograph of *Clavaria* and allied genera". J.  
715 Cramer, Stuttgart.
- 716 De Luna, E. and Mishler, B. (1996). El concepto de homología filogenética y la selección de  
717 caracteres taxonómicos. Boletín de la Sociedad Botánica de México 59: 131-146.
- 718 De Pinna, M.C.C. (1991). Concepts and test of homology in the cladistic paradigm. Cladistics  
719 7: 367-394.
- 720 DeBry, R.W. and Olmstead, R.G. (2000). A simulation study of reduced tree-search effort in  
721 bootstrap resampling analysis. Systematic Biology 49: 171-179.
- 722 Donk, M.A. (1933). Revision der Niederländischen Homobasidiomycetae–Aphylophoraceae II.  
723 Mededeelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijks Universiteit in  
724 Utrecht 9: 1-278.
- 725 Donk, M.A. (1954). The generic names proposed for Hymenomyces III. Clavariaceae.

- 726 Reinwardtia 2: 441-493.
- 727 Donk, M.A. (1964). A conspectus of the families of Aphyllophorales. *Persoonia* 3: 199-324.
- 728 Duncan, E.G. and Galbraith, M.H. (1972). Post-meiotic events in the Holobasidiomycetidae.  
729 *Transactions of the British Mycological Society* 60: 463-470.
- 730 Eriksson, T. (1999). *AutoDecay, version 4.0*. Bergius Foundation, Royal Academy of  
731 Sciences.
- 732 Fiasson, J.-L., Petersen, R.H., Bouchez, M.-P. and Arpin, N. (1970). Contribution  
733 biochimique à la connaissance taxonomique des certains Champignons cantareloïdes et  
734 clavarioides. *Revue de Mycologie* 34: 357-364.
- 735 Farris, J.S. (1969). A successive approximation approach to character weighting. *Systematic*  
736 *Zoology* 18: 374-385.
- 737 Farris, J.S. (1983). The logical basis of phylogenetic analysis. In: *Advances in cladistics*,  
738 *Volume 2* (eds. N.I. Platnic and V.A. Funk). Columbia University Press, New York: 7-  
739 36.
- 740 Feibelman, T.P., Doudrick, R.L., Cibula, W.G. and Bennett, J.W. (1997). Phylogenetic  
741 relationships within the *Cantharellaceae* inferred from sequence analysis of the nuclear  
742 large subunit rDNA. *Mycological Research* 101: 1423-1430.
- 743 Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap.  
744 *Evolution* 39: 738-791.
- 745 Frisvad, J.C., Bridge, P.D. and Arora, D.K. (1998). *Chemical fungal taxonomy*. Marcel  
746 Dekker, New York.
- 747 Gill, M. (2003). Pigments of fungi (Macromycetes). *Natural Products Reports* 20: 615-639.
- 748 Gill, M. and Steglich, W. (1987). Pigments of fungi (Macromycetes). *Progress in the*  
749 *Chemistry of Organic Natural Products* 51: 1-317.

- 750 García-Sandoval, R., Villegas, M. and Cifuentes, J. (2002). New records of *Ramariopsis* from  
751 Mexico. *Mycotaxon* 82: 323-333.
- 752 Gómez, L.D. (1972). Fungi costarricense nonnulli, 1.: "Clavariaceae" novae. *Darwiniana* 17:  
753 393-396.
- 754 Grant, T. and Kluge, A.G. (2003). Data exploration in phylogenetic inference: scientific,  
755 heuristic, or neither. *Cladistics* 19: 379-418.
- 756 Grant, T. and Kluge, A.G. (2004). Transformation series as an ideographic character concept.  
757 *Cladistics* 20: 23-31.
- 758 Hansen, L. and Knudsen, H. (1997). *Nordic macromycetes. Vol. 3. Heterobasidioid,*  
759 *Aphyllorphoroid and Gasteromycetoid Basidiomycetes.* Nordsvamp, Copenhagen.
- 760 Hauser, D.L. and Presch, W. (1991). The effect of ordered characters on phylogenetic  
761 reconstruction. *Cladistics* 7: 243-265.
- 762 Hawkins, J.A. (2000). A survey of primary homology assesment: different botanist percibe and  
763 define characters in diferent ways. In *Homology and Systematics* (eds. R. Scotland and  
764 R.T. Pennington). Taylor & Francis, London: 22-53.
- 765 Hawkins, J.A., Hughes, C.E. and Scotland, R.W. (1997). Primary homology assesment,  
766 characters and character states. *Cladistics* 13: 275-283.
- 767 Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N. (1995). *Ainsworth & Bisby's*  
768 *Dictionary of the Fungi.* 8<sup>th</sup> ed. International Mycological Intitute, CAB International,  
769 Wallingford.
- 770 Hennig, W. (1966). *Phylogenetic systematics.* University of Illinois Press, Urbana.
- 771 Hibbett, D.S., Pine, E., Langer, E., Langer, G. and Donoghue, M.J. (1997). Evolution of  
772 gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proceedings of*  
773 *the National Academy of Sciences USA* 94: 12002-12006.
- 774 Hibbett, D.S. and Thorn, R.G. (2001). Basidiomycota: Homobasidiomycetes. In: *The Mycota*

- 775 VII. *Systematics and Evolution. Part B.* (eds. D.J. McLaughlin, E.G. McLaughlin and  
776 P.A. Lemke). Springer, Berlin: 121-168.
- 777 Hopple, J.S.J. and Vilgalys, R. (1999). Phylogenetic relationships in the mushroom genus  
778 *Coprinus* and dark-spored based on sequence data from the nuclear gene coding for the  
779 large ribosomal subunit RNA: divergent domains, outgroups, and monophyly.  
780 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13: 1-19.
- 781 Hubbard, M. and Petersen, R.H. (1979). Studies in basidial nuclear behavior of selected species  
782 of clavarioid and cantharelloid fungi. *Sydowia, Bieheft* 8:209-223.
- 783 Humpert, A.J., Muench, E.L., Giachini, A.J., Castellano, M.A. and Spatafora, J.W. (2001).  
784 Molecular phylogenetics of *Ramaria* and related genera: evidence from nuclear large  
785 subunit and mitochondrial small subunit rDNA sequences. *Mycologia* 93: 465-477.
- 786 Jenner, R.A. (2004). Accepting partnership by submission? Morphological phylogenetics in a  
787 molecular millennium. *Systematic Biology* 53: 333-342.
- 788 Juel, H.O. (1898). Die Kernteilungen in den Basidien un die Phylogenie der Basidiomyceten.  
789 *Jahrbunch fur Wissenschaftliche Botanik* 32: 361-388.
- 790 Jülich, W. (1981). *Higer taxa of the Basidiomycetes*. J. Cramer, Leiden.
- 791 Jülich, W. (1985). Bemerkungen zu *Clavulinopsis* und *Ramariopsis*. *International Journal of*  
792 *Mycology and Lichenology* 2: 119-122.
- 793 Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.D. and Stalpers, J.A. (2001). *Ainsworth & Bisby's*  
794 *Dictionary of the Fungi*. 9<sup>th</sup> ed. International Mycological Institute, CAB International,  
795 Wallingford.
- 796 Kluge, A.G. (2003). The repugnant and the mature in phylogenetic inference: atemporal  
797 similarity and historical identity. *Cladistics* 19: 356-368.
- 798 Kühner, R. (1977). Variation of nuclear behaviour in the Homobasidiomycetes. *Transactions of*  
799 *the British Mycological Society* 68: 1-16.

- 800 Larsson, K. H., Larsson, E. and Koljalg, U. (2004). High phylogenetic diversity among  
801 corticioid homobasidiomycetes. *Mycological Research* 108: 983-1002.
- 802 Limpscomb, D.L. (1992). Parsimony, homology and the analysis of multistate characters.  
803 *Cladistics* 8:45-65.
- 804 Mabee, P.M. (1993). Phylogenetic interpretation of ontogenetic change: sorting out the actual  
805 and artefactual in an empirical case study of centrarchid fishes. *Zoological Journal of*  
806 *the Linnean Society* 107: 175-291.
- 807 Mickevich, M. (1982). Transformation series analysis. *Systematic Zoology* 31: 461-478.
- 808 Mickevich, M.F. and Limpscomb, D. (1991). Parsimony and the choice between different  
809 transformations for the same character set. *Cladistics* 7: 111-139.
- 810 Mort, M.E., Soltis, P.S., Soltis, D.E. and Mabry, M.L. (2000). Comparison of three methods  
811 for estimating internal support on phylogenetic trees. *Systematic Biology* 49: 160-171.
- 812 Nelson, G. (1994). Homology and systematics: the hierarchical basis of comparative biology.  
813 In: *Homology* (ed. B.K. Hall). Academic Press, San Diego: 102-149.
- 814 Nixon, K.C. (2002). WinClada ver 1.00.08 Published by the author, Itaca.
- 815 Nixon, K.C. and Carpenter, J.M. (1993). On outgroups. *Cladistics* 9: 413-426.
- 816 O'Keefe, F.R. and Wagner, P.J. (2001). Inferring and testing hypotheses of cladistic character  
817 dependence by using character compatibility. *Systematic Biology* 50: 657-675.
- 818 Patterson, C. (1988). Homology in classical and molecular biology. *Molecular Biology and*  
819 *Evolution* 5: 603-625.
- 820 Pegler, D.N. and Young, W.K. (1985). Basidiospore structure in *Ramariopsis* (Clavariaceae).  
821 *Transactions of the British Mycological Society* 84: 207-214.
- 822 Pegler, D.N. (1996). Hyphal analysis of basidiomata. *Mycological Research* 100: 129-142.
- 823 Penancier, N. (1961). Recherches sur l'orientation des fuseaux des fuseaux mitotiques dans la  
824 baside des Aphyllophorales. *Travaux du Laboratoire La Jaysinia* 2: 57-71.



- 825 Petersen, R.H. (1964). Notes on clavarioid fungi. II. Corrections in the genera *Ramariopsis* and  
826 *Clavaria*. Bulletin of the Torrey Botanical Club 91: 274-280.
- 827 Petersen, R.H. (1965). Notes on clavarioid fungi. IV. Nomenclature and synonymy of  
828 *Clavulinopsis pulchra* and *Clavaria laeticolor*. Mycologia 58: 201-207.
- 829 Petersen, R.H. (1966). Notes on clavarioid fungi. V. Emendation and additions to  
830 *Ramariopsis*. Mycologia 58: 201-207.
- 831 Petersen, R.H. (1967a). Type studies in Clavariaceae. Sydowia Annales Mycologici Serie II.  
832 21: 105-122.
- 833 Petersen, R.H. (1967b). Evidence on the interrelationship of the families of the clavarioid  
834 fungi. Transactions of the British Mycological Society 50: 641-648.
- 835 Petersen, R.H. (1968). *The genus Clavulinopsis in North America*. Mycologia Memoir 2.  
836 Hafner Publishing Co., New York.
- 837 Petersen, R.H. (1969). Notes on clavarioid fungi. X. New species and type studies in  
838 *Ramariopsis*, with a key to species in North America. Mycologia 61: 549-559.
- 839 Petersen, R.H. (1971a). Notes on clavarioid fungi. IX. Addendum to *Clavulinopsis* in North  
840 America. Persoonia 6: 219-229.
- 841 Petersen, R.H. (1971b). Type studies on Clavarioid fungi IV. Specimens from Herbarium Fries  
842 at Uppsala. Friesia 9: 369-388.
- 843 Petersen, R.H. (1976). The correct name for the type species of *Clavulinopsis*. Taxon 25: 515-  
844 516.
- 845 Petersen, R.H. (1978a). Notes on clavarioid fungi. XV. Reorganization of *Clavaria*,  
846 *Clavulinopsis* and *Ramariopsis*. Mycologia 70: 660-671.
- 847 Petersen, R.H. (1978b). The genus *Ramariopsis* in South-eastern Australia. Australian Journal  
848 of Botany 26: 425-431.
- 849 Petersen, R.H. (1978c). The genus *Clavaria* in South-eastern Australia. Australian Journal of  
850 Botany 26: 415-424.

- 851 Petersen, R.H. (1978d). Type studies in clavarioid fungi. V. A few australian taxa. Mycotaxon  
852 7: 386-392.
- 853 Petersen, R.H. (1979). Notes in clavarioid fungi XVII. *Clavulinopsis* taxa in south-eastern  
854 Australia. Sydowia Annales Mycologichi Serie II 32: 209-223.
- 855 Petersen, R.H. (1980a). Type studies in the *Clavariaceae*. VI. Four pivotal types from the  
856 Pacific tropics. Mycotaxon 12: 281-216.
- 857 Petersen, R.H. (1980b). Type studies in clavarioid fungi. VI. The taxa described by Caspar van  
858 Overeem. Reinwardtia 9: 415-420.
- 859 Petersen, R.H. (1984). Type studies in the clavarioid fungi VIII. Persoonia 12: 225-237.
- 860 Petersen, R.H. (1985). Notes on clavarioid fungi. XIX. Colored illustrations of selected taxa,  
861 with comments on *Cantharellus*. Nova Hedwigia 42: 151-160.
- 862 Petersen, R.H. (1988a). *The clavarioid fungi of New Zealand*. DSIR Science Information  
863 Publishing Centre, Wellington.
- 864 Petersen, R.H. (1988b). Notes on clavarioid fungi. XXII. Three interesting South American  
865 collections. Mycologia 80: 571-576.
- 866 Petersen, R.H. (1989). Some clavarioid fungi from Northern China. Mycosistema 2: 159-173.
- 867 Petersen, R.H. and Olexia, P.O. (1967). Type studies in the clavarioid fungi I. The taxa  
868 described by Charles Horton Peck. Mycologia 59: 767-802.
- 869 Petersen, R.H. and Olexia, P.D. (1969). Notes on clavarioid fungi. XI. Miscellaneous notes on  
870 *Clavaria*. Canadian Journal of Botany 47: 1133-1142.
- 871 Pilát, A. (1971). Species nova turficola generis *Ramariopsis* (Donk) Corner: *Ramariopsis*  
872 *subartica* sp. nov. Ceska Mycologie 25:10-11.

- 873 Pine, E., Hibbett, D.S. and Donoghue, M.J. (1999). Phylogenetic relationships of canthareloid  
874 and clavarioid Homobasidiomycetes based on mitochondrial and nuclear rDNA  
875 sequences. *Mycologia* 91: 944-963.
- 876 Poe, S. and Wiens, J.J. 2000. Character selection and the methodology of morphological  
877 phylogenetics. In: *Phylogenetic Analysis of Morphological Data* (ed. J.J. Wiens)  
878 Smithsonian Institution Press, Washington: 20-36.
- 879 Restivo, J.H. and Petersen, R.H. (1976). Studies on nuclear division and behavior within  
880 basidial I. *Hydnum umbilicatum*. *Mycologia* 68: 666-672.
- 881 Rieppel, O. (1988). *Fundamentals of comparative biology*. Birkhäuser Verlag, Basel.
- 882 Rieppel, O. and Kearney, M. (2002). Similarity. *Biological Journal of the Linnean Society*  
883 75: 59-82.
- 884 Roth, L. (1988). The biological basis of homology. In: *Ontogeny and systematics* (ed. C.J.  
885 Humphries). Columbia University Press, New York: 1-26.
- 886 Schild, E. (1971). *Fungorum rariorum icones colorate. Pars V. Clavariales*. J. Cramer, Lehre.
- 887 Singer, R. (1945). New genera of fungi-II. *Lloydia* 8: 138-144.
- 888 Singer, R. (1986). *The Agaricales in modern taxonomy*, 4<sup>th</sup> edition. Koeltz Scientific Books,  
889 Koenigstein.
- 890 Steglich, W., Steffan, B., Stroech, K. and Wolf, M. (1984). Pistillarin, ein charakteristischer  
891 Inhaltsstoff der Herkuleskeule (*Clavariadelphus pistillaris*) und einiger *Ramaria*-Arten  
892 (Basidiomycetes). *Zeitschrift für Naturforschung* 39c: 10-12.
- 893 Swofford, D.L. (2002). PAUP\*. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods)*,  
894 version 4.0b10. Sinauer.
- 895 Thind, K.S. (1961). *The Clavariaceae of India*. Indian Council of Agricultural Research, New  
896 Delhi.

- 897 Templeton, A.R. (1983). Phylogenetic inference from restriction endonuclease cleavage site  
898 maps with particular reference to the evolution of humans and apes. *Evolution* 37: 221-  
899 244.
- 900 Tyler, V.E.J. (1971). Chemiotaxonomy in the Basidiomycetes. In: *Evolution in the higher*  
901 *Basidiomycetes* (ed. R.H. Petersen). The University of Tennessee Press, Knoxville: 29-  
902 58.
- 903 Villegas, M., Luna, E.D., Cifuentes, J. and Estrada-Torres, E. (1999). Phylogenetic studies in  
904 *Gomphaceae sensu lato* (Fungi: Basidiomycetes). *Mycotaxon* 70: 127-147.
- 905 Weinstein, R.N., Pfister, D.H. and Iturriaga, T. (2002). A phylogenetic study of the genus  
906 *Cookeina*. *Mycologia* 94: 673-682.
- 907 Wiens, J.J. (2004). The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Systematic*  
908 *Biology* 53: 653-661.

909

910 **Fig. 1.** Four species representative of the variation observed in *Ramariopsis* and  
911 *Clavulinopsis*. a) *Clavulinopsis corniculata*, b) *Ramariopsis pulchella*, c)  
912 *Ramariopsis kunzei* and d) *Clavulinopsis fusiformis*. Photos a: J. Cifuentes, b:  
913 A. Estrada-Torres, c: J. Cifuentes, d: J. Cifuentes.

914

915 **Fig. 2.** Strict consensus of the 12 trees of 80 steps (CI 0.4875, RI 0.7153, RC  
916 0.3487) found during the branch and bound search. Numbers above branches  
917 indicate Bremer support indices, and numbers below branches indicate  
918 bootstrap support values.

919

920 **Fig. 3.** One of the most parsimonious trees encountered during the branch and  
921 bound search, showing the character states that can be unambiguously

922 optimized. Numbers above dots indicate the character and numbers below dots  
923 the character state. Apomorphic states are shown in black dots and homoplastic  
924 states in with dots. Selected character transformations are illustrated close to the  
925 branch were change occur (see appendix for character descriptions).

926

927 **Fig. 4.** Schematic representation of the ultrastructural patterns reported by  
928 Pegler y Young (1985) in spores of species of the genera: a) *Ramariopsis*, b)  
929 *Scytinopogon* and c) *Clavulinopsis*.

930

931 **Table 1.** List of specimens examined . Herbaria: E = Royal Botanic Garden,  
932 Edinburgh, Scotland, United Kingdom; ENCB = Escuela Nacional de Ciencias  
933 Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México; FCME = Facultad de  
934 Ciencias, UNAM, México; IBUG = Instituto de Botánica, Universidad de  
935 Guadalajara, México; L = Nationaal Herbarium Nederland, Leiden University  
936 Branch, Netherlands; MEXU = Instituto de Biología, UNAM, México; TENN =  
937 University of Tennessee, Knoxville, EUA; TLXM = Centro de Investigación en  
938 Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México; XAL =  
939 Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, México.

940

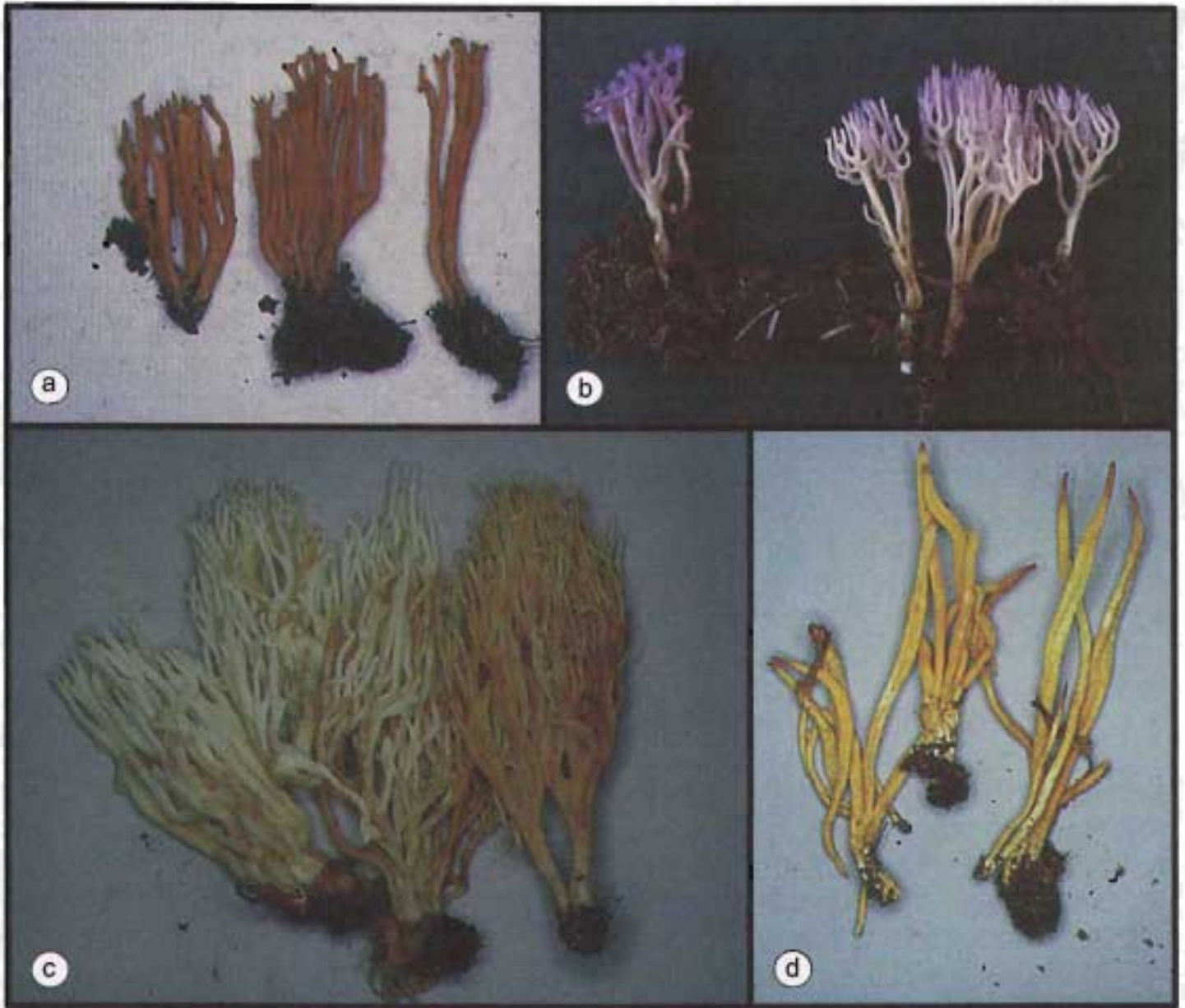
941 **Table 2.** Data matrix for the 23 species and 36 characters. ? = lost data, – =  
 942 inapplicable data. For a description of the characters and character states see  
 943 Appendix.  
 944

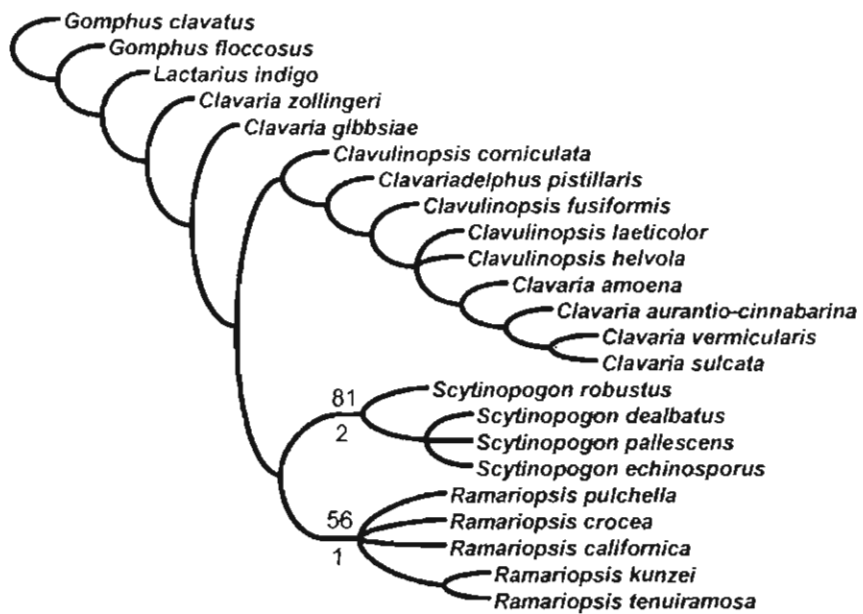
Species	Specimens
<i>Clavaria amoena</i>	Comer CLAVARIA-4 (E); Donk 13690 (L)
<i>Clavaria aurantio-cinnabarina</i>	Cifuentes 2004-94 (FCME); Comer RSNB-8376 (L); Comer RSNB-8378A (L); Comer ICTA-1501 (E)
<i>Clavaria gibbsiae</i>	Comer 442 (L); Comer 24165 (L); Comer-Singer 24165 (E);
<i>Clavaria sulcata</i>	Hongo 705 (L); Comer s.n. (E); Comer 1676 (E)
<i>Clavaria vermicularis</i>	Brit. Mycol. Sco. 12099 (L); Kotlaba s.n. (L); Comer NG 192 (E); Comer RSS 1439 (E)
<i>Clavaria zollingeri</i>	Comer s.n. (E); Comer s.n. (E)
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	Meyer 3700 (TENN); Petersen 4920 (TENN)
<i>Clavulinopsis corniculata</i>	Piepenbroek and Piepenbroek 876 (L); Mass Geesteranus 14580 (L); Villegas 1144 (FCME); López 782 (ENCB); Aranda-Breceda 4 (FCME); Comer and Thind 206 (E)
<i>Clavulinopsis fusiformis</i>	Guzmán U-482 (XAL); Cooke and Cooke 45644 (XAL); Cooke and Cooke 39815 (XAL); Hongo 764 (L); Villegas 1313 (FCME); Villegas 1305 (FCME); Heredia 371 (XAL); Heredia 371 (XAL); Santillan s.n (XAL); Guzmán and Ventura 5835 (ENCB); Ventura 13281 (ENCB); Villegas 1438 (FCME)
<i>Clavulinopsis helvola</i>	Bas 6730 (L); Maas Geesteranus 13887 (L)
<i>Clavulinopsis laeticolor</i>	Comer 452 (L); Donk 13896 (L); Villegas 1803 (FCME); Hernández 188 (IBUG); Altamirano 628 (TLMX); Villegas 1450 (FCME).
<i>Gomphus clavatus</i>	Petersen 1797 (TENN); Arias-Montes s.n (FCME)
<i>Gomphus floccosus</i>	Cifuentes 111 (FCME); Moreno-Fuentes 418 (FCME); Villegas 1109 (FCME); Fajardo s.n (FCME).
<i>Lactarius indigo</i>	Mendoza 9-09-1983 (FCME)
<i>Ramariopsis californica</i>	Petersen 3006 (TENN); Petersen 280109 (TENN)
<i>Ramariopsis crocea</i>	Loerakker s.n. (L); Jalink and Nauta 6384 (L); de Vries s.n. (L)
<i>Ramariopsis kunzei</i>	Bas 5105 (L); Comer RSNB-8291; Petersen 3909 (TENN); Guzmán U-399 (ENCB); Petersen s.n. (TENN); Villegas 1804 (FCME); Pérez-Ramírez 280 (FCME); Rodríguez s.n. (ENCB); Guzmán-

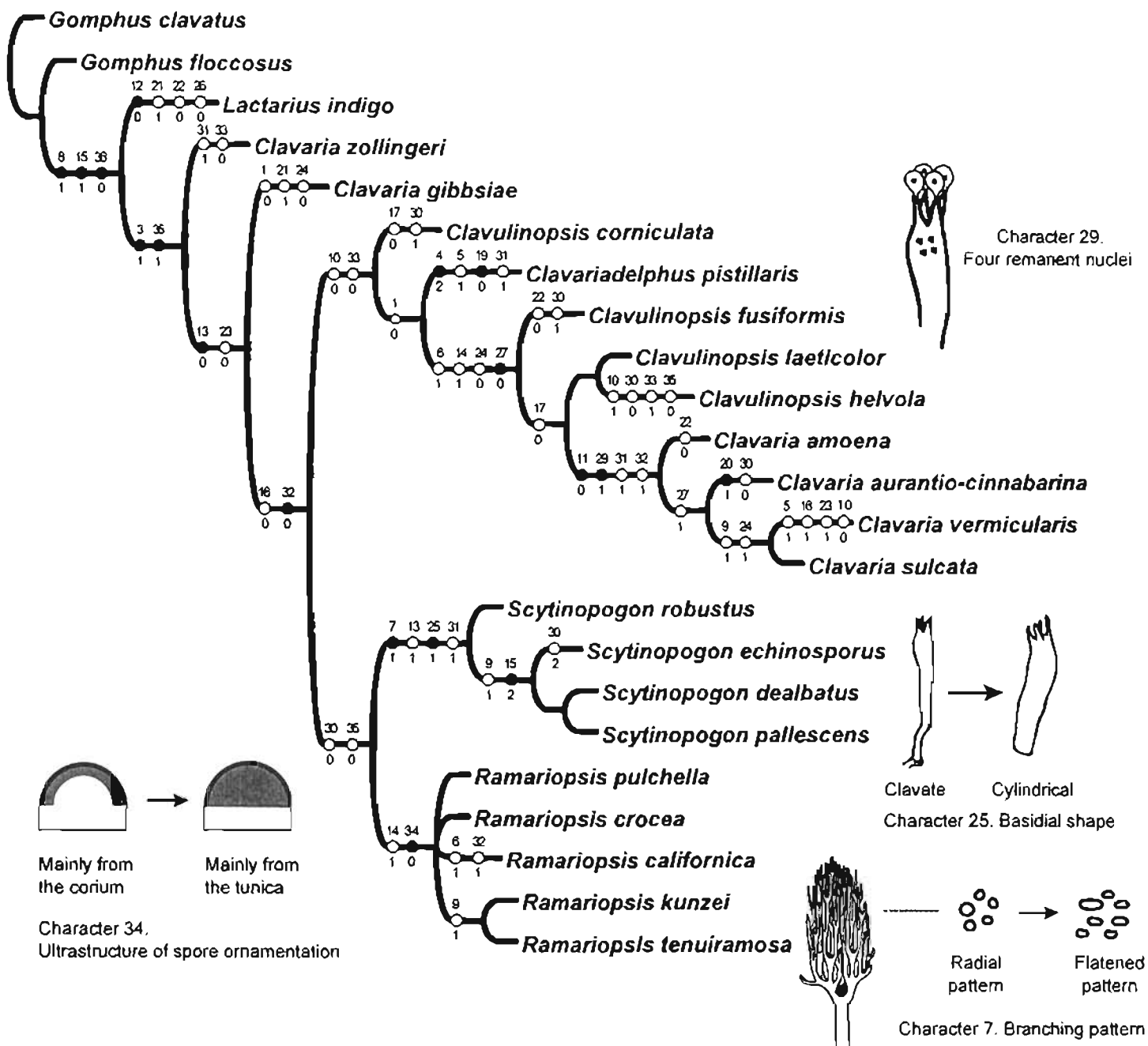
	Dávalos 2848 (IBUG); Guzmán 22666 (ENCB); Guzmán 6969 (ENCB); Valenzuela 1197 (ENCB); Comer NG-237 (E); Comer NG-229 (E); Ruiz and Herrera 3494 (MEXU).
<i>Ramariopsis pulchella</i>	Comer NG-217 (E); Altamirano 148 (TLMX); Altamirano 157 (TLMX)
<i>Ramariopsis tenuiramosa</i>	Donk 11421 (L); Mass Geesteranus 9576 (L); Geesink 1504 (L); Comer NG-124 (E)
<i>Scytinopogon dealbatus</i>	Comer s.n. (E)
<i>Scytinopogon echinosporus</i>	Comer 1517 (E)
<i>Scytinopogon robustus</i>	Cifuentes 676 (FCME); Cifuentes 2004–26 (FCME)
<u><i>Scytinopogon pallescens</i></u>	<u>Martinez-C. s.n (ENCB)</u>

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3		
<i>Clavaria amoena</i>	0	1	1	3	0	1	-	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	1	1	0	?	1	?		
<i>Clavaria aurantio-cinnabarina</i>	0	1	1	3	0	1	-	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	?	1	?		
<i>Clavaria gibbsiae</i>	0	1	1	3	0	0	-	1	0	1	?	1	0	?	1	1	-	0	-	0	1	1	0	0	0	1	1	?	?	2	0	1	1	?	1	?		
<i>Clavaria sulcata</i>	0	1	1	3	0	1	-	1	1	1	?	1	0	-	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	?	?	2	1	1	0	?	1	?		
<i>Clavaria vermicularis</i>	0	1	1	3	1	1	-	1	1	1	?	1	0	-	1	1	-	0	-	0	0	1	1	1	0	1	1	?	?	2	1	1	0	?	1	?		
<i>Clavaria zollingeri</i>	1	0	1	3	-	0	0	1	0	1	?	1	1	0	1	1	-	0	-	0	0	1	1	1	0	1	1	?	?	2	1	1	0	?	1	?		
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	0	1	1	2	1	0	-	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	?	2	1	0	0	?	1	?		
<i>Clavulinopsis corniculata</i>	1	0	1	3	-	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	?	1	?		
<i>Clavulinopsis fusiformis</i>	0	1	1	3	0	1	-	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	?	1	?		
<i>Clavulinopsis helvola</i>	0	1	1	3	0	1	-	1	0	1	?	1	0	1	1	0	0	?	1	0	0	1	0	0	0	1	0	?	?	0	0	0	1	1	0	0		
<i>Clavulinopsis laeticolor</i>	0	1	1	3	0	1	-	1	0	0	1	1	0	?	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	?	1	?		
<i>Gomphus clavatus</i>	1	1	0	1	-	0	-	0	1	1	1	1	1	-	0	0	1	?	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	?	2	0	1	1	?	0	1		
<i>Gomphus floccosus</i>	1	1	0	1	-	0	-	0	0	1	?	1	1	0	0	1	-	?	-	0	0	1	1	1	0	1	1	?	?	2	0	1	1	?	0	1		
<i>Lactarius indigo</i>	1	1	0	0	-	0	-	1	1	1	?	0	1	-	1	1	-	1	-	0	1	0	1	1	0	1	1	?	?	2	0	1	1	?	1	0		
<i>Ramariopsis californica</i>	1	0	1	3	-	1	0	1	0	1	?	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	?	?	0	0	1	1	0	0	1	?		
<i>Ramariopsis crocea</i>	1	0	1	3	-	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	
<i>Ramariopsis kunzei</i>	1	0	1	3	-	0	0	1	1	1	?	1	0	-	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	?	?	0	0	0	1	0	0	1		
<i>Ramariopsis pulchella</i>	1	0	1	3	-	0	0	1	0	1	?	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	?	?	0	0	0	1	0	0	1		
<i>Ramariopsis tenuiramosa</i>	1	0	1	3	-	0	0	1	1	1	?	1	0	-	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	?	?	0	0	0	1	0	0	1
<i>Scytinopogon dealbatus</i>	1	0	1	3	-	0	1	1	1	1	?	1	1	-	2	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	-	1	?	?	0	1	0	1	?	0	0
<i>Scytinopogon echinosporus</i>	1	0	1	3	-	0	1	0	1	1	?	1	1	-	2	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	-	1	?	?	2	1	0	1	?	0	0
<i>Scytinopogon robustus</i>	1	0	1	3	-	0	1	0	0	1	?	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	-	1	?	?	0	1	0	1	?	0	0	0	
<i>Scytinopogon pallescens</i>	1	0	1	3	-	0	1	1	1	1	?	1	1	-	2	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	-	1	?	?	0	1	0	1	?	0	0	0	

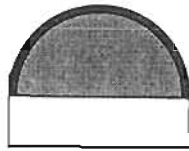




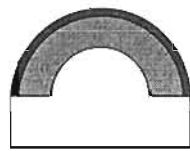




Myxosporium ■  
Tunica ▣  
Corium □



(a)



(b)



(c)

## 5. New records of *Ramariopsis* from Mexico

García-Sandoval, R., M. Villegas, and J. Cifuentes. 2002. New records of *Ramariopsis* from Mexico. *Mycotaxon* 82:323-333.

## MYCOTAXON

Volume LXXXII, pp. 323-333

April-June 2002

## NEW RECORDS OF RAMARIOPSIS FROM MEXICO

RICARDO GARCIA-SANDOVAL MARGARITA VILLEGAS &amp; JOAQUIN CIFUENTES

Herbario FCME, UNAM

Apto. Postal 70-599, C.P. 04510, Cd. Universitaria, Mexico D.F., Mexico

e-mail: soleilmoon@correo.unam.mx

**Abstract**

Four species and one form are reported as new records of the genus *Ramariopsis* for Mexico. *Ramariopsis corniculata*, *R. fusiformis*, *R. laeticolor*, *R. laeticolor* f. *bulbispora* and *R. pulchella*. Taxonomic descriptions and commentaries are included for each species, and an overall discussion and commentaries about the genus taxonomy and its knowledge in Mexico is provided.

**Key words:** Aphyllophorales, Clavariaceae, taxonomy, biodiversity.

## INTRODUCTION

The genus *Ramariopsis* was first described by Corner (1950) who separated from the genus *Clavaria* those species having branched fruit bodies, whitish colors and spiny hyaline spores. Petersen (1966, 1969 & 1978) proposed an emendation in order to include species with smooth spores and simple fruit bodies. At present, no consensus exists regarding the taxonomic delimitation of the genus (Hawksworth *et al.*, 1995; Julich, 1981 & 1985), and there is no precise estimate of the number of species in the genus.

The present contribution is the first phase of a broader work on the phylogenetic systematics of the genus *Ramariopsis* carried out by the first author.

Prior to the realization of the present paper, only three records of *Ramariopsis* species in Mexico existed, mainly as part of local or regional lists, but only *R. kunzei* constitutes a valid record. In the other records, the samples belong to species of the genus *Clavaria*.

Species	Reported as	Reported by
<i>Ramariopsis corniculata</i> (Fr.) Petersen	<i>Clavulinopsis corniculata</i> (Fr.) Corner	Portugal <i>et al.</i> , 1985; Varela & Cifuentes, 1979
<i>Ramariopsis fusiformis</i> (Sow.: Fr.) Petersen	<i>Clavulinopsis fusiformis</i> (Sow.:Fr.) Corner	Moreno-Fuentes <i>et al.</i> , 1994
<i>Ramariopsis kunzei</i> (Fr.) Corner	<i>Ramariopsis kunzei</i> (Fr.) Corner	García-Romero <i>et al.</i> , 1970

**Table 1:** Species of the *Ramariopsis* genus reported from Mexico, previously to the present paper.

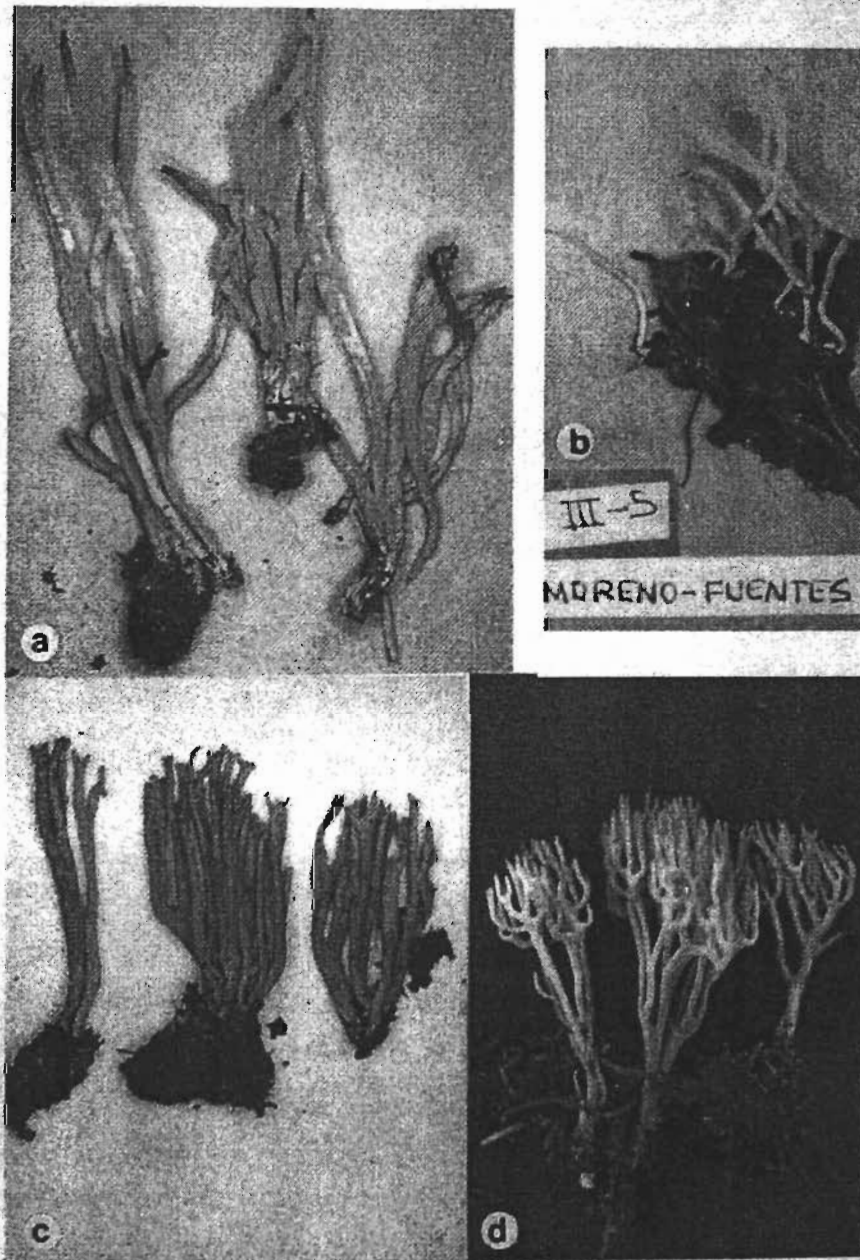


Plate 1: a) *Ramariopsis fusiformis*; b), *Ramariopsis laeticolor*; c) *Ramariopsis corniculata*; d) *Ramariopsis pulchella*.

326

Tramal hyphae monomitic, parallel, agglutinated, clamped, some inflated hyphae up to  $9.8\mu\text{m}$  wide; hyphae with walls slightly thickened downward to the base of the stipe. Subhymenial hyphae thin and loosely interwoven. Hymenium thickened; basidia on simple clubs, four spored, clamped, with straight sterigmata.

Spores  $4.9-7 \times (4.2)4.9-7\mu\text{m}$ , globose to slightly subglobose, hyaline, walls slightly thickened, uniguttulate, smooth at 1000x; hilar appendix prominent.

Fruit bodies cespitose to gregarious, terricolous. On oak forest or rain forest.

#### Commentary

This species has previously been reported in Mexico in the States of Hidalgo (Varela & Cifuentes, 1979) and Morelos (Portugal *et al.*, 1985), but a more extensive survey of the samples belonging to these records has shown that they do not belong to this species. In the case of the record of Hidalgo State (Pérez-Ramírez 1450) this presents simple club shaped fruit bodies, unclamped with elongated spores and exhibiting a negative reaction to iron salts. These features lead us to *Clavaria* as the correct taxonomical determination for this sample. The record from Morelos State (Portugal 305) shows branched lignicolous fruit bodies, with ellipsoid wrinkled spores of cyanophilous ornamentation. Based on these features we can place it within the genus *Ramaria* subgenus *Lentoramaria*.

Under the scanning electron microscope the spores of *R. corniculata* exhibit a slightly rough ornamentation, first observed by Pegler & Young (1985), who also pointed out the importance of good microscopic observations for this genus.

**Specimens examined:** GUERRERO: Mpio. of Taxco, Parque Cerro del Huizteco, Sept. 6, 1985, Delgado y Pérez-Ramírez 569 (FCME 13515). ESTADO DE MÉXICO: Mpio. of Temascaltepec, km 54 Toluca-Temascaltepec highway, detour to El Polvorin, Sept. 24, 1988, Villegas-Rios 1144 (FCME 14482).

*Ramariopsis fusiformis* (Sow.: Fr.) Petersen, 1978, *Mycologia* 70: 668.

■ *Clavaria fusiformis* Sow.: Fr. 1821, *Syst. Mycol.* 1: 480.

■ *Clavulinopsis fusiformis* (Sow.: Fr.) Corner, 1950, *Ann. Bot. Mem.* 1: 367.

Pl. 1, fig. a; Pl. 2, fig. f.

Fruit bodies up to 100mm high and up to 15mm wide on middle side; simple clubs, occasionally forked at the apices; deeply flattened to fusiform, terete downward to the base; apices rounded to subrounded; bright yellow (Methuen 3A8) to deep yellow (Methuen 4A8), with shadows



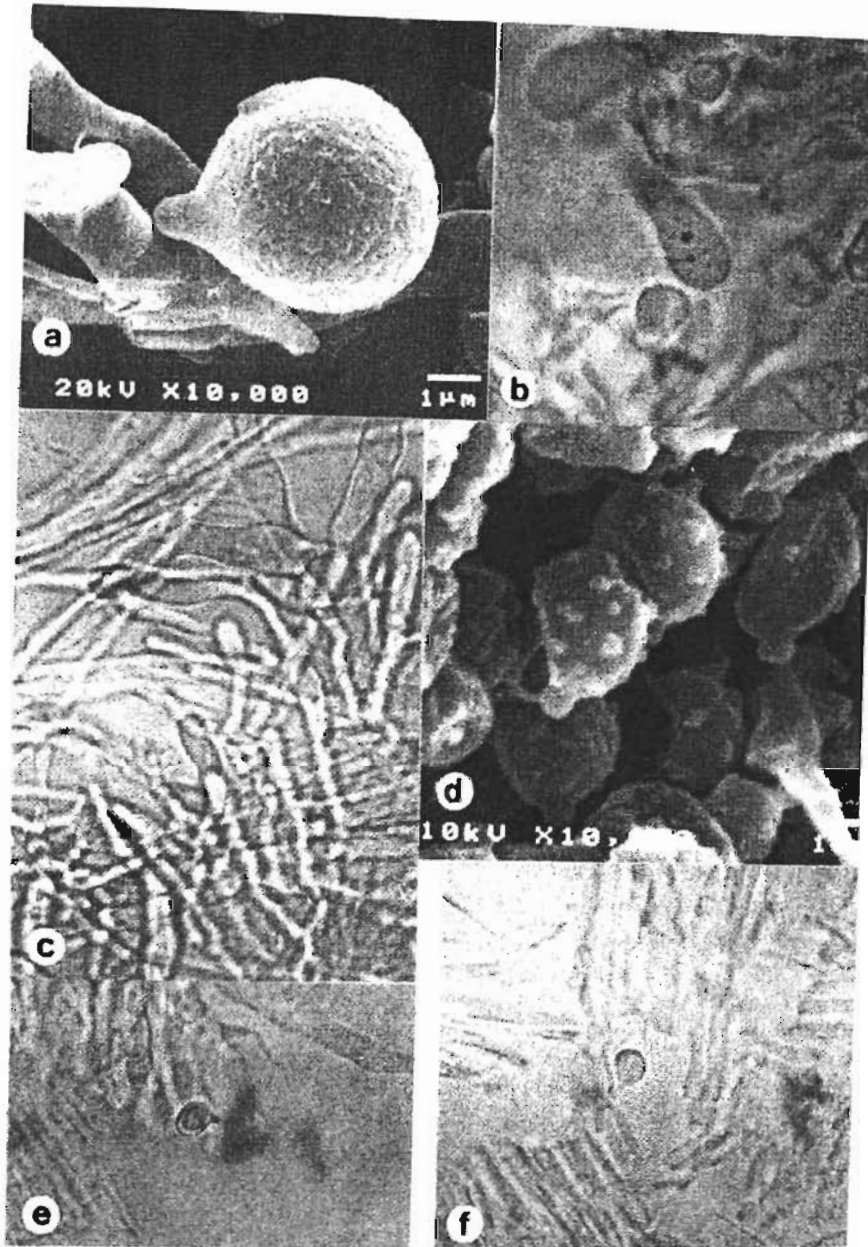


Plate 2: a) *Ramariopsis corniculata*, spores under SEM; b) *R. laeticolor* f. *hibbispora*, spores under FM; c) *R. laeticolor*, geniculated basidia under FM; d) *R. pulchella*, spores under SEM; e) *R. laeticolor*, spores under FM; f) *R. fusiformis*, spores and hyphae under FM.  
Abbreviations: FM, fotonic microscope; SEM, scanning electron microscope.

328

of orange colour or sunflower yellow (Methuen 4A7) on the middle side, apices apricot yellow (Methuen 5B6); consistency fibrous on the center and slightly fleshy cartilagineous outward; context hollow at the level of hymenium and solid downward. Stipe slightly differentiated, terete to slightly flattened, sometimes whitish, glabrous. Odor and taste inappreciable.

Positive reaction to iron salts on hymenium, changing to greenish gray immediately or after 1 minute, even on dried samples.

Tramal hyphae monomitic, parallel, slightly agglutinated, clamped, some hyphae slightly inflated up to  $7\mu\text{m}$  wide, sometimes with slightly thickened walls, some hyphae with yellowish content. Subhymenium with slender hyphae of yellowish content, loosely interwoven. Hymenium slightly thickened and agglutinated; basidia on simple clubs with slightly yellowish to bright golden colour content, four spored, with straight sterigmata.

Spores  $4.9-9.1 \times 4.9-9.1\mu\text{m}$ , globose, usually with yellow content and slightly thickened walls, usually uniguttulate, smooth; hilar appendix conical and prominent.

Fruit bodies fasciculate to slightly connate; terricolous. On pinus-oak forest.

#### Commentary

Only one of the examined specimens exhibited flattened fruit bodies, forked at the apex. This feature had been reported by Petersen (1968) as very unusual, a point which was confirmed by the examination of the Mexican samples.

This species is reported by Moreno-Fuentes (1994) in the Mexican State of Chihuahua, but a deeper examination of the specimen (**Moreno-Fuentes VI-5** [FCME 5665]) revealed differences with *R. fusiformis*, such as phaseoliphorm and multiguttulate spores with short hilar appendix and clampless contextual hypha, a combination of features which lead us to *Clavaria*.

**Specimens examined:** HIDALGO: Mpio. of Zacualtipan, km 100 Pachuca-Tampico highway, Oct. 2, 1989, Villegas-Rios 1305 (FCME 2688); Pachuca-Tampico highway, 3 km from the detour to Tlanguistengo, La Cantera, Sept. 30, 1989, Villegas-Rios 1289 (FCME 2663). TAMAULIPAS: Mpio. of Gómez Farias VERACRUZ: Mpio. of Jalancingo, Ocotepéc, Ventura 5835, Jul. 28, 1972, (ENCB); Mpio. of Chiconquiaco, Guacamaya, Ventura 7590, Dec. 11, 1972, (ENCB); Mpio. of Banderilla, Cerro La Martinica, Santillán s/n, Sept. 3, 1988, (ENCB); Mpio. of Chiconquiaco, Río Resbaloso, Ventura 13281, Sept. 15, 1976, (ENCB).

- Ramariopsis lacticolor* (B. & C.) Petersen. 1978. *Mycologia* 70: 668.  
 = *Clavaria lacticolor* Berkeley & Curtis. 1868. *Jour. Linn. Soc. Bot.* 10: 338.  
 = *Clavulinopsis lacticolor* (B. & C.) Petersen. 1965. *Mycologia* 57: 522.  
 = *Clavaria pulchra* Peck. 1876. *Rep. N.Y. State Mus.* 28: 53.  
 = *Clavulinopsis pulchra* (Pk.) Corner. 1950. *Ann. Bot. Mem.* 1: 384.

Pl. 1, fig. b; pl. 2, fig. c y e.

Fruit bodies up to 40mm high and 1.5mm wide; simple clubs, terete to slightly flattened and then sulcate, apices rounded to slightly acute; growing from a small white mycelial patch, of cottony appearance; bright yellow colour (Methuen 4A4) on the hymenium side, apices orange colour (Methuen 5A7) with yellow shadows; consistency fragile cartilagineous; hollow context at the hymenium level and solid downward to the base. Stipe slightly differentiated, terete, sometimes whitish. Odorless and tasteless.

Positive reaction to iron salts on dried samples, changing to grayish olive-green immediately.

Tramal hyphae monomitic, parallel, slightly agglutinated, clamped, some hyphae slightly inflated up to 6.3 $\mu$ m wide, sometimes with slightly thickened walls, some hyphae with yellowish content. Subhymenium with slender hyaline hyphae, loosely interwoven. Hymenium slightly thickened and agglutinated; basidia on simple clubs or geniculate, contents hyaline or bright golden colour, two or four spored, with straight or slightly sinuous sterigmata.

Spores 5.6-8.4 x 4.2-5.6 $\mu$ m, elongated to ovoid, hyaline or with yellowish contents, if guttulate then uniguttulate, smooth; hilar appendix conical and prominent.

Fruit bodies fasciculate to slightly connate, humicolous or terricolous. On rain forest or oak forest.

#### Commentary

This species has some outstanding features like the size of the fruit bodies and the shape of the spores. The fruit bodies usually grow from a small mycelial patch present on *R. lacticolor* f. *bulbispora* and *R. luviformis* also. This latter species has been proposed as an allied taxon of this species (Petersen, 1988). Other similarities between these taxa are the hollow fruit bodies at the hymenium level. These features have not been analysed in a formal way to allow any probable phylogenetical implications to be discerned.

**Specimens examined:** GUERRERO: Mpio. of Taxco, Cerro de Huizteco Park, Villegas-Rios 1803, Aug. 30, 1995. (FCME 6996). NAYARIT.

330

Mpio of Tepic, La Noria in the Ecological Reservation Cerro de San Juan,  
Villegas-Rios 1438, Sept. 25, 1991. (FCME 4095).

*Ramariopsis laeticolor* f. *bulbispora* (Petersen) Petersen, 1988.

The Clavarioid Fungi of New Zealand: 129

■ *Clavulinopsis laeticolor* f. *bulbispora* Petersen, 1968 Mycol. Mem. 2: 25

Pl. 2, fig. b.

Fruit bodies up to 70mm high and 2mm wide, simple clubs, terete to slightly flattened and then sulcate, apices rounded to slightly acute, sunflower yellow colour (Methuen 4A7) to reddish yellow (Methuen 4A8), apices sometimes dark brown; consistency fragile cartilagineous; hollow context at the hymenium level and solid downward to the base. Stipe clearly differentiated, up to 25mm high, terete to slightly flattened, bright yellow (Methuen 4A4), glabrous. Odorless and tasteless.

Positive reaction to  $\text{FeSO}_4$  on hymenium of dried specimens, changing to greenish gray immediately.

Trametal hyphae monomitic, parallel, slightly agglutinated, clamped, some hyphae slightly inflated up to  $7\mu\text{m}$  wide, sometimes with slightly thickened walls, hyaline. Subhymenium with narrow hyphae, loosely interwoven. Hymenium thickened, agglutinated; basidia on simple clubs, sometimes with yellow contents, two, three, and four spored, with slightly sinuous sterigmata.

Spores  $4.2-7.0 \times 4.2-4.9\mu\text{m}$ , bulbous, with abaxial broadening, sometimes subglobose to ovoid; commonly with yellow contents, thickened walls, at guttulate then uniguttulate, smooth; hilar appendix conical, prominent, and lateral.

Fruit bodies gregarious, terricolous. On rain forest or oak forest.

#### Commentary.

This form constantly and typically shows spores with a prominent abaxial broadening, as has already been ascertained in previous reports (Petersen, 1968, 1988). This species exhibit a hollow context at the hymenium level, like *R. laeticolor*.

One of the examined specimens (Altamirano 628, TLXM), labeled as *R. laeticolor*, shows colors and spores like *R. laeticolor* f. *bulbispora*, but differs in the absence of a well differentiated stipe and caespitose fruit bodies of smaller size. These obvious differences lead us to exclude this specimen for the present description.

**Specimens examined:** MICHOACÁN: Mpio. of Nahuatzen, Cerro de Pilon, Hernández 188, Aug. 19, 1995. (IBUG). NAYARIT: Mpio. of Tepic, La Capilla in the Ecological Reservation of Cerro de San Juan, Villegas-Rios 1450, Sept. 26, 1991. (FCME) 4339

*Ramariopsis pulchella* (Boud.) Corner, 1950. *Ann. Bot.*

*Mem.* 1: 645.

• *Clavaria pulchella* Bourdier, 1887. *Bull. Soc. Mycol. France* 3: 146.

• *Clavulinopsis pulchella* (Boud.) Jülich, 1985. *Int. J. Mycol. Lichenol.* 2: 120.

Pl. 1, fig. d; pl. 2, fig. d.

Fruit bodies up to 35mm high, well branched on three levels, branches usually dichotomous, rarely trichotomous, axils rounded, white downward to the base and indigo blue upward to the tips (Methuen 18B3, 18C3); consistency fibrous fleshy, strigose, or subleathery; solid context. Stipe slightly to well differentiated, but always present, white with grayish orange colour shadows (Methuen 5D3) at maturation, flattened. Branches terete to slightly flattened, narrowing to the tips; whitish to violaceous (Methuen 18B3), purple (Methuen 14C2), or violet (Methuen 17B2), apices subrounded to subacute, concolorous to brownish.

Negative reaction to  $\text{FeSO}_4$  on hymenium.

Tramal hyphae monomitic, parallel, slightly agglutinated, clamped, some hyphae with slightly thickened walls and yellow contents usually closer to stipe base, some inflated hyphae up to  $8\mu\text{m}$  wide. Hymenium thickened, agglutinated; basidia simple club, slightly violaceous, four spored, with straight sterigmata, small crystals common on hymenium.

Spores  $2.8-4.2 \times 2.1-3.5\mu\text{m}$ , subglobose, hyaline, with thick walls, uniguttulate, spiny, hilar appendix conical, prominent.

Fruit bodies gregarious to slightly fasciculated, terricolous. On *Juniperus* forest.

#### Commentary

This species typically shows fruit bodies with violet colors and small subglobose spores. The presence of thick walled hyphae with yellow content and positive reaction to KOH 2% on hyphae of dried specimens, changing to pink and then to olive green, like some violet colored species of *Ramaria* and *Gomphus* lead Petersen (1988) to postulate links between *Ramariopsis* and Gomphaceae.

**Specimens examined:** TLAXCALA: Mpio. of Ixtacuixtla, Km. 10.5 of the Texmelucan-Tlaxcala highway, Altamirano 149 & 157, Sept. 8, 1994 (TLXM).

#### DISCUSSION

The present is the first taxonomical review of the genus *Ramariopsis* in Mexico. It yielded four species, new records of them and one form new record for Mexico, on pinus-oak, rain forest and *Juniperus* forest.

Traditionally, clavarioid fungi systematics has been a complex matter because these fungi are not a natural group. In the particular case of the genus *Ramariopsis*, the situation seems to be similar. This genus was first recognized by Corner (1950) who included in this group those species, previously assigned to *Clavaria*, that showed branched fruit bodies, tramal hyphae monomitic and clamped, and spiny spores. Corner suggested that due to the contextual construction and spore ornamentation *Clavulinopsis* and *Scytinopogon* are closely allied genera of *Ramariopsis*. Afterwards Petersen (1966), considering some features like hysterozoism and the size of the basidia, proposed an emendation of the genus. He thus transferred some species -like *R. corniculata*, previously as *Clavulinopsis*- of bright colored fruit bodies and globose, smooth spores to *Ramariopsis*. Corner (1970) subsequently argued that hysterozoism and basidia size overlap between both genera and are not good features. Petersen (1978) responded by using pigment composition, cytological features, like the number of remaining nuclei in the basidia, and phenolic compounds in the hymenium to support a new emendation of the genus, transferring some species of *Clavulinopsis* to *Ramariopsis* and the rest to *Clavaria*.

At the present no consensus exists regarding the delimitation of the genus or diagnostic features. Several contributions have been made (Jülich, 1985; Pegler & Young, 1985) in the attempt to solve this dispute, though none has presented enough reasons to favor any position.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors want to acknowledge to Dr Teófilo Herrera Suarez for reviewing and comments of the manuscript; to the main Curators of ENCB, MEXU, TLXM, XAI, & IBUG for their help for specimens loan, and M. en C. Silvia Espinosa for help on SEM photographs. Funding was provided by CONACyT 29011N, DGAPA IN 217198, and Becas Nacionales para Estudios de Posgrado UNAM to García-Sandoval.

#### REFERENCES

- Cifuentes, J., M. Villegas & L. Pérez-Ramírez, 1986. Hongos. in Lot. A. y F. Chiang (comp.) *Manual de Herbario*. Cons.Nal Fl., México D.F.
- Corner, E.J.H., 1950. *A monograph of Clavaria and allied genera*. Oxford University Press, London.
- Corner, E.J.H., 1970. *Supplement to "A monograph of Clavaria and allied genera"*. J. Cramer, Stuttgart.
- García-Romero, L., G. Guzmán & T. Herrera, 1970. Especies de macromicetos citados de México. I. Ascomycetes, Tremellales y Aphyllophorales. *Bol.Soc.Mex.Mic.* 4: 54-76.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton & D.N. Pegler, 1995. *Amsworth & Bisbi Dictionary of the fungi*. Cambridge University Press, Cambridge
- Jülich, W., 1981. *Higher taxa of the Basidiomycetes*. J. Cramer, Leiden

- Jülich, W., 1985. Bemerkungen zu *Clavulinopsis* und *Ramariopsis*. *Int. J. Mycol. Lichenol.* 2: 119-122.
- Largent, D., D. Johnson & R. Watling, 1980. *How to identify mushrooms to genus III: Microscopic Features*. Mad River Press, Eureka.
- Kornerup, A. & J.H. Wanscher, 1978. *Methuen Handbook of colour*. Eyre Methuen, London.
- Moreno-Fuentes, A., E. Aguirre-Acosta, M. Villegas & J. Cifuentes, 1994. Estudio fungístico de los macromicetos en el Municipio de Bocoyna, Chihuahua, México. *Rev.Mex.Mic.* 10: 63-76.
- Pegler, D.N. & W.K. Young, 1985. Basidiospore structure in *Ramariopsis* (Clavariaceae). *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 84: 207-214.
- Petersen, R.H., 1964. Notes on Clavarioid Fungi. II. Corrections in the genera *Ramariopsis* and *Clavaria*. *Bull. Tor. Bot. Club* 91: 274-280.
- Petersen, R.H., 1966. Notes on Clavarioid Fungi. V. Enmmendations and additions to *Ramariopsis*. *Mycologia* 58: 201-207.
- Petersen, R.H., 1969. Notes on Clavarioid Fungi. X. New species and type studies in *Ramariopsis*, with a key to species in North America. *Mycologia* 61: 549-559.
- Petersen, R.H., 1978. Notes on Clavarioid Fungi. XV. Reorganization of *Clavaria*, *Clavulinopsis* and *Ramariopsis*. *Mycologia* 70: 660-671.
- Petersen, R.H., 1988. *The Clavarioid Fungi of New Zealand*. Science Information Publishing Centre, New Zealand.
- Portugal, D., E. Montiel, L. López & V. Mora, 1985. Contribución al conocimiento de los hongos que crecen en la región de El Tecal, estado de Morelos. *Rev.Mex.Mic.* 1: 401-412.
- Varela, L. & J. Cifuentes, 1979. Distribución de algunos macromicetos en el Norte del estado de Hidalgo. *Bol.Soc.Mex.Mic.* 13: 75-88.

6. First record of *Scytinopogon* from Mexico, with notes on its systematics

García-Sandoval, R., J. Cifuentes, and M. Villegas. 2004. First record of *Scytinopogon* from Mexico, with notes on its systematics. *Mycotaxon* 89:185-192.



## MYCOTAXON

Volume 89, pp. 185-192

January–March 2004

**First record of *Scytinopogon* from Mexico,  
with notes on its systematics**

RICARDO GARCÍA-SANDOVAL, JOAQUÍN CIFUENTES,  
MARGARITA VILLEGAS

*garcia\_s@ciencias.unam.mx*  
Herbario FCME, UNAM  
Apto. Postal 70-399, C.P. 04510  
Cd. Universitaria, México D.F., México

**Abstract** — The first report of *Scytinopogon* from Mexico is presented. Descriptions of Mexican material of *S. pallescens* and *S. robustus* are included, and the nomenclature of the described species is discussed along with the systematic and phylogenetic affinities of the genus.

**Keywords** — Aphyllophorales, taxonomy, tropical mycobiota, clavarioids

### Introduction

*Scytinopogon* Singer is a genus of no more than eight described species with a fundamentally tropical distribution. It was segregated from *Lachnocladium* by Singer (1945) based on the presence of sub-fleshy basidiomata, and verrucose–echinulate, sub-angulate yellow spores. The genus is distinguished from other similar genera such as *Pterula* by the consistency of its basidiomata and the color of its spores. Singer (1945) designated *Pterula pallescens* Bres. [= *Lachnocladium pallescens* (Bres.) Bres.] as the type species. The etymology of the name *Scytinopogon* refers to its macromorphological resemblance to leather barbs (Donk 1954).

The genus *Scytinopogon* has been included in the past in several families — Clavariaceae (Corner 1970), Thelephoraceae (Donk 1964), Gomphaceae (Maas Geesteranus 1963) and Scytinopogaceae (Jülich 1981) — and has been linked to a variety of genera — *Cristella*, *Trechispora* (Jülich 1981, Larsson 1992), *Hydnodon* (Corner 1970, Maas Geesteranus 1963, Reid 1971), *Bankera* (Corner 1970, Maas Geesteranus 1963, Reid 1971), *Phellodon* (Corner 1970), *Polyozellus* (Corner 1950), *Thelephora* (Corner 1950, Donk 1964), *Ramariopsis* and *Clavulinopsis* (Corner 1970).

186

In the Americas *Scytinopogon* has been reported from Bolivia, Brazil, Panama, Puerto Rico, the United States, Uruguay, and Venezuela (Corner 1950, 1970; Petersen 1988a; Reid 1965; Singer 1945), as well as in Asia, Africa Australia, and New Zealand (Corner 1970, Petersen 1988b).

There are few reports of clavarioid Aphylophorales in Mexico (see García-Sandoval et al. 2002, Villareal & Pérez-Moreno 1991), or these fungi are occasionally found in general species lists (García-Romero et al. 1970, Varela & Cifuentes 1979). The objective of this study is to present the first report of *Scytinopogon* Singer in Mexico and discuss the systematics of this genus.

### Methods

A revision was made of the mycological collections of the following herbaria: Facultad de Ciencias, UNAM (FCME), Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (ENCB), Herbario Nacional de México, Instituto de Biología, UNAM (MEXU), and Universidad Autónoma de Tlaxcala (TLMX). Taxonomic determination of the material was corroborated using the monographic works of Corner (1950, 1970) and Petersen (1988b) as well as additional selected descriptions (Coker 1923; Petersen 1984, 1988a). Microscopic observations were realized using standard mycological techniques (Cifuentes et al. 1986, Largent et al. 1980). Herbaria acronyms were assigned following Holmgren & Holmgren (1995) and Holmgren et al. (1990).

### Taxonomic Descriptions

*Scytinopogon pallescens* (Bres.) Singer. 1945. Lloydia 8: 139.

■ *Pterula pallescens* Bres. 1899. Bull. Soc. R. Bot. Belg. 38: 157.

■ *Lachnocladium pallescens* (Bres.) Bres. 1915. Hedwigia 56: 304.

= *Thelephora dewevrei* Bres. 1899. Bull. Soc. R. Bot. Belg. 38: 156.

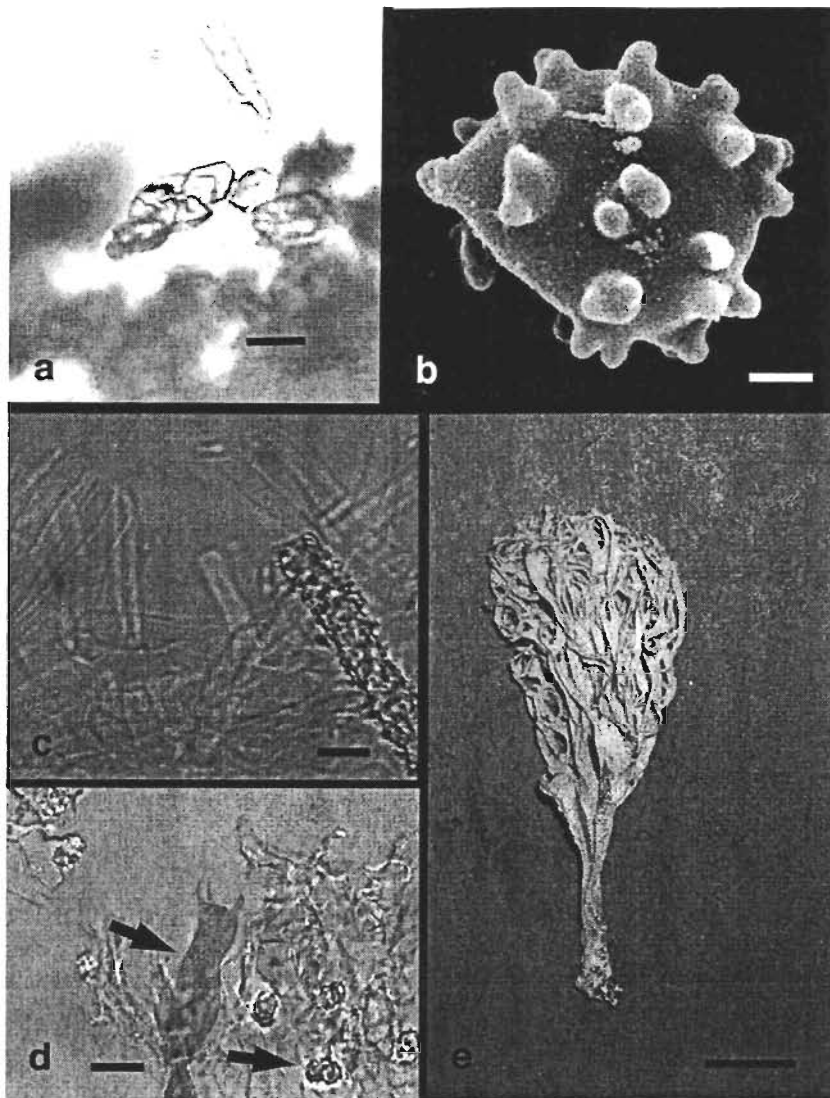
= *Thelephora serrei* Pat. & Har. 1906. Bull. Soc. Mycol. Fr. 22: 116.

= *Thelephora lactea* Pat. 1923. Bull. Soc. Mycol. Fr. 39: 47.

= *Clavaria durbana* Vand der Byl. 1932. S. Afr. J. Sci. 29: 322.

#### Plate 1: Figs. a, and b

**Basidiome:** size up to 140 mm in length, very branched, white to cream, generally branched from the base, then the stipe poorly differentiated, smooth to subtomentose in this area. **Branches:** dichotomous or polytomous, flattened, glabrous; internodes irregular in length but diminishing gradually towards the apex; rounded axils; apex subcristate to flattened-palmate.



**Plate 1.** a) Irregularly-shaped crystals in the mycelial hyphae at the base of the stipe of *Scytinopogon pallescens*; b) Scanning electron micrograph of the spores of *S. pallescens* showing characteristic ornamentation and shape; c) Hyphae with irregularly-shaped crystals in the mycelial hyphae at the base of the stipe in *Scytinopogon robustus*; d) Basidia and basidiospore of *S. robustus*; e) Dried basidiome of *S. robustus*. Scale bars: a = 10  $\mu\text{m}$ ; b-c = 1  $\mu\text{m}$ ; d = 5  $\mu\text{m}$ ; e = 1 cm. Photographs a, c-e: R. García-Sandoval, b M. Villegas.

188

**Mycelium:** at the base of the stipe whitish. **Context:** coriaceous–fibrous to coriaceous, whitish. **Taste and odor:** not clearly distinguishable. **Context:** monomitic, with thin–walled hyaline generative hyphae 1.4 to 3.5µm wide, scarcely clamped **Mycelial hyphae:** at the base of the stipe have thick and irregularly–shaped crystals (Figure a), rare inflated–like septa. **Hymenium:** thickening. **Basidia:** subcylindrical to clavate, bisporic to tetrasporic, the majority tetrasporic. **Basidiospores:** hyaline, 4.2–5.6 x 2.8–4.2µm, subglobose to broadly ellipsoid, with nodular–echinulate ornamentation, then with an angular–cuspidate to irregular elliptical appearance under light microscopy (LM), positive reaction to cotton blue (cyanophilous); hilar appendix not clearly evident, conical; under scanning electron microscopy basidiospores were observed from elliptical to subangulate, with tuberculate–nodulate ornamentation, generally grouped in pairs (Figure b); hilar appendix rounded with an acuminate base.

**Habitat:** terrestrial, gregarious. In Mexico this taxon has only been collected from secondary vegetation (Acahual) at an altitude of 15 masl.

**SPECIMEN EXAMINED. MEXICO. OAXACA:** Mpio. Chiltepec, Tuxtepec.  
12.X.1967 *Martinez–C.* (ENCB)

**COMMENTS.** The pattern of basidiospore ornamentation exhibited by this species seems to correspond to the ornamentation of paired spines reported by Petersen (1988a) in *Scytinopogon dealbatus* (Rick) Corner. During the examination of the Mexican specimen, it was possible to observe a structure similar to inflated septa in the mycelium at the base of the stipe; these septa have been reported for the genus *Trechispora*, and is the basis for a postulated relationship between the two genera (Jülich 1981, Larsson 1992). These septa were not observed in the mycelial cords due to the poorly preserved state of the Mexican specimen, and its presence was only corroborated in the mycelia at the base of the stipe.

This species was considered by Corner (1950) as a synonym of *Clavaria angulispora* Pat. [= *Scytinopogon angulisporus* (Pat.) Corner]. Because the name *C. angulispora* is older, it has priority over the name *Pterula pallescens* Bres. — in consequence, *Scytinopogon* Singer should be typified by *Clavaria angulispora* instead of *P. pallescens* as originally proposed. However, Petersen (1988b) had revised the type of *Clavaria angulispora*, and concluded that it belongs to the genus *Clavulina* (tentatively *Clavulina connata* Corner), thus removing this taxon from *Scytinopogon* and leaving the genus with the type originally assigned by Singer (1945). Three varieties of *Scytinopogon angulisporus* were described by Corner (1950): *S. angulisporus* var. *curtus* Corner, *S. angulisporus* var. *parvus* Corner, and *S.*

189

*angulisporus* var. *gracilis* Corner. Currently, the types of these varieties have not yet been re-examined to corroborate their generic status. Additionally, a number of specimens have been reported as *Clavaria angulispora* (for example Coker 1923) in the literature, but according with description and photographs seem to correspond to *Scytinopogon*. The status of these specimens deserve to be addressed.

*Scytinopogon robustus* (Rick) Corner. 1970. Beih. Nova Hedwigia 33: 91.  
 = *Clavaria robusta* Rick. 1931. Egatea 16: 120.

**Plate 1: Figs. c-d**

**Basidiome:** up to 50 mm in length in dried material, very branched, completely white when fresh to cream colored in herbarium material; mycelial cords white and delicate at the base. **Stipe:** differentiated, 15–25 x 3–5 mm, flat, smooth to subtomentose. **Branches:** dichotomous or polytomous, flattened, glabrous to subtomentose towards the internal parts; internodes irregular in length though diminishing gradually towards the apex; axils subacute; apex subcristate to flattened–palmate. **Context:** coriaceous–fibrous to coriaceous, whitish. **Taste and odour:** not clearly distinguishable. **Mycelium:** forming monomitic mycelial cords, with uninflated and abundant simple clamp connections. Mycelial hyphae at the base of the stipe of two types: with swollen walls with small, elongated crystals, or naked with only slightly swollen walls (Figure c). **Context:** of the stipe and branches monomitic, with hyaline thin-walled generative hyphae, scarcely clamped, inflated 2.8–19.6  $\mu\text{m}$  wide, slightly dextrinoid. **Hymenium:** slightly thickening. Basidia subcylindrical to clavate, bisporic or tetrasporic, the majority tetrasporic. **Basidiospores:** hyaline, 4.2–5.6 x 2.8–4.2  $\mu\text{m}$ , seen under light microscopy (LM) to have angular–cuspidate to irregular elliptical appearance; nodular echinulate ornamentation; positive reaction to cotton blue (cyanophilous); hilar appendix poorly evident, conical (Figure d).

**Habitat:** humicolous, gregarious. In Mexico only collected in deciduous forest at an altitude of 1500 masl.

**SPECIMEN EXAMINED. MEXICO. HIDALGO:** Mpio. Molango, Laguna de Atezca. 9.VII.1980 Cifuentes J. 676 (FCME 1201).

**COMMENTS.** Of the currently recognized species, only this species and *Scytinopogon echinosporus* (Berk. & Broome) Corner have inflated hyphae and spores larger than 5  $\mu\text{m}$ . Even so, the latter species presents basidiomata with apex light brown and smaller spores (4.5–5.5 x 3.5  $\mu\text{m}$ ). This species seems to be well delimited and the combination of diagnostic characters

190

distinguishes it from another species leaves no doubt about its generic affinities.

### Comments and Conclusions

This study constitutes the first report of *Scytinopogon* in Mexico. The distribution of the genus in the Americas seems to be limited to tropical zones or localities with warm climates, with its northern limit in the southeastern United States.

The number of species in this genus is still uncertain. The proposed names include *Scytinopogon dealbatus*, *S. echinosporis*, *S. robustus*, *S. pallescens*, *S. chartaceum* (Pat.) R.H. Petersen, *S. papillosus* Corner, and *S. scaber* (Berk. & M.A. Curtis) D.A. Reid, but several of these names have been proposed as synonyms and a complete monographic treatment of the genus is still necessary.

The phylogenetic affinities of *Scytinopogon* are ambiguous. The phylogeny of the clavarioid Aphyllophorales should be contextualized within the efforts to elucidate the phylogeny of the Homobasidiomycetes (Binder & Hibbett 2002, Hibbett & Thorn 2001, Pine et al. 1999) due to the polyphyletic nature of the group. In the absence of formal phylogenetic studies for *Scytinopogon*, only a few preliminary hypotheses can be offered. A phylogenetic analysis of *Ramariopsis* (García-Sandoval, unpublished data) included four species of this genus and seems to confirm the close relationship between *Scytinopogon* and *Ramariopsis* as proposed by Corner (1970). This is at least partially sustained by the positive cyanophilous reaction of the spores, a character shared by the family Gomphaceae (Villegas et al. 1999); this conclusion cannot be seen as definitive given that the principal objective of the above work was not elucidate the affinities of *Scytinopogon*. Other important hypotheses include the proposed relationship with *Hydnodon* (Corner 1970, Maas Geesteranus 1963, Reid 1971) based on the presence of crystals in the hyphal mycelia at the base of the stalk, the form of the ornamentation of the spores (see figure a-c) and the positive cyanophilous reaction of the spores. The relationship with *Trechispora* (Jülich 1981, Larsson 1992) is supported by the positive cyanophilous reaction of the spores, the form of the spores, and the presence of inflated septa. Among these characters, the positive cyanophilous reaction of the spores has been of phylogenetic use in other groups of the Aphyllophorales (Villegas et al. 1999), but its utility in this case remains to be evaluated.

The evaluation of the affinities of *Scytinopogon* necessarily requires that the majority of the hypotheses previously postulated be taken into account in the context of the phylogeny of the Homobasidiomycetes.

### Acknowledgements

The authors want to acknowledge Dr. Victor Bandala, and Dr. Arturo Estrada-Torres for reviewing and comments of the manuscript; to Dr. L.L. Norvell for reviewing and valuable comments to pre-submitted manuscript; to the main Curators of ENCB and MEXU for their help for specimens loan, and M. en C. Silvia Espinosa for help on SEM photograph. Funding was provided by CONACyT 34313-V, DGAPA IN 217198, IN 206901, and Becas Nacionales para Estudios de Posgrado UNAM to García-Sandoval.

### Literature Cited

- Binder M, Hibbett DS. 2002. Higher-level phylogenetic relationships of Homobasidiomycetes (mushroom-forming fungi) inferred from four rDNA regions. *Mol. Phylog. Evol.* 22: 76–90.
- Cifuentes J, Villegas M, Pérez-Ramírez L. 1986. Hongos. Pages 30–55 in *Manual de herbario* (Lot A, Chiang F, eds.). Consejo Nacional de la Flora, México DF.
- Coker WC. 1923. *The clavarias of United States and Canada*. The University of North Carolina Press, North Carolina.
- Corner E.J.H. 1950. A monograph of *Clavaria* and allied genera. J. Cramer, Stuttgart Germany.
- Corner E.J.H. 1970. Supplement to "A monograph of *Clavaria* and allied genera". J. Cramer, Stuttgart Germany.
- Donk MA. 1954. The generic names proposed for Hymenomycetes — III. "Clavariaceae". *Reinwardtia* 2: 441–493.
- Donk MA. 1964. A conspectus of the families of Aphyllophorales. *Persoonia* 3: 199–324.
- García-Romero L, Guzmán G, Herrera T. 1970. Especies de macromicetos citados de México. I. Ascomycetes, Tremellales y Aphyllophorales. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 4: 54–76.
- García-Sandoval R, Villegas M, Cifuentes J. 2002. New records of *Ramariopsis* from Mexico. *Mycotaxon* 82: 323–333.
- Hibbett DS, Thorn RG. 2001. Homobasidiomycetes. Pages 121–168 in *The Mycota VII. Systematics and Evolution. Part B* (McLaughlin DL, McLaughlin EG, Lemke PA, eds.). Springer, Berlin.
- Holmgren PK, Holmgren NH. 1995. Additions to index herbariorum (Herbaria), 8th ed, 4th series. *Taxon* 44: 251–266.
- Holmgren PK, Holmgren NH, Barnett LC. 1990. Index herbariorum. Part I. The Herbaria of the World. 8th ed. *Regnum Veg.* 120: 1–693.
- Jülich W. 1981. Higher taxa of the Basidiomycetes. J. Cramer, Leiden.
- Largent D, Johnson D, Watling R. 1980. How to identify mushrooms to genus III: Microscopic features. Mad River Press, Eureka.
- Larsson KH. 1992. The genus *Trechispora* (Corticaceae, Basidiomycetes). Dissertation. University of Göteborg, Sweden.
- Maas Geesteranus RA. 1963. Hyphal structures in Hydnums. *Proc. K. Ned. Akad. Wet. Ser. C.* 67: 144–156.
- Pine EM, Hibbett DS, Donoghue MJ. 1999. Phylogenetic relationships of cantharelloid and clavarioid Homobasidiomycetes based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. *Mycologia* 91: 944–963.
- Petersen RH. 1984. Type studies in the clavarioid fungi VIII. *Persoonia* 12: 225–237.
- Petersen RH. 1988a. Notes on clavarioid fungi. XXII. Three interesting South American collections. *Mycologia* 80: 571–576.

192

- Petersen RH. 1988b. The clavarioid fungi of the New Zealand. Science Information Publishing Centre, Wellington.
- Reid DA. 1965. A monograph of stipitate steroid fungi. *Beih. Nova Hedwigia* 18: 1-382.
- Reid DA. 1971. Intermediate generic complexes between the Thelephoraceae and other families. Pages 331-334 *in* Evolution in the higher Basidiomycetes (R. H. Petersen, ed.) University of Tennessee Press, Knoxville.
- Singer R. 1945. New genera of fungi — II. *Lloydia* 8: 138-144.
- Varela L, Cifuentes J. 1979. Distribución de algunos macromicetos en el Norte del Estado de Hidalgo. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 13: 75-88.
- Villareal L, Pérez-Moreno J. 1991. The clavarioid fungi from Mexico. I. Addition of the genera *Macrotyphula* and *Typhula*. *Micol. Neotrop. Apl.* 4: 119-126.
- Villegas M, DeLuna E, Cifuentes J, Estrada-Torres A. 1999. Phylogenetic analysis in Gomphaceae *sensu lato* (Basidiomycetes). *Mycotaxon* 70: 127-147.



## 7. Discusión y conclusión

Los resultados de la presente investigación indican un grupo monofilético conformado por los representantes de *Ramariopsis sensu* Corner (1950). A pesar de que este grupo presenta una frecuencia baja de bootstrap (56%) se encuentra apoyado por el patrón ultraestructural de la ornamentación de las esporas el cual es una sinapomorfía para el clado. Este grupo a su vez corresponde en lo general a *Ramariopsis* subg. *Ramariopsis* Petersen R.H. (Petersen 1978), pero excluyendo a *Ramariopsis helvola* (Pers.) Petersen R.H. [= *Clavulinopsis helvola* (Pers.) Corner], la cual había sido incluido con base en la presencia de esporas ornamentadas.

Los caracteres esporales —entre ellos la ornamentación de las esporas— han sido tradicionalmente de gran ayuda en la sistemática micológica en general (e.g. Sparrow 1960, Donk 1971, Jülich 1981, Barr 1990, Villegas et al. 2005). Para el caso de los hongos clavarioides, estos caracteres han sido empleados desde las primeras clasificaciones de Fries y Karsten en el siglo XIX (Petersen 1971) y la presencia de ornamentación en las esporas ha sido un carácter decisivo en la sistemática de *Ramariopsis* (Donk 1933, Corner 1950). La práctica más frecuente para el análisis esporal en la sistemática de Homobasidiomycetes ha sido encontrar correspondencias a través de observaciones microscópicas —microscopio fotónico o electrónico de barrido— reconociendo patrones de variación morfológicos (e.g. Largent et al. 1977, Kirk et al. 2001, Cléménçon et al. 2004, Villegas et al. 2005) y postulando hipótesis de homología entre las estructuras con base en estos patrones. Para el caso de la ornamentación de las esporas inclusive existen detalladas clasificaciones (e.g. Petersen 1981, Singer 1986). Este procedimiento en lo general satisface los requerimientos básicos para proponer hipótesis de homología (de Pinna 1991, Brower & Schawaroch 1996, Hawkins et al. 1997). Pero en el caso del análisis de la ornamentación, estudios más detallados han demostrado que algunos patrones que aparentemente se corresponden con observaciones microscópicas, no corresponden con una misma composición ultraestructural (e.g. Pegler & Young 1985, Van Wyk & Wingfield 1991, Keller J. 1997), por lo que homologar estructuras con distinta composición viola el criterio de similitud requerido para una hipótesis de homología (de Pinna 1991, Brower

2000, Hawkins 2000, McShea & Venit 2001, Rieppel & Kearney 2002). En el caso de *Ramariopsis*, Petersen (1978) erigió el subgénero *Ramariopsis* subg. *Ramariopsis* señalando la presencia de esporas equinuladas como carácter diagnóstico y transfiriendo a *Clavulinopsis helvola* [= *R. helvola*] hacia el nuevo subgénero. Pero un estudio de la ultraestructura de las esporas de *C. helvola* y representantes de *Ramariopsis* s. str. —e.g. *R. kunzei*— (Pegler & Young 1985) demostró que la ornamentación de *C. helvola* deriva fundamentalmente del corium en tanto que la ornamentación de *Ramariopsis* s. str. deriva de la túnica, por lo que ambas estructuras no son homologables. Los resultados obtenidos durante la presente investigación apoyan la segregación de *C. helvola*, respaldando la circunscripción original de *Ramariopsis* (Corner 1950) y corroborando la utilidad del patrón ultraestructural de la ornamentación como una sinapomorfía para el grupo. Por lo tanto, con base en los presentes resultados, *Ramariopsis* debe ser circunscrito a las especies de basidiomas ramificados —patrón cilíndrico de ramificación— y esporas con quínulas conspicuas derivadas de la túnica. Otro carácter correlacionado con ultraestructura pero que no es exclusivo de *Ramariopsis* es el patrón de reacción cianófila positiva en la ornamentación de las esporas. Este carácter ha sido empleado anteriormente en la sistemática de Gomphaceae (Villegas et al. 1999) y aparentemente la reacción positiva puede originarse en distintas capas de pared —e.g. el corium en *Ramariopsis* y el mucostrato en Gomphales (Villegas et al. 2005).

Durante la presente investigación el proceso de selección de grupos externos resultó de crucial importancia. Un muestreo insuficiente —en número o diversidad— puede generar resultados falaces, tales como forzar la monofilia putativa del grupo interno (cf. Guzmán-Dávalos et al. 2003, Moncalvo et al. 2001) y dado que en el presente caso el principal objetivo de la investigación fue someter a prueba la monofilia putativa de *Ramariopsis*, el muestreo de grupos externos constituyó parte medular del proyecto. Si bien existe una propuesta de protocolo para esta selección (Nixon & Carpenter 1993), fue necesario complementarlo con una prospección filogenética, la cuál nos brinda un marco de referencia fundamental para dirigir el proceso. Así mismo fue necesario clarificar la diferencia entre grupo externo operativo y grupos externos funcionales, ya que ambos cumplen funciones distintas y los criterios para su selección deben reflejar estas diferencias.

Adicionalmente al muestreo taxonómico, el presente análisis comprendió la elaboración de una matriz de datos, en su mayoría morfológicos. El debate sobre la relevancia de los caracteres morfológicos para la inferencia filogenética ha sido largo y la polémica parece persistir (cf. Scotland et al. 2003 vs. Jenner 2004, Wiens 2004). Entre las características sobresalientes de los caracteres morfológicos se han mencionado la posibilidad de ampliar el muestreo taxonómico—inclusive hasta incluir especies extintas e.g. fósiles—, este tipo de fuente de información evita los riesgos inherentes al fenómeno de atracción de ramas largas, permite —y por lo general requiere— una evaluación más extensa de la independencia entre cada carácter; las matrices morfológicas suelen promover el análisis simultáneo de caracteres con distintas tasas de cambio, permitiendo mejor apoyo en los diferentes niveles del cladograma y argumentos pragmáticos como la relación costo/beneficio (para una revisión detallada de estos y otros argumentos ver Hillis 1987, Eernisse & Kluge 1993, Kluge & Wolf 1993, Hillis & Wiens 2000, Baker & Gatesy 2002, Jenner 2004, Wiens 2004, Bergsten 2005, de Luna et al. 2005). En el presente caso, el empleo de caracteres morfológicos brindó algunas de las ventajas señaladas previamente. *Ramariopsis* es un género casi inconspicuo y poco representado en la mayoría de las colecciones (Petersen 1988a), el uso de esta fuente de información permitió ampliar el muestreo taxonómico empleando ejemplares cuyo método de preservación dificultaba significativamente la obtención de otro tipo de datos —e.g. preservados en alcohol/formaldehído. Así mismo este tipo de fuente de información permitió incluir caracteres con diversas tasas de cambio y analizarlos simultáneamente, lo cual representó una ventaja adicional en virtud de la diversidad del muestreo taxonómico. Adicionalmente, el empleo de esta fuente de información permitió, en un sentido más general, profundizar en el estudio filogenético de los patrones de variación morfológicos, lo cual de cierta forma constituye parte central de la sistemática filogenética (Hillis & Wiens 2000).

En virtud de que la sistemática no solamente comprende clasificaciones, sino que parte fundamental de su actividad reside en la descripción e inventario de la diversidad (Hawksworth 1995, Wilson 1999, Cracraft 2002, Funk et al. 2002, Wilson 2004), los nuevos registros para la microbiota de México constituyen una parte relevante de la presente investigación. Como se mencionó anteriormente se calcula que existen 1.5

millones de especies de hongos en el mundo (Hawksworth 2001), de las cuales en México se estima existan 200 mil y únicamente el 3.5% de ellas han sido reportadas (Guzmán 1998). La situación se agrava si además consideramos el escaso conocimiento que se tiene de la micobiota tropical (Guzmán et al. 1997, Guzmán 2003) o de los patrones de distribución (Cifuentes et al. 2004). Durante la presente investigación se reportaron nuevos registros para *Ramariopsis* (García-Sandoval et al. 2002) y *Scytinopogon* (García-Sandoval et al. 2004), este último un género de distribución fundamentalmente tropical (Singer 1945, Corner 1950, Petersen 1988b), los cuales constituyen un aporte al conocimiento de la micobiota nacional.

Si bien el presente estudio permitió delimitar *Ramariopsis*, todavía quedan diversas interrogantes por resolver. Este género ha sido incluido tanto en Clavariaceae (Corner 1970) —clado euagarical— como en Gomphaceae (Petersen 1988a) —clado gomphoidephalloide—, pero actualmente no existe ningún estudio filogenético para Homobasidiomycetos que lo haya incluido en su muestreo, por lo que dilucidar cuáles son las afinidades filogenéticas del género en el contexto de los clados de Homobasidiomycetes reconocidos actualmente (Hibbett & Binder 2002, Larsson et al. 2004) es todavía un problema por resolver. Así mismo, a pesar de que el muestreo taxonómico permitió brindar una respuesta robusta al objetivo principal de la investigación, diversas especies todavía no han sido consideradas, por lo que un estudio filogenético intragenérico es necesario. Adicionalmente, este último estudio nos permitirá dilucidar la historia biogeográfica del taxón, el cual incluye tanto especies de amplia distribución como especies endémicas (Corner 1950, 1970; Petersen 1988a).

## 8. Referencias generales

- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims, & M. Blackwell. 1996. *Introductory mycology*. John Wiley & Sons, New York.
- Anónimo. 2002. Código internacional de nomenclatura botánica. (Código de Saint Louis). Instituto de Botánica Darwinion Missouri Botanical Garden Press, Buenos Aires.
- Archibald, J.D. 1994. Metataxon concepts and assessing possible ancestry using phylogenetic systematics. *Syst. Biol.* 43, 27–40.
- Baker, R. H., & J. Gatesy. 2002. Is morphology still relevant? Pages 163-174 *in* *Molecular systematics and evolution: theory and practice* (R. DeSalle, G. Giribert, & W. Wheeler, eds.). Birkhäuser Verlag, Basel.
- Barr, D.J.S. 1990. Phylum Chytridiomycota. Pages 454-466. *in* *Handbook of Protozoa*, (L. Margulis, J.O. Corliss, M. Melkonian, & D.J. Chapman, eds.). Jones and Bartlett, Boston.
- Barriel, V., & P. Tassy. 1998. Rooting with multiple outgroups: consensus versus parsimony. *Cladistics* 14:193-200.
- Benny, G. L., R. A. Humbler, & J. B. Morton. 2001. Zygomycota: Zygomycetes. Pages 113-145 *in* *The Mycota VIII. Systematics and Evolution Part A* (D. J. McLaughlin, E. G. McLaughlin, & P. A. Lemke, eds.). Springer, Berlin.
- Berbee, M. L. 2001. The phylogeny of plant and animal pathogens in the Ascomycota. *Physl. Mol. P. Path.* 59:165-187.
- Bergsten, J. 2005. A review of long-branch attraction. *Cladistics* 21:163-193.
- Berthier, J. 1976. *Monographie des Typhula Fr., Pistillaria Fr. et genres voisins*. Societe Linneenne de Lyon, Lyon.
- Binder, M., & D. S. Hibbett. 2002. Higher-level phylogenetic relationships of Homobasidiomycetes (mushroom-forming fungi) inferred from four rDNA regions. *Mol. Phyl. Evol.* 22:76-90.
- Boidin J., J. Mugnier & R. Canales 1998. Taxonomie moleculaire des Aphylophorales. *Mycotaxon* 66: 445-491.
- Brooks, D., & D. A. McLennan. 2002. *The nature of diversity: an evolutionary voyage of discovery*. University of Chicago Press, Chicago.
- Brower, A. V. Z. 2000. Homology y the inference of systematic relationships: some historical and phylosophical perspectives. Pages 10-21 *in* *Homology and Systematics* (R. Scotland, & R. T. Pennington, eds.). Taylor & Francis, London.
- Brower, A. V. Z., & V. Schawaroch. 1996. Three steps in homology assesment. *Cladistics* 12:265-272.
- Bruns, T. D., T. J. White, & J. W. Taylor. 1991. Fungal molecular systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22:525-564.
- Bryant, H. N. 1997. Hypothetical ancestors and rooting in cladistic analysis. *Cladistics* 13:337-348.
- Bryant, H. N. 2001. Character polarity and the rooting of cladograms. Pages 319-338 *in* *The Character Concept in Evolutionary Biology* (W. P. Wagner, ed.) Academic Press, San Diego.
- Charleston, M. A., & D. L. Robertson. 2002. Preferential host switching by primate lentiviruses can account for phylogenetic similarity with the primate phylogeny. *Syst. Biol.* 51:528-535.
- Chevallier, F. 1826. *Flore générale des environs de Paris, selon la méthode naturelle*. Ferra Juene, Paris.

- Cifuentes, J., M. Villegas, R. García-Sandoval, G. Vidal-Gaona, S. Sierra, R. Valenzuela-Garza, L. Pérez-Ramírez, & E. Morales-Torres. 2004. Distribución de macromicetos: Una aproximación al análisis de áreas de endemismos. Pages 355-374 *in* Biogeografía de la Sierra Madre Oriental (I. Luna, J. J. Morrone, & D. Espinosa, eds.). CONABIO-UNAM, México DF.
- Cléménçon, H., V. Emmett, & E. E. Emmett. 2004. Cytology and plectology of the Hymenomycetes, First edition. J. Cramer, Berlin.
- Coker, W. C. 1923. The clavarias of the United States and Canada. The University of North Carolina Press, North Carolina.
- Colless, D. H. 1985. On the status of outgroups in phylogenetics. *Syst. Zool.* 34:364-366.
- Corner, E. J. H. 1950. A monograph of *Clavaria* and allied genera. *Ann. Bot. Mem.* 1:1-740.
- Corner, E. J. H. 1966. A monograph of cantharelloid fungi. Oxford University Press, Oxford.
- Corner, E. J. H. 1970. Supplement to "A monograph of *Clavaria* and allied genera". J. Cramer, Stuttgart.
- Cracraft, J. 2002. The seven great questions of systematic biology: an essential foundation for conservation and the sustainable use of biodiversity. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 89:127-144.
- Crisci, J. V., & T. F. Stuessy. 1980. Determining primitive character states for phylogenetic reconstruction. *Syst. Bot.* 5:112-135.
- Currie, C. R., B. Wong, A. E. Stuart, T. R. Schultz, S. A. Rehner, U. G. Mueller, G.-H. Sung, J. W. Spatafora, & N. A. Straus. 2003. Ancient tripartite coevolution in the attine ant-microbe symbiosis. *Science* 299:386-388.
- Dalevi, D., P. Hugenholtz, & L. L. Blackall. 2001. A multiple-outgroup approach to resolving division-level phylogenetic relationships using 16S rDNA data. *Int. J. Syst. Evol. Micro.* 51:385-391.
- De Luna, E., J. A. Guerrero, & T. Chew-Taracena. 2005. Sistemática biológica: avances y direcciones futuras en la teoría y los métodos de la reconstrucción filogenética. *Hidrobiológica* 15:1-22.
- De Pinna, M. C. C. 1991. Concepts and test of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* 7:367-394.
- De Pinna, M. C. C. 1994. Ontogeny, rooting, and polarity. Pages 157-172 *in* Models in phylogeny reconstruction (R. W. Scotland, D. J. Siebert, & D. M. Williams, eds.). Oxford University Press, Oxford.
- Donk, M. A. 1933. Revision der Niederländischen Homobasidiomycetae—Aphylophoraceae II. Mededeel. Bot. Mus. Rijksuniv. Utrecht 9:1-278.
- Donk, M. A. 1954. The generic names proposed for Hymenomycetes III. Clavariaceae. *Reinwardtia* 2:441-493.
- Donk, M. A. 1964. A conspectus of the families of Aphylophorales. *Persoonia* 3:199-324.
- Donk, M. A. 1971. Progress in the study of classification of the higher Basidiomycetes. Pages 3-24 *in* Evolution in the higher Basidiomycetes (R. H. Petersen, ed.) The University of Tennessee Press, Knoxville.
- Donoghue, M. J., & P. D. Cantino. 1984. The logic and limitations of the outgroup substitution approach to cladistic analysis. *Syst. Bot.* 9:192-202.
- Eernisse, D. J., & A. G. Kluge. 1993. Taxonomic Congruence versus Total Evidence, and Amniote Phylogeny Inferred from Fossils, Molecules, and Morphology. *Mol. Biol. Evol.* 10:1170-1195.

- Estrada-Torres, A., T. W. Gaither, D. L. Miller, C. Lado, & H. W. Keller. 2005. The myxomycete genus *Schenella*: morphological and DNA sequence evidence for synonymy with the gasteromycete genus *Pyrenogaster*. *Mycologia* 97:139-149.
- Faivovich, J. 2002. On RASA. *Cladistics* 18:324-333.
- Faith, D. P., C. A. M. Reid, & J. Hunter. 2004. Integrating phylogenetic diversity, complementarity, and endemism for conservation assessment. *Conserv. Biol.* 18:255-261.
- Farris, J. S. 1982. Outgroups and parsimony. *Syst. Zool.* 31:328-334.
- Farris, J. S. 1983. The logical basis of phylogenetic analysis. Pages 7-36 in *Advances in cladistics*, Volume 2 (N. I. Platnic, & V. A. Funk, eds.). Columbia University Press, New York.
- Farris, J. S. 2002. RASA attributes highly significant structure to randomized data. *Cladistics* 18:334-353.
- Forey, P. L., C. J. Humphries, I. Kitching, R. W. Scotland, D. J. Sieberg, & D. M. Williams. 1992. *Cladistics. A practical course in systematics*. Clarendon Press, Oxford.
- Fries, E. 1821. *Systema mycologicum*, Lundæ.
- Funk, V. A., A. K. Sakai, & K. Richardson. 2002. Biodiversity: The interface between systematics and conservation. *Syst. Biol.* 51:235-237.
- García-Sandoval, R., J. Cifuentes, & M. Villegas. 2004. First record of *Scytinopogon* from Mexico, with notes on its systematics. *Mycotaxon* 89:185-192.
- García-Sandoval, R., M. Villegas, & J. Cifuentes. 2002. New records of *Ramariopsis* from Mexico. *Mycotaxon* 82:323-333.
- Graham, S. W., R. G. Olmstead, & S. C. H. Barrett. 2002. Rooting phylogenetic trees with distant outgroups: a case study from the commelinoid monocots. *Mol. Biol. Evol.* 19:1769-1781.
- Grandcolas, P., E. Guilbert, T. Robillard, C. A. D'Haese, J. Muriene, & F. Legendre. 2004. Mapping characters on a tree with or without the outgroups. *Cladistics* 20:579-582.
- Guzmán, G. 1998. Inventorying the fungi of Mexico. *Biodivers. Conserv.* 7:369-384.
- Guzmán, G. 2003. Los hongos de El Edén, Quintana Roo (Introducción a la micobiota tropical de México). INECOL—CONABIO, Xalapa.
- Guzmán, G., V. M. Bandala, & L. Montoya. 1997. An overview on the tropical fungi from Mexico. Pages 115-147 in *Tropical Mycology* (K. K. Janardhanan, C. Rajendran, N. Natarajan, & D. L. Hawksworth, eds.). Science Publishers, India.
- Guzmán-Dávalos, L., G. M. Mueller, J. Cifuentes, A. N. Miller, & A. Santerre. 2003. Traditional infrageneric classification of *Gymnopilus* is not supported by ribosomal DNA sequence data. *Mycologia* 95:1204-1214.
- Harvey, P. H., & M. D. Pagel. 1991. *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press, New York.
- Hawkins, J. A. 2000. A survey of primary homology assessment: different botanist percibe and define characters in diferent ways. Pages 22-53 in *Homology and Systematics* (R. Scotland, & R. T. Pennington, eds.). Taylor & Francis, London.
- Hawkins, J. A., C. E. Hughes, & R. W. Scotland. 1997. Primary homology assessment, characters and character states. *Cladistics* 13:275-283.
- Hawksworth, D. L. (ed) 1995. *Biodiversity Measurement and Estimation*. Chapman & Hall The Royal Society, London.
- Hawksworth, D. L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimated revisited. *Mycol. Res.* 105:1422-1432.
- Hawksworth, D. L., P. M. Kirk, B. C. Sutton, & D. N. Pegler. 1995. *Ainsworth & Bisby's*

- Dictionary of the Fungi. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hibbett, D. S. 2004. Trends in morphological evolution in Homobasidiomycetes inferred using maximum likelihood: a comparison of binary and multistate approaches. *Syst. Biol.* 53:889-903.
- Hibbett, D. S., & M. Binder. 2002. Evolution of complex fruiting-body morphologies in homobasidiomycetes. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269:1963-1969.
- Hibbett, D. S., E. Pine, E. Langer, G. Langer, & M. J. Donoghue. 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 94:12002-12006.
- Hibbett, D. S., & R. G. Thorn. 2001. Homobasidiomycetes. Pages 121-168 in *The Mycota VII. Systematics and Evolution. Part B* (D. J. McLaughlin, E. G. McLaughlin, & P. A. Lemke, eds.). Springer, Berlin.
- Hillis, D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:23-42.
- Hillis, D. M. 1998. Taxonomic sampling, phylogenetic accuracy, and investigator bias. *Syst. Biol.* 47:3-8.
- Hillis, D. M., & J. J. Wiens. 2000. Molecules versus morphology in systematics: conflicts, artifacts, and misconceptions. Pages 1-19 in *Phylogenetic Analysis of Morphological Data* (J. J. Wiens, ed.) Smithsonian Institution Press, Washington.
- Hock R. (ed.) 2001. *The Mycota IX. Fungal Associations*. Springer, Berlin.
- Hugot, J. P., C. Demanche, V. Barriel, E. Dei-Cas, & J. Guillot. 2003. Phylogenetic systematics and evolution of primate-derived *Pneumocystis* based on mitochondrial or nuclear DNA sequence comparison. *Syst. Biol.* 52:735-744.
- Humpert, A. J., E. L. Muench, A. J. Giachini, M. A. Castellano, & J. W. Spatafora. 2001. Molecular phylogenetics of *Ramaria* and related genera: evidence from nuclear large subunit and mitochondrial small subunit rDNA sequences. *Mycologia* 93:465-477.
- James, T. Y., D. Porter, C. A. Leander, R. Vilgalys, & J. E. Longcore. 2000. Molecular phylogenetics of the Chytridiomycota supports the utility of ultrastructural data in chytrid systematics. *Can. J. Bot.* 78:336-350.
- Jenner, R. A. 2004. Accepting partnership by submission? Morphological phylogenetics in a molecular millennium. *Syst. Biol.* 53:333-342.
- Jülich, W. 1981. Higher taxa of Basidiomycetes. J. Cramer, Vaduz.
- Keller, J. 1997. *Atlas des Basidiomycetes*. Union Des Societes Suisses De Mycologie, Neuchâtel.
- Keller, R. A. 1998. Bases metodológicas del uso de grupos externos en los análisis cladísticos. Pages 80 Tesis para obtener el grado de Biólogo, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- Kirk, P. M., P. F. Cannon, J. D. David, & J. A. Stalpers (eds) 2001. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. CABI Publishing, Wallingford.
- Kitching, I. J., P. L. Forey, C. J. Humphries, & D. M. Williams. 1998. *Cladistics*. Oxford University Press, Oxford.
- Kluge, A. G. 1997. Testability and the refutation and corroboration of Cladistics hypothesis. *Cladistics* 13:81-96.
- Kluge, A. G., & A. J. Wolf. 1993. Cladistics: what's in a word? *Cladistics* 9:183-199.
- Largent, D., D. Johnson, & R. Watling. 1977. How to identify mushrooms to genus III: Microscopic features. Mad River Press, Eureka.
- Larsson, E., & K.-H. Larsson. 2003. Phylogenetic relationships of russuloid basidiomycetes with emphasis on aphyllorphorean taxa. *Mycologia* 95:1037-1065.



- Larsson, K. H., E. Larsson, & U. Koljalg. 2004. High phylogenetic diversity among corticioid homobasidiomycetes. *Mycol. Res.* 108:983-1002.
- Lecointre, G., H. Philippe, H. L. V. Le, & H. L. Guyader. 1993. Species sampling has a major impact on phylogenetic inference. *Mol. Phyl. Evol.* 2:205-224.
- Liberles, D. A. 2005. Using phylogeny to understand genomic evolution. Pages 181-189 in *Parsimony, phylogeny, and genomics* (V. A. Albert, ed.) Oxford University Press, New York.
- Liu, Y. J., & B. D. Hall. 2004. Body plan evolution of ascomycetes, as inferred from an RNA polymerase II phylogeny. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101:4507-4512.
- Lutzoni, F., F. Kauff, C. J. Cox, D. McLaughlin, C. Gail, B. Dentinger, M. Padamsee, D. Hibbett, T. Y. James, E. Baloch, M. Grube, V. Reeb, V. Hofstetter, C. Schoch, A. E. Arnold, J. Maidlikowska, J. Spatafora, D. Johnson, S. Hambleton, M. Crockett, R. Shoemaker, G.-H. Sung, R. Lücking, T. Lumbsch, K. O'Donnell, M. Binder, P. Diederich, D. Ertz, C. Gueidan, K. Hansen, R. C. Harris, K. Hosaka, Y.-W. Lim, B. Matheny, H. Nishida, D. Pfister, J. Stone, J. Sugiyama, R. Yahr, & R. Vilgalys. 2004. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *Am. J. Bot.* 91:1446-1480.
- Lyons-Weiler, J., G. A. Hoelzer, & R. J. Tausch. 1996. Relative apparent synapomorphy analysis (RASA) I: the statistical measurement of phylogenetic signal. *Mol. Biol. Evol.* 13:749-756.
- Lyons-Weiler, J., G. A. Hoelzer, & R. J. Tausch. 1998. Optimal outgroup analysis. *Biol. J. Linnean Soc.* 64:493-511.
- Maddison, W. P., M. J. Donoghue, & D. R. Maddison. 1984. Outgroup analysis and parsimony. *Syst. Zool.* 33:83-103.
- Maddison, D. R., & W. P. Maddison. 2001. *MacClade 4: Analysis of phylogeny and character evolution.*, version 4.02. Sinauer.
- McShea, D. W., & E. P. Venit. 2001. What is a part? Pages 259-284 in *The character concept in evolutionary biology* (G. P. Wagner, ed.) Academic Press, San Diego.
- Moncalvo, J.-M., R. Vilgalys, S. A. Redhead, J. E. Johnson, T. Y. James, M. C. Aime, V. Hofstetter, S. J. W. Verduin, E. Larsson, T. J. Baroni, R. G. Thorn, S. Jacobsson, H. Cléménçon, & O. K. M. Jr. 2002. One hundred and seventeen clades of euagarics. *Mol. Phyl. Evol.* 23:357-400.
- Munkacsj, A. B., J. J. Pan, P. Villesen, U. G. Mueller, M. Blackwell, & D. J. McLaughlin. 2004. Convergent coevolution in the domestication of coral mushrooms by fungus-growing ants. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271:1777-1782.
- Nelson, G. J. 1978. Ontogeny, phylogeny, paleontology, and the biogenetic law. *Syst. Zool.* 27:324-345.
- Nixon, K. C., & J. M. Carpenter. 1993. On outgroups. *Cladistics* 9:413-426.
- Novacek, M. J. 1994. Morphological and molecular inroads to phylogeny. Pages 85-131 in *Interpreting the hierarchy of nature* (L. Grande, & O. Rieppel, eds.). Academic Press, San Diego.
- O'Donnell, K., F. M. Lutzoni, T. J. Ward, & G. L. Benny. 2001. Evolutionary relationships among mucoralean fungi (Zygomycota): evidence for family polyphyly on a large scale. *Mycologia* 93:286-296.
- Patouillard, N. 1900. *Essai taxonomique sur les familles et les genres des Hymenomycetes. These pour obtention du Diplome de Docteur.* Universite de Paris.
- Pegler, D. N., & W. K. Young. 1985. Basidiospore structure in *Ramariopsis* (Clavariaceae). *Trans. Br. Mycol. Soc.* 84:207-214.

- Persoon, C.H. 1801. Synopsis methodica fungorum. Gottingae.
- Petersen, R. H. 1966. Notes on clavarioid fungi. V. Emendation and additions to *Ramariopsis*. Mycologia 58:201-207.
- Petersen, R. H. 1971. Interfamilial relationships in the clavarioid and canthareloid fungi. Pages 345-375 in Evolution in the higher Basidiomycetes. An international symposium (R. H. Petersen, ed.) University of Tennessee Press, Knoxville.
- Petersen, R. H. 1978. Notes on clavarioid fungi. XV. Reorganization of *Clavaria*, *Clavulinopsis* and *Ramariopsis*. Mycologia 70:660-671.
- Petersen, R.H. 1981. *Ramaria* subgenus *Echinoramaria*. Bibl. Mycologica 79: 1-261
- Petersen, R. H. 1988a. The clavarioid fungi of New Zealand. DSIR Science Information Publishing Centre, Wellington.
- Petersen, R. H. 1988b. Notes on clavarioid fungi. XXII. Three interesting South American collections. Mycologia 80:571-576.
- Pine, E., D. S. Hibbett, & M. J. Donoghue. 1999. Phylogenetic relationships of canthareloid and clavarioid Homobasidiomycetes based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. Mycologia 91:944-963.
- Poe, S. 1998. Sensitivity of phylogeny estimation to taxonomic sampling. Syst. Biol. 47:18-31.
- Rannala, B., J. P. Huelsenbeck, Z. H. Yang, & R. Nielsen. 1998. Taxon sampling and the accuracy of large phylogenies. Syst. Biol. 47:702-710.
- Rieppel, O., & M. Kearney. 2002. Similarity. Biol. J. Linnean Soc. 75:59-82.
- Salisbury, B. A., & J. H. Kim. 2001. Ancestral state estimation and taxon sampling density. Syst. Biol. 50:557-564.
- Schuh, R. 2000. Biological systematics. Cornell University Press, Cornell.
- Scotland, R. W., R. G. Olmstead, & J. R. Bennett. 2003. Phylogeny reconstruction: The role of morphology. Syst. Biol. 52:539-548.
- Siddall, M. E. 1997. The AIDS pandemic is new, but is HIV not new? Cladistics 13:267-273.
- Simmons, M. P., C. P. Randle, J. V. Freudenstein, & J. W. Wenzel. 2002. Limitations of relative apparent synapomorphy analysis (RASA) for measuring phylogenetic signal. Mol. Biol. Evol. 19:14-23.
- Singer, R. 1945. New genera of fungi-II. Lloydia 8:138-144.
- Singer, R. 1986. The Agaricales in modern taxonomy, 4th edition. Koeltz Scientific Books, Koenigstein.
- Sparrow, F. K. 1960. Aquatic phycomycetes, Second edition. The University of Michigan Press, Ann Arbor.
- Stringer J.R. 1996. *Pneumocystis carinii*: What is it, exactly? Microbiol. Rev. 9: 489-498.
- Struwe, L., V. A. Albert, & B. Bremer. 1994. Cladistics and family level classification of the gentianales. Cladistics 10:175-206.
- Swann, E. C., & J. W. Taylor. 1993. Higher taxa of basidiomycetes: an 18 rRNA gene perspective. Mycologia 85:923-936.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods), version 4.0b10. Sinauer.
- Swofford, D. L., G. J. Olsen, P. J. Waddell, & D. H. Hillis. 1996. Phylogenetic inference. Pages 407-514 in Molecular Systematics (D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable, eds.). Sinauer, Sunderland.

- Tarrio, R., F. Rodríguez-Trelles, & F. J. Ayala. 2000. Tree rooting with outgroups when they differ in their nucleotide composition from the ingroup: the *Drosophila saltans* and *willistoni* groups, a case study. *Mol. Phyl. Evol.* 16:344-349.
- Taylor, J. W., J. Spatafora, K. O'Donnell, F. Lutzoni, T. James, D. S. Hibbett, D. Geiser, T. D. Bruns, & M. Blackwell. 2004. The Fungi. Pages 171-194 in *Assembling the tree of life* (J. Cracraft, & M. J. Donoghue, eds.). Oxford University Press, Oxford.
- Tehler, A., D. P. Little, & J. S. Farris. 2003. The full-length phylogenetic tree from 1551 ribosomal sequences of chitinous fungi, *Fungi. Mycol. Res.* 107:901-916.
- Van Wyk, P. W. J., & M. J. Wingfield. 1991. Ascospore ultrastructure and development in *Ophiostoma cucullatum*. *Mycologia* 83:698-707.
- Villegas, M., J. Cifuentes, & A. E. Torres. 2005. Sporal characters in *Gomphales* and their significance for phylogenetics. *Fun. Diver.* 18:157-175.
- Villegas, M., E. D. Luna, J. Cifuentes, & E. Estrada-Torres. 1999. Phylogenetic studies in Gomphaceae *sensu lato* (Fungi: Basidiomycetes). *Mycotaxon* 70:127-147.
- Watrous, I. E., & Q. D. Wheeler. 1981. The out-group comparison method of character analysis. *Syst. Zool.* 30:1-11.
- Wang, Z., M. Binder, Y. C. Dai, & D. S. Hibbett. 2004. Phylogenetic relationships of *Sparassis* inferred from nuclear and mitochondrial ribosomal DNA and RNA polymerase sequences. *Mycologia* 96:1015-1029.
- Weiß, M., & F. Oberwinkler. 2001. Phylogenetic relationships in *Auriculariales* and related groups -hypotesis derived from nuclear ribosomal DNA sequences. *Micol. Res.* 105:403-415.
- Weston, P. H. 1994. Methods for rooting cladistic trees. Pages 125-155 in *Models in Phylogeny Reconstruction* (R. W. Scotland, D. J. Siebert, & D. M. Williams, eds.). Clarendon Press, Oxford.
- Wheller, Q.D. 1990. Ontogeny and character polarity. *Cladistics* 6: 225-268.
- Wiley, E. O., D. Siegel-Causey, D. R. Brooks, & V. A. Funk. 1991. *The complete cladist: A primer course of phylogenetic procedures*. Museum of Natural History, The University of Kansas, Lawrence.
- Wiens, J. J. 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Syst. Biol.* 53:653-661.
- Wilson, E. O. 2004. Taxonomy as a fundamental discipline. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 359:379.
- Wilson, J. E. 1999. *Describing Species*. Columbia University Press, New York.
- Zwickl, D. J., & D. M. Hillis. 2002. Increased taxon sampling greatly reduces phylogenetic error. *Syst. Biol.* 51:588-598.