



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
SISTEMÁTICA

DIVERSIDAD DE HONGOS HIPOGEOS EN BOSQUES
TEMPLADOS DEL EJE NEOVOLCÁNICO TRANSVERSAL
MEXICANO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CAROLINA GUADALUPE PIÑA PAEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ROBERTO GARIBAY ORIJEL
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: DR. JOAQUÍN CIFUENTES BLANCO
FACULTAD DE CIENCIAS
DR. DAVID SEBASTIAN GERANDT
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

MÉXICO, D.F. ABRIL,

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
SISTEMÁTICA

DIVERSIDAD DE HONGOS HIPOGEOS EN BOSQUES
TEMPLADOS DEL EJE NEOVOLCÁNICO TRANSVERSAL
MEXICANO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CAROLINA GUADALUPE PIÑA PAEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ROBERTO GARIBAY ORIJEL
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: DR. JOAQUÍN CIFUENTES BLANCO
FACULTAD DE CIENCIAS
DR. DAVID SEBASTIAN GERANDT
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

MÉXICO, D.F. ABRIL,

2014

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 10 de febrero de 2014, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **PIÑA PAEZ CAROLINA GUADALUPE** con número de cuenta **512013002** con la tesis titulada **"DIVERSIDAD DE HONGOS HIPOGEOS EN BOSQUES TEMPLADOS DEL EJE NEOVOLCÁNICO TRANSVERSAL MEXICANO"**, realizada bajo la dirección del **DR. ROBERTO GARIBAY ORIJEL**:

Presidente: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN
Vocal: DRA. MARÍA DEL CARMEN AUXILIO GONZÁLEZ VILLASEÑOR
Secretario: DR. JOQUIÍN CIFUENTES BLANCO
Suplente: DR. DAVID SEBASTIAN GERNANDT
Suplente: DR. SIGFRIDO SIERRA GALVÁN

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 2 de abril de 2014.

María del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM.

A CONACyT por la beca otorgada durante mis estudios de posgrado, con registro de becario 262593 y CVU 412692, durante el periodo 2011-2013.

Al Programa de Apoyos a los Estudios de Posgrado, por su apoyo económico para realizar una estancia de investigación en Oregon State University.

Al instituto de Biología, por ser mí casa durante este tiempo.

A mi director de Tesis Dr. Roberto Garibay Orijel, por brindarme el apoyo necesario para poder culminar este trabajo.

A los doctores Joaquín Cifuentes y David Gernandt por aceptar ser parte de este proyecto. Por las acertadas observaciones y los valiosos comentarios que realizaron para mejorar la calidad de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A mis padres por su apoyo incondicional, su amor y paciencia, los quiero.

A mis hermanos Agustín, Karla, Adriana y Danna, por formar parte de este crecimiento personal y profesional, los quiero.

A Marc Trinks, por tu amor, paciencia, comprensión y apoyo en esta aventura. I love you.

A mis queridas amigas, Ale, Diana, Nena y Qk, gracias por compartir tantos años de enseñanzas y cosas buenas. Las quiero chicas.

A mis compañeros del laboratorio C103, por su colaboración en este que también es su proyecto.

A Ángeles y Lupita por brindarme su amistad, por esas charlas de sobremesa, por su grata compañía.

A los miembros del jurado evaluador: Dra. María del Carmen González Villaseñor, Dr. Alejandro Zaldívar Riverón y Dr. Sigfrido Sierra Galván, por todo su apoyo y valiosos comentarios.

Al Dr. Alejandro Zaldívar Riverón por su ayuda en los análisis filogenéticos.

A Caz, por permitirme trabajar en su laboratorio, por sus buenos consejos y acertadas críticas.

A Jim, por compartir su conocimiento, por su generosidad e invaluable apoyo, gracias por hacerme sentir como en casa.

Al Dr. Gonzalo Guevara, por toda su ayuda e interés en este proyecto.

A Rosanne Healy por su apoyo en la identificación de las especies del género *Pachyphloeus*.

A la M. en C. María Berenit Mendoza Garfias, por su colaboración en la toma de fotografías en el microscopio electrónico de barrido.

A la M. en C. Laura Márquez Valdelamar por su ayuda en las reacciones de secuenciación.

A la M. en C. Elvira Aguirre Acosta, por el préstamo de ejemplares de la Colección Nacional de Hongos del Instituto de Biología de la UNAM.

A North American Truffling Society por la beca Henry Pavelek.

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser la institución que formó parte de mi desarrollo profesional.

Para Marc

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	7
OBJETIVOS	8
General	8
Específicos.....	8
ANTECEDENTES	9
Área de estudio.....	11
Relieve.....	11
Vegetación.....	12
METODOLOGÍA GENERAL.....	15
Recolección de los ejemplares	15
Determinación taxonómica de hongos hipogeos	16
Técnicas para el estudio de hongos hipogeos	16
Códigos de barras del ADN	18
Preparación de muestras, envío y procesamiento.....	18
Técnicas de extracción, amplificación y secuenciación	18
BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).....	20
Delimitación de especies del género <i>Rhizopogon</i>	20
Obtención de secuencias.....	20
Alineamiento y reducción de secuencias idénticas.....	20
Delimitación de especies	21
Divergencias genéticas	22
RESULTADOS	23
Descripción de especies	30
Delimitación de especies del género <i>Rhizopogon</i>	127

DISCUSIÓN	129
CONCLUSIONES.....	135
LITERATURA CITADA.....	136
APÉNDICE I	147
APÉNDICE II	155
APÉNDICE III	158
Estimación de la divergencia evolutiva sobre pares de secuencias entre y dentro de grupos del genero <i>Rhizopogon</i>	158
APÉNDICE IV.....	162
GLOSARIO GENERAL	162

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Arreglo taxonómico de los géneros recolectados.	23
Tabla 2. Vegetación dominante asociada a las recolectas.	25
Tabla 3. Especies por sitio de recolecta.	26
Tabla 4. Cuadro comparativo de <i>R. evadens</i> y especies afines.	97
Tabla 5. Comparación de algunas especies del subgénero <i>Amylopogon</i>	113
Tabla 6. Resultados de la búsqueda de BLAST.	147
Tabla 7. Divergencia genética estimada dentro de los grupos, basados en las entidades de GMYC umbral simple.	158
Tabla 8. Divergencia genética estimada entre los grupos, basados en las entidades de GMYC umbral simple.	159
Tabla 9. Divergencia genética estimada dentro de los grupos, basados en las entidades de GMYC umbral múltiple.	160
Tabla 10. Divergencia genética estimada entre los grupos, basados en las entidades de GMYC umbral múltiple	161

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa del centro de México, delineando el Eje Neovolcánico Transversal Mexicano.....	15
Figura 2. Características macro y microscópicas de <i>Endogone incrassata</i>	31
Figura 3. Características macro y microscópicas de <i>Endogone lactiflua</i>	33
Figura 4. Características macro y microscópicas de <i>Elaphomyces</i> sp. nov. 1.....	36
Figura 5. Características macro y microscópicas de <i>Elaphomyces</i> sp. nov. 2.....	39
Figura 8. Características macro y microscópicas de <i>Hydnotrya cerebriformis</i>	46
Figura 9. Características macro y microscópicas de <i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 1.....	48
Figura 10. Características macro y microscópicas de <i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 2.....	50
Figura 11. Características macro y microscópicas de <i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 3.....	52
Figura 12. Características macro y microscópicas de <i>Tuber separans</i>	55
Figura 13. Características macro y microscópicas de <i>Tuber maculatum</i>	57
Figura 14. Características macro y microscópicas de <i>Cystangium pineti</i>	61
Figura 15. Características macro y microscópicas de <i>Gautieria angustispora</i>	64
Figura 16. Características macro y microscópicas de <i>Gautieria monticola</i>	66
Figura 17. Características macro y microscópicas <i>Gymnomyces</i> sp. 1	69
Figura 18. Características macro y microscópicas <i>Gymnomyces</i> sp. 2.....	71
Figura 24. Características macro y microscópicas de <i>Lactarius</i> sp. 1	87
Figura 25. Características macro y microscópicas de <i>Leucogaster rubescens</i>	89
Figura 26. Características macro y microscópicas de <i>Melanogaster</i> aff. <i>tuberiformis</i>	92
Figura 27. Características macro y microscópicas de <i>Rhizopogon evadens</i>	96

Figura 28. Características macro y microscópicas de <i>Rhizopogon fuscorubens</i>	100
Figura 29. Características macro y microscópicas de <i>Rhizopogon guzmanii</i>	102
Figura 30. Características macro y microscópicas de <i>Rhizopogon pseudoroseolus</i>	105
Figura 31. Características macroscópicas de <i>Rhizopogon</i> grupo <i>salebrosus</i>	110
Figura 32. Características microscópicas de <i>Rhizopogon</i> grupo <i>salebrosus</i>	111
Figura 33. Características microscópicas de <i>Rhizopogon</i> grupo <i>salebrosus</i>	112
Figura 34. Características macro y microscópicas de <i>R. superiorensis</i> var. <i>mexicanus</i>	116
Figura 35. Características macro y microscópicas de <i>Russula</i> sp. 1	119
Figura 36. Características macro y microscópicas de <i>Schenella pityophilus</i>	122
Figura 37. Características macro y microscópicas de <i>Schenella simplex</i>	124
Figura 38. Características macro y microscópicas de <i>Trappea darkeri</i>	126
Figura 39. Árbol Bayesiano ultramétrico recuperado del conjunto de secuencias de la región del ITS usando BEAST, umbral simple.	155
Figura 40. Árbol Bayesiano ultramétrico recuperado del conjunto de las secuencias de la región del ITS usando BEAST, umbral múltiple.	156
Figura 41. Diversificación de linajes. Gráfica basada en umbral simple.	157
Figura 42. Diversificación de linajes. Gráfica basada en umbral múltiple.	157

RESUMEN

Se presenta un estudio taxonómico con el propósito de contribuir al conocimiento de la diversidad y distribución de los hongos hipogeos del Eje Neovolcánico Transversal Mexicano (ENTM). El objetivo general del proyecto fue describir la diversidad de especies de hongos hipogeos en el ENTM. Los objetivos específicos fueron: (i) describir taxonómicamente las especies; (ii) determinar su distribución y frecuencia y por último (iii) establecer si *Rhizopogon* grupo *salebrosus* (RGS) - determinado con base en morfología-, representa un complejo de especies y delimitar dichas especies. Se recolectaron muestras en 28 sitios, incluyendo nueve volcanes: Nevado de Colima, Patambam, San Andrés, Ajusco, Nevado de Toluca, Popocatépetl, Iztaccíhuatl, La Malinche y Pico de Orizaba. Las recolectas fueron caracterizadas micro- y macro morfológicamente y se determinaron con claves específicas. Se obtuvieron códigos de barras de 70 ejemplares, pertenecientes al proyecto *Neotropical Truffles*. Para el género *Rhizopogon* se realizó además un análisis de delimitación de especies utilizando el método “General Mixed Yule Coalescence” (GMYC). Una vez obtenidas las entidades para ambos umbrales (simple y múltiple), se calcularon las divergencias genéticas de entidades que incluyeran nuestras secuencias y se compararon contra la (s) entidad (es) más cercana (s). Las divergencias genéticas fueron estimadas usando distancias no corregidas p . Se recolectaron 126 especímenes correspondientes a 35 especies de los filos Ascomycota (10) y Basidiomycota (23) e Incertae sedis, Endogone (2). RGS fue el taxón con mayor número de recolectas (21 spp.). *Tuber separans* se recolectó en 11 ocasiones y se encontró en diez de los 28 sitios. Los sitios exactos con mayor riqueza de especies fueron el Nevado de Colima y carretera Morelia-Atécuaro con seis especies respectivamente. Respecto a los volcanes, La Malinche fue el volcán con mayor número de especies (13 spp.), aunque también fue el sitio más muestreado. En el Nevado de Toluca se encontraron 7 especies, en el Nevado de Colima 6 especies, en el Pico de Orizaba 5 especies, en Patambam 4 especies, en el Popocatépetl e Iztaccíhuatl 3 especies cada volcán, en el Ajusco dos especies y una especie para San Andrés. Los ejemplares recolectados se distribuyeron principalmente en bosques de pino, bosques de abeto y bosques de encino. El umbral simple de GMYC arrojó 32 especies putativas, 21 agrupamientos y 11 *singletons*. El umbral múltiple obtuvo 29 especies putativas, 20 agrupamientos y 9 *singletons*. Tanto el umbral simple como el múltiple separaron RGS en tres entidades, pero de distinta forma. Se reportan 35 especies de hongos hipogeos para el ENTM, contribuyendo con 19 registros para el país, incluyendo siete nuevas especies y 12 nuevos registros. *Tuber separans* fue el taxón con mayor distribución en el ENTM. Con base en las divergencias genéticas calculadas y los arboles filogenéticos inferidos sugieren que RGS es en realidad un grupo compuesto por al menos dos especies.

ABSTRACT

This taxonomic study was conducted with the purpose of contributing to the scientific body of knowledge of the diversity and distribution of hypogeous mushrooms of the Trans-Mexican Volcanic Belt (TMVB). The general objective of this project was to describe the diversity of species of hypogeous mushrooms along the TMVB, and more specifically to: a) describe these species taxonomically, b) determine their distribution and frequency, and c) establish if the morphologically determined *Rhizopogon* group *salebrosus* (RGS) entity is constituted of more than one species, and if so, delimit said species. Collections were taken from 28 sites, including 9 volcanos: Nevado de Colima, Patambam, San Andres, Ajusco, Nevado de Toluca, Popocatepetl, Iztaccihuatl, La Malinche, and Pico de Orizaba. Samples were micro- and macro-morphologically characterized and were later identified using specific keys. Barcodes for 70 specimens were obtained from the *Neotropical Truffles* project. The sequences were algorithmically compared using *BLAST* with the *GenBank* database to complement their taxonomic determinations. For the genus *Rhizopogon* an additional species-delimitation analysis, was performed the General Mixed Yule-Coalescent Model (GMYC). Genetic divergence of collected species was calculated and compared against the most closely related entity(s) for both GMYC focuses. The genetic divergences were estimated using non-corrected *p* distances. A total of 126 specimens were collected, corresponding to 35 species consisting of Ascomycota (10), Basidiomycota (23) and Incertae sedis, *Endogone* (2). RGS was the taxon with the highest number of collections (21). *Tuber separans* was collected on 11 occasions and distributed amongst 10 of the 28 sites sampled. The exact sites with greatest richness were Nevado de Colima and the Morelia-Atzacuaro highway with 6 species each. With respect to the volcanoes, La Malinche had the highest number of species found (13), as well as being the site most studied. Seven species were collected from Nevado de Toluca, six species from Nevado de Colima, five species from Pico de Orizaba, four species from Patambam, three species from Popocatepetl and Iztaccihuatl each, two species from Ajusco and one species from San Andres. The collected specimens were distributed principally in pine, fir and oak forests. With respect to the delimitation of species, the simple-threshold GMYC generated 32 entities (putative species), 21 groupings and 11 *singletons*. The multiple-threshold GMYC produced 20 groupings and 9 *singletons*, giving a total of 29 entities (putative species). Both simple and multiple thresholds separated RGS in three entities, but with distinctive forms. 35 species of hypogeous fungi for the TMVB were reported, contributing 19 records for Mexico, seven of these new species and 12 new records for the country, including seven new species and 12 new records. *Tuber separans* was the taxa with the widest distribution in the TMVB. Based on calculated genetic divergence and the phylogenetic trees generated, the research suggests that RGS is in reality a group comprised of at least two (2) species.

INTRODUCCIÓN

Los hongos ectomicorrízicos presentan aproximadamente de 7,750 especies e influyen profundamente en la función de los ecosistemas (Rinaldi et al. 2008). Las especies de este grupo participan en el reciclaje y absorción de nutrientes y protegen las raíces de patógenos y condiciones ambientales extremas, mantienen la estructura del suelo y las redes tróficas del bosque (Smith y Read 1997). Muchos hongos micorrízicos producen esporomas hipogeos que están estrechamente relacionados con las redes tróficas y la dinámica de un gran número de ecosistemas forestales (Johnson 1996; Claridge 2002). En general, a los hongos hipogeos se les conoce como trufas, éstos llevan a cabo procesos importantes del suelo que contribuyen en la productividad del ecosistema, fungen como vínculos biológicos que conectan redes tróficas complejas entre los organismos epigeos e hipogeos, además de su función micorrízica que influye en el establecimiento y el crecimiento de las plantas (Trappe et al. 2009).

Las trufas son estructuralmente simples, presentan reducción o ausencia de estípite, píleo y láminas, sin embargo, son ecológicamente más complejas porque necesitan ser consumidas para dispersar sus esporas (Maser et al. 2008). Su mecanismo de dispersión es un procedimiento muy dirigido y eficaz, el cual implica un gran gasto energético en la producción de elementos nutritivos y aromáticos. Estos aromas atraen a los animales micófilos, los cuales funcionan como medio de dispersión. Algunas trufas han desarrollado múltiples estrategias de dispersión, combinando la zoocoria con anemocoria (Moreno-Arroyo et al. 2005).

El hábito hipogeo en hongos se ha sugerido, es el resultado de su historia de adaptación, ya que ésta tuvo un mayor impacto en la morfología (Thiers 1984). Los esporomas hipogeos han evolucionado independientemente en numerosos linajes (Albee-Scott 2007, Hibbett 2004, 2007a, Hosaka et al. 2006, Miller et al. 2007). La evolución convergente de la forma secuestrada (Hibbett 2004, 2007a) sugiere que la evolución de los hongos hipogeos es una probable respuesta de adaptación de algunos linajes de hongos epigeos a un estrés ambiental similar (Binder y Bresinsky 2002, Miller et al. 2001). Acontecimientos climáticos similares,

incluyendo heladas, pudieron influir los hongos en distintas partes del mundo, por lo que la presión de selección hacia la producción de esporomas en la relativa seguridad del suelo es muy amplia (Maser et al. 2008). Los esporomas de los hongos hipogeos plantean la hipótesis de ser una ventaja en situaciones donde la humedad es estacional o de otra manera limitada, o si hay una barrera física para que el esporoma emerja (Thiers 1984, Trappe 1988).

La reducción morfológica de los esporomas se centra en el encerramiento de los tejidos portadores de las esporas por un peridio que conserva la humedad interna para protegerlo de la desecación (Trappe y Claridge 2005). La evolución de los hongos epigeos a hipogeos habría implicado mutaciones que permitieron a los hongos responder mejor a los riesgos ambientales para la reproducción o para mejorar la adecuación.

A pesar de su aparente importancia funcional como simbiontes micorrizógenos y fuente de alimento para animales (Malajczuk et al. 1975, Allen 1991; Castellano y Bougher 1994, Claridge y May 1994), poco se sabe sobre la ecología de los hongos hipogeos. Consecuentemente, es difícil predecir la importancia relativa de los diferentes tipos de vegetación para conservar la diversidad fúngica.

Las trufas son una fuente de alimento para los organismos de la superficie. Estos hongos son consumidos por distintos animales del bosque, como venados, alces, osos, pequeños mamíferos, caracoles e insectos (Claridge y Trappe 2005, Fogel y Trappe 1978, Maser et al. 1978, 2008). Estos hongos proporcionan a los animales una fuente esencial de minerales, aminoácidos y vitaminas. Las trufas maduras producen olores fuertes y químicos complejos que atraen en su mayoría a mamíferos pequeños, los cuales se alimentan de los esporomas, dispersando a través de sus heces las esporas (Donaldson y Stoddart 1994, Trappe y Claridge 2005, Trappe y Maser 1977).

En el Pacífico noroeste de los Estados Unidos de América, el mejor ejemplo de un micófago obligado es el de *Myodes californicus*. Este roedor depende casi completamente de las trufas como su fuente de alimento debido a que tienen dientes pequeños y frágiles mal adaptados para consumir comida fibrosa y

abrasiva, tales como la mayoría de los materiales vegetales. La mayoría de la información sobre micofagia incluye mamíferos, pero artrópodos y moluscos juegan también un papel en este mecanismo. Por ejemplo, McGraw et al. (2002) reportaron esporas de hongos hipogeos en las heces de babosas.

En la búsqueda de esporomas, mamíferos micófagos alteran la interfaz entre la hojarasca y el perfil del suelo. Los agujeros hechos por estos animales en busca de trufas aumentan la oportunidad de infiltración de agua (Claridge y Trappe 2005). El fuego también puede alterar la superficie física y química del suelo, tornándolo hidrofóbico. En tales circunstancias, la excavación de los mamíferos micófagos rompe la superficie del suelo, haciéndola más receptiva a la filtración de agua (Maser et al. 2008). Como se mencionó anteriormente, algunos mamíferos requieren trufas como la mayor parte de su dieta, y muchos comen trufas con preferencia sobre otros alimentos. A cambio de este alimento, el micófago dispersa las esporas, dicha actividad permite al hongo hipogeo colonizar las raíces de más árboles. Esta interacción representa un circuito de retroalimentación continua que mantiene al bosque y sus organismos (Maser et al. 2008).

La taxonomía de hongos busca descubrir, describir y clasificar todas las especies de hongos y proveer herramientas para su identificación. Cerca de 100,000 especies de hongos han sido descritas, pero se ha estimado que pueden existir de 1.5 a 5.1 millones de especies (Hibbett et al. 2011). Si se toma en cuenta la acelerada tasa de extinción global, es claro que la descripción y estudio de la biodiversidad es vital para su conservación (May 2011).

La sistemática molecular juega un papel muy importante en la descripción de la biodiversidad, en particular porque ofrece evidencia para la identificación de linajes (o secciones de linajes) que corresponden a entidades evolutivas que reconocemos como especies (en el sentido de de Queiroz 2007). Es por ello que hay varias iniciativas para acelerar la identificación usando datos moleculares (Wiens 2007). En particular, el código de barras de ADN (Hebert et al. 2002) es una iniciativa que consiste en identificar especies de manera rápida usando secuencias de regiones de ADN estandarizadas (código de barras).

En el caso de los hongos, la región de los espaciadores internos transcritos (ITS) del ADN ribosomal del núcleo fue formalmente propuesta como el marcador básico por el consorcio del Código de Barras de la Vida, con la posibilidad que códigos de barras adicionales puedan ser desarrollados para determinados grupos taxonómicos (Schoch et al. 2012).

Varios métodos han sido propuestos para la delimitación de las especies empleando datos de un locus. El enfoque más sencillo es definir las especies basado en la regla de corte de porcentaje de divergencia genética. A menudo se asume, implícitamente que la variabilidad intraespecífica de hongos es comparativamente baja y generalmente aplicable en todo el reino, de tal manera que puede ser representada por un intervalo entre 0-3% (Izzo et al. 2005; Ciardo et al. 2006) para la región del ITS. Sin embargo, este método sufre de una conexión débil con la teoría evolutiva, debido a la variación en los niveles típicos dentro de la especie y la variación entre especies a lo largo de los clados, además de la variación en la tasa de sustitución entre linajes (Barracough et al. 2009). Aunque los umbrales de divergencias genéticas pareadas a menudo funcionan bien en la práctica (Tang et al. 2012), Fujisawa y Barracough (2013) mencionan que se necesitan más métodos evolutivos para validar su uso.

El modelo general mixto Yule coalescente (en adelante GMYC), es un método de verosimilitud para delimitar especies usando datos de un solo locus. Este método busca identificar la transición entre eventos de especiación y eventos coalescentes (intraespecíficos) con el objetivo de delimitar especies. El método clasifica las ramas de un árbol como intra o interespecíficas maximizando la probabilidad de un modelo de evolución GMYC. Los eventos de ramificación entre especies son modelados usando el modelo de Yule, el cual asume no extinción y tasa de especiación constante (Nee et al. 1994; Barracough y Nee 2001), y los eventos de ramificación dentro de especies son modelados usando un proceso coalescente neutro (Hudson 1990).

El GMYC fue propuesto por Pons et al. (2006) como un método para la delimitación de especies. Para probar el método, se enfocaron en un género de escarabajos tigre (*Rivacindela*). Utilizando datos de secuencias mitocondriales

generaron árboles de máxima verosimilitud y estimaron las edades relativas de los nodos utilizando r8s (Sanderson 2003) con verosimilitud penalizada. Desde entonces el modelo ha sido aplicado a distintos niveles taxonómicos. Por ejemplo, Fontaneto et al. (2007) analizaron la diversidad críptica de un género de rotíferos bdelloides; la aplicación de este método ayudó en la detección especies crípticas, destacando las ventajas de los análisis estadísticos combinados con datos morfológicos y moleculares.

Monaghan et al. (2009) se concentraron en 12 familias de insectos de Madagascar. Encontraron una alta congruencia al comparar los resultados de secuencias de ADN mitocondrial con datos de genoma nuclear (98%) e identificación morfológica (94%). Concluyeron que GMYC captura los límites de especies comparables con los métodos tradicionales sin la necesidad de hipótesis previas de coherencia poblacional.

Barraclough et al. (2009) usaron el modelo enfocándose en 23 fila de bacterias, señalando que el agrupamiento genético dentro de los datos se encontró mayormente entre el 1 y 3%, umbrales previamente propuestos. Mencionan que la principal ventaja es que al basarse en un modelo estadístico de tasas de ramificación, el método permite la optimización, asignación de límites de confianza y pruebas de hipótesis. La desventaja en aquella versión era el uso de un simple umbral para delimitar las unidades evolutivas (especies putativas). Lo señalado anterior ya fue modificado en versiones actuales para permitir umbrales múltiples.

Barraclough et al. (2009) señala que una de las limitaciones que afectan a los modelos evolutivos de diversidad bacteriana es la naturaleza de la muestra. El método GMYC asume un muestreo aleatorio de individuos, en la realidad, el conjunto de datos para bacterias dista de ser aleatorio, ya que las muestras casi siempre provienen de una sola muestra física, la cual tiende a incluir parientes cercanos.

Esselstyn et al. (2012) probaron este método y lo aplicaron a un grupo de murciélagos (*Hipposideros*) poco conocidos de Filipinas. Los análisis de GMYC de secuencias de DNA mitocondrial sugirieron que la diversidad actual podría ser

aproximadamente el doble de la estimación actual y además los datos de ecolocalización son en su mayoría compatibles con las delimitaciones de GMYC.

Ceccarelli et al. (2012) examinaron un género de avispas parasitoides, analizando secuencias de ADN mitocondrial (COI y Cyt b) y nuclear (wg). Compararon los resultados de GMYC con las identificaciones de morfoespecies encontrando 71 especies delimitadas con base en la congruencia encontrada entre COI, cyt b y morfología. Ambos marcadores mitocondriales también revelaron la existencia de siete especies crípticas potenciales.

Fujisawa y Barraclough (2013) señalan que el mayor factor que afecta la precisión de la delimitación de especies es el tamaño promedio de la población en relación a los tiempos de divergencia entre ellos. Otras desviaciones de los supuestos del modelo, tales como diferentes tamaños poblacionales entre especies, escenarios alternativos para la especiación y extinción y el crecimiento poblacional o la subdivisión dentro de cada especie, tienen efectos relativamente pequeños. Talavera et al. (2013) sugieren que GMYC no debe ser usado como evidencia suficiente para evaluar el estado específico de los casos particulares sin datos adicionales.

JUSTIFICACIÓN

Los hongos hipogeos presentan un conocimiento escaso en México, a pesar de la gran diversidad de hospederos que habitan en nuestro país. Poco se sabe sobre la diversidad de este grupo, su importancia ecológica y quienes participan en la dispersión. Pese a ser una región ampliamente estudiada, el Eje Neovolcánico Transversal Mexicano no cuenta con estudios dirigidos exclusivamente a este grupo de hongos. Así, el presente trabajo será la primera contribución al conocimiento taxonómico de hongos hipogeos.

Es necesario destacar que la mayoría de las especies de trufas poseen asociaciones ectomicorrízicas con clados de plantas que a menudo dominan los bosques templados (por ejemplo, Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae y Nothofagaceae) (Smith y Read 2008; Tedersoo et al. 2010). Además de las funciones importantes realizadas por hongos ectomicorrízicos, como la influencia en el establecimiento y crecimiento de plantas (Amaranthus 1998; Smith y Read 2008; Bonfante y Genre 2010), las trufas son organismos clave en muchos otros procesos significativos en los ecosistemas forestales. Por ejemplo, realizan procesos críticos en el suelo, los cuales sustentan la productividad del ecosistema (Trappe et al. 2009).

Para poder tener una aproximación sobre la diversidad de trufas en México, es necesario tener una visión integrativa sobre la taxonomía, donde se haga uso de todo tipo de evidencia posible. Padial et al. (2010) mencionan que la taxonomía se enfrenta con el reto de incorporar plenamente a la nueva teoría métodos y datos de las disciplinas que estudian el origen, límites y evolución de las especies. Con el objetivo de mejorar el proceso de descripción de especies.

OBJETIVOS

General

- Describir la diversidad de especies de hongos hipogeos recolectadas en el Eje Neovolcánico Transversal Mexicano.

Específicos

- Describir taxonómicamente las especies de hongos hipogeos.
- Determinar la distribución y frecuencia de hongos hipogeos recolectados.
- Determinar si el clado *Rhizopogon* grupo *salebrosus* (RGS) representa un complejo de especies, y en caso afirmativo, delimitar a estas con base en información molecular.

ANTECEDENTES

Los estudios sobre los hongos hipogeos son limitados. Dado que los hongos fructifican bajo el suelo, la probabilidad de encontrarlos es baja. Debido a esto, su representación en los herbarios es escasa y los trabajos sobre este grupo son pocos. En México, existen alrededor de 80 especies de trufas, el primer reporte de un hongo hipogeo fue realizado en 1902 por Lumholtz (Cázares et al. 1992), quien cita a *Melanogaster variegatus* var. *mexicanus* (= *M. umbriniglebus*) recolectado en la Sierra Tarahumara.

García-Romero et al. (1970) registraron dos especies de *Elaphomyces*. Trappe y Guzmán (1971) describieron 18 especies de hongos hipogeos dentro de los fila Ascomycota, Basidiomycota y Zygomycota, siendo este uno de los primeros trabajos con un mayor enfoque en este grupo. En ese mismo año, Guzmán describió tres especies pertenecientes a la familia Mesophelliaceae (dos especies de *Radiigera* y una especie de *Mesophelliopsis*). Posteriormente, Trappe (1977) describe tres especies de la familia Endogonaceae. Trappe et al. (1979) reportaron la distribución y usos de *Elaphomyces*.

Hosford y Trappe (1980) citan cuatro especies de *Rhizopogon* para México. Chacón y Guzmán (1983) registraron a *Geopora cooperi* para el estado de Coahuila. Ese mismo año, Guzmán (citado por Cázares et al. 1992) registra a *Glomus fulvum* (= *Redeckera fulvum*) para el estado de Quintana Roo. Singer (1985) describe una nueva especie, *C. pineti*, recolectada en la región de Cofre de Perote, Veracruz. Guzmán (1988) además describe a *Macowanites mexicanus* para los estados de Veracruz y México y *M. duranguensis* para Durango.

El trabajo con mayor número de especies reportadas es el de Cázares et al. (1992), quien cita 24 especies del noreste de México, reporta una nueva especie para la ciencia, *Rhizopogon guzmanii*, y además presenta 17 nuevos registros para el país. Rodríguez-Palma y Estrada-Torres (1996) reportaron para el estado de Veracruz una especie del filo Mycetozoa, que posteriormente fue corregida e identificada como *Schenella simplex*. En 1998, Uribe-Arróyabe realizó un trabajo sobre los hongos hipogeos del estado de Tlaxcala, reportando 21 especies.

Calonge y Vidal (2005) describen una nueva especie, *Gastrolactarius denudatus*. Trappe et al. (2007) reportan para México *Genabea cerebriformis*. Cázares et al. (2008) describen una nueva especie, *Melanogaster minysporus*. Guevara et al. (2008a) registra cuatro especies de *Hysterangium* para México, *H. aureum* en Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, *H. latisporum* en los estados de Michoacán, Hidalgo, Tamaulipas, Nuevo León y México, *H. quercicola* en Tamaulipas e *H. velatisporum* en Tamaulipas, Querétaro y Coahuila. Guevara et al. (2008b) describieron una nueva especie, *Tuber regiomontanum*.

Cázares et al. 1992, registran por primera vez para México dos especies del género *Pachyphloeus*, *P. virescens* y *P. citrinus*, posteriormente Healy et al. (2009) revisaron ejemplares de herbario (de México y Estados Unidos) del mismo género y reportan para México dos especies, *P. cf. carneus* en Nuevo León, *P. marroninus* en Nuevo León y Tlaxcala, esta última como una nueva especie. Guevara et al. (2011) describen dos nuevas especies para la ciencia, *Genea mexicana* y *Geopora toluicana*. Guevara et al. (2012) reportan tres nuevas especies: *Tuber castilloi*, *T. mexiusanum* y *T. guevarai* en *Quercus* spp. en bosques del Noreste de México.

Castellano et al. (2012) describen a *E. verruculosus* como una especie nueva, con un rango de distribución que va desde Quebec, Canadá hacia el sur a lo largo del este de Estados Unidos y costa del golfo hasta el centro-este de México, específicamente en los estados de Hidalgo, México, Puebla y Veracruz. Además, redescubren a *E. appalachiensis*, ampliando su rango de distribución para los estados de Florida, Iowa, Tennessee y oeste de Virginia en los Estados Unidos y Nuevo León y Tamaulipas en México. Guevara et al. (2013) reportan por primera vez para la micobiota Mexicana a *Tuber canaliculatum*, *T. gibbosum* y *T. malacodermum*, con este estudio, ahora son 13 las especies de *Tuber* para el país.

Los registros sobre el consumo de trufas en México son pocos. Montoya et al. (2004) reportan a *Rhizopogon* sp., *Rhizopogon* aff. *michoacanicus*, *Gautieria mexicana*, las cuales son considerados comestibles por algunas personas en el parque nacional La Malinche en Tlaxcala, México. Moreno-Fuentes et al. (2004)

mencionan en un documento publicado por Lumholtz (1902), que en el mes de julio se produce una especie de trufa (*M. umbrinigleba*) que sirve de alimento para los indios rarámuris.

Área de estudio

El Eje Neovolcánico Transversal Mexicano (ENTM) se encuentra entre los 18°30"-21°45" Lat. N y los 97°22'-106°30' Long. O, extendiéndose transversalmente por el país casi de costa a costa (Ferrusquía-Villafranca 2007). Tiene una extensión superficial de aproximadamente 155, 156 km², la mayor parte entre los 1000 y 2500 m. Esta región incluye territorios de las siguientes entidades federativas: Nayarit, Jalisco, Colima, Guanajuato, Michoacán, Querétaro, México, Hidalgo, Distrito Federal, Morelos, Tlaxcala, Puebla y Veracruz.

Se interpreta que el surgimiento del ENTM en el Mioceno Medio y su consolidación subsecuente como una cordillera transversal desde el Mioceno Tardío, constituyó una barrera que transformó la uniformidad ecofisionómica que había mantenido la biota durante el Paleógeno. La existencia de esta barrera, no ha eliminado completamente la gradación biótica mencionada, de modo que en la actualidad se observan aun intercalaciones complejas de ambas biotas al norte y al sur del ENTM (Ferrusquía-Villafranca 2007).

Relieve

El relieve del ENTM es diverso, incluye valles (Valle del Río Santiago, Valle de Toluca y el Valle de Puebla-Tehuacán, entre otros), planicies, mesetas y desde luego, montañas volcánicas, que son los geomorfos más abundantes; algunas de ellas son las montañas de mayor altura en el país. Entre los volcanes de este eje, en su porción occidental, destacan el Ceboruco (Nayarit, 2280 msnm), El Nevado y el volcán de Colima (Jalisco-Michoacán, 3960 msnm), y el Pico de Tancítaro (Michoacán, 3845 msnm). En la parte central del eje se encuentran los volcanes que rodean el Valle de México, desde el Nevado de Toluca (Estado de México, 4558 msnm), pasando por el cinturón Ajusco-Chichinautzin (Estado de México, 3930 msnm) y termina en la Sierra Nevada: Volcanes Iztaccíhuatl y Popocatepetl

(límite México-Puebla, 5239 y 5286 msnm, respectivamente) y Tláloc (Distrito Federal, 3690 msnm); al sur de la parte central del eje, se encuentra la Sierra de Taxco que parte en dos porciones a la cuenca del río Balsas. La zona oriental parte de la misma Sierra Nevada, abarca los volcanes Malinche (límite Tlaxcala-Puebla 4461 msnm) y el Pico de Orizaba (Veracruz, 5675 msnm) (Yarza-de la Torre 1992).

Vegetación

Respecto a la vegetación, predominan los bosques de coníferas (31%) y de encinos (28%). El resto del área está compuesta por pastizales, matorrales subalpinos, bosques mesófilos (en áreas de cañadas), vegetación ribereña y tierras urbanas y de cultivo (Espinosa et al. 2008). El ENTM, al igual que otras cadenas montañosas del país, alberga una flora rica en especies de gimnospermas. Contreras-Medina et al. (2007) registraron cuatro familias, que incluyen ocho géneros y 35 especies. Las familias con mayor representación de géneros y especies respectivamente son Pinaceae (3/26) y Cupressaceae (3/7), mientras que Ephedraceae y Taxaceae tienen solo un género. El género *Pinus* es el que tiene mayor número de especies con 22, seguido de *Juniperus* con cinco y *Abies* con tres (*A. flinckii*, *A. hickelii* y *A. religiosa*), mientras que los restantes están representados por una especie. Los bosques de pino son comunidades muy características de las montañas de clima templado o frío de México. Estos bosques en general tienen dos estratos: uno superior constituido por los árboles y otro inferior conformado por pastos generalmente amacollados y algunos arbustos y hierbas.

Farjon y Styles (1997) no reportan como tal las especies de *Pinus* para el ENTM. No obstante, estos autores presentan mucha información sobre la distribución de las especies. Con base en eso, a continuación se mencionan las especies de *Pinus* que pueden encontrarse en esta región, su distribución y el rango altitudinal. *Pinus douglasiana* en Jalisco, Michoacán, Estado de México y Morelos (1100-2700 msnm), *P. herrerae* en Jalisco y Michoacán (900-1600 msnm), *P. lawsonii* se distribuye en el Eje Neovolcánico hasta el sur de la sierras

de Oaxaca, se encuentra en Michoacán, Estado de México, Morelos, D.F. y Veracruz (1300-2600 msnm), *P. leiophylla* en Jalisco, Michoacán, D.F., Morelos, Tlaxcala, Puebla y Veracruz (1500-3300 msnm), *Pinus hartwegii* se encuentra en Jalisco (Nevado de Colima), Michoacán, Estado de México, Morelos, D.F., Tlaxcala y Puebla (2300-4300 msnm), *P. montezumae* está en Jalisco, Michoacán, Estado de México, D.F., Morelos, Puebla y Veracruz (1200-3500 msnm), *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus* en Jalisco, Michoacán, Estado de México, D.F., Morelos, Puebla, Tlaxcala y Veracruz (850-3250 msnm), *P. devoniana* se encuentra en Jalisco, Michoacán, Estado de México, Tlaxcala, Puebla y Veracruz (600-2800 msnm), *P. pringlei* se encuentra en Michoacán, Estado de México, Morelos y Puebla (1500-2800 msnm), *P. teocote* en Jalisco, Michoacán, Estado de México, D.F., Tlaxcala, Puebla y Veracruz (1000-3000 msnm), *P. ayacahuite* var. *ayacahuite* se encuentra en Puebla, Veracruz, Tlaxcala, Estado de México, Morelos, Michoacán (1500-3600 msnm), *P. ayacahuite* var. *Veitchii* en Veracruz, Estado de México, Puebla, Tlaxcala, Morelos y Michoacán (200-3600 msnm), *P. strobiformis* en Jalisco (1900-3500 msnm), *P. chiapensis* al este de Puebla y Veracruz (1500-3000 msnm), *P. cembroides* ssp. *Cembroides* se encuentra al noreste de Jalisco, D.F., Veracruz y Puebla (380-650 m), *P. cembroides* ssp. *orizabensis* en Puebla, Veracruz (Pico de Orizaba) (2100-2800 msnm) y *P. oocarpa* var. *trifoliata* en Michoacán (1000-1500 msnm).

Las gimnospermas son un elemento importante en las comunidades vegetales del ENTM. Forman bosques de pino y pino-encino, que constituyen las formaciones vegetales más importantes de esta región. Alrededor de los 3000 m de altitud la vegetación es dominada principalmente por *Abies religiosa*, el cual puede ser remplazado por parches de *Cupressus lusitanica*, también mezclado con *Pinus ayacahuite*, *P. montezumae* y *P. pseudostrobus*, y en las partes más altas por *P. hartwegii*, especie que llega a formar bosques puros rodeando las partes nevadas de los volcanes más altos de México como el Pico de Orizaba, Popocatepetl e Iztaccíhuatl, cerca de los 4000 m de altitud (Farjon 1996).

Valencia-Ávalos (2007) reporta para el ENTM 36 especies del género *Quercus* pertenecientes a las secciones *Lobatae* (19 especies) y *Quercus* (17). Esta provincia biogeográfica constituye un excelente hábitat montano para los encinos que se desarrollan entre los 1200 y los 3000 msnm. *Quercus acutifolia*, *Q. elliptica* y *Q. liebmanii* son las especies que se presentan a altitudes menores, *Q. frutex*, *Q. laurina* y *Q. mexicana* las que lo hacen a altitudes mayores (1600-3000 msnm). Benítez-Badillo (1986) realizó un trabajo sobre los árboles y flores del Ajusco y reporta 17 árboles para este lugar, *Alnus firmifolia*, *Cupressus lusitanica*, *Berberis moranensis*, *Garrya laurifolia*, *Sambucus mexicana*, *Arbutus glandulosa*, *Q. laurina*, *Q. crassipes*, *Q. rugosa*, *Pinus hartwegii*, *P. leiophylla*, *P. montezumae*, *P. teocote*, *Buddleia cordata*, *Crataegus pubescens* y *Prunus serotina* ssp. *capuli*.

METODOLOGÍA GENERAL

Recolección de los ejemplares

Para el muestreo de esporomas no se siguió un procedimiento sistemático, más bien fue de tipo oportunista por lo azaroso que resulta encontrar los ejemplares debido a su hábito hipogeo. Para su recolección, se utilizaron rastrillos y palas de mano para remover la hojarasca y excavar en zonas potenciales. Se realizaron recolectas en 28 sitios, incluyendo nueve volcanes (Figura 1). El material recolectado fue depositado en el Herbario del Instituto de Biología, UNAM (MEXU).

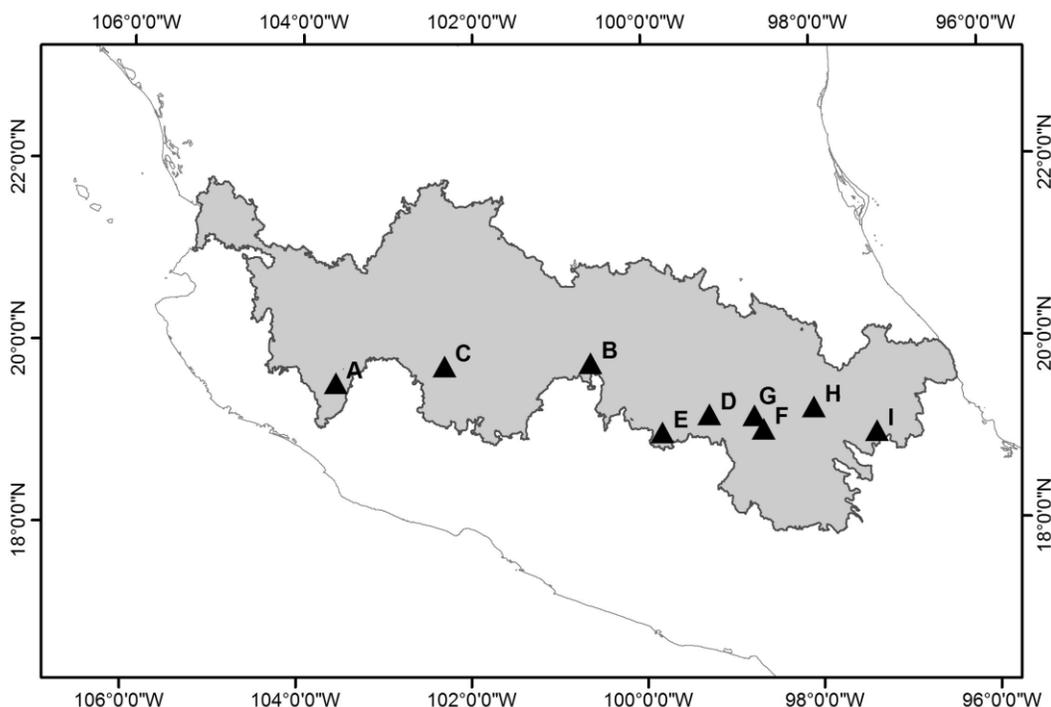


Fig. 1. **Mapa del centro de México, delineando el ENTM (zona gris), con los volcanes muestreados (triángulos). A:** Nevado de Colima, **B:** San Andrés, **C:** Patambam, **D:** Ajusco, **E:** Nevado de Toluca, **F:** Popocatépetl, **G:** Iztaccíhuatl, **H:** La Malinche, **I:** Pico de Orizaba.

Determinación taxonómica de hongos hipogeos

Los ejemplares recolectados se colocaron en una secadora a una temperatura aproximada de 60°C para su secado y posterior caracterización microscópica. Se realizaron cortes con navaja con el apoyo del microscopio estereoscópico (Olympus SZ61). Para el género *Endogone*, se montaron preparaciones en agua destilada de la gleba, para poder observar las zigosporas. En el caso de los ascomicetos, se hicieron preparaciones del peridio y la gleba, montadas en agua destilada y azul de algodón lactofenol, además de KOH al 5% únicamente para los géneros *Hydnotrya* y *Tuber*. Con el fin de observar y medir estructuras de interés para su determinación, tales como, estructura y grosor del peridio, paráfisis, ascas, esporas. Para los basidiomicetos se realizaron preparaciones de la gleba y peridio, las cuales fueron montadas en agua destilada o con KOH 5%, solución de Melzer, azul de algodón lactofenol, para su observación en el microscopio óptico (Olympus BX51 con contraste diferencial) y medición de las estructuras (grosor del peridio, células del peridio, grosor de la trama, células de la trama, cistidios, basidios, esporas, capilicio). Se tomaron fotografías de las diferentes estructuras con la cámara digital Infinity 1, la cual se puede adaptar a ambos microscopios.

Se obtuvieron además fotografías de las esporas utilizando el microscopio electrónico de barrido (MEB) del Instituto de Biología. Una vez realizada la caracterización macro- y microscópica, se llevó a cabo la identificación con base en claves taxonómicas específicas para cada género (Smith et al. 2006, Smith y Zeller 1966, Trappe 1979, Zeller y Dodge 1929, Castellano et al. 1989, entre otras) siguiendo el sistema de clasificación de Hibbett et al. (2007b). Se tomaron fotografías de estructuras clave en la determinación de los distintos taxones. Una vez identificados los especímenes, se determinó la frecuencia y distribución de cada especie.

Técnicas para el estudio de hongos hipogeos

Los caracteres macroscópicos fueron descritos de especímenes frescos. En particular, para el género *Rhizopogon* es muy importante tomar notas sobre los ejemplares frescos, además se deben realizar pruebas de reacciones químicas

con KOH al 3% y FeSO₄, tanto en el peridio como en la gleba y observar la transición de colores con una lupa. Los colores fueron asignados con la clave Wanscher y Kornerup (1991).

En el estudio de hongos hipogeos una de las características más importantes es la estructura del peridio-gleba por lo tanto. Para observar adecuadamente esta estructura es necesario realizar un buen corte longitudinal, y dependiendo de la consistencia del peridio se puede usar KOH 5% para hidratar y suavizar el tejido. El corte debe realizarse con una navaja de rasurar bajo el microscopio estereoscópico para tener una mayor precisión siguiendo los siguientes pasos: se coloca una gota de KOH al 5% en un portaobjetos. Después agrega un poco de KOH al 5% sobre el peridio con la ayuda de una navaja, ya que esta hidratado el peridio, se procede a realizar el corte lo más delgado posible. Con ayuda de dos agujas se sitúa el corte en el portaobjetos reservado y se coloca el cubreobjetos, se eliminan las burbujas y si es necesario hidratar más el tejido, se flamea con un cerillo (J. Trappe, comunicación personal). Este último paso también ayuda a remover el aire de la muestra. La técnica nos permite visualizar caracteres como estructura y grosor del peridio, consistencia de la trama y características de las esporas, además de realizar las medidas correspondientes a cada una de las estructuras.

En el caso de los ascomicetos es importante realizar todas las preparaciones en agua, ya que el KOH modifica la pared de la espora; además de agua, se pueden realizar preparaciones en azul de algodón y para algunos géneros donde la pared de la espora es gruesa y resistente se puede usar KOH al 5%. Los hongos hipogeos de la familia Russulaceae y el género *Rhizopogon* además de KOH se deben montar en reactivo de Melzer. Es muy importante ser consistente en cada una de las anotaciones y tener un diagrama que nos permita nombrar lo que estamos observando, así podremos comparar de manera sistemática los ejemplares y distinguir entre especies. Todas las medidas fueron realizadas con la magnificación del objetivo 100x. Las medidas de las esporas se hicieron en al menos 20 esporas seleccionadas al azar; las dimensiones de las esporas en este trabajo excluyen la ornamentación.

Códigos de barras del ADN

Preparación de muestras, envío y procesamiento

La toma de la muestra se realizó en una campa de extracción, se tomó un fragmento (2 mm²) de la gleba (material previamente secado) con pinzas limpias y se colocó dentro del tubo de muestreo proporcionado por El centro canadiense para el código de barras del ADN (CCDB). Antes de proceder con la siguiente muestra, el instrumental utilizado (bisturí, pinzas y agujas) fue limpiado con alcohol y flameado al término de cada muestra. La placa con las muestras de tejido seco fue enviada estuvo acompañada del formato de hoja de cálculo establecido por CCDB con todos los datos que identifican la procedencia de las muestras. Se creó un proyecto "*Neotropical Truffles*" con el código NTTRU, donde se otorgó acceso a todos los investigadores asociados al proyecto y al asesor de la CONABIO asignado al proyecto.

Técnicas de extracción, amplificación y secuenciación

Protocolo manual para la extracción de ADN (Ivanova et al. 2008) utilizado en CCDB: Se agregó una cama de Carburo de tungsteno de 3 mm (Qiagen) y 2 mm² de tejido de hongo seco dentro de cada pozo de 1.1 ml PROgene Mini Tube System (*Ultident Scientific, St. Laurent, QC, Canada*). Se homogeneizó el tejido usando Tissue Lyser (Qiagen) a 30 Hz dos veces por 30 segundos. Se agitó bien y se centrifugó a 1,000 g por 1 minuto y se incubó a 65°C por 1 hora en un agitador orbital. Se centrifugó a 1,500 g por 1 minuto y se transfirieron 50 µl del lisado dentro de los pozos de una microplaca de 96 pozos sin faldón, con capacidad de 200 µl. Se agregaron 100 µl de buffer de unión (Binding buffer) a cada pozo usando una pipeta multicanal. Se mezcló el lisado 5-10 veces pipeteando, se transfirió el lisado (150 µl) de las microplacas a placas de fibra de vidrio (Acroprep™), de aquí en adelante placa de FV, colocada sobre un bloque de pozos cuadrados de 2 ml. Se selló la placa de FV con una película clara para PCR y se centrifugó a 5,000 g por 5 minutos, para unir el ADN a la membrana de la placa de FV. Para el primer lavado, se agregaron 200 µl de Buffer de primer lavado a cada pozo de la placa de FV antes de sellarla y se centrifugó a 5,000 g por 2 minutos.

Para el segundo lavado, se agregaron 750 µl de buffer de segundo lavado a cada pozo de la placa de FV antes de sellarla y se centrifugó a 5,000 g por 5 minutos. Se removió el sello, se colocó la placa de FV en la tapa de una caja de puntas, y se incubó a 56°C por 30 minutos para evaporar los residuos de etanol. Se posicionó un collar (PALL Cat. No 5225) en la microplaca de colecta y se colocó la placa de FV encima para liberar el ADN. Se agregaron 50 µl de ddH₂O (a 56°C) a cada pozo de la placa de FV antes de sellarla y se incubó a temperatura ambiente por 1 minuto. Se colocaron las placas ensambladas en el bloque de pozos cuadrados para prevenir agrietamiento de la placa de colecta y se centrifugó a 5,000 g por 5 minutos para coleccionar el eluido de ADN. Se removió la placa de FV y se descartó. Se cubrió la placa de ADN con película de aluminio para PCR y se almacenó a 4°C para un almacenamiento a corto plazo o a -20°C para un almacenamiento a largo plazo.

Una vez extraído el ADN, se procedió a amplificar la región de los ITS (ITS1, 5.8 e ITS2) siguiendo la metodología señalada por Ivanova et al. (2008). Al inicio del proyecto se utilizaron los cebadores ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White et al. 1990), pero como hubo algunos problemas con la amplificación, se decidió utilizar otro par de cebadores ITS1-F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (Gardes y Bruns 1993). Todas las reacciones de PCR tuvieron un volumen total de 12.5 µl e incluyó: 6.25 µl de trehalosa al 10%, 2 µl de agua ultra pura, 1.25 µl de buffer 10X, 0.625 µl de 50mM de MgCl₂, 0.125 µl de 10 µM de cada primer, 0.0625 µl de 10mM dNTPs, 0.06 µl de polimerasa (5 U/µl) y 2.0 µl de ADN. Posteriormente, la placa se colocó en un termociclador con los siguientes parámetros: 94°C por 5 minutos; 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 56°C por 30 segundos, 72°C por 45 segundos; extensión final a 72°C por 10 minutos.

Para la electroforesis se emplearon geles de agarosa prefabricados (Invitrogen E-gel®). En este sistema no se utilizó buffer, con el fin de minimizar la exposición al Bromuro de Etidio. Se cargó el gel con 12-16 µl de agua destilada en los pozos con una pipeta multicanal. Se cargó apropiadamente los marcadores de

ADN en los pozos de marcador. Se cargó 4 µl de la muestra. El tiempo de corrida fue de 4-6 minutos. Se capturó la imagen digital del gel en un transiluminador UV equipado con cámara digital. Los productos de PCR no se limpiaron y se procedió directamente con la secuenciación. Secuenciación bidireccional fue utilizada usando un kit de ciclo de secuenciación BigDye® Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) en un analizador genético ABI3730xl (Applied Biosystems; Hajibabaei et al. 2005). Las secuencias bidireccionales fueron ensambladas en SeqScape v. 2.1.1 (Applied Biosystems) y editadas manualmente.

Se obtuvieron un total de 70 secuencias provenientes de nuestras recolectas, todas ellas pertenecientes al proyecto de *Neotropical Truffles*, el cual forma parte de *BOLD systems*.

BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)

Con el fin de tener una aproximación sobre la identidad de nuestras secuencias y poder compararlas con las identificaciones taxonómicas, se realizó una búsqueda de las 70 secuencias en *GenBank*, se aplicó un filtro en BLAST para eliminar las secuencias ambientales, una vez finalizada, se tomaron las dos secuencias que tuvieran el porcentaje de similitud y cobertura más alto.

Delimitación de especies del género Rhizopogon

Obtención de secuencias

Las secuencias se obtuvieron de dos fuentes, 35 corresponden a las secuencias de nuestras recolectas de *Rhizopogon* del proyecto *Neotropical Truffles*, perteneciente a *BOLD*. 106 fueron las secuencias descargadas de la base de datos de *GenBank*.

Alineamiento y reducción de secuencias idénticas

Basado 141 secuencias nucleotídicas de los espaciadores internos transcritos del ADN ribosomal del núcleo (ITS) se realizó un alineamiento múltiple en el servidor en línea de MUSCLE (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>), con los

parámetros predeterminados. Una vez obtenido el alineamiento, se removieron las secuencias idénticas usando RAxML HPC (Stamatakis 2006), dando un total de 109 secuencias, de las cuales 23 provinieron de BOLD y 86 de *GenBank*.

Delimitación de especies

El modelo general mixto Yule coalescente (GMYC), descrito por Pons et al. (2006) y Monaghan et al. (2009), se basa en el cambio en la tasa de ramificación entre eventos de especiación (relaciones *interespecíficas*) y de coalescencia (relaciones *intraespecíficas*) en un árbol filogenético. Este cambio puede visualizarse como un cambio entre tasas lentas y rápidas de eventos de ramificación en una gráfica de linajes a través del tiempo (Puillandre et al. 2012). Este método utiliza los tiempos de espera, es decir, los intervalos temporales (x_i) entre cada evento de ramificación en un árbol ultramétrico.

Para la delimitación de especies se empleó un enfoque GMYC, el cual requiere una topología totalmente resuelta con estimaciones de longitudes de ramas. Se corrió un análisis Bayesiano utilizando BEAST 1.7.5 (Drummond y Rambaut 2007) para reconstruir una topología completamente resuelta con estimaciones de longitudes de ramas. El análisis fue realizado usando un reloj log normal relajado y las longitudes de ramas fueron estimadas utilizando un previo coalescente (tamaño constante) y un modelo evolutivo GTR + I + Γ (Lanave et al. 1984; Yang 1994). El modelo evolutivo fue seleccionado utilizando el programa jModelTest (Posada 2008) y el Criterio de Información de Akaike (Akaike 1974). El análisis Bayesiano se corrió por 10 millones de generaciones, muestreando cada 1000 generaciones. La estacionalidad fue detectada después de 700, 000 generaciones utilizando Tracer 1.4 (Rambaut y Drummond 2007). Se reconstruyó un árbol de máxima credibilidad usando TreeAnnotator 1.7.5 (Rambaut y Drummond 2007), muestreando cada 5,000 árboles al azar, con una probabilidad posterior de 0.1 y se calculó la altura de nodos con promedio. El enfoque GMYC para la delimitación de especies fue llevado a cabo usando el paquete de SPLITS (Delimitación de especies por un estadístico límite; de <http://r-forge.r-project.org/projects/splits>) del ambiente estadístico R (versión x64 2.14.1;

<http://www.r-project.org/>), corriendo optimizaciones de umbral simple y múltiple (Monaghan et al. 2009), para comparar su desempeño con el conjunto de datos examinado.

Divergencias genéticas

Se eligieron las entidades que incluyeran nuestras secuencias y se compararon contra la (s) entidad (es) más cercana (s). Se calcularon las distancias genéticas dentro y entre grupos, para ambos umbrales (GMYC simple y múltiple). Las divergencias genéticas fueron estimadas usando distancias no corregidas p con el programa MEGA 5.2.1 (Tamara et al. 2011).

RESULTADOS

Se recolectaron un total de 126 especímenes correspondientes a 35 especies dentro de los fila Ascomycota (10) y Basidiomycota (23) e Incertae sedis, *Endogone* (2). Se determinaron 35 especies. En la tabla 1 se presentan los géneros y el número de especies por género, además de la familia a la que pertenecen. A las descripciones taxonómicas se les añadió la información obtenida de los códigos de barras (Tabla 6, apéndice I).

Tabla 1. Arreglo taxonómico de los géneros recolectados.

FILO	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
Incertae sedis	Endogonaceae	<i>Endogone</i>	<i>E. incrassata</i>
			<i>E. lactiflua</i>
Ascomycota	Elaphomycetaceae	<i>Elaphomyces</i>	<i>Elaphomyces</i> sp. nov. 1
			<i>Elaphomyces</i> sp. nov. 2
	Discinaceae	<i>Hydnotrya</i>	<i>H. cerebriformis</i>
	Pezizazeae	<i>Pachyphloeus</i>	<i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 1
			<i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 2
			<i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 3
	Pyronemataceae	<i>Genea</i>	<i>Genea</i> aff. <i>arenaria</i>
			<i>G. arenaria</i>
	Tuberaceae	<i>Tuber</i>	<i>T. maculatum</i>
			<i>T. separans</i>
Basidiomycota	Gautieriaceae	<i>Gautieria</i>	<i>G. angustispora</i>
			<i>G. monticola</i>
	Geastraceae	<i>Schenella</i>	<i>S. pityophilus</i>
			<i>S. simplex</i>

Continuación *tabla 1...*

FILO	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
Basidiomycota	Hysterangiaceae	Hysterangium	<i>Hysterangium</i> sp. nov. 1
			<i>Hysterangium</i> sp. nov. 2
			<i>Hysterangium</i> aff. <i>separabile</i>
			<i>H. coriaceum</i>
			<i>H. velatisporum</i>
			Trappea <i>T. darkeri</i>
	Leucogastraceae	Leucogaster	<i>L. rubescens</i>
	Melanogastraceae	Melanogaster	<i>M. aff. tuberiformis</i>
			<i>R. evandes</i>
			<i>R. fuscorubens</i>
			<i>R. guzmanii</i>
	Rhizopogonaceae	Rhizopogon	<i>R. pseudoroseolus</i>
			<i>R. grupo salebrosus</i>
			<i>R. superiorensis</i> var. <i>mexicanus</i>
	Russulaceae	Cystangium	<i>C. pineti</i>
	Gymnomyces	<i>Gymnomyces</i> sp. 1	
		<i>Gymnomyces</i> sp. 2	
	Lactarius	<i>Lactarius</i> sp.	
	Russula	<i>Russula</i> sp.	
	TOTAL	35	

Los especímenes recolectados se distribuyeron principalmente en bosques de pino, bosques de abeto y bosques de encino. La tabla 2 muestra información detallada.

Tabla 2. **Vegetación dominante asociada a las recolectas.**

GÉNERO	VEGETACIÓN
<i>Endogone</i>	<i>Pinus, Abies-Pinus</i>
<i>Elaphomyces</i>	<i>Pinus, Pinus-Alnus, Abies-Alnus</i>
<i>Hydnotrya</i>	<i>Pinus, Pinus-Abies</i>
<i>Genea</i>	<i>Pinus-Abies</i>
<i>Pachyphloeus</i>	<i>Quercus</i>
<i>Tuber</i>	<i>Pinus, Pinus-Alnus, Pinus-Abies, Zacatonal con Pinus, Abies, Abies-Pinus</i>
<i>Cystangium</i>	Bosque mixto
<i>Gautieria</i>	<i>Pinus</i>
<i>Gymnomyces</i>	<i>Pinus</i>
<i>Hysterangium</i>	<i>Pinus, Pinus-Alnus, Abies, Quercus-Pinus</i>
<i>Lactarius</i>	<i>Quercus deserticola</i>
<i>Leucogaster</i>	<i>Quercus</i>
<i>Melanogaster</i>	<i>Abies-Pinus</i>
<i>Rhizopogon</i>	<i>Pinus, Pinus-Quercus, Pinus-Abies, Abies-Pinus, Bosque mixto, Zacatonal con Pinus</i>
<i>Russula</i>	<i>Pinus</i>
<i>Schenella</i>	<i>Abies</i>
<i>Trappea</i>	<i>Abies</i>

Tabla 3. Especies por sitio de recolecta.

Municipio	Sitio exacto	Coordenadas (Lat. /Long.)	Especies	No. de especies
Atlautla, Estado de México	Popocatepetl (POPO)	19.05, -98.63	RGS* , <i>Gymnomyces</i> sp. 1, <i>H. velatisporum</i>	3
Coatepec de Harinas, Estado de México	Nevado de Toluca 1 (NT1)	19.03, -99.8	<i>G. angustispora</i> , <i>G. monticola</i> , <i>H. velatisporum</i> , RGS , <i>T. separans</i>	5
Temascaltepec, Estado de México	Temascaltepec-Valle de Bravo km 7.3 (TVB)	19.07, -100.03	<i>T. maculatum</i>	1
	Pista de despegue de parapente (PDP)	19.06, -100.09	<i>R. evadens</i>	1
	Rumbo a San Lucas del Pulque (SLP)	19.05, -100.07	<i>L. rubescens</i> , <i>R. evadens</i> , RGS	3
Tlalmanalco, Estado de México	Iztaccíhuatl (IZTA)	19.2, -98.73	<i>E. lactiflua</i> , RGS , <i>T. separans</i>	3
Toluca, Estado de México	Nevado de Toluca 2 (NT2)	19.12, -99.77	<i>H. coriaceum</i> , RGS	2
San Simón de Guerrero, Estado de México	Carretera Temascaltepec-Tejupilco km 7 (CTT)	19.02, -100.05	<i>R. fuscorubens</i> , <i>Elaphomyces</i> sp. nov. 1	2

* Los nombres de las especies en negritas, representan los taxones que tuvieron una amplia distribución dentro del ENTM.

Continuación **tabla 3...**

Municipio	Sitio exacto	Coordenadas (Lat. /Long.)	Especies	No. de especies
Zinacantepec, Estado de México	La puerta (LPUE)	19.19, -99.82	<i>Trappea darkeri</i>	1
Tlalpan, DF	Chichinautzin (CHICHI)	19.11, -99.16	<i>T. separans</i>	1
	Volcán Ajusto ladera norte (VAN)	19.22, -99.25	<i>T. separans</i> , <i>M. aff. tuberiformis</i>	2
Tuxpan, Jalisco	Nevado de Colima (NCOL)	19.58, -103.6	<i>E. incrassata</i> , <i>E. lactiflua</i> , <i>R. evadens</i> , RGS , <i>Russula</i> sp., <i>T. separans</i>	6
Hidalgo, Michoacán	Al noreste del cerro San Andrés (NESA)	19.8, -100.62	<i>E. incrassata</i>	1
Huiramba, Michoacán	Las Tablas (LT)	19.48, -101.42	<i>G. aff. arenaria</i>	1
Los reyes, Michoacán	Ladera sur del cerro grande Patambam (LSP)	19.72, -102.34	<i>S. pityophilus</i>	1
Morelia, Michoacán	Carretera Morelia-Atécuaro (CMA)	19.6, -101.183	<i>Lactarius</i> sp., RGS , <i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 1, <i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 2, <i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 3, <i>G. arenaria</i>	6

Continuación **tabla 3...**

Municipio	Sitio exacto	Coordenadas (Lat. /Long.)	Especies	No. de especies
Morelia Michoacán	Cerro del Águila (CAG)	19.61, -101.33	<i>Hysterangium</i> sp. nov. 2	1
Queréndaro, Michoacán	Carretera Zinapécuaro-Cd. Hidalgo km 22 (CZH)	19.77, -100.81	<i>R. superiorensis</i> var. <i>mexicanus</i> , RGS	2
Tangancícuaro, Michoacán	Cerro Patambam (CPA)	19.77, -102.32	<i>R. pseudoroseolus</i> , RGS . <i>S.</i> <i>simplex</i>	3
Zinapécuaro, Michoacán	El Jaral (EJAR)	19.78, -100.79	<i>T. maculatum</i>	1
Huitzilac, Morelos	Volcán pelado (VP)	19.09, -99.2	<i>Gymnomyces</i> sp. 2	1
Acajete, Puebla	La Malinche Alnus2 (LMA2)	19.19, -97.98	<i>T. separans</i> , <i>H. aff. separabile</i> , <i>Elaphomyces</i> sp. nov. 2	3
Chalchicomula de Sesma, Puebla	Pico de Orizaba (PO)	19, -97.32	<i>H. cerebriformis</i> , RGS	2
Soltepec, Puebla	Después de Soltepec (SOL)	19.1, -97.7	<i>S. pityophilus</i> , RGS	2
El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala	Carretera Amozoc-Perote (CAP)	19.38, -97.69	<i>C. pineti</i> , <i>Hysterangium</i> sp. nov. 1, RGS , <i>T. separans</i> , <i>R. guzmanii</i>	5

Continuación **tabla 3...**

Municipio	Sitio exacto	Coordenadas (Lat. /Long.)	Especies	No. de especies
Huamantla, Tlaxcala	La Malinche 1 (LM1)	19.24, -98.03	<i>E. incrassata</i> , <i>H. velatisporum</i> , <i>H. cerebriformis</i> , RGS , <i>T. separans</i>	5
San Francisco Teotlanohcan, Tlaxcala	La Malinche 2 (LM2)	19.28, -98.04	<i>H. coriaceum</i> , <i>G. aff. xerophilus</i> , <i>R. pseudoroseolus</i> , RGS , <i>T. separans</i>	5
La Perla, Veracruz	Camino al pico de Orizaba desde la Perla Veracruz (CPO)	18.98, -97.22	<i>R. evadens</i> , <i>Russula</i> sp., <i>T. separans</i>	3

Descripción de especies

Incertae sedis —*Endogone incrassata* Thaxt., Proc. Amer. Acad. Arts & Sci. 57: 315 (1922) Figura 2

Descripción: **Zigosporangio** 5-10 mm diámetro, globosos a subglobosos, crema (4A2), con tonos amarillos (5B4) y cafés (6D7), superficie rugosa y de apariencia incrustada cubierta por un manto blanco aterciopelado; esporocarpos grandes huecos, con una única cavidad amarilla (5B5-5B6) forrada con hifas estériles; esporocarpos pequeños sólidos, carecen de cualquier grieta o cavidad. **Peridio** 10-50 μm de grosor, compuesto de hifas delgadas de pared gruesa 3-5 μm diámetro. **Zigosporas** embebidas en un manto, sin un arreglo definido, esféricas, obovoides o elipsoides, 65-92 x 55-80 μm . Pared de la espora 4-7.5 μm de grosor, compuesta de una pared externa 3-5 μm con una pequeña abertura en la base y una pared interna continua 1.5-2.5 μm ; la pared externa más gruesa que la interna en la mayoría de las esporas. **Gametangio** arrugado y difícil de distinguir. Olor en fresco, distintivamente a pollo crudo. Hifas septadas de pared delgada entre las esporas, 3.5-6.5 μm de diámetro.

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, Tlaxcala y Jalisco, gregario, en bosque de *Pinus hartwegii*, bosque de *Pinus-Quercus*, y bosque de *Pinus*. Agosto-Septiembre.

Recolectas examinadas: MICHOACÁN, al noroeste del cerro San Andrés, Hidalgo, 10 de octubre de 2009, 26493 (MEXU); TLAXCALA, volcán La Malinche, Huamantla, 29 de agosto de 2010, 26515 (MEXU); JALISCO, Nevado de Colima, Tuxpan, 25 de septiembre de 2009, 26467, 26853 (MEXU).

Discusión: Los esporocarpos de esta especie son similares en tamaño a los de *E. pisiformis*. Las especies difieren en el tamaño y grosor de la pared de las esporas, en *E. incrassata*, las esporas son más grandes y usualmente la pared externa es más gruesa que la interna, caso contrario en *E. pisiformis*.

Se conocen tres recolectas, dos en Main (EUA) (Thaxter, 1922), y una en Alaska (EUA) (Gendemann y Trappe, 1974). Primer registro para México.

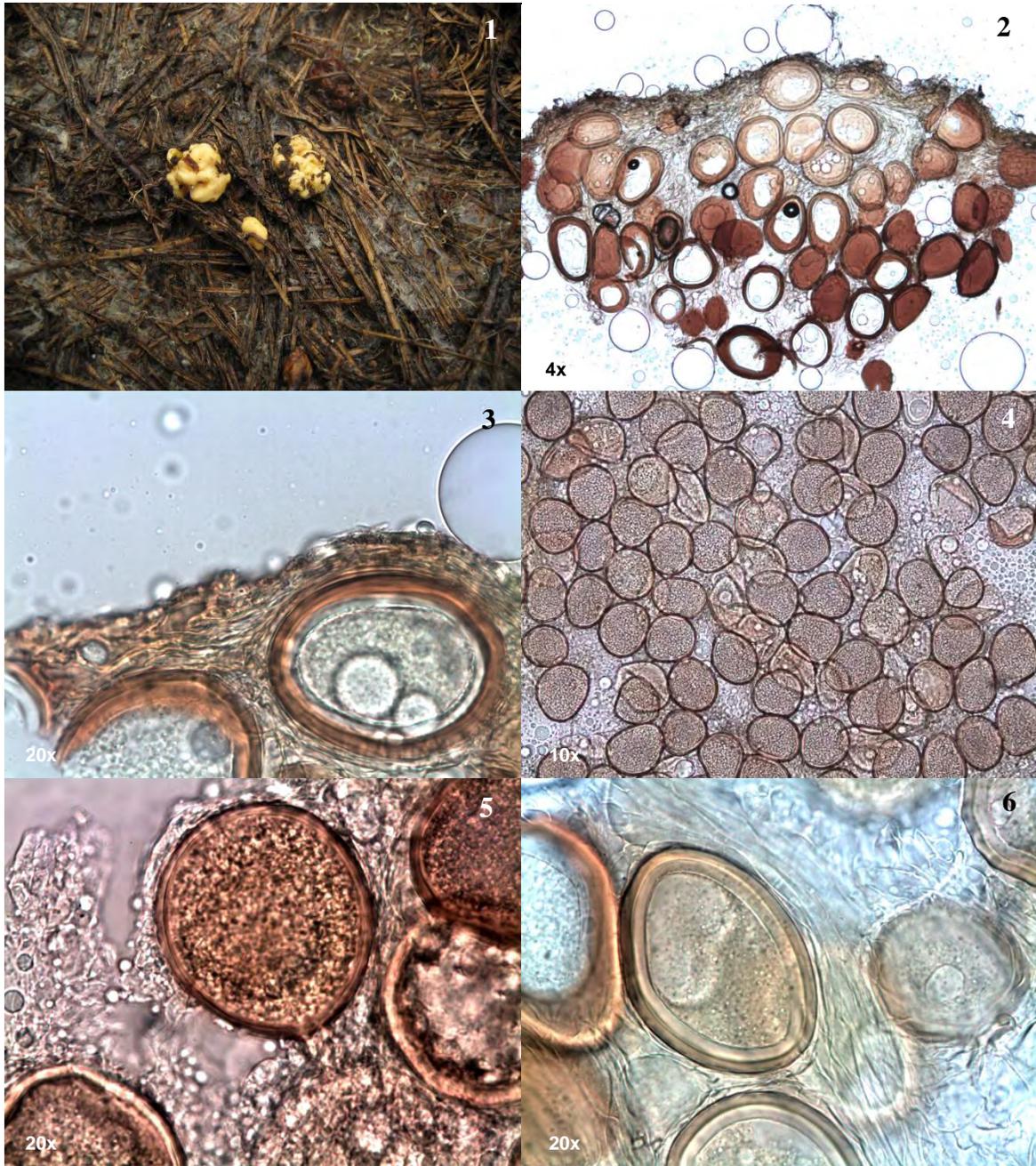


Figura 2. Características macro y microscópicas de *Endogone incrassata*. 1. Zigosporangio, 2. Corte transversal de peridio, 3. Estructura del peridio, 4 y 5. Zigosporas en microscopio de luz, 5. Hifas entre las zigosporas.

Descripción: **Esporocarpos** 4-8 mm de ancho, subgloboso a elipsoide o reniforme. Peridio ausente. Gleba naranja marrón (6D6) exudando un látex pegajoso, consiste en un tejido blanco laxo el cual rodea las esporas. **Zigosporas** 115-160 x 130-170 μm , naranja-cafés, globosas a elipsoides, usualmente más anchas que largas. La pared de la spora 5-7.5 μm de grosor, consistiendo en una pared externa café 1-3 μm la cual se tiñe de rojo en reactivo de Melzer y una pared interna amarilla más gruesa. **Zigosporas** encerradas en un manto hifal 15-20 μm de grosor, compuesto de dos o más capas de hifas entrelazadas de pared delgada. Ramificadas y anastomosadas. **Gametangio** grande de hasta 55 μm de ancho.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, solitario, Jalisco, bosque de *Pinus*, Bosque de *Pinus-Abies*. Septiembre.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO, volcán Iztaccíhuatl, Tlalmanalco, 6 de septiembre de 2009, 26462 (MEXU), JALISCO, volcán Nevado de Colima, Tuxpan, 25 de septiembre de 2009, 26211 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, los resultados arrojan dos especies, *E. lactiflua* con un 90% de similitud, lo convencional es aplicar un criterio de 3% de divergencia, sin embargo *Endogone* es un grupo complicado, del que no hay muchas secuencias disponibles para comparar. Se decidió dejar el nombre de *E. lactiflua* ya que concuerda con los caracteres que definen a esta especie, sin embargo, sería importante realizar un análisis filogenético mucho más complejo con distintos ejemplares de *E. lactiflua* y de otras especies de este género para tener mayor evidencia y proponer si *E. lactiflua* es un complejo de especies.

Discusión: *E. lactiflua* es similar a *E. flammicorona*, difieren principalmente en la estructura del manto hifal, en la primera, consiste en varias capas de hifas entretejidas, en la segunda, el manto está compuesto generalmente de una capa simple de hifas con arreglo de espiral muy particular. Esta especie, ha sido reportada por Uribe-Arróyave (1998) para el estado de Tlaxcala, nuestras recolectas amplían el conocimiento del área de distribución para dos estados más.

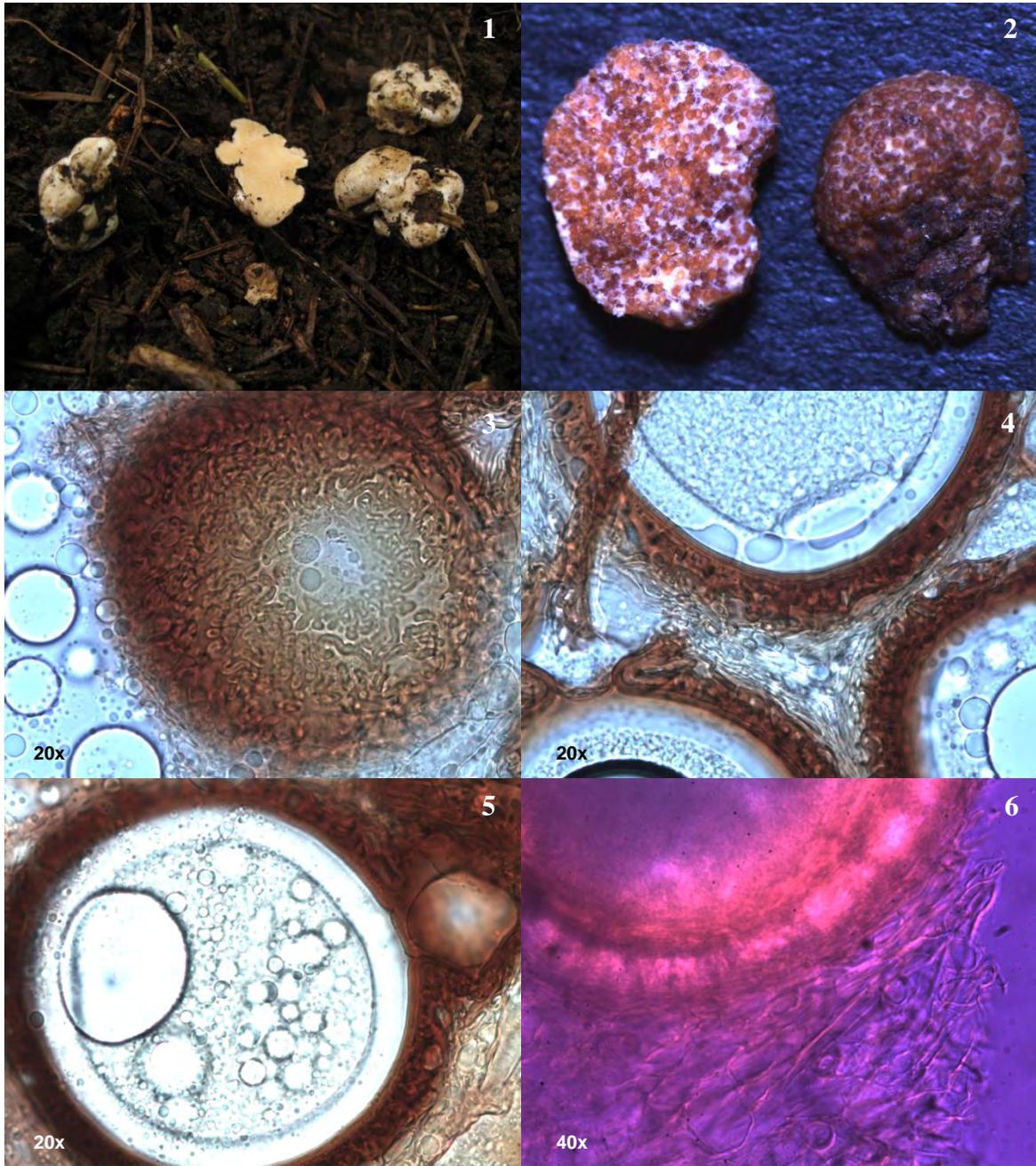


Figura 3. Características macro y microscópicas de *Endogone lactiflua*. 1. Zigosporangio, 2. Estructura del zigosporangio, 3. Superficie de la zigospora, 4. Pared de la zigospora, 5. Gametangio, 6. Hifas del manto.

Descripción: **Ascoma** de 23-30 x 16-22 mm, globoso a subgloboso, ligeramente aplanado a irregularmente lobulado, café-grisáceo (9F2), muy duro, consistencia de nuez. **Peridio** de dos capas; superficie negra, ligeramente granulada, carbonosa, capa interna gomosa, blanca. **Gleba** inicialmente hueca, llenándose con polvo de esporas negras al madurar. Olor no determinado. Sabor no determinado. Capa exterior del **peridio** 300-480 μm de grosor, incluyendo las verrugas consiste en hifas entretrejidas, desorganizadas café-negro a casi negras, 2.2-4.5 μm en diámetro, con paredes pigmentadas ± 1 μm de grosor; **subcutis** 1.0-1.75 mm de grosor, paquetes entretrejidos de hifas no muy bien definidos, 12-17 μm de diámetro, compuestos por hifas entretrejidas hialinas a verde claro (KOH), gelatinizadas, de 2.2-4.5 μm en diámetro con paredes delgadas de < 1.0 μm de grosor. **Gleba** compuesta de esporas e hifas entretrejidas laxamente, hialinas, de pared delgada, 2 μm en diámetro, algunas secas, otras robustas, y algunas rizadas. **Esporas** globosas, 20-23 μm (media= 21.3 μm) incluyendo la ornamentación, la cual aparece como espinas gruesas muy densas, formando un laberinto irregular bajo el microscopio de luz; el MEB revela una ornamentación de espinas individuales que se fusionan en las puntas en grupos muy grandes e irregulares, estos grupos se unen para formar una cobertura casi completa; la pared no se logró medir debido a la coloración oscura de la espora, en KOH las inmaduras son color café claro, al madurar café oscuras casi negras, individualmente o en masa.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, gregario, asociado a bosque de *Pinus*. Julio.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO, Km 7 carretera Temascaltepec-Tejupilco, San Simón de Guerrero, 8 de julio de 2009, 26085 (MEXU).

Código de barras: Al realizar la búsqueda de BLAST, la especie con la similitud más alta fue *E. aculeatus* (84%). La información molecular no nos da mucha información acerca de la identidad de nuestro ejemplar, pero con los datos morfológicos se logró concluir que se trata de una nueva especie.

Discusión: Esta especie se caracteriza por poseer un peridio oscuro ligeramente granuloso y esporas equinuladas (20-23 μm) que recubren toda la superficie. Algunas especies descritas para Australia por Castellano et al. (2011) son similares a *Elaphomyces* sp. nov. 1, por ejemplo, *E. laetiluteus*, *E. chlorocarpus*, *E. cooloolanus*, y *E. suejoyceae*, poseen un peridio carbonáceo, liso, pero el rango del tamaño de las esporas no concuerda con nuestro taxón, en cambio, *E. chlorocarpus*, posee un peridio verrucoso y un rango de tamaño de esporas similar (18-23 μm), sin embargo, la ornamentación de la espora es diferente. Es el primer registro de una especie de *Elaphomyces* de peridio oscuro para México.

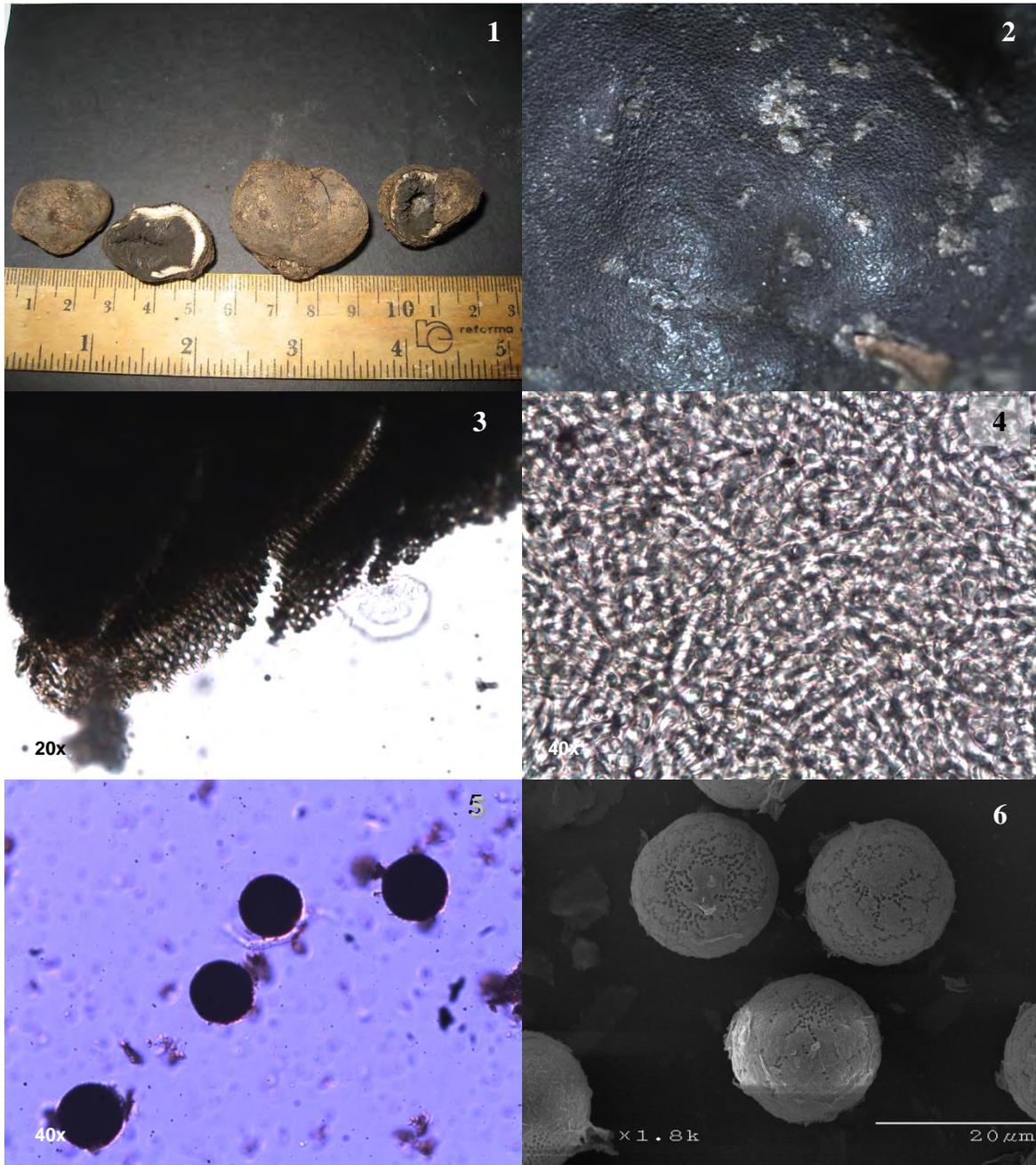


Figura 4. Características macro y microscópicas de *Elaphomyces* sp. nov. 1. Ascocarpo, 2. Verrugas del peridio, 3. Estructura de las verrugas del peridio, 4. Estructura de la subcutis del peridio, 5. Esporas en microscopio de luz, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Ascoma** 15-20 x 13-18 mm, globoso a subgloboso, ligeramente aplanado, superficie del peridio amarillo ocre brillante (4A4-4B4), llena de verrugas piramidales 130-230 μm de alto, 210-490 μm de ancho en la base, 40-160 μm de ancho en el ápice. **Peridio** de dos capas; verrugas de la **capa externa** con un interior café dorado en sección transversal y una superficie externa delgada, café; **capa interna** marmoleada gris a café-violáceo pálido o café-rosáceo a café oscuro. **Gleba** inicialmente hueca, llenándose con hifas y después esporas al madurar, masa de esporas polvosa, café-morada oscura (9F3-12F3), mezclada con residuos de tejido violeta (17B2) y esporas. Olor no registrado. Sabor no registrado. **Capa externa** del peridio ± 200 μm de grosor, verrugas compuestas de hifas amarillas, sinuosas, anastomosadas, de 1.75-2.5 μm en diámetro, de pared delgada ± 1 μm de grosor, y las hifas entre verrugas, hialinas, periclinales, septadas y compactas, de hasta 3.8 μm de ancho, con paredes de ± 1 μm de grosor; **capa interna** 2 mm de grosor, de hifas empaquetadas de 25-50 μm de grosor arregladas perpendicularmente a cada una de los otros, compuesta de numerosas hifas hialinas, entretejidas a subparalelas de hasta ± 5.5 μm de ancho y con paredes de 1 μm de grosor; la capa tiene hifas pigmentadas café-rojizo, las cuales le dan el aspecto marmoleado. **Gleba** de esporas e hifas hialinas a verde claro, de pared delgada, 2.0-3.0 μm en diámetro, ornamentadas con cristales. **Esporas** globosas, 28-32.5 μm de ancho (media = 29.2 μm) incluyendo la ornamentación de espinas gruesas, densas, varillas y crestas cortas, de hasta 3.5 μm de alto, formando un laberinto irregular bajo el microscopio de luz; el MEB revela la ornamentación como varillas o espinas individuales que se unen en las puntas en agrupaciones irregulares, éstas agrupaciones se unen para formar casi una cobertura completa de la espóra; pared de la espóra ± 0.7 μm de grosor; en KOH inicialmente verde oscuro al madurar café rojizo individualmente y en masa.

Distribución, hábitat y estación: Puebla, gregario, asociado a bosque de *Pinus-Alnus*. Junio.

Recolectas examinadas: PUEBLA, volcán La Malinche Alnus 2, Acajete, 30 de junio de 2010, 26506 (MEXU).

Discusión: Superficie del peridio granuloso, amarillo, con verrugas obtusas, peridio marmoleado y esporas globosas de 28-32.5 μm (incluyendo la ornamentación) con espinas gruesas, densas, de hasta 3.5 μm de alto, las cuales forman un laberinto irregular bajo el microscopio de luz definen a esta especie. En México se reportan especies que poseen un peridio amarillo, sin embargo, ninguna concuerda con esta nueva especie. *E. granulatus*, reportado para Nuevo León y Estado de México, tiene el peridio con verrugas aplanadas, sin embargo sus esporas son más pequeñas 20-28 μm y el peridio no es marmoleado. *E. reticulatus*, posee un peridio con verrugas angulares diferente al de *Elaphomyces* sp. nov. 2, y esporas 15-37.5 μm incluyendo la ornamentación. *E. muricatus* f. *muricatus* y *E. muricatus* f. *variegatus* tienen un peridio con verrugas piramidales muy agudas, además, las esporas son más pequeñas 16-19 μm y 15-23 μm , respectivamente, la ornamentación tampoco concuerda. Otras especies similares son *E. verruculosus*, sin embargo el peridio no es marmoleado y las verrugas son muy agudas y esporas más grandes (35-50 μm) y *E. ramalinuspinus* el cual también posee un peridio con verrugas piramidales más altas y esporas mayores (26-35 μm).

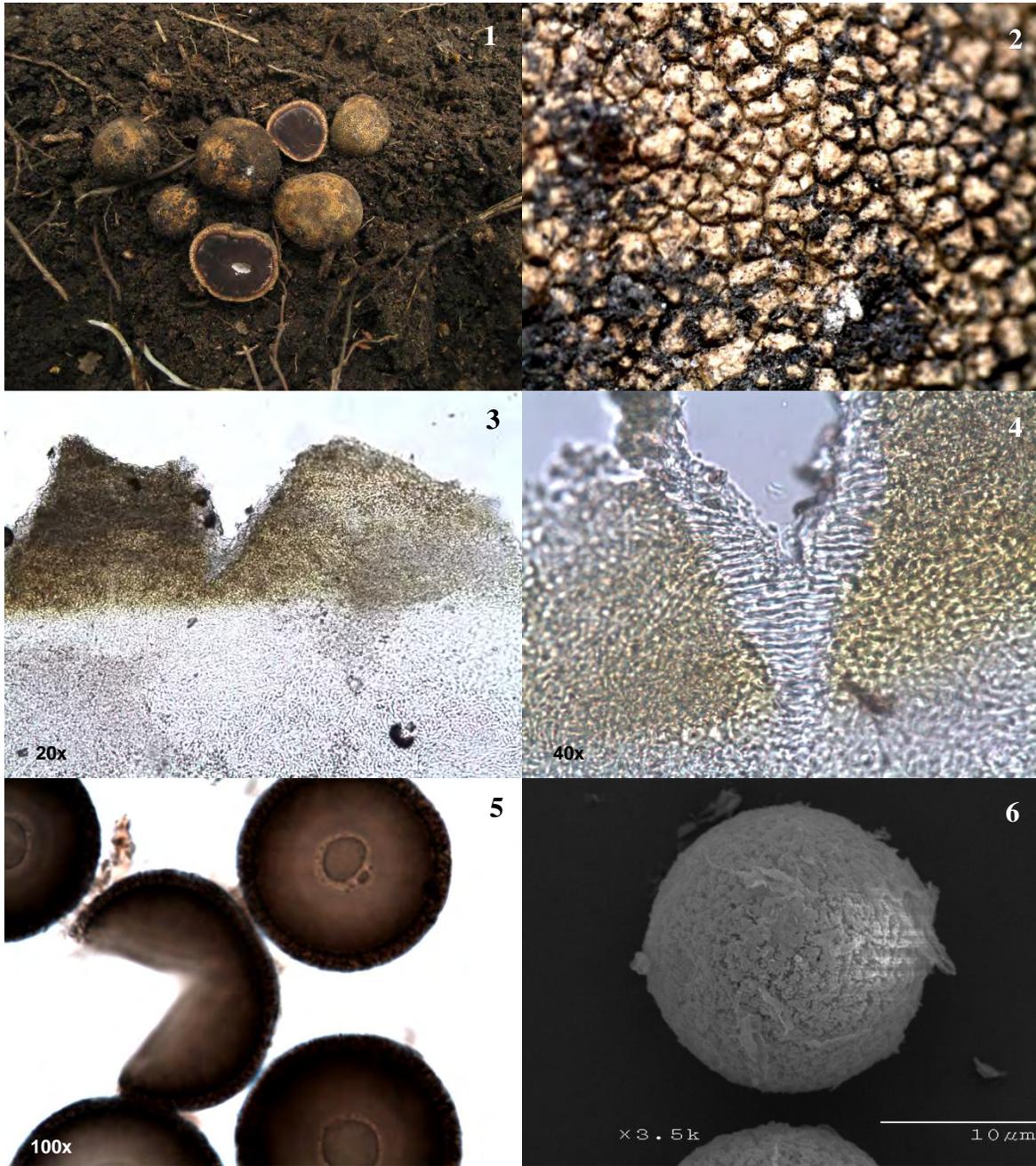


Figura 5. Características macro y microscópicas de *Elaphomyces sp. nov. 2*. 1. Ascocarpos, 2. Verrugas del peridio, 3. Corte transversal del peridio, verrugas y subcutis, 4. Hifas entre las verrugas del peridio, 5. Esporas en microscopio de luz, 6. Espora en MEB.

Descripción: **Ascoma** subgloboso a aplanado, 6.5 x 2.8 mm, hueco, con un orificio apical de 4 mm de diámetro, con un mechón en la parte basal de micelio café oscuro (7F4). **Peridio** café verdoso (6E5-6E6) con verrugas piramidales café oscuro (7F4) cubiertas de pelos. **Peridio** 200-270 μm de grosor incluyendo las verrugas 100-175 x 175-275 μm , compuestas de hifas globosas sin contenido de hasta 25 μm de diámetro, pelos de hasta 8 μm de diámetro, pared de $\pm 1 \mu\text{m}$, septados, café oscuro, algunos lisos y brillantes, otros granulados. **Esporas** elipsoides 29-35 x 18-23 μm incluyendo la ornamentación de papilas redondas de hasta 2.5 μm de altura, uniseriadas, hialinas. **Ascas** cilíndricas de 250 x 30 μm en un himenio empalizado entre paráfisis. **Paráfisis** 2-5 μm de diámetro, hialinas, conectando el subhimenio con el epitecio. **Subhimenio** de dos estratos, el estrato en contacto con la paráfisis consiste en hifas entretrejidas de 4-7.5 μm de diámetro, el estrato inferior está formado por hifas globosas sin contenido de hasta 30 μm de diámetro. **Epitecio** de 75-125 μm de grosor, hifas entretrejidas de hasta 1.5 μm de diámetro.

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, solitario, asociado a bosque de *Quercus deserticola*. Septiembre.

Recolectas examinadas: MICHUACÁN, carretera Morelia-Atécuaro, Morelia, 29 de septiembre de 2011, 26085 (MEXU).

Discusión: Debido a su hábito hipogeo, coloración oscura y tamaño pequeño del ascoma, se conoce relativamente poco sobre este género (Smith et al. 2006).

Nuestro material concuerda con lo descrito por Cázares et al. (1992), los cuales hicieron el primer registro de este taxón para México, y dicha descripción tiene algunas variantes como esporas y ascas más grandes que *G. arenaria* o *G. asperuala*, Smith et al. (2006) mencionan que quizá represente una especie no descrita. Se amplía el conocimiento de la distribución para esta especie, solo había sido reportada para el estado de Nuevo León por Cázares et al. (1992).

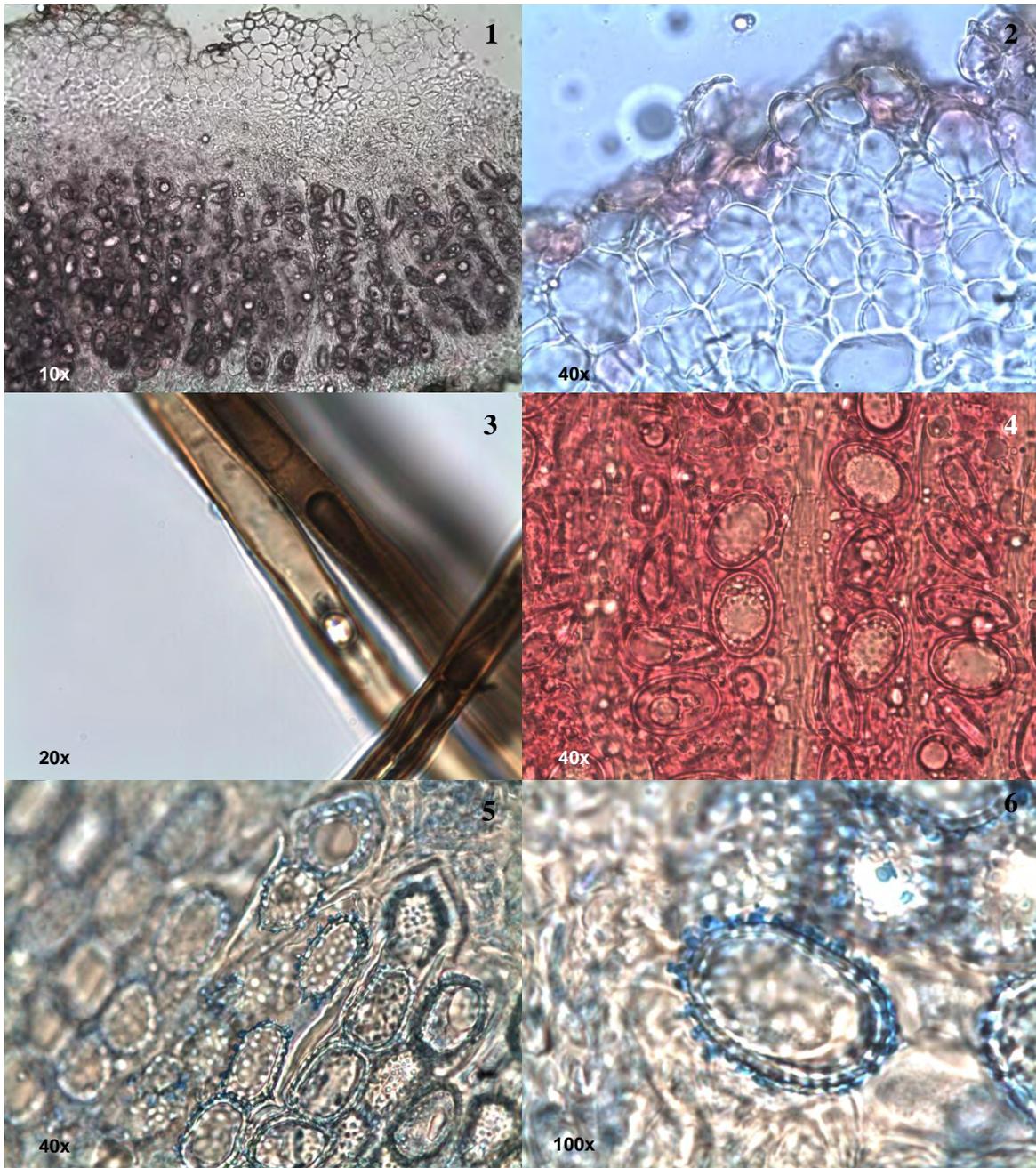


Figura 6. Características macro y microscópicas de *Genea arenaria*. 1. Corte transversal del peridio, 2. Células de las verrugas del peridio, 3. Pelos emergentes del peridio, 4. Paráfisis, 5 y 6. Esporas.

Descripción: **Ascoma** subgloboso o algo aplanado, 7 mm de diámetro, hueco, con un orificio apical de 4 mm de diámetro y un mechón basal de pelos café-rojizo (7F8). **Peridio** café (7F5) con pequeñas verrugas piramidales cubiertas de pelos café oscuro. **Peridio** 200-290 μm de grosor incluyendo las verrugas de 150-175 x 250-275 μm , compuestas por células poliédricas de pared gruesa de hasta 35 μm en diámetro, hialinas a café amarillentas, dando lugar a los pelos de pared gruesa (2.5 μm), septados. **Esporas** elipsoides, 26-32 x 18-22 μm , incluyendo la ornamentación de verrugas truncadas de hasta 3 μm de altura, uniseriadas, hialinas. **Ascas** en un himenio empalizado entre paráfisis, cilíndricas 170-210 x 15-18 μm , octoesporada. **Epitecio** de 175 μm de grosor. **Paráfisis** 2-5 μm de diámetro, hialinas, conectadas con el subhimenio. **Subhimenio** de hifas entretrejidas de hasta 30 μm en diámetro.

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, solitario, asociado a bosque de *Quercus*. Septiembre.

Recolectas examinadas: MICHOACÁN, Las tablas, Huiramba, 29 de septiembre de 2009, 26085 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, los resultados muestran que nuestra recolecta se parece un 94.8-95.6% a *G. arenaria*. Si aplicamos el criterio de variación de hasta un 3%, nuestra colección es cercana a *G. arenaria*, sin embargo se trata de otra especie. Por su parecido morfológico, se decidió utilizar el sufijo afín, para esta colección.

Discusión: Debido a su hábito hipogeo, coloración oscura y tamaño pequeño del ascoma, se conoce relativamente poco sobre este género (Smith et al. 2006).

Nuestro material es muy similar a *G. arenaria*, sin embargo el tamaño de las esporas es ligeramente mayor, y las verrugas son más truncadas de lo normal para esta especie.

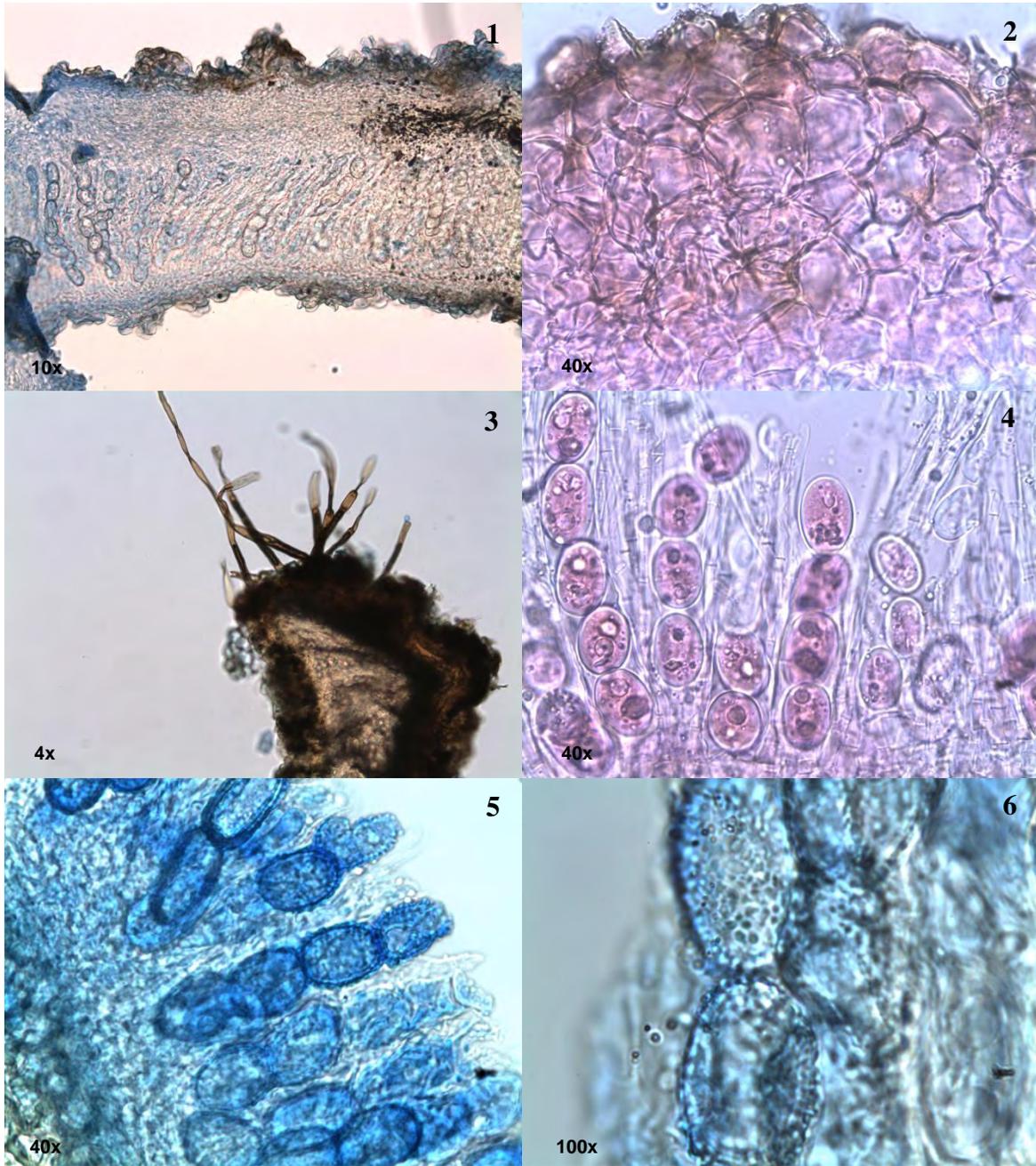


Figura 7. Características macro y microscópicas de *Genea* aff. *arenaria*. 1. Corte transversal del peridio, 2. Células de las verrugas del peridio, 3. Pelos emergentes del peridio, 4. Paráfisis, 5 y 6. Esporas en microscopio de luz.

ASCOMYCOTA —*Hydnotrya cerebriformis* Harkn., Proc. Calif. Acad. Sci., Ser. 3, Bot. 1: 266 (1899) Figura 8

Descripción: **Ascoma** irregular, lobulado, 11 x 8 mm. **Peridio** finamente pruinoso-granuloso, café rojizo (8F4). **Gleba** compleja trama plegada café rosada (8E6), formando canales y cámaras color rosa claro (12B2). **Peridio** 240-300 µm de grosor, **epicutis** 50-90 µm de grosor, compuesta por hifas capitadas, hialinas, empalizadas, muy compactas, de pared delgada, 30-40 x 17-22 µm, **subcutis** 100-300 µm de grosor, de hifas anastomosadas, hialinas, de pared delgada, gelatinizadas, compactas a laxas, 3-5 µm en diámetro. **Esporas** esféricas de 20-25 µm de diámetro, excluyendo la ornamentación, la cual consiste en una corona de espinas que cubre toda la superficie de la espóra; pared delgada (\pm 1 µm), equinuladas, ornamentación de hasta 4 µm de longitud; coloración en Melzer, café ámbar (6D6) en esporas maduras y amarillo claro (4B4) en esporas inmaduras. **Ascas** cilíndricas 275-320 x 34-38 µm, octoesporadas, uniseriadas.

Distribución, hábitat y estación: Puebla, solitario, en bosque de *Pinus hartwegii* y zacatonal. Octubre.

Recolectas examinadas: PUEBLA, volcán Pico de Orizaba, Chalchicomula de Sesma, 18 de octubre de 2009, 26498 (MEXU).

Código de barras: La búsqueda de BLAST confirma la determinación con datos morfológicos, nuestra secuencia es parecida en un 98.5% a *Hydnotrya cerebriformis*, corroborando nuestra determinación con base en la morfología. Las secuencias más similares a la nuestra provienen de un trabajo publicado de Stielow et al. (2010) sobre un análisis filogenético que incluye algunas especies del género. En este trabajo se menciona que los ejemplares de *H. cerebriformis* provenientes de Europa parecen estar muy distantes (filogenéticamente) de las especies de Norteamérica (obtenidas de *GenBank*), dejando entre ver la diversidad críptica del género, sugiriendo una revisión taxonómica de esta especie. Con los resultados de este trabajo, creo que se debe considerar realizar trabajos futuros sobre *Hydnotrya*, ya que es un género relativamente pequeño, algunas de sus especies pueden separarse fácilmente con ayuda de la ornamentación de la espóra, sin embargo otras no, por lo cual sería importante

analizarlas también a nivel molecular, incluir todas las especies y la mayor cantidad de sitios, los cuales representen distintas áreas geográficas.

Discusión: Este taxón se caracteriza por tener esporas globosas con una corona de espinas distintiva, 3-4 μm de altura, embebidas en una matriz amorfa, café en KOH, de aproximadamente 25 μm en diámetro. *H. cerebriformis* e *H. tulasnei* pueden ser diferenciadas de *H. variiformis* e *H. michaelis* por sus esporas redondas, en vez de elípticas. *H. cerebriformis* se distingue de *H. tulasnei*, por la ornamentación de la espora, ya que la segunda posee una episporio amorfo que al madurar forma verrugas. Primer registro para México.

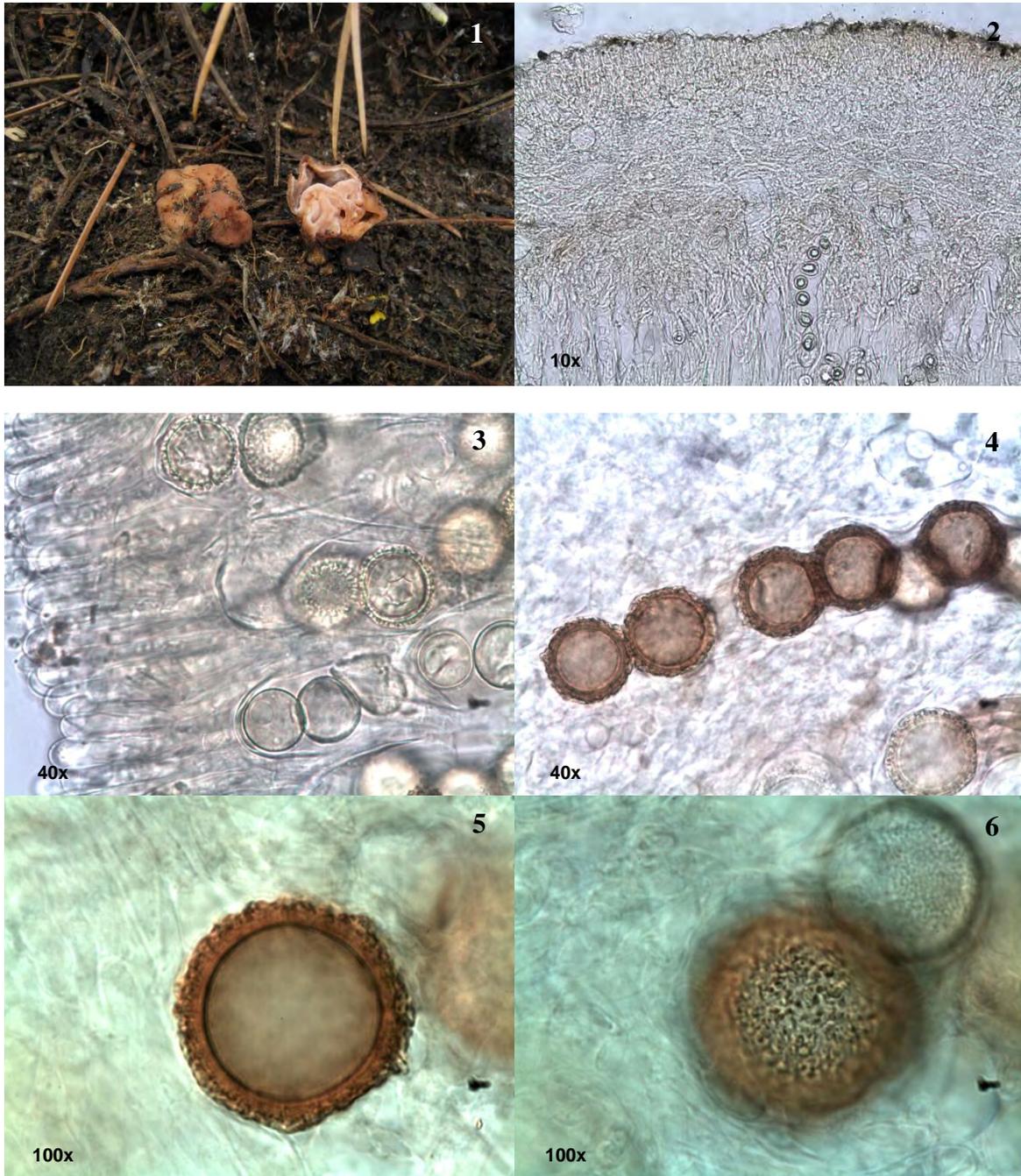


Figura 8. Características macro y microscópicas de *Hydnotrya cerebriformis*. 1. Ascocarpo, 2. Corte transversal del peridio, 3. Epitelio, 4. Esporas en asca, 5. Ornamentación de la espora, 6. Superficie de la espora.

Descripción: **Ascocarpo** globoso y ligeramente plano 12 x 14 mm. **Peridio** café vináceo con verrugas cuadrangulares 2mm diámetro. Posee una foseta apical. **Gleba** sólida, crema a café oscuro con venas blancas a amarillas. Peridio 350-500 μm de grosor, **exoperidio** naranja-amarillento, de células angulares a globosas hasta 30 μm de diámetro, **endoperidio** hialino, pseudoparenquimático a filamentoso. **Esporas** globosas, 15.5-19 μm (media: 17 μm) de diámetro excluyendo la ornamentación, 17.5-21.5 μm (media: 19 μm) incluyendo la ornamentación, espinas de 1-2.5 μm de longitud, embebidas en un mucilago, cafés en reactivo de Melzer. **Ascas** cilíndricas a clavadas, 180-220 x 35-45 μm , hialinas en KOH, ligeramente amarillentas al madurar en reactivo de Melzer, con forma de gancho en la base, con ocho esporas. **Subhimenio** filamentoso con células infladas

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, solitario, en bosque de *Quercus deserticola*. Septiembre

Recolectas examinadas: MICHOACÁN: Carretera Morelia-Atécuaro, Morelia, 30 de septiembre de 2012, 26842 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, nuestra secuencia es 99.2% similar a *P. marroninus*, especie propuesta por Healy et al. (2009). Sin embargo, realizamos las comparaciones morfológicas y filogenéticas, y se llegó a la conclusión de que es nueva especie (comunicación personal con Rosanne Healy). Es importante señalar que la variación entre las especies de este género es menor al 3%. Se decidió seguir un criterio para determinar esta especie con base en los datos morfológicos y la opinión del experto en este género.

Discusión: Especie aun no descrita, las características de este ejemplar concuerdan con los datos que tiene Rosanne Healy y a través de comunicación personal, la ornamentación de las esporas es similar a *P. ligericus*, sin embargo esta especie es europea.

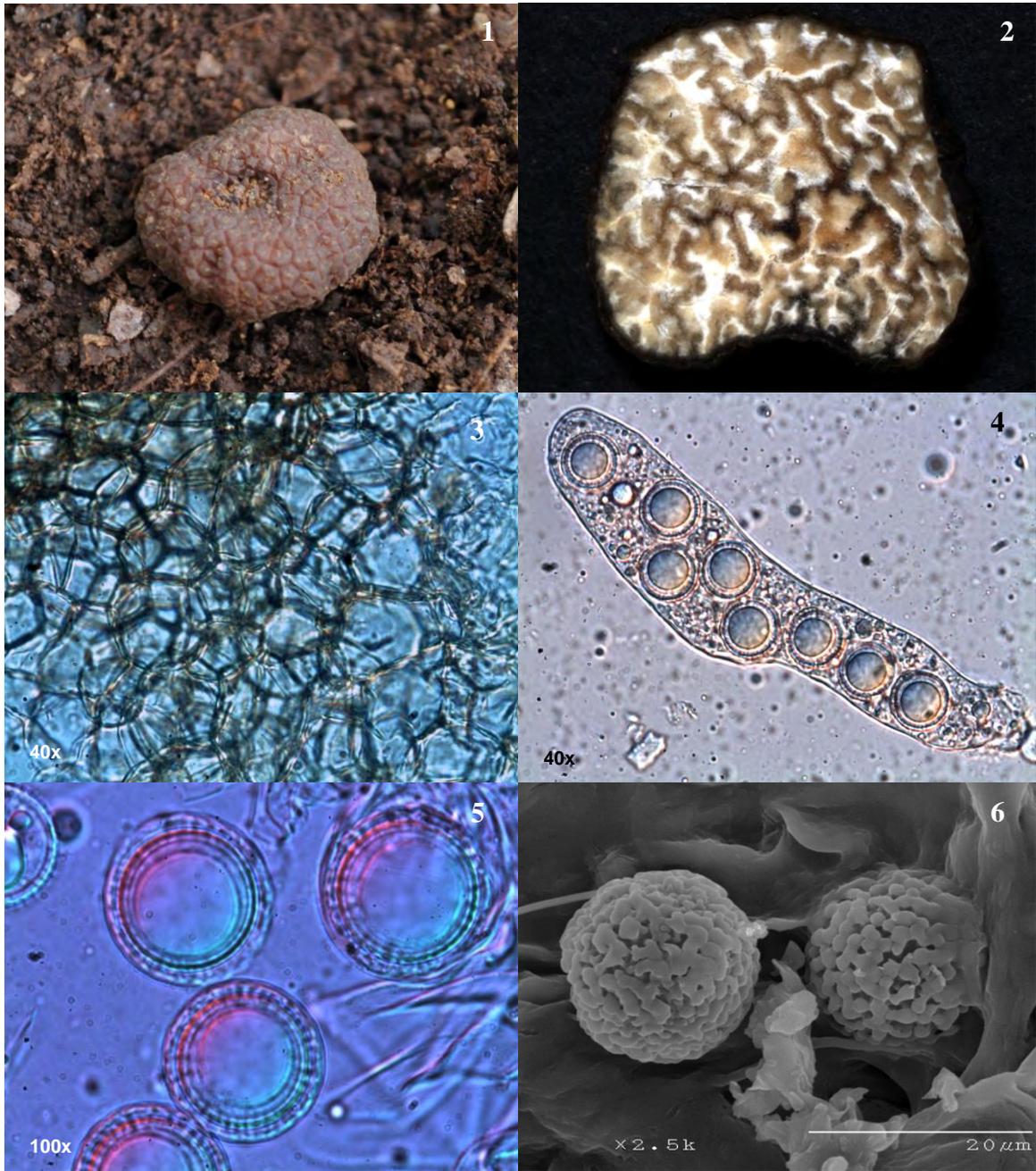


Figura 9. Características macro y microscópicas de *Pachyphloeus sp. nov.* 1. 1. Ascocarpo, 2. Gleba, 3. Corte transversal del peridio, 4. Asca, 5. Esporas en microscopio óptico, 6: Esporas en MEB.

Descripción: **Ascocarpo** globoso a ligeramente plano 5-9 x 5-8 mm. **Peridio** naranja a café rojizo, con verrugas piramidales de 1.5-2 mm diámetro. Afelpado y amarillento entre las verrugas. **Gleba** sólida, crema a café oscuro con venas blancas a amarillas. **Esporas** globosas, 12-15 μm (media: 13.5 μm) de diámetro excluyendo la ornamentación, 16-21 μm (media: 18.5 μm) de diámetro incluyendo la ornamentación, pared 1-1.5 μm de grosor, espinas ligeramente digitiformes 2-3 μm de longitud, embebidas en un mucilago, cafés en reactivo de Melzer. **Ascas** clavadas 200-280 x 30-45 μm , hialinas en KOH, ligeramente amarillentas al madurar en reactivo de Melzer, con ocho esporas uniseriadas. **Subhimenio** filamentoso con células infladas. **Peridio** 250-500 μm de grosor, **exoperidio** naranja-amarillento, de células angulares a globosas hasta 30 μm de diámetro, **endoperidio** hialino, pseudoparnquimático a filamentoso.

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, gregario, en bosque de *Quercus deserticola*. Septiembre

Recolectas examinadas: MICHOACÁN: Carretera Morelia-Atécuaro, Morelia, 30 de septiembre de 2012, 26843, 26844, 26845, 26847 (MEXU).

Código de barras: Nuestra recolecta es muy parecida a *Pachyphloeus* sp. (99.3-99.7% de similitud). Además, se comparó nuestra descripción taxonómica con otras recolectas de Rosanne Healy y Gonzalo Guevara (comunicación personal), y con toda esta información se concluyó que es una nueva especie. Es importante señalar que la variación entre las especies de este género es menor al 3%. Se decidió seguir un criterio para determinar esta especie con base en los datos morfológicos y la opinión del experto en este género.

Discusión: Especie no descrita pertenece al grupo *carneus* y se caracteriza por un peridio color naranja con verrugas poligonales, esporas cafés cuyos ápices de las espinas están conectados, ascas cilíndricas a clavadas y venas blancas estériles en la gleba, marmoleadas con venas grises oscuras a cafés.

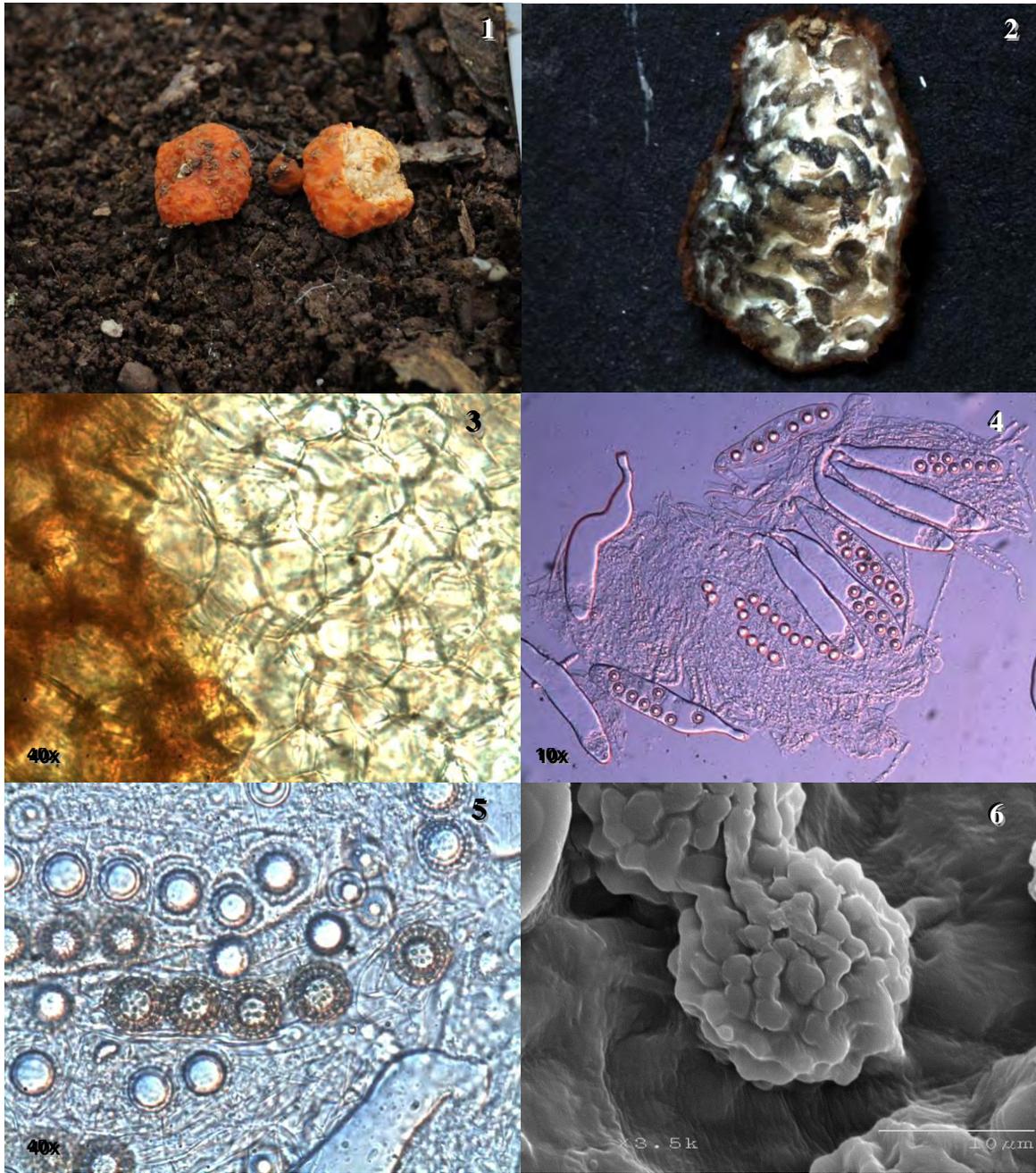


Figura 10. Características macro y microscópicas de *Pachyphloeus* sp. nov. 2. 1. Ascocarpo, 2. Gleba, 3. Corte transversal del peridio, 4. Ascas, 5. Esporas en microscopio óptico, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Ascocarpo** subgloboso a ligeramente plano 5 x 3.5 mm. **Peridio** amarillo paja con verrugas piramidales cafés 0.5 mm diámetro, el ápice de las verrugas es más oscura. Afelpado y amarillento entre las verrugas. **Peridio** 200-300 μm de grosor, **exoperidio** naranja-amarillento, de células angulares a globosas hasta 30 μm de diámetro, **endoperidio** hialino, pseudoparqnquimático a filamentoso. **Gleba** sólida, café claro con venas blancas a cremas. **Subhimenio** filamentoso con células infladas. **Esporas** globosas, 11-16.5 μm (media: 14 μm) de diámetro excluyendo la ornamentación, 18.5-25.5 μm (media: 21.5 μm) incluyendo la ornamentación, espinas finas 2.5-5 μm de longitud, embebidas en un mucilago, cafés en reactivo de melzer. **Ascas** cilíndricas a clavadas, 250-330 x 30-40 μm , hialinas en KOH, ligeramente amarillentas al madurar en reactivo de Melzer, con ocho esporas.

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, solitario, en bosque de *Quercus deserticola*. Septiembre

Recolectas examinadas: MICHOACÁN: Carretera Morelia-Atécuaro, Morelia, 30 de septiembre de 2012, 26846 (MEXU).

Código de barras: Esta especie es muy parecida a *P. carneus* (98.4% de similitud) y *Pachyphloeus* sp. (98.2%). Se comparó nuestra descripción taxonómica con otras recolectas de Rosanne Healy y Gonzalo Guevara (comunicación personal), con toda esta información se concluyó que es una nueva especie. Es importante señalar que la variación entre las especies de este género es menor al 3%. Se decidió seguir un criterio para determinar esta especie con base en los datos morfológicos y la opinión del experto en este género.

Discusión: Especie no descrita correspondiente al grupo *carneus*, presenta un peridio amarillo claro, a diferencia del color naranja brillante que caracteriza al peridio del resto de las especies de este grupo.

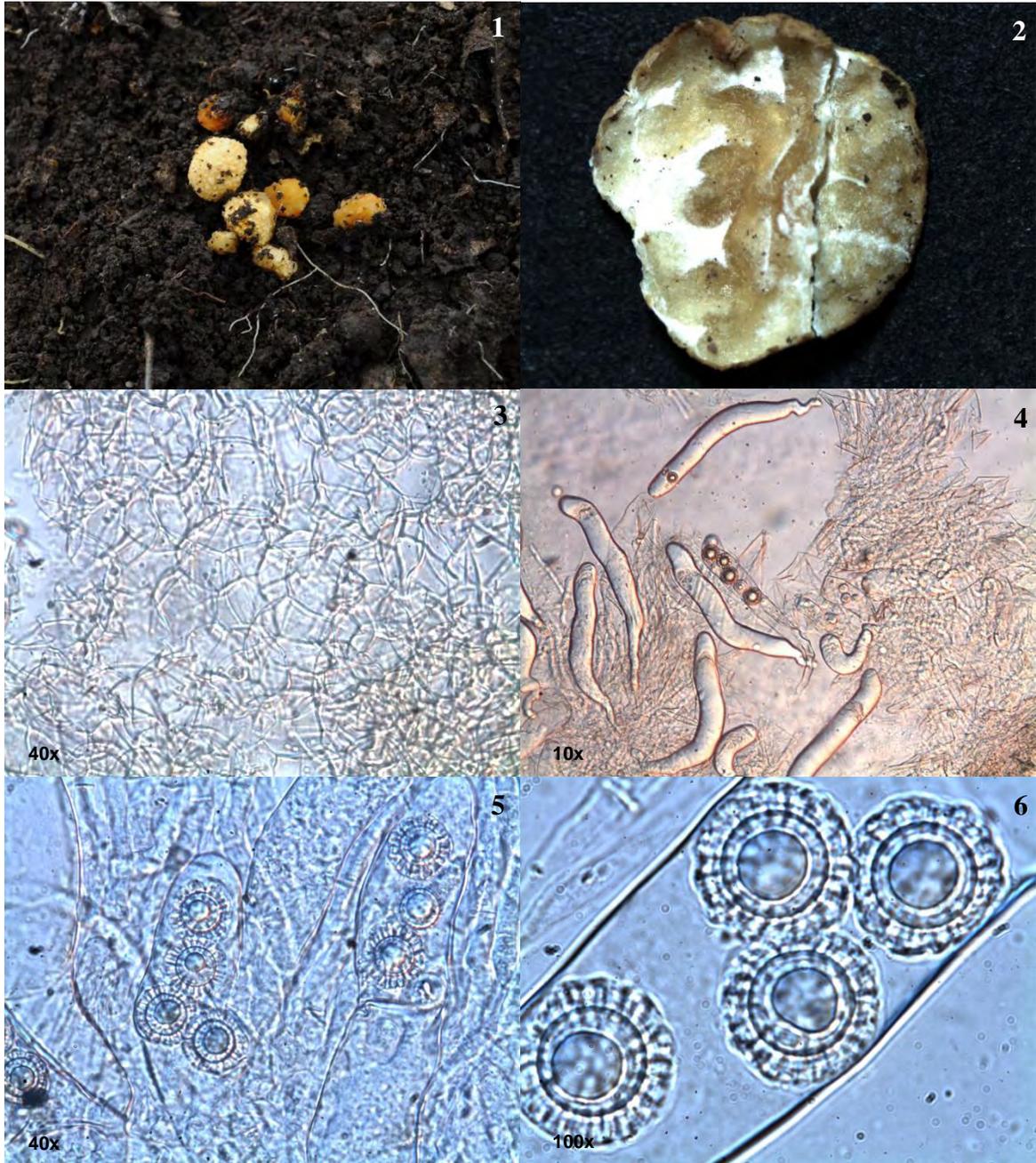


Figura 11. Características macro y microscópicas de *Pachyphloeus sp. nov.* 3. 1. Ascocarpo, 2. Gleba, 3. Corte transversal del peridio, 4. Ascas, 5 y 6. Esporas en microscopio óptico.

Descripción: **Ascocarpo** 4-6 x 3-6 mm, globoso a subgloboso, café oscuro a negro, peridio áspero con verrugas piramidales de 2-3 mm de ancho por 1-1.5 mm de alto, sin rizomorfos en la parte basal. **Gleba** sólida, blanca a café claro, negra cuando seca, con venas hacia el peridio, marmoleada. Peridio de 100-300 µm de grosor. El **exoperidio** es una capa pseudoparenquimatosa de 100-200 µm de ancho, células angulares o isodiamétricas, color café rojizo a café oscuro, pared gruesa, sin contenido intracelular. Hifas de 5-7 µm de diámetro. La capa del **endoperidio** es de 30-50 µm de grosor, Las venas están formadas por hifas entretrejidas hialinas. **Esporas** 30-40 (-45) x 30-38 µm con ornamentación, café rojizas; 1-2 esporas por asca 40-55 (-63) x 30-40 µm, 3-4 esporas por asca 32-40 x 28-35 µm, elipsoides. Espinas de 2-5 x 1-2 µm, delgadas, robustas hacia la base, hialinas cuando jóvenes, amarillo paja a café rojizas cuando maduran, pared gruesa. **Asca** globosa a subglobosa, 70-90 x 55-60 µm.

Distribución, hábitat y estación: Distrito Federal, Jalisco, Estado de México, Tlaxcala, Veracruz, solitario, en bosques de *Abies religiosa*, *Pinus*, *Pinus-Abies*, Zacatonal con *Pinus* y bosque mixto. Agosto-Septiembre.

Recolectas examinadas: DISTRITO FEDERAL: Volcán Chichinautzin, Huitzilac, 24 de septiembre de 2010, 26267 (MEXU); Volcán Ajusco ladera norte, Tlalpan, 14 de septiembre de 2009, 26463 (MEXU); JALISCO: Nevado de Colima, Tuxpan, 26 de septiembre de 2009, 26473 (MEXU); ESTADO DE MÉXICO: Volcán Iztaccíhuatl, Tlalmanalco, 6 de septiembre de 2009, 26461 (MEXU); Volcán Nevado de Toluca, Coatepec Harinas, 25 de agosto de 2009, 26541 (MEXU); TLAXCALA: Volcán La Malinche, San Francisco Tetlanohcan, 28 de agosto de 2010, 26508 (MEXU), Volcán La Malinche, Huamantla, 29 de agosto de 2010, 26514, 26519 (MEXU), Carretera Amozoc-Perote, El Carmen Tequexquitla, 2 de septiembre de 2010, 26258, 26259 (MEXU); VERACRUZ: Camino al Pico de Orizaba desde la Perla, La Perla, 31 de agosto de 2010, 26522 (MEXU).

Código de barras: La búsqueda de BLAST arrojó que nuestra secuencia es similar en un 97.2-97.9% a *T. separans*, corroborando nuestra identificación con base en

datos morfológicos. Bonito et al. (2010) mencionan que la mayoría de las especies de *Tuber* muestran un rango de 1-3% de variabilidad intraespecífica en ITS y > 4% de variación interespecífica en secuencias de ITS. Además señalan que la variación intraespecífica del ITS difiere entre las especies examinadas y está debajo del 3% para todas las especies, excepto *T. aestivum* (<3.7%). Esta especie pertenece al clado *puberulum*.

Discusión: Nuestra descripción concuerda con la de Cázares et al. (1992) es el segundo reporte para México. Esta especie había sido reportada para el estado de Nuevo León, con nuestras recolectas se ha ampliado la información sobre su distribución para cinco estados más de la república, esta especie está representada en todo el Eje Neovolcánico sin embargo, de las 11 recolectas obtenidas, tan solo dos estaban maduras, lo que nos hace concluir, que debemos realizar más recolecciones en otoño e invierno.



Figura 12. Características macro y microscópicas de *Tuber separans*. 1. Esporoma, 2. Estructura del peridio, 3. Hifas entre las ascas, 4, 5 y 6. Esporas en ascas.

Descripción: **Esporoma** 8 x 6 mm, globoso a subgloboso, con lóbulos más o menos regulares, color pardo. **Peridio** glabro. **Gleba** sólida, blanca a café claro, de aspecto mármoleo por las venas estériles que la recorren. Reacción con KOH 5% negativa o ligeramente negra después de 10 min. Peridio de 300-500 µm de grosor. El **exoperidio** es una capa pseudoparenquimatosa, células isodiamétricas miden de 10-15 µm de diámetro, sin contenido intracelular. Hifas entretrejidas de 5 µm de diámetro. La capa del **endoperidio** es de 45-60 µm de grosor, Las venas están formadas por hifas entretrejidas hialinas. **Esporas** 35-40 (-45) x 25-30 (-35) µm (incluyendo la ornamentación espinosa) café rojizas; 1-2 esporas por asca 40-50 x 30-35 µm, 3-4 esporas por asca 30-40 x 25-30 µm, elipsoides. **Espinas** de 3-6 x 3-4 µm, delgadas, robustas hacia la base, hialinas cuando jóvenes, amarillo paja a café rojizas cuando maduran, pared gruesa. **Retículo** muy grueso y abierto. **Asca** globosa a subglobosa, pared delgada hialina de 2-5 µm de grosor.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México y Michoacán, gregario a solitario, en bosques de *Quercus* y bosque mixto. Julio-Septiembre.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO: Km 7.3 carretera Temascaltepec-Valle de Bravo, Temascaltepec, 8 de julio de 2009, 26218 (MEXU); MICHOACÁN: El Jaral, Zinapécuaro, 4 de septiembre de 2008, 25995 (MEXU).

Código de barras: La búsqueda de BLAST arrojó que nuestra secuencia se parece en un 99.7% de identidad a *Tuber* sp. dichos resultados no son informativos a nivel específico pero gracias a la revisión taxonómica, se pudo determinar que nuestra especie es *T. maculatum*.

Discusión: Nuestra descripción concuerda con la hecha por Cázares et al. (1992), su registro fue el primero para Norteamérica, nuestras recolectas amplían el conocimiento de la distribución de ésta especie para dos estados más dentro de la república mexicana.

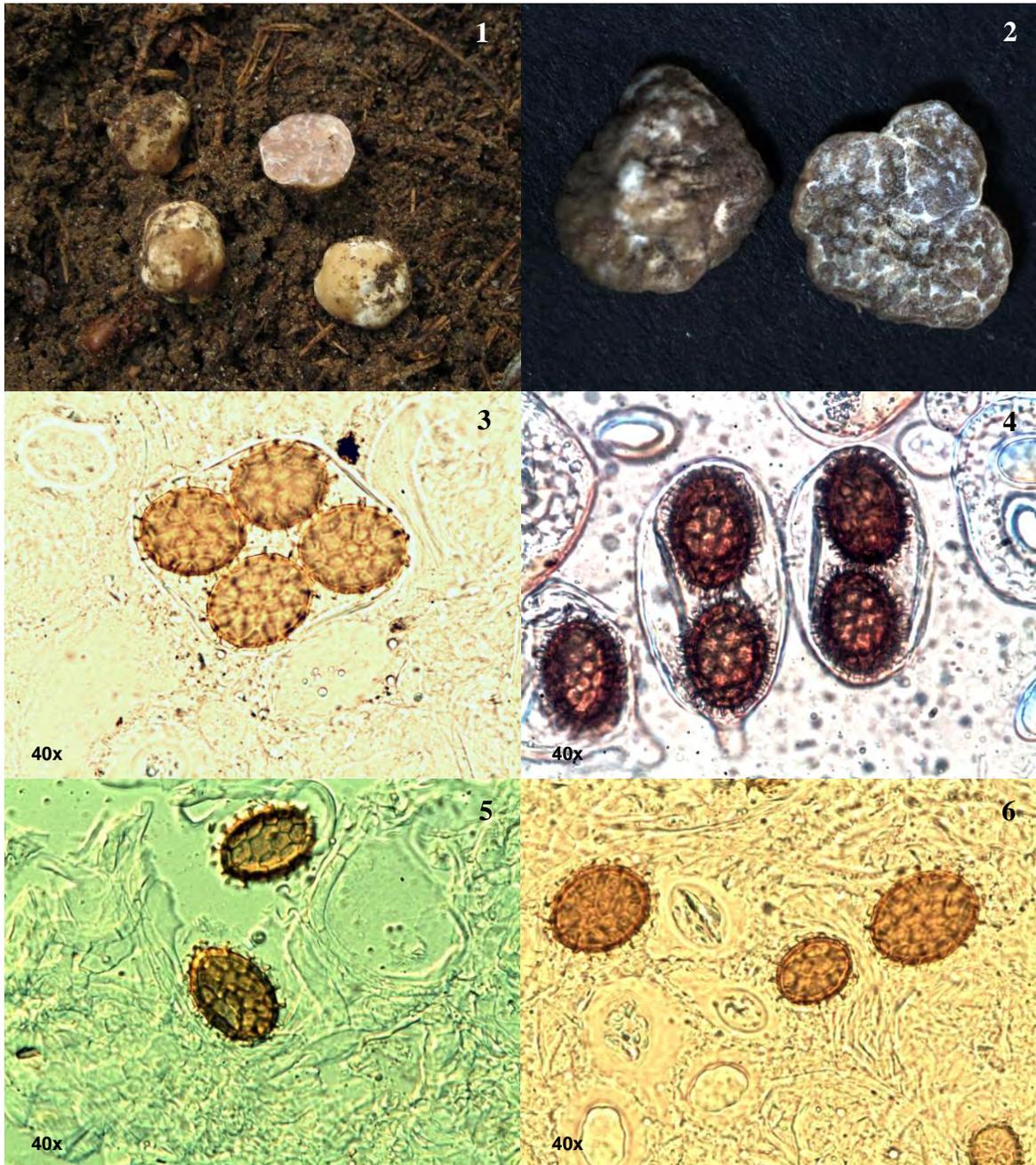


Figura 13. Características macro y microscópicas de *Tuber maculatum*. 1. Esporomas, 2. Gleba, 3 y 4. Esporas en ascas, 5. Retículo de la espora, 6. Espinas de las esporas.

Descripción: **Basidioma** 6 x 12 mm, subgloboso. Irregularmente convexo a depresso, margen convoluto. Superficie glabra, opaca, la cutícula se desprende fácilmente hasta el centro. Peridio color amarillo (4A4) con tonos rosa seco (9B4, 9C5, 10A4). **Gleba** amarillo ocre (4B5), sublaminada, láminas corrugadas y fusionadas en algunas partes. Estípite presente, blanco-crema (4A2). **Columela** ausente. Olor y sabor no registrados. Látex ausente. **Peridiopellis** de dos capas, **suprapellis** delgada, algunas veces sin formar una capa continua compuesta por hifas hialinas, enmarañadas, 2-3 µm de diámetro, septadas, pared ligeramente gruesa, a veces con incrustaciones de material hialino amorfo en torno a los segmentos terminales, macrocistidios ausentes; **subpellis** pseudoparenquimatosa, compuesta por hifas globosas, hialinas, sin contenido, 12-15 µm en diámetro, de pared delgada, macrocistidios ausentes. **Contexto del peridio** 350-450 µm de grosor, de hifas entretrejidas, hialinas, 2-3.5 µm en diámetro, con esferocistos 20-30 µm en diámetro, en nidos, dispersos. Endocistidios ausentes. **Estipitelis** delgada; hifas 2-3.5 µm, hialinas, entretrejidas, de pared delgada; **contexto del estípite** heterómero, compuesto por hifas filamentosas de 2-3.5 µm, mezcladas con hifas infladas, anidadas, 15-25 µm; macrocistidios ausentes. **Trama** 10-15 µm de grosor, de hifas hialinas, entretrejidas, de 3-5 µm de diámetro, esferocistos ausentes. Hifas laticíferas y fíbulas ausentes en todos los tejidos. Basidios 30-35 x 8-10 µm, clavados, con 2 y 4 esterigmas 3 x 2 µm. **Cistidios** 50-70 x 15-25 µm, hialinos, piriformes a clavados, de pared delgada, muy abundantes. **Esporas** 7.5-9.5 µm, excluyendo la ornamentación, subglobosas, hialinas. Ornamentación amiloide, de verrugas irregulares, aisladas o conectadas, formando un retículo parcial, de hasta 0.8 µm de altitud. Apéndice hilar de 1-2 x 1-1.5 µm.

Distribución, hábitat y estación: Tlaxcala, gregario, en bosque mixto (*Pinus*, *Quercus*, *Juniperus*, *Opuntia*, *Prosopis*). Septiembre.

Recolectas examinadas: TLAXCALA: carretera Amozoc-Perote, El Carmen Tequexquitla, 2 de septiembre de 2010, 26260(MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST nuestra secuencia es 98% similar a *Russula roseipes*, especie de hábito epigeo, la cual pertenece al subgénero *Incrustatula*. Al comparar nuestra secuencia contra la base de datos de *GenBank*, los datos moleculares para esta familia Russulaceae, solo nos permiten tener una aproximación a nivel subgenérico, quizá porque no hay suficientes datos de hongos hipogeos para esta familia. Además, parece que para este género la variación genética entre especies es menor al 3%.

Discusión: *C. pineti* se caracteriza por el color rojo a rojo rosado del peridio, combinado con una gleba amarilla, sublaminaada y un basidioma estipitado. La combinación de caracteres microscópicos de esporas elípticas, parcialmente reticuladas, basidios bispóricos y la presencia de cistidios en el himenio y las hifas incrustadas en la superficie del píleo distinguen a esta especie. Además, la asociación con pino o bosque mixto en el Eje Transversal Mexicano, el cual es un carácter ecológico distintivo. Esta especie representa el único registro para el género en México.

Kong et al. (2008) proponen la sinonimización entre *Cystangium pineti* y *Macowanites mexicanus*. La primera fue descrita por Singer (1985) de una colección de la región de Cofre de Perote, Veracruz, mientras que la segunda fue descrita por Guzmán (1988) basada en material recolectado de la misma región. Guzmán (1988) señala que *C. pineti* difiere mayormente de *M. mexicanus* en el tamaño de la espora y los macrocistidios himeniales. Sin embargo Kong et al. (2008) compararon el tamaño de las esporas de ambas recolectas tipo, así como de colecciones de Tlaxcala, concluyendo que las diferencias de tamaño no exceden 0.5 μm . Adicionalmente, todas las colecciones tienen mayormente basidios bispóricos. La razón por la cual Guzmán (1988) no identificó su recolecta como *C. pineti*, fue debido al tamaño ligeramente más grande de las esporas y al hecho de basar su descripción del pileipellis sólo en la suprapellis, ignorando la subpellis pseudoparenquimatosa, por ello, lo colocó en el género *Macowanites*. Basándose en la examinación de los tipos, Kong et al. (2008) concluyen que *M. mexicanus* y *C. pineti* son una misma especie.

La evidencia molecular indica que los géneros gasteromicetados de Russulaceae pertenecen a clados polifiléticos y comprenden también taxones agaricoides (Miller et al., 2001; Eberhardt y Verbeken, 2004; Lebel y Tonkin, 2007). Basándose en las similitudes morfológicas de la suprapellis del píleo, Kong et al. (2008) proponen que *C. pineti* pertenece a *Russula* subgénero *Incrustatula* (Sarnari 1998).

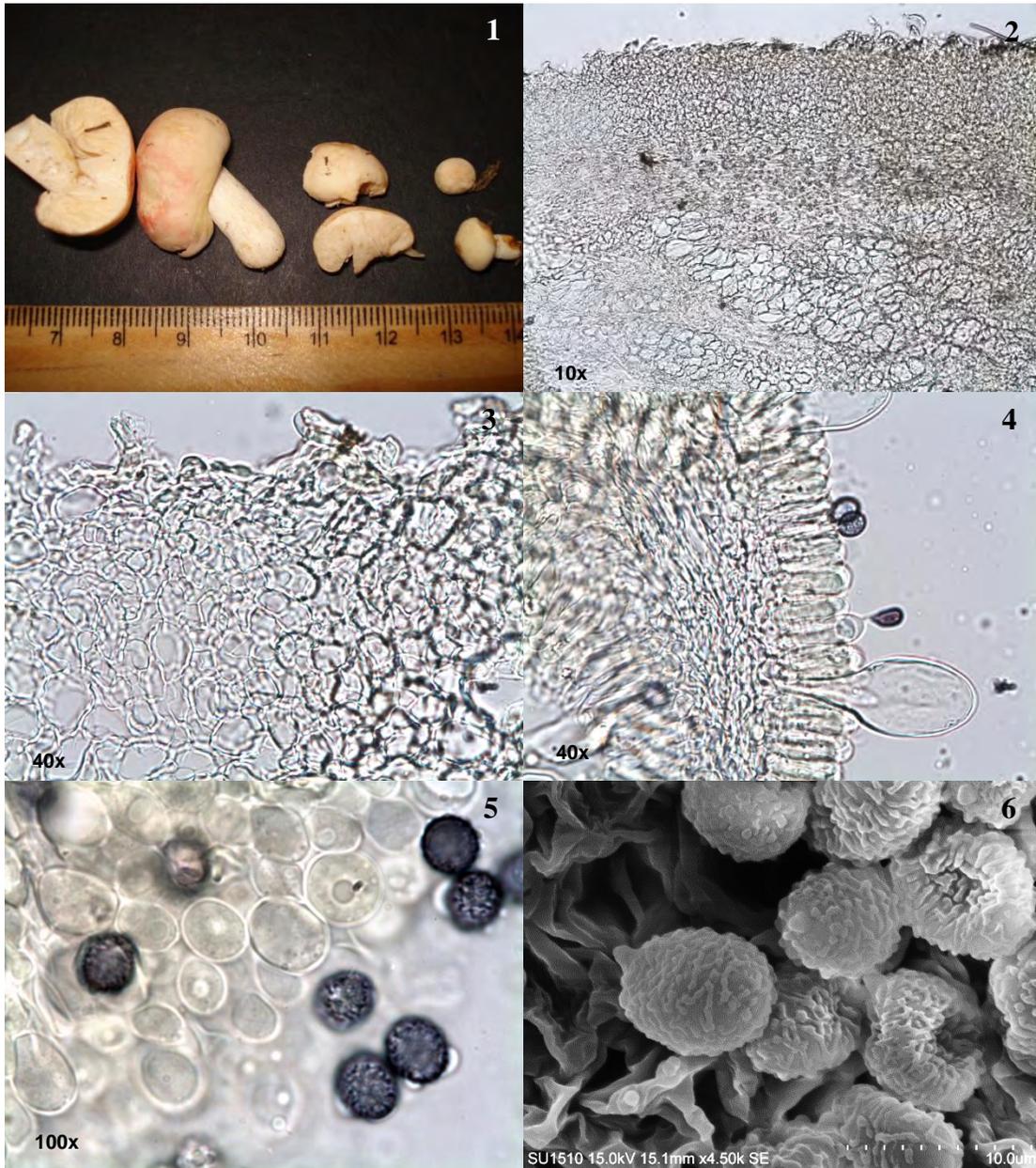


Figura 14. Características macro y microscópicas de *Cystangium pineti*. 1. Esporoma fresco, 2. Estructura del Peridio y contexto del peridio, 3. Peridiopellis, 4. Elementos del himenio, basidios, cistidios y esporas, 5. Esporas en microscopio de luz, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidioma** irregularmente subgloboso, 14 x 11 mm, irregularmente lobuado, base con depresión en el punto de unión del rizomorfo, rizomorfo simple, en forma de cable, blanco. **Peridio** ausente. **Himenóforo** loculado, trama gris translúcida, empalizada de excistidios. Excistidios hialinos, capitados a piriformes, 20-30 μm de ancho. **Himenóforo** café claro a canela oscuro (6D6-7D8), cartilaginoso, duro al secar, algo quebradizo al seccionarlo. **Lóculos** irregulares redondos a laberintiformes, 1-2 x 0.5-1.2 mm de ancho. **Columela** basal, blanquecina a translúcida oscura, ramificándose desde la base e indistinguible hasta la trama. **Trama** 250-300 μm de grosor, blanca a café translúcida, estrato medio de hifas entrecruzadas, 2-4 μm de ancho con paredes hialinas refractivas, gelatinizada con el tiempo. **Basidios** clavados, pared delgada y a menudo colapsados, 35-45 x 7-10 μm . Elementos cistidioides no observados. Olor frutal cuando joven, desagradable cuando madura. **Esporas** angostamente elipsoides a obovoides, 12.5-15 x 5.5-8 μm excluyendo la ornamentación, $Q = 1.7-2.3$ μm , amarillas claro individualmente, ocre en masa, amarillas claro individualmente, doradas a ocráceas en masa, vacuola central indistinta, pared de ± 1 μm de grosor, refractiva, ápice obtuso a truncado, bilobulada en vista frontal; pedicelo 1.5-2.5 μm de largo, angostamente cónico, parcialmente expuesto debajo del collar o costillas. **Exoespora** ornamentada de 8-10 costillas débilmente o fuertemente paralelas con jorobas, costillas 1-2 μm de ancho, excediendo el ápice por 1-2 μm .

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, solitario, en bosque de *Pinus* y *Alnus*. Agosto.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO: Nevado de Toluca, Coatepec de Harinas, 24 de agosto de 2009, 26540 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, resultó que nuestra secuencia es 93.4% idéntica a *Gautieria* sp. y 93.2% idéntica a *G. monticola*. En la base de

datos existen 19 secuencias provenientes de ejemplares de herbario, las secuencias mencionadas fueron las más similares a nuestro código de barras. Ambas secuencia provienen del herbario de Oregon State (OSC), publicadas por Bidartondo y Bruns (2002). Gracias a los datos morfológicos pudimos determinar su identidad.

Discusión: *G. angustispora* es muy parecida a *G. monticola*, las diferencia el ancho de las esporas, siendo menor en la primera, y el tamaño de las cámaras en la gleba, siendo más pequeños en la segunda. Primer registro para México.

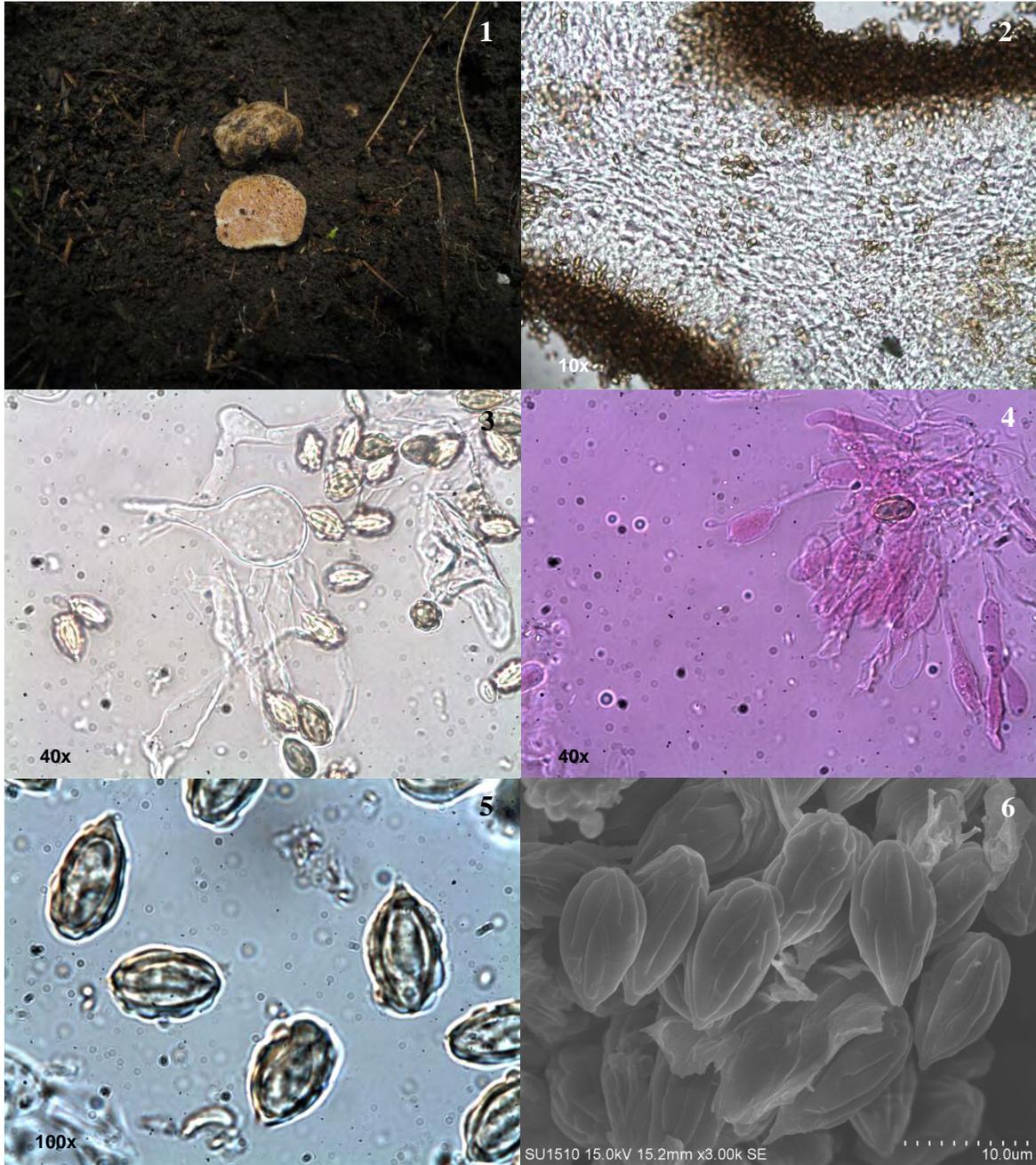


Figura 15. Características macro y microscópicas de *Gautieria angustispora*. 1. Esporoma, 2. Trama, 3. Cistidios, 4. Basidios, 5. Esporas en microscopio de luz, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidioma** seco 28 x 16 mm. subgloboso a cerebriforme, irregularmente lobulado con grietas profundas, plano a deprimido en la base, rizomorfos en la base. **Peridio** ausente. **Himenóforo** café amarillento (5D5-5C5), superficie exterior rugosa café verde olivo (6E5), con tonos en amarillo mostaza claro (5B4) y crema (5C4), retiforme, con parches de lóculos expuestos entremezclados con la trama membranosa, textura interior cartilaginosa, firme, dura al secar. **Lóculos** pequeños, 0.5-1 x 0.5 x 1, redondos a laberintiformes, más grandes en la superficie exterior, colapsados cuando secos. **Columela** basal, no prominente. **Trama** 150-300 µm de ancho, blanquecina, tornándose café y gelatinizándose con el tiempo. Hifas entretrejidas 2-3 µm de diámetro. **Basidios** cilindro-clavados, pared delgada, colapsados al madurar, 25-35 x 5-8 µm, cuatro esporas. Elementos cistidios no distintivos. Sin olor cuando joven, ofensivo al madurar. **Esporas** elipsoides a elipsoides estrechas, 11-14 x 5.6-6.4 µm excluyendo la ornamentación, Q = 1.9-2.3, hialinas individualmente, naranja pálido en masa; paredes ± 1 µm ancho, pedicelo 1.5-2 µm largo. **Exoespora** de 8-10 costillas ligeramente a moderadamente jorobadas, 1-1.5 µm de ancho, excediendo el ápice ligeramente.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, solitario, en bosque de *Pinus* y *Abies*. Agosto.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO: Nevado de Toluca, Coatepec de Harinas, 24 de agosto de 2009, 26450, 26451 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, nuestra secuencia es similar en un 98.1-98.3% a *G. monticola*. Las secuencias similares provienen de la publicación de Bidartondo y Bruns (2002). Con la información de la secuencias, se logra complementar la determinación obtenida a través de los datos morfológicos.

Discusión: Ver discusión de *G. angustispora*. Uribe-Arróyave (1998), la reporta por primera vez para México en el estado de Tlaxcala, este es el segundo registro para el país y el primero para el Estado de México.



Figura 16. Características macro y microscópicas de *Gautieria monticola*. 1. Esporoma, 2. Células del peridio, 3. Trama, 4, 5 y 6. Esporas en microscopio de luz.

Descripción: **Basidioma** 12 x 12 mm, globoso. **Peridio** compacto, fácil de desprender de la gleba, liso, crema amarillo (3A2) con zonas naranja brillante (6A6) y salmón (5A4), sin cambios al lastimarlo. **Gleba** lacunosa, lóculos 0.5-1 mm de diámetro, color crema (3 A2), sin **columela** presente. **Peridio** 100-160 μm de grosor, compuesto por hifas hialinas, anastomosadas, algo aglutinadas, 3-4.5 μm en diámetro, con algunas células laticíferas, 5-6 μm en diámetro, algo sinuosas. Endocistidios ausentes. **Estipitelis** ausente. **Trama** 25-30 μm de grosor, hifas subparalelas, anastomosadas, hialinas en KOH, amarillas en reactivo de Melzer, 3-4.5 μm en diámetro. **Subhimenio** de dos capas de células globosas, 5-10 μm de diámetro. **Basidios** cilíndricos a clavados 35-40 x 10-12.5 μm con dos esterigmas cónicos, 3-5 x 2 μm . **Cistidios** dimórficos, los más abundantes, 30-35 x 12-15 μm , clavados a piriformes, algunas ocasiones sobresalen del himenio, los escasos, 22-25 x 7-8 μm , con contenido granular o aceitoso, dorados en reactivo de Melzer, nunca sobresalen de himenio. **Esporas** globosas 9-11 μm excluyendo la ornamentación, en KOH amarillas oro individualmente y en masa, pared delgada, < 1 μm de grosor, fuertemente ornamentadas con espinas toscas, algunas, ligeramente curvas, de hasta 2 μm de longitud; en reactivo de Melzer, la pared de la espora es café ahumada, las espinas son fuertemente amiloides, el apéndice hilar debe ser más pequeño que las espinas, ya que no se logró observar. Olor a cáscara de limón, sabor no registrado.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, solitario, en bosque de *Pinus hartwegii*. Septiembre.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO: Volcán Popocatepetl, Atlautla, 5 de septiembre de 2009, 26457 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, los resultados obtenidos fueron, 99.5-100% de similitud, ambas especies pertenecen a *G. fallax*. Si se aplica el criterio de variación genética de <3%, sin tomar en cuenta la información morfológica, la cual es prioritaria para el presente trabajo, determinaríamos la colecta como *G. fallax*, sin embargo, al comparar los datos morfológicos, no

concuerdan totalmente, es decir, hay un conflicto entre los datos morfológicos y los datos moleculares. Se tomará la postura de darle más peso a los datos morfológicos, ya que es clara la diferencia de ornamentaciones.

Discusión: Esta recolecta de *Gymnomyces* pertenece al subgénero *Ingratula*. Las especies dentro de este subgénero se caracterizan por tener un olor frecuentemente desagradable. Esporas blancas o cremas. Dermatocistidios presentes, pero a menudo inconspicuos, en esta recolecta en particular, en el peridiopellis no se observaron dermatocistidios. Como se mencionó anteriormente, esta especie es parecida a *G. fallax*, sin embargo, se tratan de dos especies distintas. Esta especie se parece a *G. fallax*, la cual se caracteriza por esporas subglobosas a globosas, un apéndice hilar agudo y prominente 2-3 μm , ornamentación en forma de verrugas y espinas 0.5-0.8 μm de alto y casi de ancho. Sin embargo esta recolecta difiere especialmente en la ornamentación de las esporas, ya que tiene espinas cónicas muy largas en comparación con las verrugas de *G. fallax*, y las esporas son siempre globosas. Singer y Smith (1960) reportan a *G. fallax* asociada a *Quercus agrifolia*, mientras que nuestra recolecta se encontró asociada a *P. hartwegii*. No se han reportado especies de *Gymnomyces* para México, primer registro para el país.

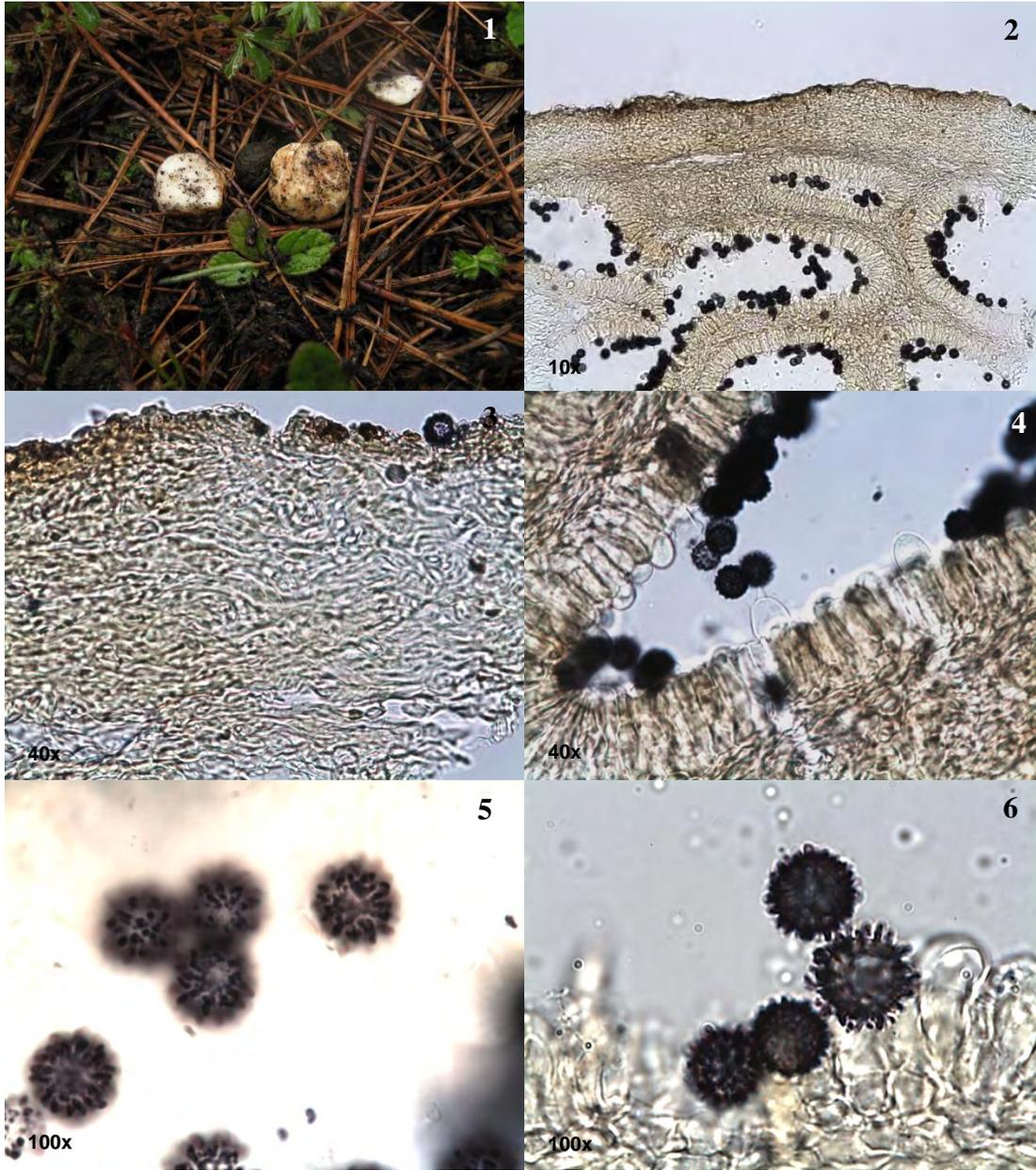


Figura 17. Características macro y microscópicas *Gymnomyces* sp. 1. 1. Esporoma fresco, 2. Corte longitudinal de peridio y trama, 3. Estructura del peridio, 4. Elementos del himenio, basidios, cistidios y esporas, 5 y 6. Esporas en microscopio de luz.

Descripción: **Basidioma** 7-16 x 6-12 mm, globoso a subgloboso o irregular. **Peridio** compacto, fácil de desprender de la gleba, liso, blanco cuando joven, tornándose crema amarillo (4A4) a crema salmón (5A3) con tonos más oscuros naranja-café (6D5). **Gleba** lacunosa, lóculos 0.5-1 mm de diámetro, color naranja claro (4A5-4A7) a amarillo mostaza brillante (5A5) por la masa de esporas que recubren los lóculos, sin columela presente. Peridio 60-165 μm de grosor. **Peridiopellis** de hifas hialinas, entretrejidas, septadas, de 3-4.5 μm en diámetro, de pared delgada. **Trama** 30-45 μm de grosor, hifas subparalelas, hialinas en KOH, amarillas en reactivo de Melzer, 3-4.5 μm en diámetro, ocasionalmente algunas células infladas de 10-15 μm de ancho. **Subhimenio** de dos capas de células 5-20 μm de diámetro. **Basidios** cilíndricos a clavados 25-34 x 12-15 μm con 2 a 4 esterigmas cónicos, 3-6.5 x 3-3.5 μm . **Cistidios** ausentes. **Esporas** globosas 11.5-14.5 μm excluyendo la ornamentación, en KOH amarillas oro individualmente y en masa, pared delgada < 1 μm de grosor, ornamentadas con espinas finas, de hasta 2 μm de longitud; en reactivo de Melzer la pared de la espора es café ahumada, las espinas son fuertemente amiloides, apéndice hilar débilmente amiloide. Las esporas bajo el microscopio electrónico tienen un aspecto coraloide, se logran observar las espinas, que en algunas ocasiones se encuentran unidas en el ápice. Olor y sabor no registrado.

Distribución, hábitat y estación: Morelos, Tlaxcala, solitario, en bosques de *Pinus teocote*, *P. patula* y *P. montezumae*. Agosto-Septiembre.

Recolectas examinadas: MORELOS: Volcán pelado, Huitzilac, 18 de septiembre de 2010, 26266 (MEXU); TLAXCALA: Volcán La Malinche, San Francisco Tetlanohcan, 28 de agosto de 2010, 26509 (MEXU).

Código de barras: Los resultados muestran, que nuestra especie es muy parecida a *G. xerophilus* (97.2-97.3% de identidad), sin embargo, difieren en aspectos morfológicos y ecológicos importantes para definir una especie, los cuales se mencionarán en la discusión.

Discusión: Esta especie es cercana a *G. xerophilus* la cual se caracteriza por su asociación ectomicorrízica con *Quercus*, gleba amarilla naranja, carente de cistidios y tricodermos, y esporas globosas a subglobosas 11-13 μm en diámetro con una reacción amiloide parcial o completa. Aunque esta especie tiene gleba naranja amarilla, sin cistidios, las esporas son globosas y la ornamentación no es reticulada, es fuertemente equinulada. Primer registro para México.

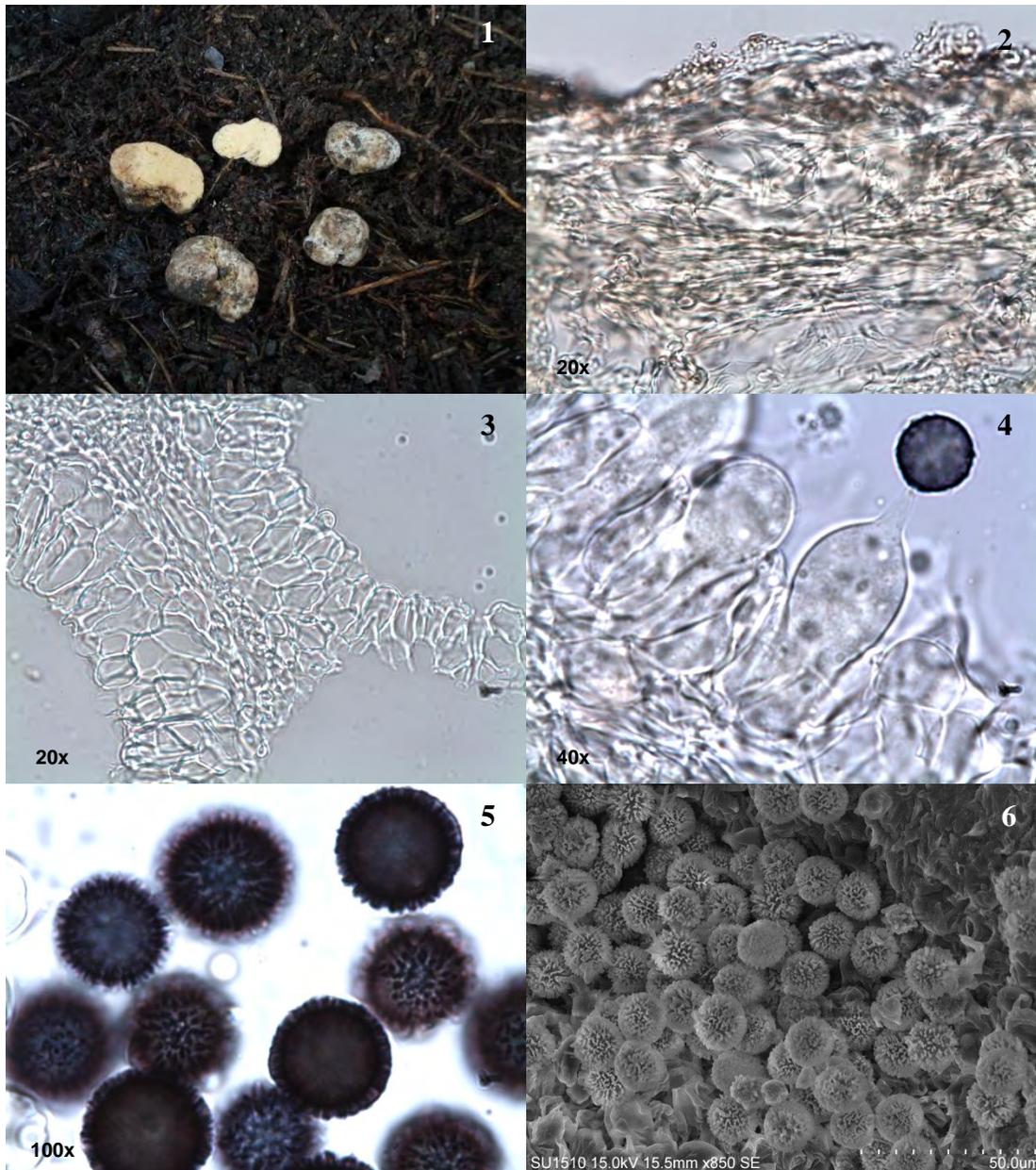


Figura 18. Características macro y microscópicas *Gymnomyces* sp. 2. 1. Esporomas frescos, 2. Estructura del peridio, 3. Estructura de la trama, 4. Basidio y espora, 5. Esporas en el microscopio de luz, 6. Esporas en MEB.

BASIDIOMYCOTA — *Hysterangium coriaceum* R. Hesse,
Hypog. Deutschl. 1: 101 (1891) Figura 19

Descripción: **Basidioma** 11-15 x 7-12 mm de diámetro, subgloboso a irregular, blanco cuando fresco, café-rosado (8D3-9D3-12C3) cuando se maltrata, al corte se mancha de rojo-vináceo (12C3), superficie glabra, KOH naranja-amarillento (5A3). **Gleba** cartilaginosa, verde agua (27C3) en ejemplares jóvenes y café-verdosa (6F3) a verde oliva oscuro (28F3) en ejemplares maduros, lóculos redondeados a elongados, vacíos; rizomorfos individuales o numerosos, gruesos, adheridos a la base, concolor con el peridio. **Columela** gelatinosa, dendroide, gris-azulosa (23C2) a traslúcida. Olor inapreciable. Sabor ácido. **Peridio** fácilmente separable de la gleba, 260-650 (-800) μm de grosor, dos capas; epicutis 330-600 μm de grosor, células globosas, pseudoparenquimatosas, hialinas, 10-25 (-60) μm en diámetro, fíbulas ausentes; subcutis 30-60 μm de grosor, compuesta de hifas entretrejidas, hialinas, gelatinizadas, 3-5 μm en diámetro. **Trama** 80-450 μm de grosor, de hifas entretrejidas, en una matriz gelatinosa. Basidios hialinos, elongados, 35-55 x 5-8 μm , 4 esporas. **Esporas** lisas, 12-15 x 4-5 μm , elipsoides a elongadas; ápice acuminado. Pared de la espора menos de 0.5 μm de grosor. **Utrículo** ligero al principio, evidente al madurar, verrucoso, adherido irregularmente a la pared de la espора, inflado principalmente en la base, ± 1 μm de grosor. Color de la espора en KOH hialina a ligeramente verde claro, verde claro en masa.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, Tlaxcala, gregario, Bosque de *Pinus* y *Quercus-Pinus*. Agosto-October.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO, volcán Nevado de Toluca, Toluca, 24 de agosto de 2009, 26454 (MEXU); TLAXCALA, volcán La Malinche, Huamantla, 20 de octubre de 2009, 26503 (MEXU); volcán La Malinche, San Francisco Tetlanohcan, 28 de agosto de 2010, 2611, 26507 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, los resultados muestran a *H. crassirhachis* (95.3-95.8% de identidad) e *H. separabile* (95%), ambas con un porcentaje de divergencia mayor al convencional (3%). Gracias a la información morfológica se logró determinar esta especie.

Discusión: Es la especie más común y ampliamente distribuida de *Hysterangium* recolectada en la zona del eje. El grosor del peridio, la epicutis pseudoparenquimatosa y subcutis de hifas entretrejidas y las esporas lisas, con un utrículo verrucoso, elipsoides, de 12-15 x 4-5 μm definen a esta especie. Es el primer registro para México. Castellano (1988) menciona que *Hysterangium separabile*, reportada para México por Trappe y Guzmán (1971) es en realidad *H. coriaceum*. Primer registro para México.



Figura 19. Características macro y microscópicas de *Hysterangium coriaceum*. 1. Esporoma, 2. Cámaras de la gleba, 3. Estructura del peridio, 4. Utrículo de las esporas, 5. Superficie del al utrículo, 6. Esporas en MEB.

BASIDIOMYCOTA — *Hysterangium velatisporum*
Castellano, Cázares & Guevara, in Guevara Guerrero,
Castellano, García Jiménez, Cázares González &
Trappe, Revta Mex. Micol. 28: 99 (2008) Figura 20

Descripción: **Basidioma** de hasta 16 mm de diámetro, globoso a subgloboso, blanco cuando fresco, café-rosa claro (6B3), a rosa viejo (11B3) al maltrato, café claro (6D4) cuando seco. KOH en el peridio café-naranja-ocre (5D4-5D8), FeSO₄ negativa. **Gleba** verde olivo-grisácea (2E2) a verde militar oscura (29F3), lóculos pequeños e irregulares, vacíos, consistencia viscosa. **Rizomorfo** simple, pequeño, blanco cuando fresco, café claro (6D4) cuando seco. **Columela** dendroide, blanca y translúcida. Olor ligeramente ácido. Sabor no registrado. **Peridio** 190-500 µm de grosor, dos capas; **epicutis** 145-270 µm de grosor, de células parenquimatosas, hialinas, de pared delgada, 7-40 µm en diámetro, fíbulas ausentes; **subcutis** 40 µm de grosor, de hifas entretrejidas, hialinas, de pared delgada, 2-3 µm en diámetro, fíbulas ausentes. **Trama** 70-265 µm, de hifas entretrejidas, hialinas, gelatinizadas, 3-6 µm en diámetro, fíbulas ausentes. **Subhimenio** celular. **Basidios** hialinos, 35-55 x 8-11 µm, 4 esporas por basidio. **Esporas**, ligeramente verrucosas, 15.5-17.5 x 4.5-5.5 µm, elipsoides; ápice obtuso a ligeramente acuminado, base truncada, pedicelada; pared de la espora menor que 0.5 µm de grosor; **utrículo** adpreso, rugoso, de hasta 1 µm de grosor; en KOH ligeramente olivo claro, olivo en masa.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, Puebla, gregario, bosque de *Pinus hartwegii*, *Pinus*, *Pinus-Alnus*. Agosto-Septiembre.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO, volcán Nevado de Toluca, Coatepec de Harinas, 24 de agosto de 2009, 26168 (MEXU); volcán Popocatepetl, Atlautla, 5 de septiembre de 2009, 26459 (MEXU); PUEBLA, volcán La Malinche, Huamantla, 29 de agosto de 2010, 26527 (MEXU).

Código de barras: Los resultados de BLAST muestran que la secuencia más parecida a la nuestra es *Hysterangium cf. separabile* con un 93.4%, valor fuera del límite de especies. Con base en datos morfológicos y ecológicos se logró determinar esta especie.

Discusión: Guevara et al. (2008a) mencionan que la combinación del peridio delgado (190-500 μm de grosor), una capa exterior con células infladas de hasta 40 μm en diámetro, una subcutis delgada (40 μm de grosor) de hifas entretrejidas, y esporas grandes (15.5-17.5 x 4.5-5.5 μm) separan a esta especie de todas las otras especies de *Hysterangium*. Esta especie fue reportada por primera vez para los estados de Coahuila, Querétaro y Tamaulipas, con nuestras recolectas, se amplía el conocimiento de la distribución para dos estados más de la República Mexicana.

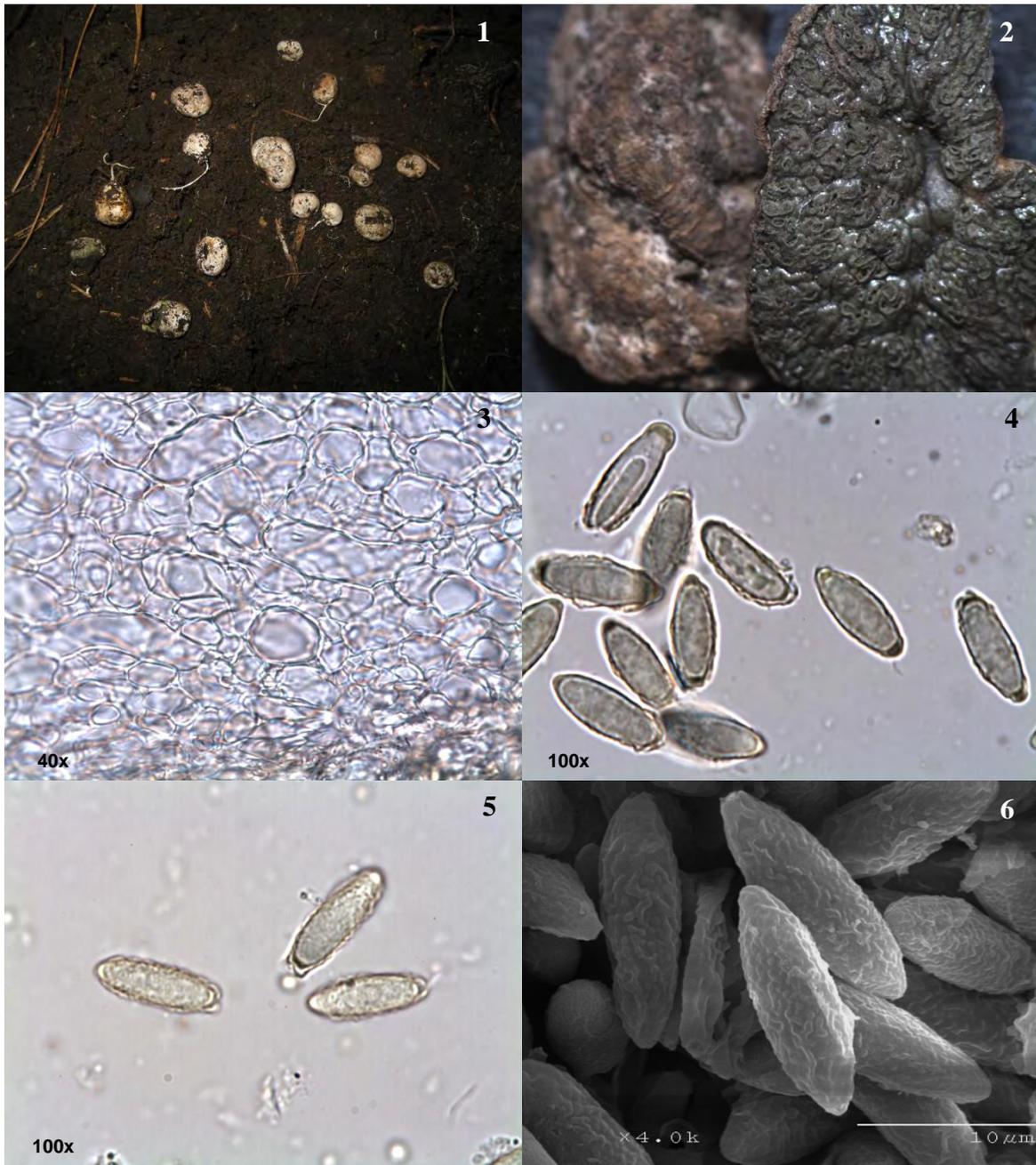


Figura 20. Características macro y microscópicas de *Hysterangium velatisporum*. 1. Esporomas, 2. Cámaras de la gleba, 3. Estructura del peridio, 4. Esporas, 5. Superficie de la utrículo de las esporas, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidioma** 10 mm, subgloboso, lobulado, blanco cuando fresco, al maltratarlo se mancha de rosa-magenta claro (12D3-12C3-12D4), superficie fibrilosa. Reacción del **peridio** con KOH, no registrada. **Gleba** verde-azulosa (28F3), cámaras alargadas, vacías. **Rizomorfos** prominentes, individuales o dobles adheridos a la base. **Columela** gelatinosa, dendroide, traslúcida. Olor no registrado, sabor no registrado. **Peridio** 330-500 μm de grosor, dos capas; **epicutis** 220-350 μm de grosor, compuesta por células globosas sin contenido, café-dorado (5C4) las más externas y el resto hialinas, de pared delgada, de 12-30 μm en diámetro; **subcutis**, 90-150 μm de grosor, de hifas entretrejidas a paralelas, compactas, hialinas, de pared delgada, café claro, de pared delgada, 2-4 μm en diámetro, los extremos están delimitados por hifas cafés-doradas (5C4), del mismo tamaño. **Trama** 140-250 μm de grosor, formada por hifas hialinas, entretrejidas, gelatinizadas, 1.5-2.5 μm en diámetro. **Basidios** hialinos, alargados, 45-60 x 5-9 μm , 4 esporas por basidio. **Esporas** ligeramente verrucosas 12-13.5 x 3.5-5 μm , fusiformes; ápice acuminado. Pared de la espora menor de 0.5 μm de grosor. **Utrículo** distintivo, rugoso, usualmente adherido a la pared de la espora, algunas veces con elevaciones en la parte basal de la espora. Color de la espora en KOH, hialina a ligeramente verde claro (1B2), olivo en masa (1D3).

Distribución, hábitat y estación: Puebla, gregario, bosque de *Pinus-Alnus*. Junio.

Recolectas examinadas: PUEBLA, La Malinche *Alnus* 2, 30 de junio de 2010, 26550 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, los resultados arrojan dos especies, *H. crassirhachis* e *Hysterangium* sp. con 95.4 y 94.9% respectivamente, ambos con un porcentaje de divergencia mayor al convencional para considerarlo dentro de la misma especie.

Discusión: Se identificó esta especie con base en el concepto de especie de Castellano (comunicación personal). *Hysterangium separabile* se caracteriza por tener esporas grandes, fusoides, células pseudoparenquimatosas y subcutis gruesa de hifas entretrejidas. Nuestro material difiere en el tamaño de las esporas y

la estructura de la subcutis, la cual es más delgada, muy bien diferenciada. Otro aspecto importante es la asociación micorrízica, Castellano (1988) menciona que *H. separabile* parece estar restringido a *Quercus* spp. y posiblemente *Arbutus* spp. en el oeste de Estados Unidos. Nuestras recolectas son en bosque de *Pinus-Alnus*. También menciona que el único registro de *H. separabile* para México (Trappe y Guzmán, 1971) pudo haber sido identificada erróneamente y quizá sea *H. coriaceum*. Se requiere una revisión más detallada de ésta y las demás recolectas nombradas como *H. aff. separabile*, para poder tomar una decisión.



Figura 21. Características macro y microscópicas de *Hysterangium aff. separabile*. 1. Esporoma, 2. Cámaras de la gleba, 3. Estructura del peridio, 4. Trama, 5. Utrículo de la espore, 6. Superficie del utrículo.

Descripción: **Basidioma** ovoide en muy mal estado, no se pudieron realizar medidas debido al grado de deshidratación del ejemplar. Amarillo ocre claro (4B3) después naranja-café claro (7C6), al lastimarlo se torna, café-rosado (11D3-11D4) con tonos en café oscuro (7F7), café-oliva oscuro (8F3) cuando se seca. Superficie lisa con algunas protuberancias. **Gleba** verde-oliva oscuro (29F3), esponjosa, lóculos pequeños, vacíos. **Columela** pobremente desarrollada, más o menos truncada, penetrando menos de la mitad dentro de la gleba, gris traslúcida (1B1). Olor inapreciable. Sabor insípido. **Peridio** 240-330 μm de grosor, dos capas; **Epicutis** 200-320 μm de grosor, células globosas a irregulares, pseudoparenquimatosas, hialinas, de pared delgada, 3.5 -12 μm en diámetro; **subcutis**, 30-40 μm de grosor, compuesta por hifas entretrejidas, hialinas, de pared delgada, gelatinizadas, 1.5-3 μm en diámetro. **Trama** 70-150 μm de grosor, de hifas entretrejidas, hialinas, laxas a compactas, 1.5-3 μm en diámetro, en una matriz gelatinizada. **Basidios** hialinos, 35-55 x 6-9 μm , 4 esporas. **Esporas** 14-17 (-19) x 4-5 μm , elipsoides, fusoides, ápice obtuso, base truncada; pared menor a 0.5 μm de grosor; **utrículo** distintivo, rugoso, inflado de manera anormal, 1.5-2.5 μm de grosor; en KOH ligeramente amarillas, en masa amarillas doradas.

Distribución, hábitat y estación: Tlaxcala, solitario, Bosque de *Pinus cembroides*, suelo profundo, seco pero con humedad relativa en hojarasca 5cm. Septiembre.

Recolectas examinadas: TLAXCALA, carretera Amozoc-Perote, El Carmen Tequexquitla, 2 de septiembre de 2010, 26257 (MEXU).

Código de barras: La especie con mayor porcentaje de similitud fue *Hysterangium* cf. *separabile* (95.6%). Como se mencionó anteriormente, con base en la combinación de los caracteres morfológicos y los datos moleculares, concluimos que se trata una nueva especie.

Discusión: La estructura del peridio, epicutis pseudoparenquimatosas, subcutis delgada, compuesta por hifas entretrejidas, y el tamaño y utrículo muy particular, definen a esta nueva especie. Debido al estado del material, no se puede publicar como nueva especie.

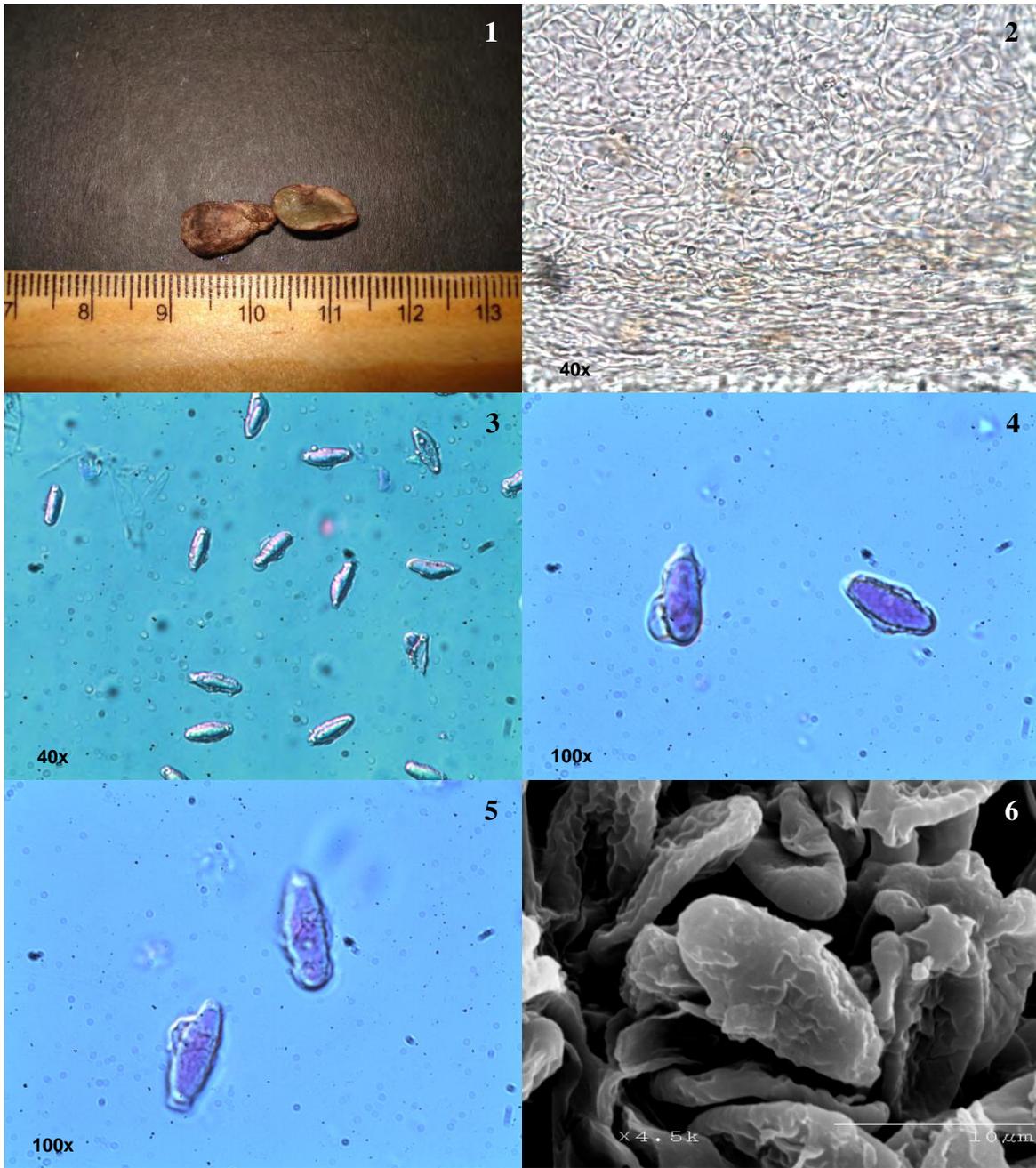


Figura 22. Características macro y microscópicas de *Hysterangium* sp. nov.
 1. 1. Esporoma, 2. Estructura del peridio, 3, 4 y 5. Esporas con utrículo amorfa,
 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidioma** de 7 x 5 mm, globoso a subgloboso, blanco cuando fresco, al maltratarse o manipularse se mancha de café-rosado (BM29-4). Gleba verde oliva (28E3) en ejemplares jóvenes, verde-oliva oscuro (28F2), cuando maduran, lóculos pequeños, vacíos. Rizomorfos agregados, unidos a la base del esporoma, blancos cuando frescos. **Columela** poco ramificada, más o menos truncada, penetrando menos de la mitad dentro de la gleba, gris traslúcida (1B1). Olor no registrado. Sabor no registrado. **Peridio** 300-340 μm de grosor, dos capas; **Epicutis** 240-300 μm de grosor, compuesta por células globosas sin contenido, hialinas, algunas pigmentadas cerca de la superficie de color café dorado, de pared delgada, 10-35 μm en diámetro; **subcutis** algo indistinta, 30-40 μm de grosor, compuesta por hifas entretrejidas, hialinas, compactas, septadas, 3-4 μm en diámetro. **Trama** 50-180 μm de grosor, de hifas entretrejidas, hialinas, laxas a compactas, gelatinizadas, 3-5 μm en diámetro, en una matriz gelatinizada; contiene hifas grandes, subparalelas, dispersas. **Basidios** hialinos, clavados, 30-40 x 7-8 μm , tetraspóricos. **Esporas** verrucosas 14-16 x 4-5 μm , fusiformes; ápice acuminado, base truncada, pared de ± 1 μm de grosor; **utrículo** distintivo, rugoso, usualmente de 1 μm de grosor pero puede ser de hasta 2 μm de grosor; en KOH ligeramente olivo claro, en masa olivo oscuro.

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, gregario, asociado a alfombra micelial, en bosque de *Quercus* dominado por *Q. rugosa*. Septiembre-Octubre.

Recolectas examinadas: MICHOCÁN, cerro el remolino, Morelia, 1 de octubre de 2011, 26848 (MEXU).

Discusión: Esta especie es cercana a *H. coriaceum*, sin embargo, difieren en el tamaño de las esporas, *H. coriaceum* posee esporas elipsoides más pequeñas (12-15 x 4-5), con una utrículo verrucoso, mientras que esta nueva especie posee espora más grandes (14-16 x 4-5), fusiformes, con una utrículo rugosa más gruesa.

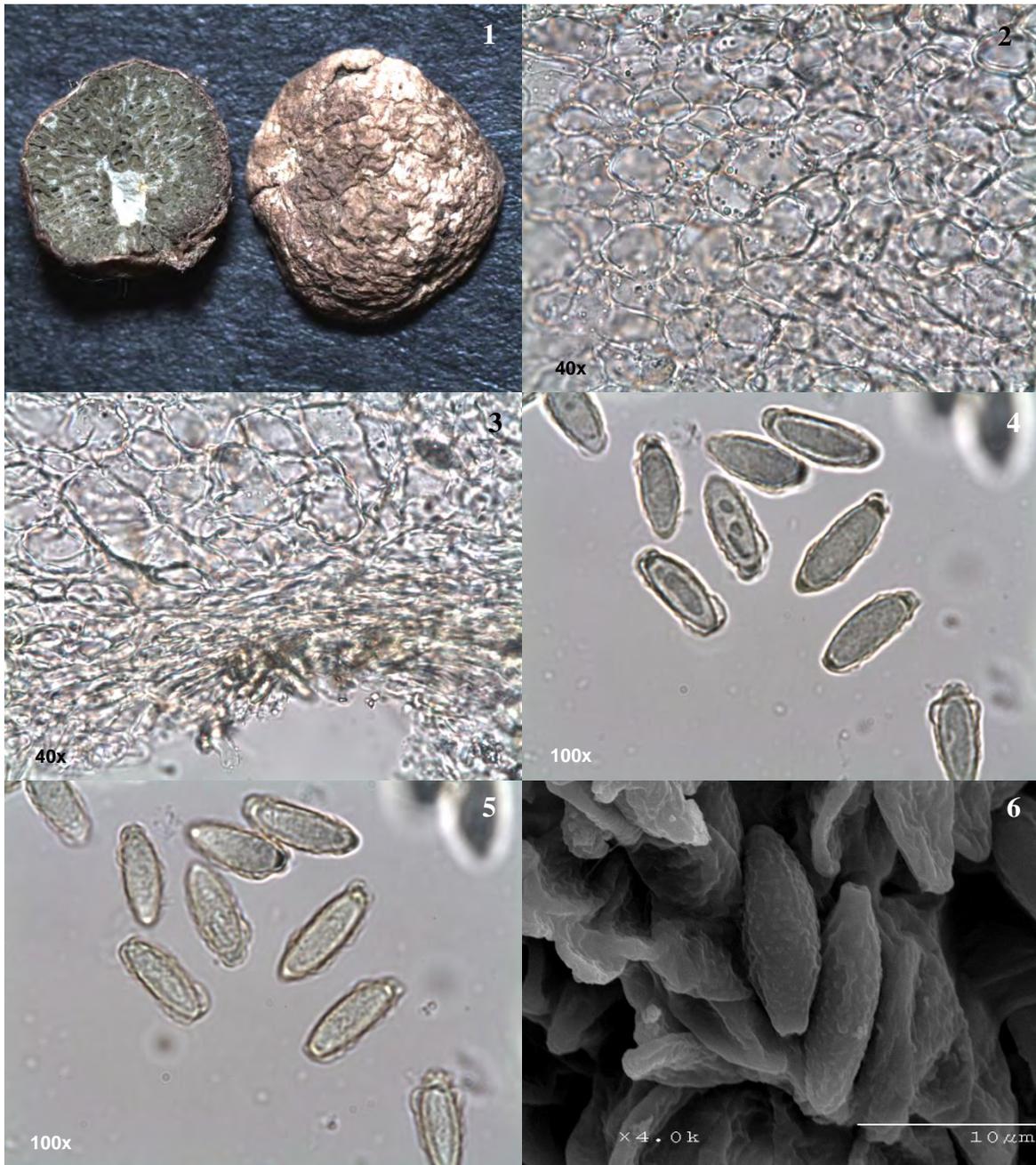


Figura 23. Características macro y microscópicas de *Hysterangium sp. nov.*
 2. 1. Esporoma, 2. Estructura de la epicutis, 3. Estructura de la subcutis, 4. Utrículo de las esporas, 5. Superficie de las esporas, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidioma** 6 x 4.5 mm, irregularmente convexo a plano, con un margen ondulado libre, exponiendo la gleba baja. **Superficie del peridio** café oscura (7F6-7F7) con tonos café verdosos (6E6), café medio terracota (7E8); textura no registrada en fresco, en ejemplares secos parece lisa. **Contexto** delgado, frágil, banco cremoso (3A2). **Gleba** color miel naranja (5B4), sublaminaada, fuertemente anastomosada a loculada-laberintiforme, lóculos angulares, vacíos. **Estípite** 6 x 1.5 mm, más o menos cilíndrico, glabro, concolor con la gleba. **Columela** precurrente, simple, concolor con el estípite. Olor y sabor no registrados. Látex no observado. **Peridiopellis** de dos capas, **suprapellis** delgada, compuesta por hifas hialinas, rastreras, muy gelatinizadas 2-7 μm en diámetro delineando una **subpellis** de hifas hialinas, entretejidas, anastomosadas, 2.5-4.5 μm de diámetro, **peridiopellis** compactada, parece una simple capa aglutinada de algunos elementos inflados. Contexto del peridio 110-180 μm de ancho, heterómero, mayormente de hifas hialinas entretejidas, ligeramente gelatinizadas, 2-3.5 μm en diámetro, esferocistos 10-40 μm en diámetro, en nidos y dispersos, hifas lactíferas sinuosas 6-9 μm en diámetro. **Estipitelis** una capa, 5-14 μm de grosor, compuesta por de hifas hialinas, entretejidas, gelatinizadas, 2-4 μm en diámetro. **Contexto** de estípite-columela heterómero, mayormente compuesto por hifas hialinas entretejidas, 2-3.5 μm en diámetro, columnas anidadas de esferocistos, 10-25 μm en diámetro, con hifas laticíferas entretejidas, sinuosas de 5-7.5 μm en diámetro. **Trama** 35-50 μm de ancho, compuestas por hifas hialinas, entretejidas, gelatinizadas, septadas, 2-3.5 μm de diámetro. Fíbulas ausentes en todos los tejidos. **Basidios** 45-55 x 10-12 μm , hialinos, cilíndricos a ventricosos, con 2 esterigmas, 4-7 μm de longitud, ligeramente curvos. **Cistidios** 60-65 x 10-12 μm , hialinos, proyectándose ligeramente por encima de los basidios, surgiendo de la trama, escasos. **Esporas** 7-8.5 x 6-8 μm , Q= 1.02-1.15, subglobosas a ampliamente ovoides, heterotrópicas, asimétricas, hialinas. Ornamentación fuertemente amiloide, de crestas concéntricas, interrumpidas y

anastomosadas, algunas veces radiales y otras aleatorias, de hasta 1.5 μm de altitud. Apéndice hilar hialino, excéntrico, cónico, 1.5-2 x 1.5 μm .

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, solitario, bosque mayoritariamente de *Quercus deserticola* (80%). Agosto.

Recolectas examinadas: MICHOACÁN: carretera Morelia-Atécuaro, Morelia, 23 de agosto de 2008, 25985 (MEXU).

Código de barras: La búsqueda de BLAST, en conjunto con la información morfológica, en el caso particular de la familia Russulaceae nos ayuda a conocer el subgénero al que pertenece nuestra especie. Nuestra especie resultó ser parecida a *L. fumosos* (98.1-98.5%), especie dentro del subgénero *Plithogali*. No podemos conocer la identidad de nuestra colección con este método, debido a la escasez de secuencias de *Lactarius* hipogeos en la base de datos.

Discusión: De acuerdo con la información obtenida al aplicar el algoritmo BLAST, y el trabajo morfológico, esta especie de *Lactarius* pertenece al subgénero *Plithogali*, el cual produce basidiomas de tamaño medio, moderadamente carnosos, aunque son reconocidos más o menos por un píleo velutinoso en condiciones secas, mayormente con tonos opacos en el píleo (cremas, grisáceos, marrones, negros, cafés) y los cuales son concolores con el estípite. La mayoría de las especies exhiben un descoloramiento rosado a rojizo del contexto o látex, pero también amarillo, lila, azul, café y decoloración de café a rojo o negro también son conocidas. Algunas especies no exhiben ningún tipo de descoloración. Las esporas son globosas a subglobosas, teniendo ornamentaciones altas en un retículo o patrón cebraide, usualmente con un valle amiloide distal. La estructura de la pileipellis es típicamente empalizada, que contiene pigmentación intracelular, de color marrón, aunque a veces puede ser tricoderma o tricopalizada. La presencia de dermatocistidios es rara en este subgénero.

En México el único reporte sobre un *Lactarius* secuestrado fue hecho por Calonge y Vidal (2005) quienes describen *Gastrolactarius denudatus*, un miembro de la familia Russulaceae secuestrado con el himenio expuesto y látex acuoso. García et al. (1998) reporta la presencia de *Gymnomyces*, *Macowanites*, y

Zelleromyces en el estado de Querétaro, pero sin ninguna precisión sobre las especies involucradas.

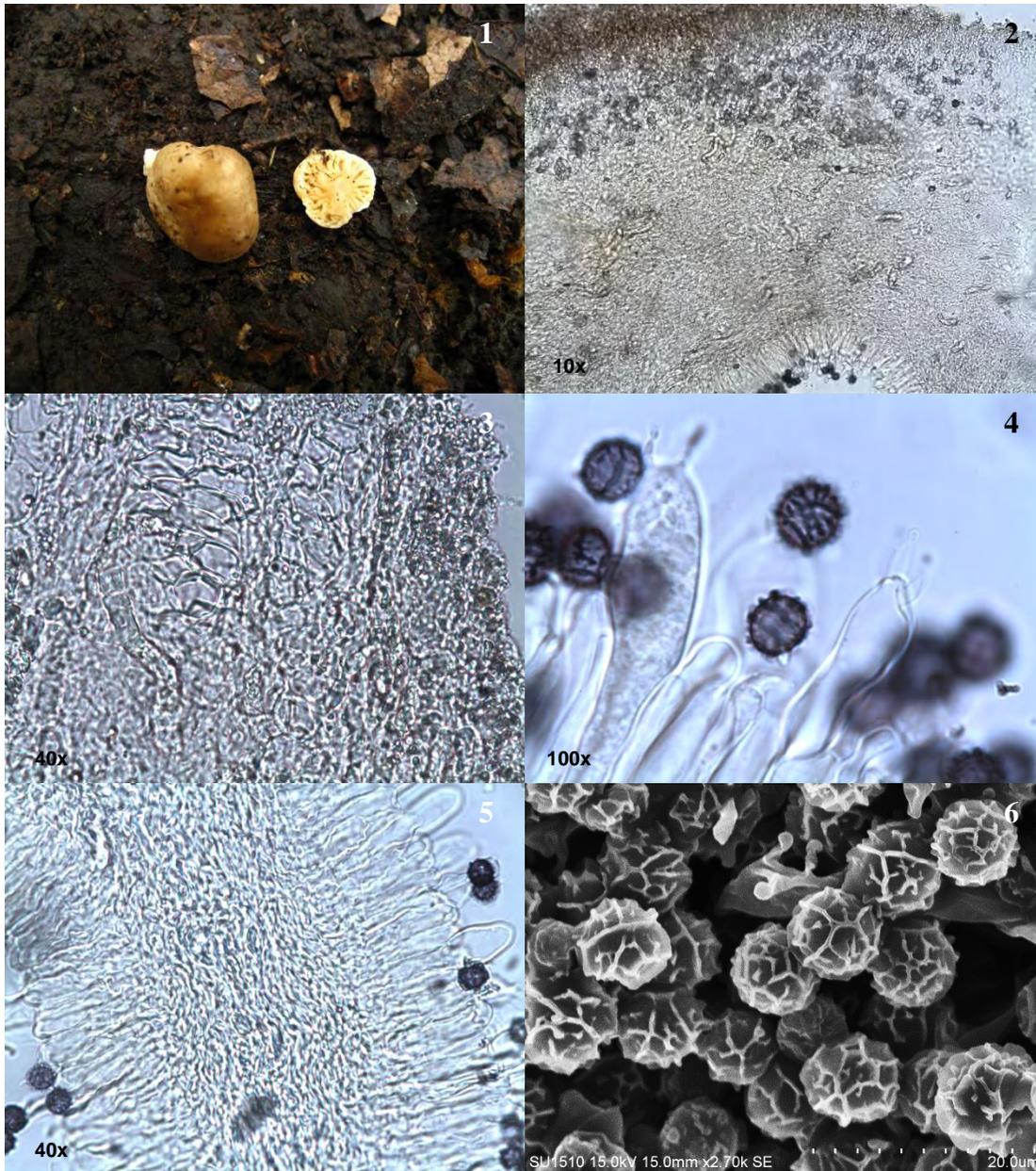


Figura 24. Características macro y microscópicas de *Lactarius* sp. 1. 1. Esporoma fresco, 2. Corte longitudinal de peridio y gleba, nótese las células laticíferas, 3. Estructura del contexto del peridio, 4. Basidios y esporas, 5. Estructura de la trama e himenio, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidiomas** subglobosos, 6-26 x 5-15 mm. **Peridio** liso, amarillo claro (4A4) con tonos amarillo-café (5B4) y naranja-rojizo (6D7), delgado; rizomorfos presentes en la base; KOH en el peridio fresco, se torna rojizo claro. **Peridio** delgado de 75-160 μm de grosor, de hifas compactas entretrejidas, de puntas redondeadas de 1.5-2.5 μm de diámetro, con pigmentos amarillos en las hifas externas. **Gleba** amarilla naranja (5B4-5B5), cámaras globosas de 0.5-1 mm de diámetro. **Trama** 50-75 μm de grosor, compuesta por hifas gelatinizadas entretrejidas, hialinas, de pared delgada de 2.5 μm de diámetro. **Esporas** globosas a subovoides 12-13.5 x 9-11 μm , incluyendo la ornamentación reticulada, hialinas, encerradas en una utrículo lisa. **Basidios** 15-25 x 10-13 μm , clavados, de pared delgada, cuatro esporas, hialinos.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, gregario, en bosque de *Quercus*. Julio.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO, rumbo a San Lucas del Pulque, Temascaltepec, 5 de julio de 2009, 26094(MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, los resultados arrojan dos especies, *L. rubescens* (87.1% de identidad) y *L. citrinus* (85% de identidad), lo convencional es aplicar un criterio de 3% de divergencia, ambas secuencias provienen de materiales del herbario de Oregon State (OSC). Sin embargo, la descripción morfológica concuerda muy bien con la nuestra, quizá sea importante realizar un análisis filogenético para comprobar cuál es la identidad de nuestra recolecta, ya que existe una divergencia considerable entre nuestra recolecta y las secuencias de la base de datos. Quizá se trate de una especie, que no se ha considerado en la clave taxonómica.

Discusión: El peridio delgado con tonos rojizos y las esporas equino-reticuladas separan esta especie de otras dentro del género. Con base en la información morfológica se decidió determinar este taxón. Nuestro material concuerda con la descripción hecha por Cázares et al. (1992), quienes reportaron este taxón por

primera vez para Durango, México. Con nuestra recolecta, se amplía el conocimiento de la distribución para un estado más.

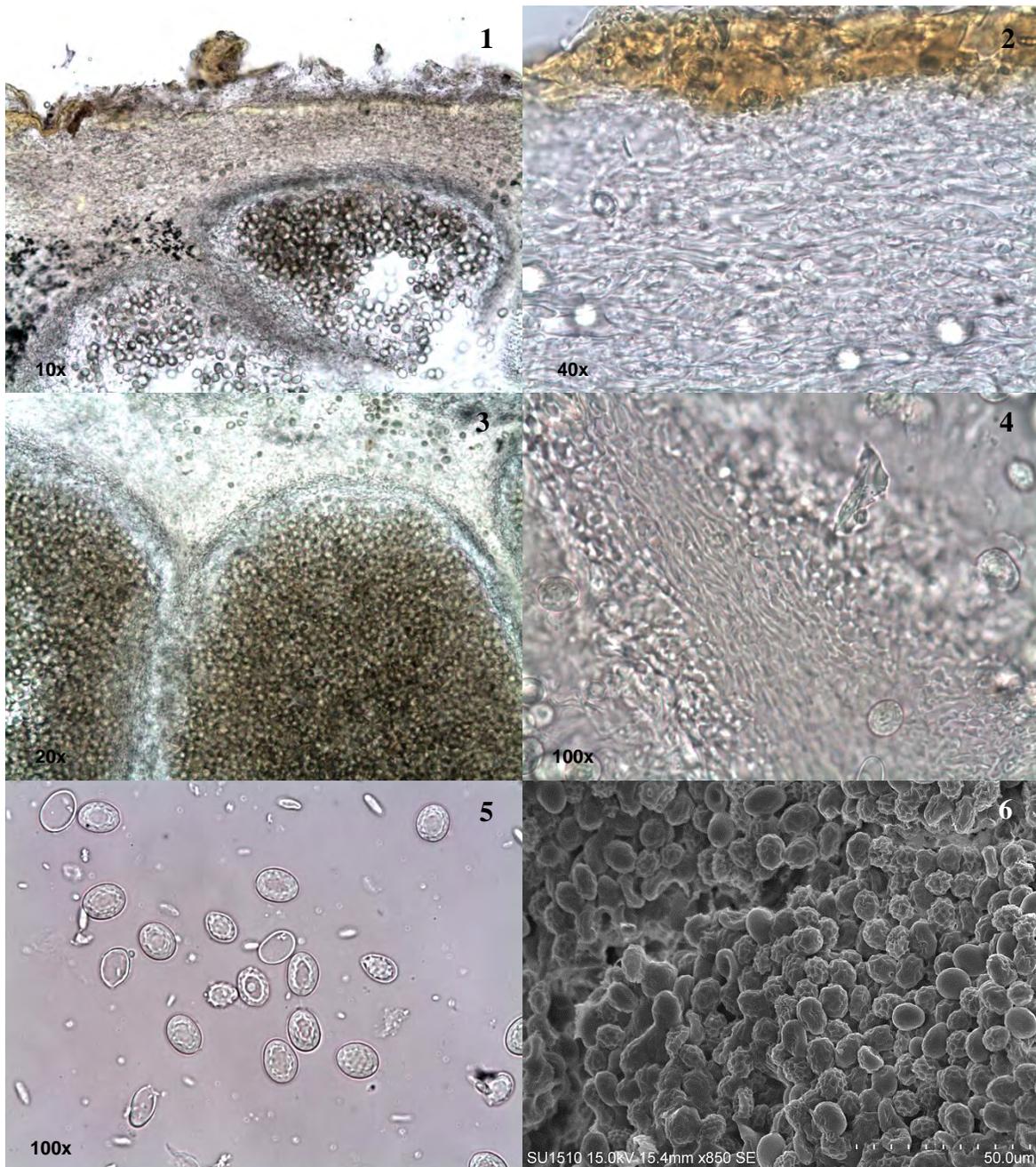


Figura 25. Características macro y microscópicas de *Leucogaster rubescens*. 1. Corte transversal del peridio, 2. Estructura del peridio, 3. Cámaras de la gleba llenas de esporas, 4. Estructura de la trama, 5. Esporas en microscopio de luz, 6. Esporas en MEB.

BASIDIOMYCOTA —*Melanogaster* aff. *tuberiformis*
Corda, in Sturm, Deutschl. Fl., 3 Abt. (Pilze Deutschl.)
3(11): 1 (1831) Figura 26

Descripción: **Esporoma** 10 x 7 mm de ancho cuando seco, globoso a subgloboso, o irregularmente lobulado, café olivo oscuro (7F4), afelpado y rugoso cuando seco. Rizomorfos concolor gruesos, escasos a prominentes, emergentes de la base, algunas veces cubren todo el peridio. Olor de débil a penetrante (aceitoso, metálico, alquitrán). **Peridio** de 120-220 μm de grosor, **epicutis** 10-50 μm de grosor, de hifas entretrejidas con pigmentos amarillos y cristales, 3-5 μm en diámetro, extendiéndose en mechones aéreos, **subcutis** 100-175 μm de grosor compuesta por hifas entretrejidas hialinas, 3-5 μm en diámetro. **Gleba** firme, café pálido de joven y negro al madurar, separada por una trama blanca a crema (4A2); lóculos 0.5-1 mm, redondos a poligonales, rellenos de gel. Hifas gelatinizadas entretrejidas de la trama, difíciles de observar, de hasta 3 μm de diámetro. **Esporas** lisas, 9-12 x 6-7.7 μm mayormente obovadas, algunas veces elipsoides o irregulares, ápice agudo en algunas, en KOH amarillo pálido (inmaduras) a café pálido (maduras) individualmente, café-negro a café oscuro en masa; paredes 1-1.5 μm en diámetro. **Basidios** clavados, en KOH hialinos, con 8 esporas, colapsan al madurar.

Distribución, hábitat y estación: Distrito Federal, solitario, en bosque de *Abies* con transición de *Pinus*. Septiembre.

Recolectas examinadas: TLALPAN, volcán Ajusco ladera norte, Distrito Federal, 14 de septiembre de 2009, 26464 (MEXU).

Código de barras: La búsqueda con BLAST mostró dos especies cercanas a la nuestra, *Melanogaster* sp. (98.5%) y *M. intermedius* (95.9%), sin embargo con la información molecular solo nos dio información sobre el género, pero con los datos morfológicos se logró determinar hasta especie. Sobre éste género en particular, no se han realizado muchos trabajos filogenéticos. En algunos, ha sido incluido, como es el caso de Vizzini et al. (2010); sin embargo, ellos utilizaron otra región para realizar sus análisis.

Discusión: Esta especie es afín a *M. tuberiformis*, sin embargo dicha especie se encuentra en Europa, la cual se caracteriza por esporas obovoides grandes. Se decidió utilizar el prefijo *afín* ya que se requiere más observaciones para definirlo como un nuevo taxón, por lo que es necesario un trabajo más exhaustivo sobre el género para conocer las especies que se encuentran en el continente Americano.

Es el primer registro para México, las otras dos especies reportadas *M. umbrinigleba* y *M. minisporus* poseen esporas de menor tamaño.

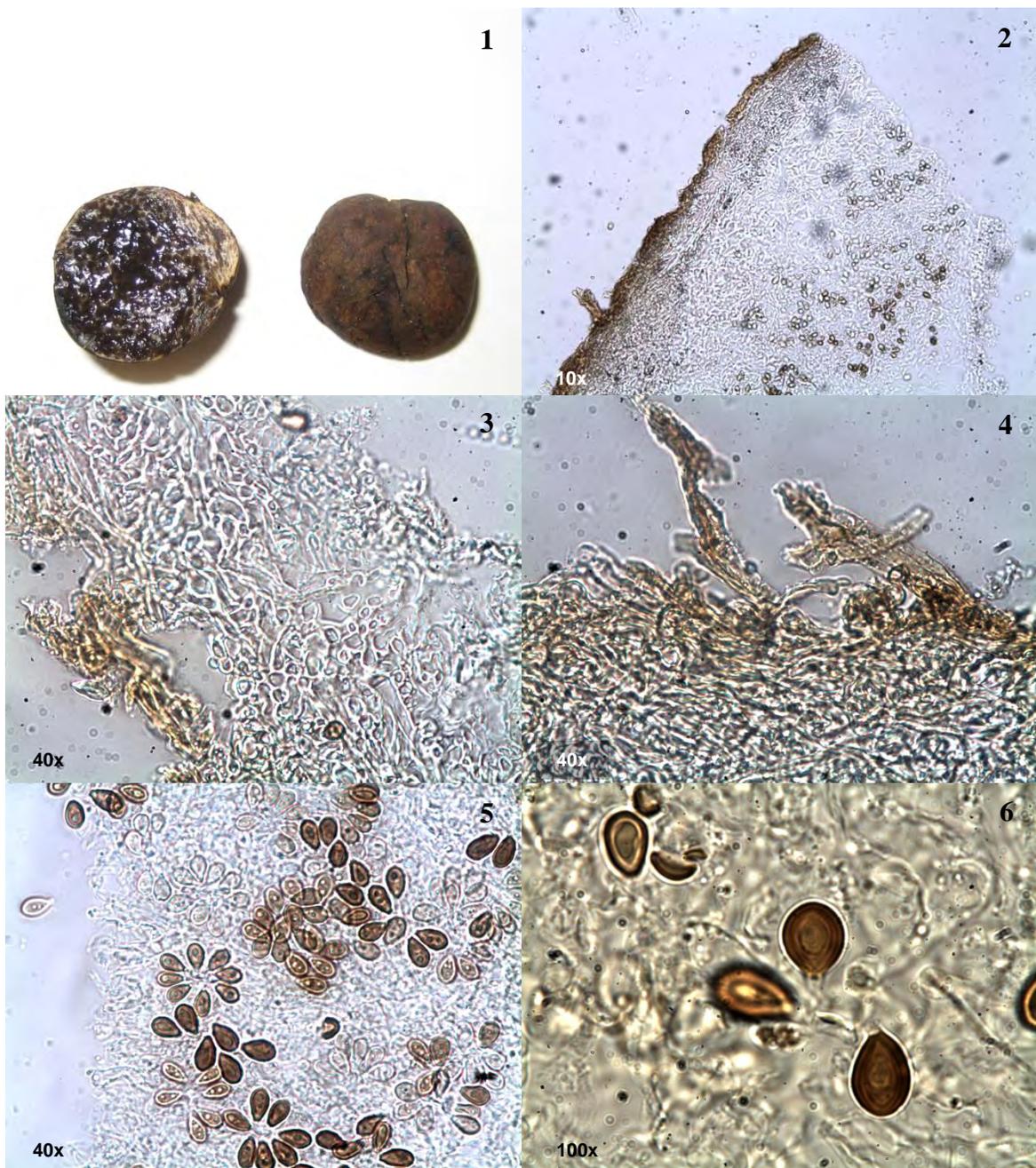


Figura 26. Características macro y microscópicas de *Melanogaster aff. tuberiformis*. 1. Esporoma, 2. Corte transversal del peridio, 3. Estructura del peridio, 4. Epicutis, 5 y 6. Esporas en el microscopio de luz.

Descripción: **Basidioma** 10-18 x 9-14 mm, subgloboso a elongado aplanado, frecuentemente lobulado y plegado. Superficie del **peridio** lisa, seca, subtomentosa al principio, después afelpada adpresa, a menudo costrosa, con el tiempo sedosa, fácilmente separable de la gleba, a menudo en forma de hojuelas; blanco a blanco amarillento (3A2), cuando joven o sin exponer, a menudo amarillo claro (2A2) a café amarillento (6F7) en parches, amarillo salmón claro (5A2) o salmón intenso (7A4); el peridio casi blanco se torna rosa pastel (13A2), o se enrojece al maltrato, esporomas con peridio maduro o expuesto se tornan rojo quemado (8F8) o café rojizo (8F5) cuando se manipulan. Puede presentar rizomorfos abundantes, adpresos, concolor con el peridio al principio después se tornan cafés (8F2) cuando se manipulan. Peridio seco café amarillento (6F7). **Gleba** loculada, lóculos 4-5 por mm cuando joven, 2-3 por mm en el desarrollo completo, suave cuando joven, dura y cartilaginosa con el tiempo, blanca cuando joven, después amarilla clara (3A3), amarilla verdosa (4C5), verde amarillenta (3B3) al madurar; joven o madura la gleba usualmente cuando se lastima, se torna roja pálida o roja opaca. Gleba seca amarilla-verdosa (4C5), dura pero fácil de seccionar. Olor ligeramente ácido. KOH en el peridio rojo ladrillo (8E7) a vino (11F8); sobre la gleba joven, a menudo blanco rosado (13A2). FeSO₄ negativo en el peridio, verde oliva (5E7) en la gleba. **Peridio** 200-500 µm de grosor; tipo *Corsicus*, compuesto por hifas hialinas, gelatinosas, septadas, de pared delgada, estrechamente compactadas, paralelas, 4-7 µm en diámetro, con abundantes hebras finas, aparentando nidos de esferocistos en corte transversal, 7-18 µm en diámetro, pigmentos café rojizos en reactivo de Melzer. Fíbulas ausentes. **Trama** 25-42 µm de grosor, compuesta por hifas hialinas, entretrejidas, más o menos laxas, 3-4.5 µm en diámetro, muy gelatinosas con el tiempo. **Subhimenio** pobremente desarrollado. Compuesto por hifas hialinas, cilíndricas, de pared delgada. **Esporas** (5.5) 6-8 x 2.5-3 µm, estrechamente oblongas a ovoides, cicatriz basal presente pero no prominente; en KOH hialinas a amarillo pálido individualmente, cafés-ámbar en masa; en Reactivo de Melzer, amarillo pálido

individualmente, ámbar en masa, mayormente 2-3 gotas de aceite. **Basidios**, 15-25 x 5-6 μm , de pared delgada cuando jóvenes, pared gruesa y mucilaginoso con el tiempo.

Distribución, hábitat y estación: Jalisco, Veracruz, solitario a gregario, en bosque de pino. Agosto-Septiembre.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO, pista de despegue de parapente, Temascaltepec, 23 de agosto de 2009, 26147 (MEXU); JALISCO, volcán Nevado de Colima, Tuxpan, 25 de septiembre de 2009, 26470 (MEXU); VERACRUZ, camino al volcán Pico de Orizaba desde La Perla, La Perla, 31 de agosto de 2010, 26241, 26242, 26288 (MEXU).

Código de barras: Para esta especie se obtuvieron cinco códigos de barras, los cuales fueron comparados con la base de datos de *GenBank*, utilizando el algoritmo de BLAST, para las recolectas 26242 y 26241 los resultados fueron *R. roseolus* (99.4-99.3%), y *R. evadens* (99-98.7 %), para las recolectas 26470 y 26288 las secuencias similares fueron *R. roseolus* (99.3-99.2%) y *R. evadens* (99%), por último, para la secuencia correspondiente a 26147, los resultados fueron *R. roseolus* (99.3%) y *Rhizopogon* sp. (98.8%). *R. roseolus* es un nombre recurrente para los cinco códigos de barras, y como se muestra en la tabla 4, las especies son muy parecidas.

Respecto al análisis de delimitación de especies que se realizó, solo se utilizaron 3 de las 5 secuencias, ya que el programa descarta secuencias idénticas. Algo importante que hay que destacar sobre el análisis, es que nuestras secuencias siempre se agruparon en una sola entidad, sin embargo, el problema recurrente sobre los nombres en la base de datos se ve reflejado en las otras entidades estrechamente relacionadas con nuestra entidad (ver figura 39 y 40).

Discusión: Con base en los datos morfológicos y la opinión del experto mundial del género (James Trappe), se determinó como *R. evadens*, el cual se caracteriza por un peridio inicialmente blanco que se mancha de rojo rápidamente, después de su exposición o maltrato. La gleba se torna verde olivo oscuro al madurar completamente. Miller (1986) menciona que *R. evadens* es comúnmente confundido con *R. couchii* o *R. vulgaris*, debido a sus esporas pequeñas. Sin

embargo, *R. evadens*, carece de un peridio amarillo, característica distintiva de las otras dos especies en campo, y típicamente se maltrata mucho más rápido, tornándose rojo en ejemplares jóvenes y frescos. Este carácter amarillo del peridio puede llegar a ser muy confuso, ya que como se menciona en la descripción de *R. evadens*, el peridio puede tener tonos desde blanco, blanco crema, a marrón amarillento, quizá se refiere a la usencia de tonos amarillo brillante en cualquier estadio de desarrollo. La tabla 4 contiene información más detallada de las especies similares a *R. evadens*. Primer reporte de esta especie para México.



Figura 27. Características macro y microscópicas de *Rhizopogon evadens*. 1. Esporomas en fresco, 2. Esporoma en seco, 3. Estructura del peridio, 4. Trama, 5 y 6. Esporas en microscopio de luz.

Tabla 4. Cuadro comparativo de *R. evadens* y especies afines.

ESPECIE	PERIDIO	GLEBA	REACCIÓN CON KOH	REACCIÓN CON FeSO ₄		ESPORAS (µm)
			Peridio	Peridio	Gleba	
<i>R. evadens</i> var. <i>evadens</i>	Blanquecino a grisáceo vináceo a rosa, olivo sucio, rojizo al manipularlo	Blanca a oliva, a oliva oscuro	Rosa a rojo	Olivo a olivo oscuro	(-)	6-8 x 2-2.3
<i>R. evadens</i> var. <i>subalpinus</i>	Blanco, fibriloso, al manipularse se mancha ocre, después rojizo, café, café madera oscuro al secarse	Blanca, después oliva oscuro	Rojo oscuro	olivo	(-)	6.5-7.5 x 2
<i>R. roseolus</i>	Rosa sucio	Blanca cuando joven, tornándose oliva	Se intensifica el color rosa	(-)	(-)	6.5-8 x 2.8-3.2
<i>R.</i> <i>pseudoroseolus</i>	Superficie blanca fibrilosa, después vinácea, sin tonos intermedios amarillos, rizomorfos solo en la base	Blanca	Instantáneamen te rosa brillante	Olivo- negruzco	(-)	8-10 x 3.5-4 (9- 11 x 5)
<i>R. rubescens</i> var. <i>rubescens</i>	Blanco cuando joven, amarillento, amarillo miel a amarillo ocre, al madurar, las áreas lastimadas o expuestas son café-rojizo, al maltrato se tiñe de rojo vináceo	Blanca, después oliva a café-oliva	Rojo vináceo a café oscuro	Verdoso a olivo, a menudo lentamente	(-)	8-10 x 3.2-4.2
<i>R. rubescens</i> var. <i>pallidimaculatus</i>	Amarillo pálido, después amarillo azufre, al maltratarlo se mancha de rosa-anaranjado	Oliva-ocre a olivácea, amarilla pálida al secarse	Café-vináceo a café oscuro	Oliváceo pálido	(-)	6.5-9 x 2.8-3.5

Información obtenida de Smith A.H., Zeller S.M. 1966. A preliminary account of the North American species of *Rhizopogon*. Memoirs of the New York Botanical Garden 14: 1-178.

Descripción: **Basidioma** 14-20 x 10-12 mm, subgloboso a ovalado, superficie del **peridio** lisa, subtomentosa cuando joven; peridio amarillo verdoso (4C4), amarillo-marrón (5D4), café-amarillento-verdoso (6E5), con tonos rosados (7D4, 7E5), café chocolate en ejemplares muy maduros (7F5). **Rizomorfos** abundantes, cubriendo todo el peridio, en un patrón reticulado, finos a toscos, mayormente adpresos, concolor con el peridio, rápidamente se manchan café oscuro (7F4) con el tiempo, contrastando claramente con el color del fondo del peridio claro. **Gleba** loculada, lóculos 3-4 por mm en completo desarrollo, carnosa y firme al principio, después esponjosa-cartilaginosa, blanca cuando joven, después amarilla crema (4A3), amarillo olivo (4C4) y finalmente café olivo (6E5). Olor dulce, sabor insípido. KOH en la superficie reacciona a café rojizo (8E4), negativo en la gleba. **Peridio** 70-110 µm de grosor, hifas septadas, entretajadas estrechamente, subparalelas en corte tangencial, 3-4.5 µm en diámetro, de paredes hialinas delgadas, pigmentos amorfos café rosados incrustados en KOH, los pigmentos se licuan en grandes glóbulos de pigmentos cafés rojizos en reactivo de Melzer. Fíbulas ausentes. **Trama** 20-35 µm de grosor, gelatinizada, compuesta por hifas hialinas entretajadas, 3-4.5 µm en diámetro, de pared delgada; **subhimenio** pobremente desarrollado, subcelular en la base con algunos elementos himeniales, 1-3 células de profundidad, células 6-10 µm en diámetro, hialinas, subglobosas, cúbicas o elongadas. **Esporas** 6-7.5 x 2.5-3 µm, oblongas a estrechamente elipsoides, cicatriz basal presente; en KOH hialinas individualmente, amarillo claro en masa; en reactivo de Melzer hialinas verdosas individualmente, amarillas ámbar brillante en masa. **Basidios** emergentes de un himenio distintivo, estrechamente clavados, 17-26 x 4-6µm, de pared delgada y colapsan pronto, mayormente octoesporados.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, gregario, en bosque de pino. Julio.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO, Km 7 carretera Temascaltepec-Tejupilco, San Simón de Guerrero, 8 de julio de 2009, 26084 (MEXU).

Código de barras: Al comparar nuestra secuencia contra la base de datos, se obtuvo que nuestro código de barras se parece a *R. fuscorubens* (99.8% de identidad), complementando nuestra determinación taxonómica con base en datos morfológicos.

Discusión: El ejemplar se ajusta perfectamente con la descripción hecha por Miller (1986), el cual menciona que esta especie es fácilmente reconocible por sus abundantes rizomorfos, conspicuos, café oscuros que contrastan con el peridio claro, rojo a café rojizo en ejemplares maduros no ligeramente secos, y esporas pequeñas. Esta especie es similar a *R. nigresens*, sin embargo, las recolectas de *R. fuscorubens* nunca son completamente negras. Uribe-Arróyave (1998) lo reporta en su tesis de licenciatura para el estado de Tlaxcala. Nuestro registro es el segundo para México, ampliando la distribución de la especie.



Figura 28. Características macro y microscópicas de *Rhizopogon fuscrobens*. 1. Esporomas frescos, 2. Esporoma seco con cables evidentes, 3. Estructura del peridio, 4. Trama, 5 y 6. Esporas en el microscopio de luz.

Descripción: **Basidioma** globoso a subgloboso, 12-18 x 8-10 mm. **Peridio** en ejemplares frescos, blanco, rizomorfos blancos cubriendo toda la superficie del peridio, abundantes en la base, no se mancha al lastimarlo, reacción con KOH, se torna negro azulado (21F3). **Peridio** seco, color café rojizo (8F5), rizomorfos cafés (8F2). **Gleba** loculada, verde grisácea (4D3), reacción con KOH, sin cambios. **Peridio** 200-350 µm de grosor, compuesto por hifas paralelas, formando paquetes, los cuales están entrelazadas, hifas septadas, 4.5-5.5 µm en diámetro, en KOH con pigmentos cafés entre las hifas, en reactivo de Melzer con grandes gránulos de pigmento café. **Trama** 30-75 µm de grosor, compuesta por hifas hialinas, entretejidas, subgelatinosas, de pared delgada, 3.5-5 µm en diámetro. **Esporas** ovadas a fusiformes, 10-11.5 x 4-5.5 µm, lisas, truncadas, algunas esporas con vestigios de esterigmas, pared al madurar de ± 1 µm de grosor, en KOH hialinas individualmente, hialinas verdosas en masa, en reactivo de Melzer, fuertemente amiloides. **Basidios** clavados a cilíndricos, 15-30 x 5-8 µm, 2-4 esporas, de pared delgada.

Distribución, hábitat y estación: Tlaxcala, gregario, en bosque mixto. Septiembre.

Recolectas examinadas: TLAXCALA, carretera Amozoc-perote, El Carmen Tequexquitla, 2 de septiembre de 2010, 26256 (MEXU).

Código de barras: Al aplicar el algoritmo de BLAST, se obtuvo que nuestra secuencia se parece a *R. guzmanii* (99.2% de identidad). Complementando nuestra determinación taxonómica.

Discusión: El ejemplar se comparó con recolectas de *R. guzmanii* provenientes de Coahuila, México, y la principal diferencia radica en el tamaño y forma de las esporas; *R. guzmanii* tiene esporas elipsoides a obovoides, subcilíndricas o subangulares, el rango de tamaño va 9-12 (-14) x (4-) 5-8 (-11) µm, más largas y anchas que nuestra recolecta, en cuanto a similitudes, la reacción de KOH en el peridio es igual, ambas se tornan negro. Estas posibles diferencias pueden ser variaciones morfológicas dentro de la especie. Cázares et al. (1992) la reportan desde Junio hasta Septiembre.

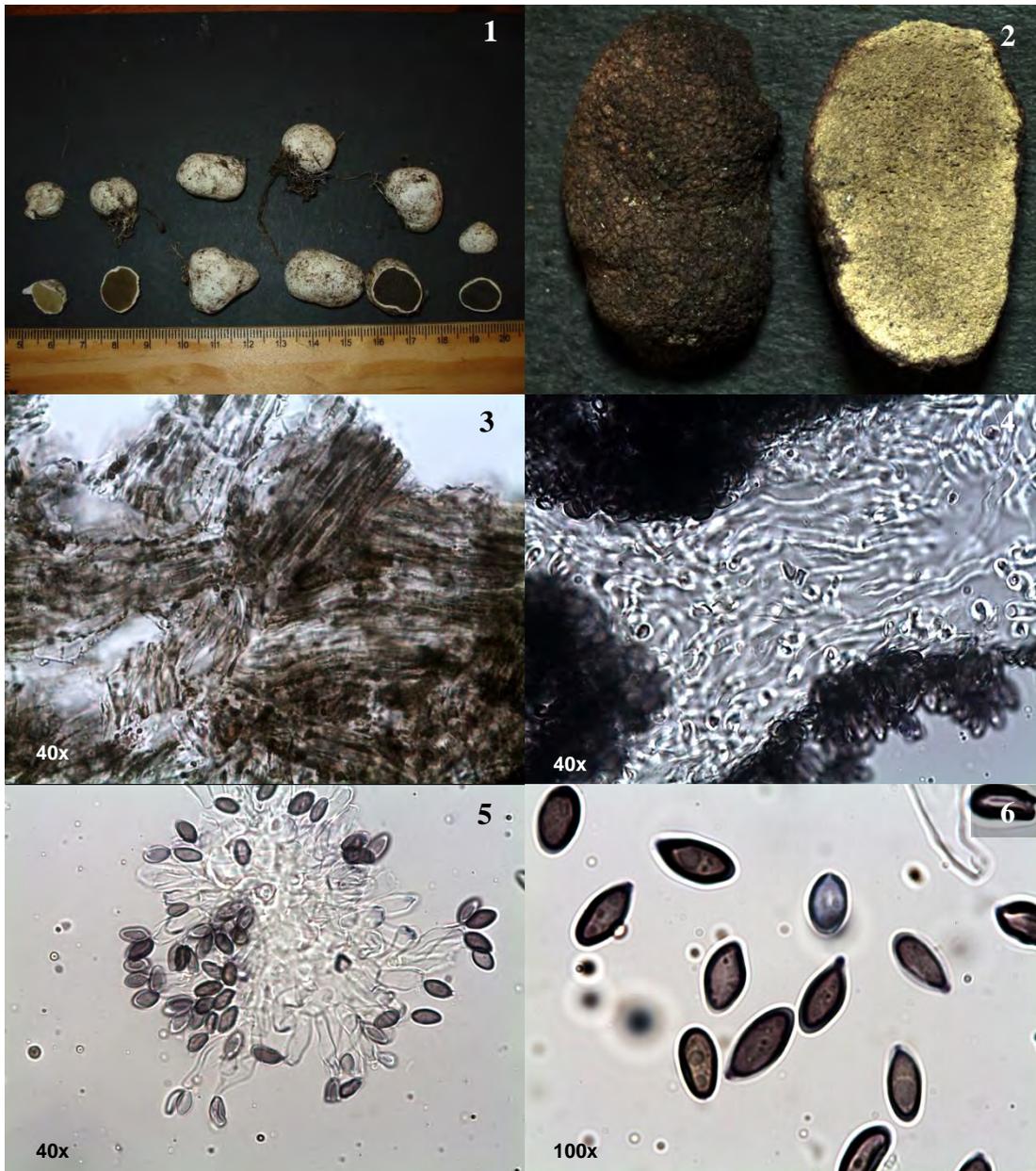


Figura 29. Características macro y microscópicas de *Rhizopogon guzmanii*. 1. Esporomas frescos, 2. Esporoma seco, 3. Estructura del peridio, 4. Trama, 5. Basidios y esporas en reactivo de Melzer, 6. Esporas en el microscopio de luz.

BASIDIOMYCOTA —*Rhizopogon pseudoroseolus* A.H. Sm., Mem. N. Y. bot. Gdn 14(2): 89 (1966) Figura 30

Descripción: **Basidioma** 10-20 x 5-13 mm, globoso a irregular, superficie fresca blanca y fibrilosa adpresa al inicio, después verde amarillenta (4D7), verde olivo claro (4E7), verde olivo (5E7) con tonalidades marrón (7E8), al lastimarlo en los ejemplares más jóvenes naranja brillante (8A3) y naranja ladrillo (8D8) y rojo quemado (8F8) en ejemplares maduros. **Peridio** cuando seco, presenta colores café-rojizo (8F7), café rojizo oscuro (8F4) con tonos verdes amarillentos (6E6). **Gleba** fresca, blanca cuando joven, amarilla clara (3A3), café-olivo (6F5) cuando madura, cámaras pequeñas. Amarilla ocre (5C5), Verde oliva (6E5), oliva (6E7), cuando la gleba está seca. FeSO₄ sobre la superficie del peridio, verde grisáceo (27E2), verde oscuro grisáceo (29F3), sin reacción en la gleba; KOH sobre el peridio, rosa brillante (9A4) en ejemplares jóvenes, morado rojizo (10F8), vino (10F8-10E8) en ejemplares maduros, morado grisáceo (11F4) en la gleba de ejemplares maduros. Cables compactos color café oscuro (8F3). El basidioma presenta túneles muy evidentes en la gleba, señal de micofagia. Olor a papa cruda, sabor ligeramente amargo. **Peridio** 80-260 µm de grosor, tipo *Roseolus*, de hifas entretrejidas, septadas, de pared delgada, 3-6 µm en diámetro, con cristales adheridos y pigmentos café-rojizos (8F7) en KOH, en solución de Melzer tiene muchas gotas grandes de pigmentos café-naranja. **Trama** 30-55 µm de ancha, compuesta por hifas hialinas, entretrejidas, gelatinizadas, de pared delgada, 2.5-3.5 µm de diámetro. **Esporas** elipsoides, 7-8.5 (-9) x 2.5-3.5 µm, lisas, ápice ligeramente acuminado, truncadas en la base, pared de ± 1 µm de grosor, hialinas individualmente y amarillo ámbar en masa, tanto en KOH como en reactivo de Melzer. **Basidios** 4-6 esporas, 17-24 x 4.5-6 µm, de pared delgada, hialinos en KOH, subhimenio celular, con gránulos refractivos.

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, Tlaxcala, solitario, en bosque de *Pinus teocote*, bosque mixto. Agosto-October.

Recolectas examinadas: MICHOACÁN, cerro Patambam, Tangancícuaro, 4 de octubre de 2009, 26486, 26480 (MEXU); TLAXCALA, volcán La Malinche, San Francisco Tetlanohcan, 28 de agosto de 2010, 26510 (MEXU).

Código de barras: Con la búsqueda de BLAST nuestras secuencias se parecen a *R. roseolus* (97.7% de identidad). *R. pseudoroseolus* (96.8-97.3%), *R. rubescens* (97.3%), *Rhizopogon* sp. (99.7-99.8%), todos estos nombres se encuentran dentro del rango convencional para delimitar especies por divergencia genética. Las diferencias morfológicas entre estas especies se muestran en la tabla 4. Este es un caso complejo, en donde más de un nombre resulta dentro del 97% de identidad. Para resolver esta cuestión, lo ideal sería revisar morfológicamente todas las recolectas y asegurarse de la determinación taxonómica, si no se encuentran diferencias morfológicas evidentes, se puede emplear un método de verosimilitud para tratar de delimitar las especies. Las diferencias entre *R. pseudoroseolus* y *R. roseolus* radican en la reacción química de FeSO_4 sobre el peridio fresco, en la primera especie, se torna oliva negruzco, mientras que en la segunda no se registra ningún cambio. Las esporas de *R. pseudoroseolus* son generalmente mayores que *R. roseolus* (6.5-8 x 2.8-3.2 μm).

Discusión: Esta especie se caracteriza por la combinación de la reacción oscura con FeSO_4 y la reacción brillante con KOH y la carencia de tonos amarillos en el peridio en cualquier estadio de desarrollo. Smith y Zeller (1966) separan *R. roseolus* de *R. pseudoroseolus* basándose en la reacción de FeSO_4 sobre el peridio, en la primera, no existe ninguna reacción. Mientras que en la segunda, el peridio se torna oliva-negro. En cuanto al análisis de delimitación de especies, el umbral simple las agrupa nuestras recolectas en una sola entidad, mientras que el umbral múltiple las separa en dos entidades estrechamente relacionadas. En este caso se decidió seguir el criterio morfológico sustentado por el experto mundial del género (James Trappe) sobre cualquiera de los otros dos, debido a lo confuso de los resultados. Primer registro para México.

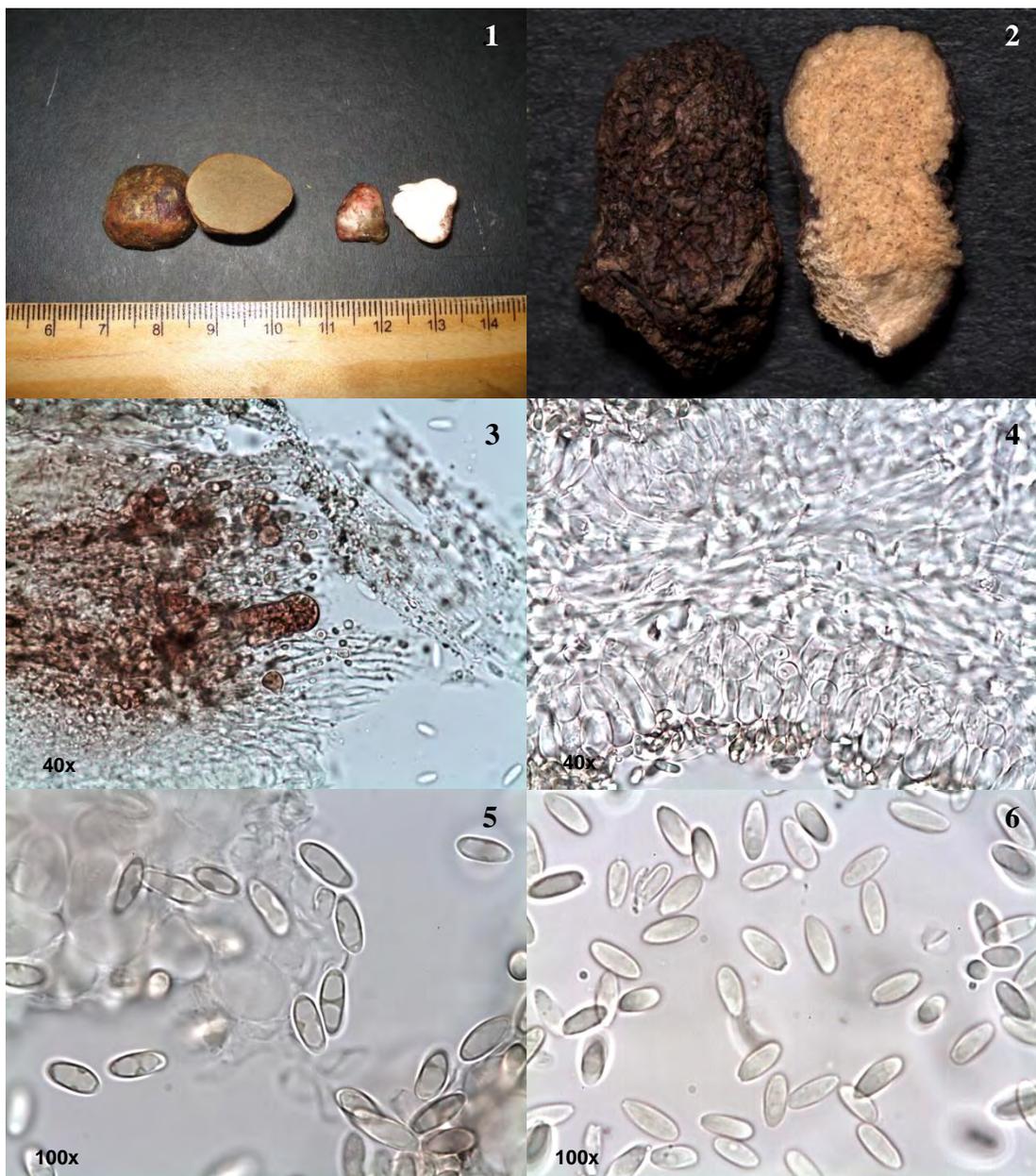


Figura 30. Características macro y microscópicas de *Rhizopogon pseudoroseolus*. 1. Esporomas en fresco, 2. Esporoma en seco, 3. Estructura del peridio, 4. Trama, 5 y 6. Esporas en microscopio de luz.

Descripción: **Basidioma** 5-30 x 3.5-14 mm en diámetro, globoso a subgloboso o irregular, superficie seca y fibrilosa, **peridio** en fresco, cuando joven blanco sucio a crema (2A2, 3A2), amarillo crema (3A3, 4B3), con zonas cafés (6B3), café olivo (6E6), crema rosados (7C3) café rosado (10C3), violeta grisáceo (14C2) al manipularse o exponerse, café medio (8F4, 8F5, 7F5), café mostaza (5D5), fibras color ocre (5C4), café (6E7, 6F7), café olivo (6F8) las cuales se vuelven más evidentes con la manipulación del ejemplar. Cables presentes, café oscuro (8F3), abundantes en la parte basal, aunque recubren todo el peridio. Reacción de KOH en el peridio, al inicio violeta (13F4) o magenta (15E7), vino (11F8) a morado intenso (17F8, 18F8) a casi negro o primero verde claro (5F8), verde oliva (4E4), verde (9F1), verde menta (26D3) y después verde oscuro (26F3) casi negro, otra transición también puede ser de café (10F3) a café oscuro (8F3). FeSO₄ en el peridio, gris azulado (23F2) azul verdoso (24F4). **Gleba** con cámaras de 2-3 por mm, casi blanca (2A2), amarillo crema (3A2, 3B2, 4B2), amarilla olivo (3B3) a verde oliva (4E4, 6E4), verde oliva oscura (6F5), café verdosa (7F5), café oliva oscuro (6F5-6F7), café chocolate (7F5). Reacciones de KOH y FeSO₄, negativas. **Peridio**, 200-400 (-700) µm de grosor, compuesto por hifas tubulares entretrejidas, subparalelamente, 5-7.5 µm de diámetro, entremezcladas con nidos de hifas globosas sin contenido, 8-14 µm de diámetro, pigmentos café-rojizo a lo largo de todo el peridio en KOH, en reactivo de Melzer la capa se vuelve rojiza vinácea y hay abundantes glóbulos de pigmentos café naranjas. Todos los tejidos no amiloides. **Trama** gelatinosa, 40-95 µm de grosor, compuesta por hifas altamente refractivas, entretrejidas, de 3-4.5 µm de diámetro. **Subhimenio** de células cortas y anchas solo gelatinosas cuando son revividas en KOH. **Esporas** (6.5-) 7-9 (-10.5) x 2.5-3.5 (-4) µm, oblongas a subfusoides, pared delgada ± 0.5 µm de grosor, en KOH, hialinas individualmente, amarillo ámbar en masa, en reactivo de Melzer hialinas amarillentas individualmente pero en masa amarillo ocre y en algunos lugares, los grupos de esporas jóvenes tienen tonos verdes azulados, indicando

una posible reacción amiloide débil en esporas inmaduras. **Basidios** 16-30 x 5-6 µm, hialinos, de pared delgada, 6-8 esporas, esporas sésiles o cerca de serlo.

Distribución, hábitat y estación: Jalisco, Estado de México, Michoacán, Puebla, Tlaxcala, solitario a gregario, bosque de pino, bosque de pino-encino, bosque de pino-abeto, bosque de abeto-pino, bosque mixto y zacatonal con pino. Julio-Octubre.

Recolectas examinadas: JALISCO: volcán Nevado de Colima, Tuxpan, 25 de septiembre de 2009, 26471, 26474 (MEXU); ESTADO DE MÉXICO: volcán Iztaccíhuatl, Tlalmanalco, 6 de septiembre de 2009, 26460 (MEXU), volcán Nevado de Toluca, Coatepec de Harinas, 24 de agosto de 2009, 26167, 26170, 26171, 26172, 26173, 26455 (MEXU), volcán Popocatepetl, Atlautla, 4 de septiembre de 2009, 26179, 26456 (MEXU), Rumbo a San Lucas del Pulque, Temascaltepec, 9 de julio de 2009, 26090 (MEXU); MICHOACÁN: carretera Zinapécuaro-Ciudad Hidalgo Km 22, Queréndaro, 23 de julio de 2008, 25942 (MEXU), Camino a Atécuaro, Morelia, 5 de agosto de 2008, 25964 (MEXU), cerro Patambam, Tangancícuaro, 4 de octubre de 2009, 26487 (MEXU); PUEBLA: Mazapiltepec, Soltepec, 30 de agosto de 2010, 26285 (MEXU), volcán Pico de Orizaba, Chalchicomula de Sesma, 18 de octubre de 2009, 26495, 26499 (MEXU); TLAXCALA: carretera Amozoc- Perote, El Carmen Tequexquitla, 2 de septiembre de 2010, 26255 (MEXU), volcán La Malinche, San Francisco Tetlanohcan, 28 de agosto de 2010, 26512 (MEXU), Huamantla, 29 de agosto de 2010, 26516 (MEXU).

Código de barras: De las 20 secuencias que se tiene para este grupo, hay un nombre que es constante en la gran mayoría de las búsquedas, *R. salebrosus* o *Rhizopogon* aff. *salebrosus* con valores muy altos de porcentaje de identidad. Con esta información molecular, más los datos morfológicos se puede concluir que nuestra especie pertenece al grupo *salebrosus*.

Respecto al análisis de delimitación de especies, como se puede observar en las figuras 39 y 40, nuestras secuencias se agrupan en tres entidades distintas; sin embargo, no se puede relacionar esta división de las entidades a nivel morfológico, ya que las únicas variantes en morfología son las reacciones

químicas, las cuales se mencionó anteriormente, no son un carácter diagnóstico. Debido a la morfología reducida de este género y su gran diversidad en Norteamérica, estos dos factores, contribuyen a las dificultades para distinguir entre especies con base en la morfología. Como lo mencionan Bidartondo y Bruns (2002) una sola región (ITS) quizá no pueda distinguir entre especies estrechamente relacionadas, es decir, que el marcador no tenga suficiente resolución para separar entre especies muy cercanas, y su divergencia genética sea muy pequeña en comparación con otros géneros, o quizá para cada subgénero esta variación puede ser distinta, como lo es en el caso de *Tuber*.

Discusión: El subgénero *Amylopogon* (A. H. Smith) Grubisha y Trappe, stat. nov. Basionym: *Rhizopogon* subgen. *Rhizopogon* sect. *Amylopogon* A. H. Smith, Mich. Botanist 3:17. 1964., se caracteriza por un peridio por lo general blanco, o a menudo en la superficie marrón, hebras de hifas entretrejidas, con pigmentos extracelulares que en preparaciones en KOH muestran pigmentos rosas a olivo o azul, los cuales forman glóbulos de pigmentos naranjas a rojos o cafés en reactivo de Melzer. El peridio se torna café oscuro o negro cuando se seca. Algo importante es la reacción amiloide de las esporas, puede ser desde esporas hialinas a débilmente amiloides, como es el caso de este complejo, hasta fuertemente amiloides en preparaciones de reactivo de Melzer. Si son hialinas o débilmente amiloides, entonces la gleba fresca reaccionará a una gota del reactivo de Melzer, tornándose gris a morada o negra. Las especies de este subgénero forman asociaciones micorrízicas con varios géneros de Pinaceae. Dentro de este subgénero se encuentra el complejo *salebrosus*, sensu Bidartondo y Bruns (2002) está conformado por *R. subbadius*, *R. subgelatinosus*, *R. alkalivierens*, *R. subcaerulescens* var. *subcaerulescens*, *R. subcaerulescens* var. *subpannosus*, *R. fallax* y *R. salebrosus*.

Las esporas amiloides parecen ser un carácter importante para los estudios taxonómicos y filogenéticos. El hecho de que este carácter no pueda ser detectado en especímenes secos de herbario, puede dar lugar a errores de identificación y deben ser considerados en futuros estudios de herbario (Grubisha et al. 2002). Trappe (comunicación personal) menciona que es importante

enfatar que las identificaciones de paquetes de herbario no son de fiar, debido a distintas razones, colecciones de holotipos mezcladas, la carencia de revisión por parte de un experto a la hora de identificar un ejemplar, la descripción no concuerda con el ejemplar, entre otras cuestiones, las cuales expone en una nota de *Inoculum*, pp 3-4 (Trappe 2004). Se menciona todo esto, debido al origen del trabajo de Smith y Zeller (1966), ya que ellos utilizaron material de herbario. Esto es en parte debido a la dificultad de separar especies por los criterios utilizados por Smith y otros. Trappe también menciona que Smith abrió un nuevo campo en la taxonomía del género, al incluir caracteres morfológicos, que nunca se habían pensado si quiera. Pero, algunos de estos nuevos caracteres no son siempre definitivos. Por ejemplo, KOH y otras reacciones químicas, dependen del estadio de desarrollo, así como las reacciones de color o tinción. Así mismo en ejemplares jóvenes a viejos en una sola recolecta las reacciones químicas pueden variar notablemente, incluso en un solo ejemplar las reacciones químicas pueden variar. El cambio de color por maltrato puede ser igualmente engañoso.

Las especies dentro del complejo *salebrosus* presentan este problema, ya que solo se separan morfológicamente por reacciones químicas del peridio, lo cual resulta muy difícil, ya que a muchas de ellas no se les realizaron las pruebas químicas en el peridio fresco y aunque así fuere, el carácter no es constante. Trappe (comunicación personal) cree, que ninguno de estos nombres propuestos por Smith y Zeller (1966) son especies diferentes, ya que muchos de los holotipos son colecciones simpátricas y son casi idénticas o cerca de serlo, mientras que algunas colecciones modernas más distantes geográficamente no lo son. Entonces, si hay otras especies en este grupo (que no están completamente resueltas por ITS), probablemente no están descritas aun.

Martín Paz (comunicación personal) menciona que *R. salebrosus* (holotipo), *R. subbadius* (paratipo), *R. subgelatinosus* (paratipo), *R. alkalivierens* (holotipo), *R. fallax* (paratipo) y *R. subcaerulescens* var. *sibpannosus* (paratipo), tienen secuencias de ITS idénticas. Incluso las personas que realizan análisis ecológicos no saben que nombre deben usar. La tabla 5 contiene información más detallada sobre las características de las especies mencionadas anteriormente. Trappe

(comunicación personal), además menciona que hay una nube de otros nombres que Smith propuso y que son sinónimos, como todas sus especies del subgénero *Amylopogon*.

Dentro del complejo de especies, para México solo se ha reportado *R. subcaerulescens*, para Coahuila y Durango (Cázares et al. 1992) y Tlaxcala (Uribe-Arróyave, 1998).



Figura 31. Características macroscópicas de *Rhizopogon* grupo *salebrosus*. 1, 2, 3 y 4. Esporomas frescos, 5 y 6. Esporomas secos.

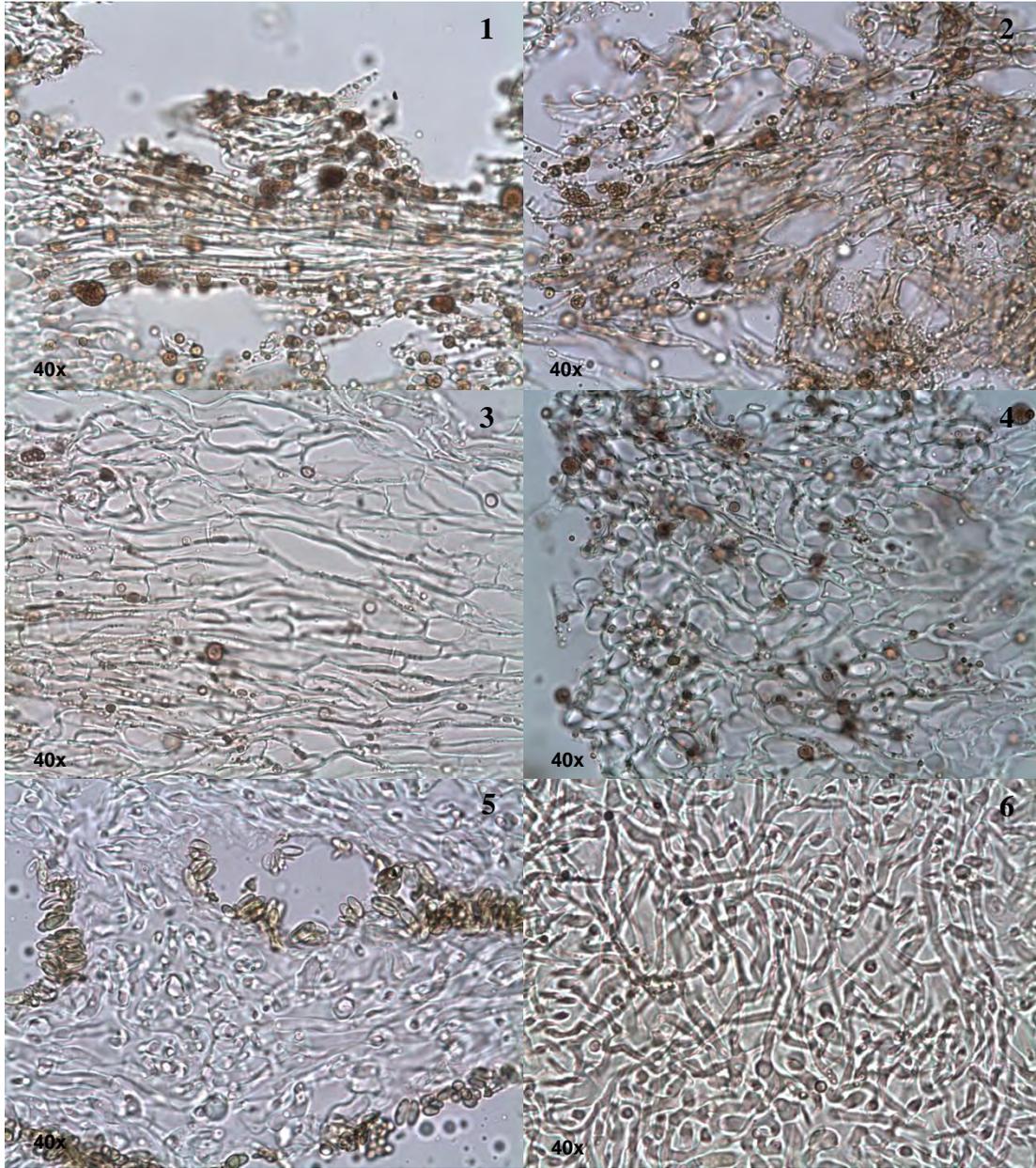


Figura 32. Características microscópicas de *Rhizopogon* grupo *salebrosus*. 1, 2, 3 y 4. Estructura del peridio, 5 y 6. Estructura de la trama.

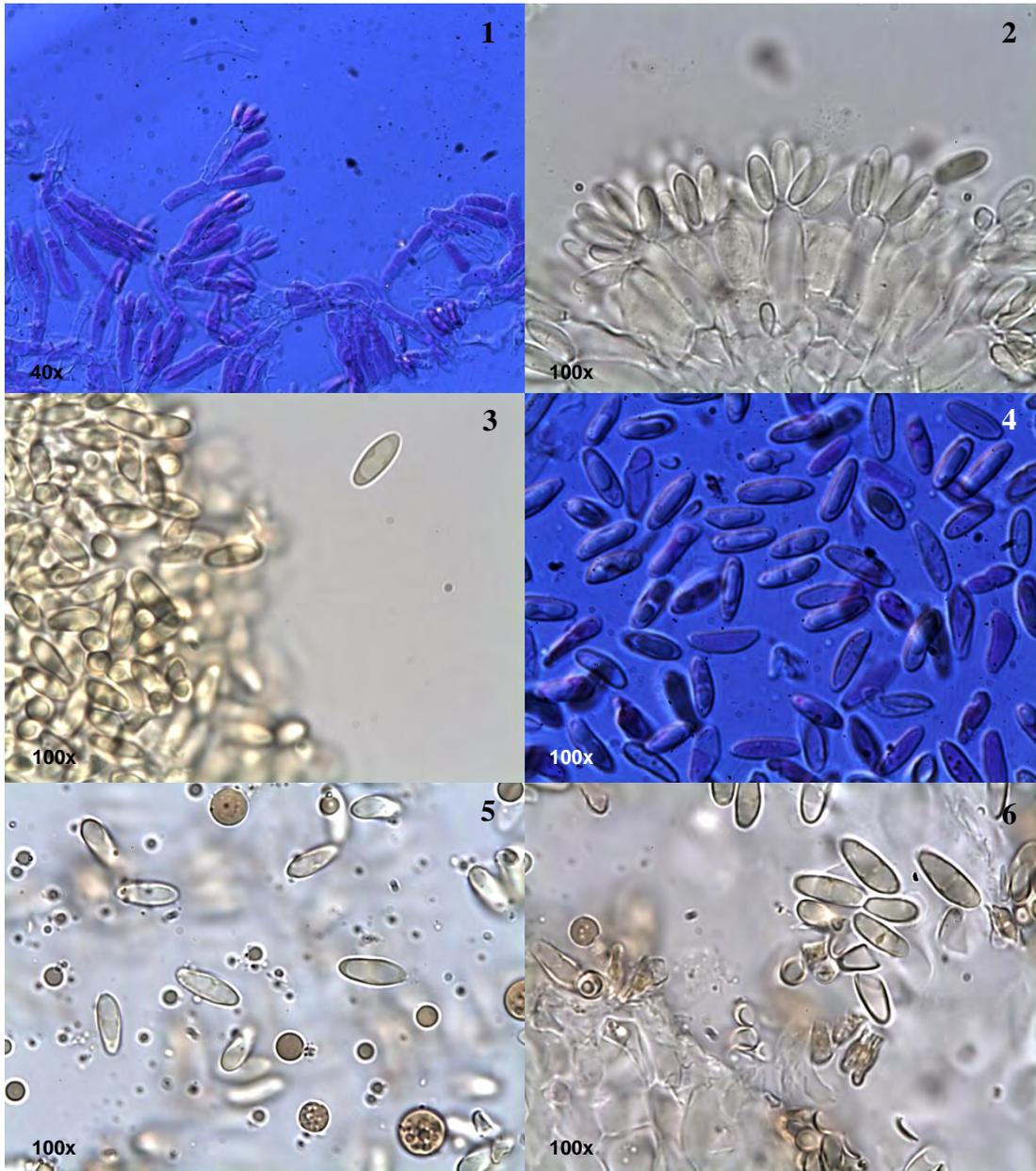


Figura 33. Características microscópicas de *Rhizopogon grupo salebrosus*. 1 y 2. Basidios con esporas, 3, 4, 5 y 6. Esporas en el microscopio de luz.

Tabla 5. Comparación de algunas especies del subgénero *Amylopogon*.

ESPECIE	PERIDIO (fresco)	GLEBA	REACCIÓN CON KOH Peridio	REACCIÓN CON FeSO ₄		ESPORAS (µm)
				Peridio	Gleba	
<i>R. subcaerulescens</i> var. <i>viridescens</i>	Blanco sucio, rizomorfos y fibras café	Gris oliva	Rápidamente negro tinta	Verde pasto	(-)	7-9 (-10) x 2.8- 3.3, DA
<i>R. subcaerulescens</i> var. <i>subcaerulescens</i>	Fibriloso, color tierra, blanco oliváceo, con fibras café canela	Avellana, café madera	Olivo oscuro	Azulado	Verde azulado	7-9 x 2.8-3.2, DA
<i>R. subcaerulescens</i> var. <i>subpannosus</i>	Cuando joven blanco y cubierto de fibras, con el tiempo café vináceo oscuro con rizomorfos toscos	Café canela oscuro	Verde oscuro	Olivo azulado	(-)	7-9 x 2.8-3.5 (- 3.8)
<i>R. ellenae</i>	Blanco todo el tiempo	Café oliva oscuro	Marrón oscuro oliváceo	Olivo	(-)	7-9 x 3-3.8 DA
<i>R. fallax</i>	Blanco y más o menos cubierto por finas fibras y rizomorfos, ambos tornándose café madera	Clara a olivácea	Vináceo a negro tinta	Olivo a olivo oscuro	(-)	6-7.5 x 2.6-3 (8- 10 x 3-3.5)
<i>R. idahoensis</i>	Blanco a café madera, café grisáceo oscuro. Conspicuos rizomorfos sobre la superficie.	Blanca, olivácea a gris-oliva	Morado a café vináceo o negro azulado	Olivo a negro tinta	(-)	(6.5) 7-9 x 2.3-3
<i>R. semireticulatus</i>	Blanco sucio cuando joven y fresco, blanquecino con áreas ocre oscuro y cubierto por rizomorfos café en ejemplares secos.	Pálida a café madera	Vináceo, después café grisáceo oscuro	Café olivo oscuro	(-)	7-9 (-10) x 2.6- 3.2
<i>R. salebrosus</i>	Color tierra, café tabaco a café canela, fibras adpresas café canela, con rizomorfos oscuros	Gris oliva a café canela	Verde olivo oscureciéndose a olivo-negro, en la superficie cortado vináceo	Oliva oscuro	(-)	7-9(-10) x 2.8- 3.5 (-4) DA

DA: Débilmente amiloides

Nota: Hay una tendencia del grupo *subcaerulescens* por el desarrollo de fibrillas café madera a café vináceo sobre la superficie del basidioma.

Información obtenida de Smith A.H., Zeller S.M. 1966. A preliminary account of the North American species of *Rhizopogon*. Memoirs of the New York Botanical Garden 14: 1-178.

BASIDIOMYCOTA —*Rhizopogon superiorensis* var.
mexicanus Hosford &Trappe, Boln. Soc. mex. Micol. 14:
11 (1980) Figura 34

Descripción: **Basidioma** 10-15 x 7-12 mm, globoso a subgloboso, ligeramente irregular. **Peridio** fresco amarillo pálido (3A3) a amarillo brillante (3A5), que después se mancha de salmón brillante (7A7), cubierto por fibras finas, rizomorfos adpresos en todo el basidioma, más evidentes en la parte basal, peridio seco, café naranja claro (5D5) con zonas café naranja rojizo (7E8), rizomorfos café oscuro (7F4). Reacciones químicas: KOH en el peridio fresco, rápidamente café rojizo oscuro, FeSO₄ oliva, pronto negro. **Gleba** fresca amarilla-verdosa (3C3) en ejemplares jóvenes y café chocolate (29F2) al madurar, firme con cámaras diminutas casi llenas de esporas y casi siempre exudando un fluido pegajoso, cuando seca crema-verdosa (4C3) en ejemplares jóvenes y café naranja (6F8) en maduros, consistencia muy dura, superficie vítrea al seccionarla. **Peridio** 320-670 µm de grosor, de hifas entretrejidas, 3.5-6 µm en diámetro, en KOH, hifas gelatinizadas, refractivas, de pared delgada, con muchos depósitos de pigmentos café-rojizos o magentas, entre y a lo largo de las hifas; en reactivo de Melzer, grandes glóbulos de pigmentos café-rojizos. Fíbulas no observadas. **Esporas** 7-8.5 x 3-4 µm, oblongas, de pared delgada < 0.5 µm, la mayoría con una gran gútula, hialinas individualmente, y cafés-amarillentas oscuras en masa en KOH y Reactivo de Melzer. Individualmente se puede apreciar un apéndice hilar de aproximadamente 1µm de largo. **Basidios** 6-8 esporas, clavados a subcilíndricos, 18-20 x 4-5 µm, de pared delgada y colapsan al madurar. **Trama** 25-40 µm de grosor, compuesta por hifas hialinas, entretrejidas, 3-4.5 µm de diámetro, refractivas, gelatinosas en KOH. **Subhimenio** gelatinoso-refractivo en KOH, filamentoso y pobremente delimitado por la trama central.

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, gregario, en bosque de pino. Julio-Septiembre.

Recolectas examinadas: MICHOACÁN, carretera Zinapécuaro- Ciudad Hidalgo, km 22, Queréndaro, 23 de julio de 2008, 25946 (MEXU); 4 de septiembre de 2008, 25989 (MEXU).

Código de barras: Aunque oficialmente no se ha sinonimizado, *R. superiorensis* y *R. succosus* son la misma especie (Trappe, comunicación personal), como se mencionó anteriormente, la variedad posee esporas más pequeñas. Nuestras recolectas se parecen en un 98% a *R. succosus*, confirmando nuestra identificación taxonómica con base en la morfología.

Discusión: Esta variedad fue descrita por primera vez por Hosford y Trappe (1980), para el estado de Chiapas, México, las recolectas se encontraron asociadas a bosque mixto de *Pinus-Arbutus*. La variedad se caracteriza por un peridio fresco amarillo, café rojizo oscuro cuando seca, gleba húmeda o pegajosa y esporas con una copa basal distintiva o truncamiento, la característica de la copa basal se refiere a lo que hoy en día se denomina apéndice hilar. Hosford y Trappe (1980) mencionan que los basidiomas a menudo poseen una red distintiva de rizomorfos, una gleba con cámaras diminutas rellenas de esporas, hifas refractivas en todas las estructuras y abundantes pigmentos cafés-rojizos en el peridio. *R. superiorensis* var. *mexicanus* tiene esporas 6-8 μm de longitud, mientras que la var. *superiorensis* son típicamente 9-11 μm . Aparte de eso, estas dos especies no difieren significativamente. Algo importante que hay que señalar, es que en ejemplares muy maduros, la gleba pierde estructura, es decir, las cámaras se licuan, y solo queda una masa muy compacta, vítrea, adherida al peridio. Uribe-Arróyave reporta *R. superiorensis* en su tesis de licenciatura para el estado de Tlaxcala.

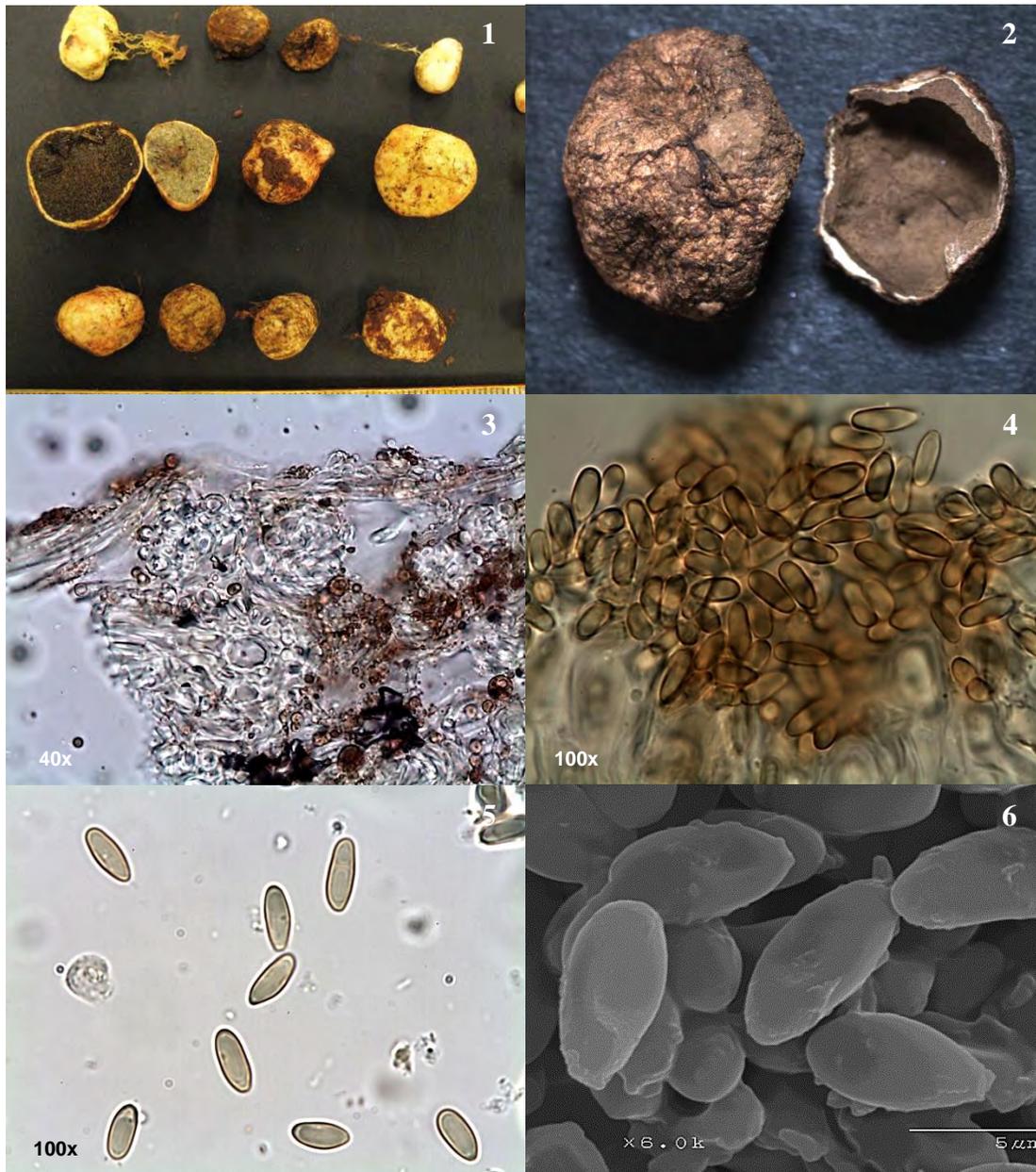


Figura 34. Características macro y microscópicas de *R. superiorensis* var. *mexicanus*. 1. Esporomas en fresco, 2. Esporoma en seco, 3. Estructura del peridio, 4. Trama, 5. Esporas en microscopio de luz. 6. Esporas en MEB

Descripción: **Basidioma** 10-23 x 7.5-11 mm, globoso a subgloboso, irregularmente convexo a depresso, margen flexuoso, borde continuo. **Superficie** cerosa, se vuelve arrugada, algunas veces agrietada, la cutícula se desprende completamente de forma radial hasta el centro. Peridio color crema (4A2-4A3) con tonos rosa magenta (12B5) y magenta oscuro (12F6-12F8). **Gleba** amarilla crema (4A2) a amarilla mostaza (5A4). Láminas muy apretadas, fusionadas, formando lóculos pequeños, redondos a alargados, 1-1.5 mm de longitud. Estípite ausente o presente como una base estéril rudimentaria, blanca, pequeña. Columela ausente. Olor cítrico y sabor insípido. Látex ausente. **Peridiopellis** de 90-100 μm de ancho, apariencia de un césped aglutinado con dermatocistidios perpendiculares al contexto, que sobresalen 5-7 μm de diámetro. **Contexto del peridio** 330-430 μm de ancho, estratificado en tres capas, cada una de 100 μm de grosor, el primer estrato está compuesto por hifas hialinas, entretrejidas, septadas, 3-4 μm en diámetro, la siguiente capa consiste en hifas globosas, hialinas, sin contenido, de pared delgada, 10-18 μm de diámetro, la última capa es heterómera, contiene tanto hifas tuburales como células globosas. **Estipitelis** tejido laxo, compuesta por hifas filamentosas, septadas, de puntas anchas y redondas, 3-6 μm , perpendiculares al contexto, el cual está conformado por hifas entretrejidas, filamentosas, septadas, de 2.5-3 μm , de pared delgada. **Trama** delgada 12-15 μm de grosor, hifas hialinas entretrejidas 3.5-4.5 μm en diámetro. **Basidios** 24-34 x 8-12 μm , hialinos, clavados, esterigmas 3-4 x 2 μm , bispóricos, rara vez tetraspóricos. **Cistidios** 45-55 x 7-10 μm , ventricosos-rostrados, surgiendo de la trama y sobrepasando los basidios, dispersos. **Esporas** 8-10 x 6-7.5 μm , Q = 1.19-1.46, subglobosas a elipsoides, hialinas. Ornamentación amiloide incompleta de verrugas irregulares abundantes, aisladas o conectadas en la base de sus vecinos para formar crestas irregulares, ramificadas y cortas de hasta 1 μm de altura en un retículo parcial pobremente desarrollado, el cual no es tan evidente bajo el microscopio de luz, pero sí bajo el microscopio electrónico de barrido. La cobertura amiloide de la ornamentación es aparentemente incompleta, cubriendo mayormente los ápices de las verrugas y crestas. Apéndice hilar prominente 1-2 x 1-1.5 μm disminuyendo.

Distribución, hábitat y estación: Jalisco, Veracruz, gregario, bosque de *Pinus* y Zacatonal con escaso pino. Agosto-Septiembre.

Recolectas examinadas: JALISCO: volcán Nevado de Colima, Tuxpan, 26 de septiembre de 2009, 26476 (MEXU); VERACRUZ: Camino al volcán Pico de Orizaba, La Perla, 31 de agosto de 2010, 26523 (MEXU).

Código de barras: La búsqueda de BLAST para los hipogeos de la familia Russulaceae, nos ayuda a conocer el subgénero al que pertenece nuestra especie, en este caso en particular, nuestra recolecta es 97.7% a *Russula* aff. *cessans* y en un 97% a *R. cessans*, ambas de hábito hipogeo, especies dentro del subgénero *Tenellula*. No podemos conocer la identidad de nuestra recolecta con este método, debido a la escasez de secuencias de rusuláceos hipogeos en la base de datos.

Discusión: Esta especie de *Russula* pertenece al subgénero *Tenellula*, de acuerdo con la búsqueda de BLAST realizado en NCBI, así como las características morfológicas. El subgénero *Tenellula* se caracteriza por tener láminas completamente suaves o moderadamente agrias en ejemplares jóvenes. Basidiomas generalmente pequeños, margen estriado y frágil, con frecuencia con un estípite subclavado. Pileipellis fácilmente separable, viscosa, con dermatocistidios pluriseptados, hifas laticíferas en la subpellis y el estípite. Esporada crema, ocre o amarilla. Basidios típicamente cortos y pocos cistidios, usualmente cortos también. Contexto a menudo amarillento. Primer registro para México de una especie hipogea del género *Russula*.

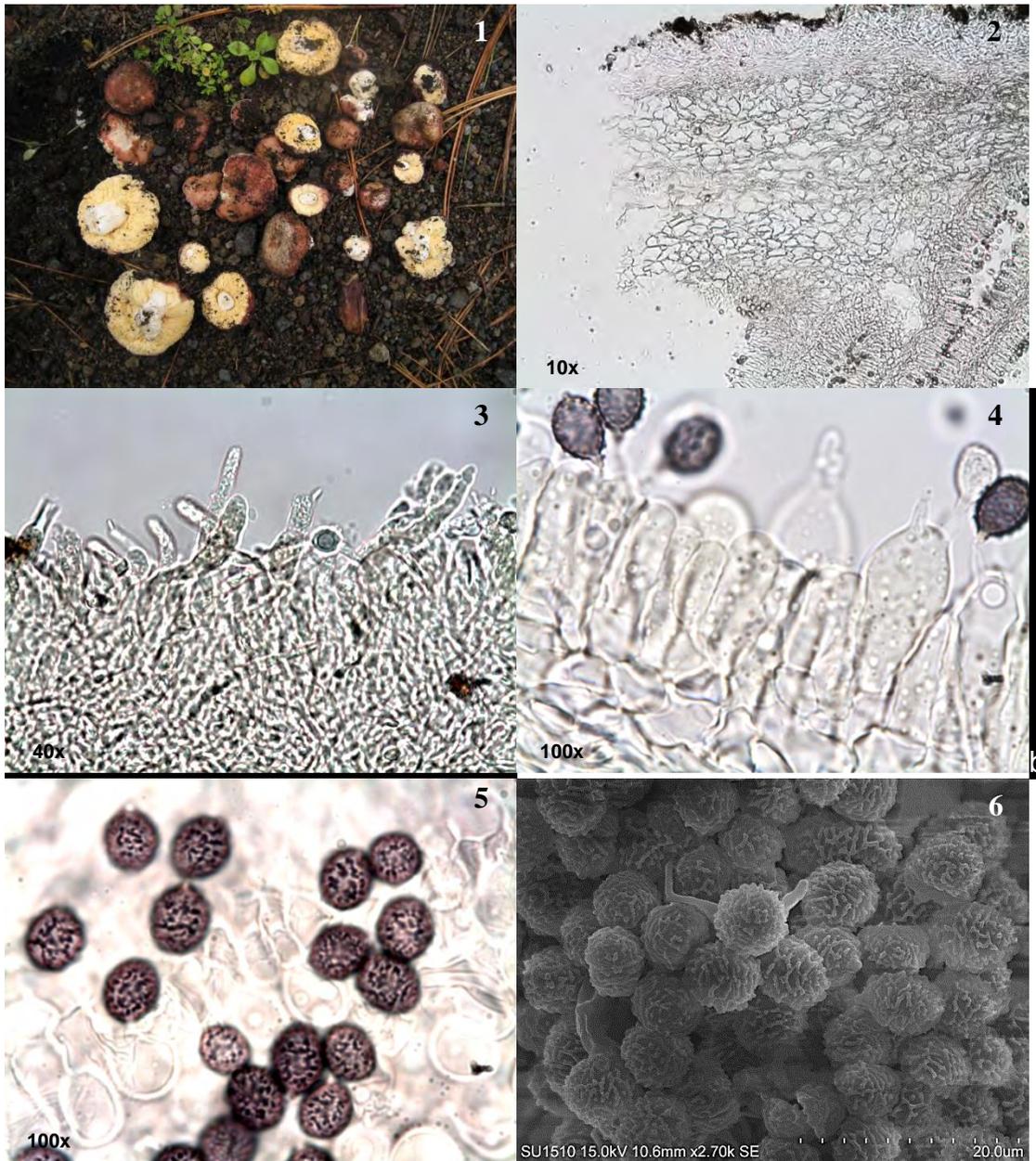


Figura 35. Características macro y microscópicas de *Russula* sp. 1. 1. Esporomas frescos, 2. Estructura del Peridio y trama, 3. Peridiopellis, 4. Elementos del himenio, basidios y esporas, 5. Esporas en microscopio de luz, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidioma** de 1.4-2 mm de diámetro, globoso a subgloboso, blanco con tonos cremas (3A2) de textura fibrosa, presenta cables abundantes, con materia orgánica adherida y abundante micelio en la parte basal. Peridio triple, de 1.2 mm de grosor, duro cuando seco. **Epicutis** de 240 μm de grosor compuesta por hifas hialinas entretreídas de 2-3 μm de diámetro, es un tejido muy laxo. **Mesocutis** de 70 μm de grosor, consiste en un tejido apretado de hifas paralelas, de 3 μm de diámetro. **Subcutis** pseudoparenquimatosa de 830 μm de grosor, hifas globosas sin contenido de 15-30 μm de diámetro. Todas las hifas del peridio son de pared delgada de < de 1 μm de grosor. Al cortar el ejemplar, el **endoperidio** reticulado se separa fácilmente y se invierte exponiendo los peridiolos cuyo ápice tiene un fluido pegajoso, probablemente como mecanismo de dispersión. El interior del peridio queda marcado por la base del peridiolo. **Peridiolos** negros piramidales de hasta 2 mm diámetro en la parte más ancha y hasta 1.5 mm de longitud, con un fluido pegajoso en el ápice. Gleba cuando madura, café claro (6D4), compuesta por hebras de capilicio, esporas y remanentes de la pared del peridiolo. **Capilicio** sinuoso de 2.5-4.5 μm de diámetro, de pared gruesa (\pm 2 μm), café oscuro, algunos son lisos y brillosos y otros tienen cristales adheridos. **Basidiosporas** cafés, elipsoides, cuando inmaduras lisas, de pared delgada, 9-12.3 x 6.3-7.3 μm ; al madurar son finamente verrucosas, presentan una cicatriz basal (Figura 36).

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, Puebla, subhipogeo, debajo de una capa delgada de acículas de pino, en bosque de *Pinus-Abies*. Agosto-October.

Recolectas examinada: MICHOACÁN, ladera sur del cerro grande Patambam, Los Reyes, 5 de octubre de 2009, 26489 (MEXU); PUEBLA, después de Soltepec, Soltepec, 30 de agosto de 2010, 26521 (MEXU).

Código de barras: Los resultados al aplicar el algoritmo de BLAST muestran que nuestra especie se parece en un 97.8-98% a *Pyrenogaster pityophilus* (= *S. pityophilus*), confirmando nuestra determinación con base en caracteres morfológicos.

Discusión: Esta especie es fácil de reconocer por sus peridiolos, los cuales son muy característicos, poseen un fluido pegajoso persistente el ápice, con la madurez, dichos peridiolos pierden estructura y se vuelven una masa polvorienta de esporas. Es importante mencionar que dentro de este género, el tamaño de las esporas varía dependiendo del estado de madurez, las esporas maduras son más pequeñas que las esporas inmaduras. El tamaño de las esporas va de 7-8 x 5-7 μm , nuestras esporas son un poco más grandes, esto debido al estado de madurez; sin embargo, se trata de la misma especie.

Respecto a la distribución, esta especie había sido citada para México para los estados de Tlaxcala y Veracruz, con nuestras recolectas se amplía el rango de distribución para dos estados más de la república.

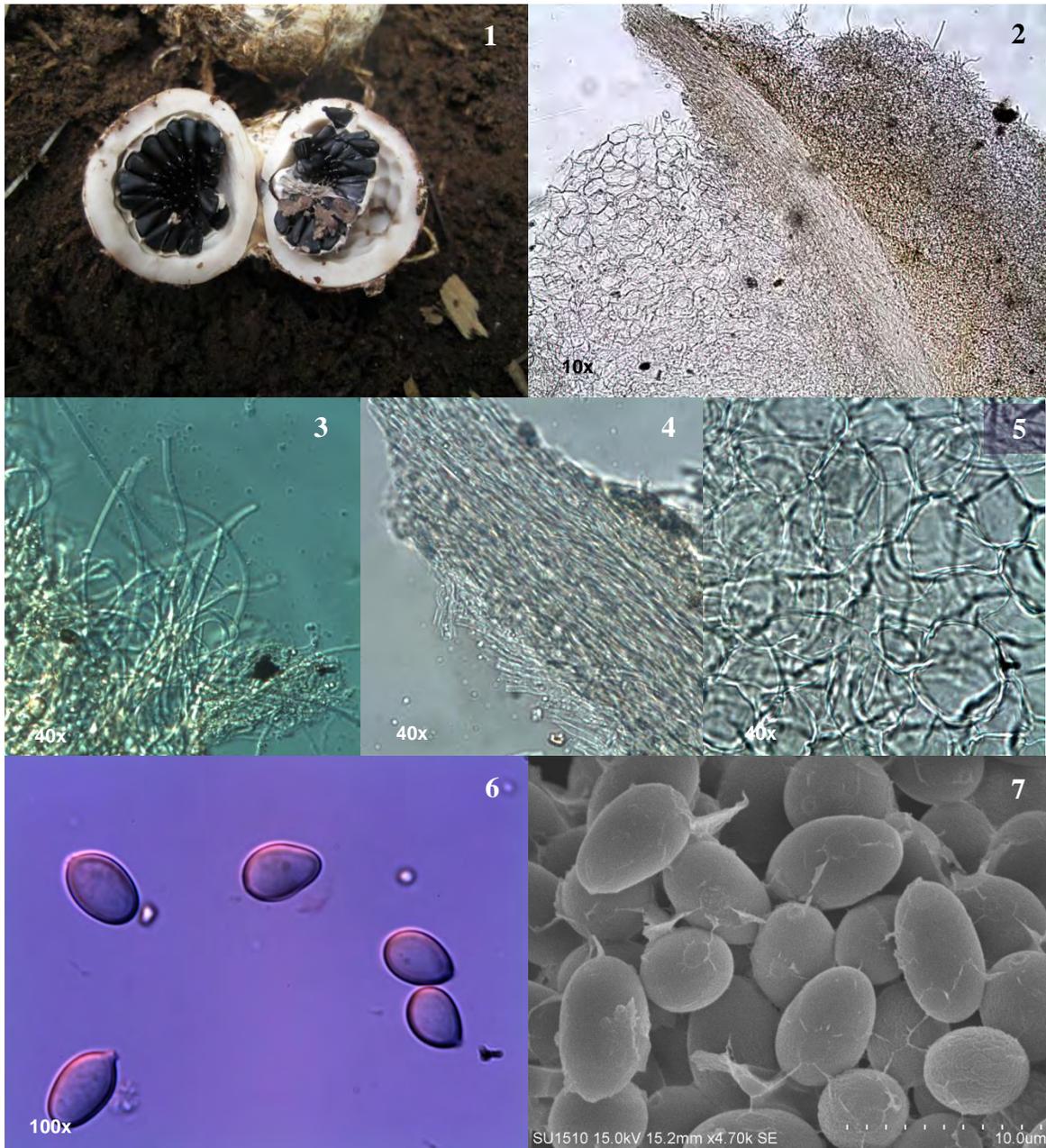


Figura 36. Características macro y microscópicas de *Schenella pityophilus*. 1. Esporoma y peridiolos, 2. Corte transversal del peridio, 3. Epicutis, 4. Mesocutis, 5. Subcutis, 6. Esporas en microscopio de luz, 7. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidioma** de 32 x 26 mm, globoso a subgloboso, superficie aterciopelada a algodonosa, materia orgánica adherida, presenta colores cremas (6A1-6A2) con tonos naranja (6A3, 6B3, 6A4-6A5) y en la parte apical un tono marrón (6D5). Peridio de dos capas, de 4 mm de grosor, duro cuando seco. **Capa micelial** aterciopelada de 137 μm de grosor, compuesta por hifas de 1.5-2 μm de diámetro, amarillo claro (4B3) a café claro (5D4). Estrato pseudoparenquimático de dos estratos. **El estrato exterior** 100 μm de grosor, consiste en un tejido plectenquimático, con hifas de 2 μm de diámetro. **El estrato interior** 4300 μm de grosor, tiene una estructura pseudoparenquimatoso, de hifas infladas, hialinas, de pared delgada de hasta 70 μm de diámetro, cerca de la gleba, estas células son más aplanadas. **Gleba** empalizada, negra al madurar, compuesta por peridiolos evanescentes, los cuales al madurar se desintegran, quedando solo la pared de éstos, la cual le da un aspecto empalizado a la gleba. **Capilicio** elástico, brillante, café rojizo oscuro (11F6) de hasta 4 μm de diámetro. **Basidiosporas** cafés, elipsoides, globosas en vista polar, verrucosas, cicatriz basal presente, 5-6 x 4-5 μm (Figura 37).

Distribución, hábitat y estación: Michoacán, subhipogeo, expuesto un tercio del esporoma, en bosque de *Pinus*. Octubre.

Recolectas examinada: MICHOACÁN, cerro Patambam, Tangancícuaro, 4 de octubre de 2009, 26482 (MEXU).

Código de barras: Nuestra recolecta se parece en un 94.5-94.9% a *S. pityophilus*, especie cercana a *S. simplex*, pero difieren totalmente en gran medida en la ornamentación de la spora (carácter diagnóstico) y la estructura de la gleba. Gracias a los datos morfológicos se pudo determinar que nuestra recolecta se trata de *S. simplex*.

Discusión: El arreglo de los peridiolos con paredes evanescentes, y sin evidencia de material adhesivo, el tipo de capilicio y la forma, tamaño, color y tipo de ornamentación de las esporas, son los caracteres distintivos de esta especie. Material maduro podría confundirse con *Radiigera*, sin embargo, la estructura empalizada de la gleba, una vez descompuestos los peridiolos, es un carácter clave para separarlos

macroscópicamente. Fue reportada por primera vez para México en Tlaxcala por Guzmán (1971).



Figura 37. Características macro y microscópicas de *Schenella simplex*. 1. Esporoma, 2. Corte transversal del peridio, 3. Capilicio y esporas, 4 y 5. Esporas en microscopio de luz, 6. Esporas en MEB.

Descripción: **Basidioma** 9 x 7 mm, globoso, blanco a ligeramente rosa-violáceo (12B2), al lastimarlo se torna café-rosáceo (12D3), superficie glabra a finamente pubescente. Rizomorfo emergente de la base de la columela, blanco, individual, grueso, aproximadamente 5 mm de largo. **Gleba** gelatinosa, verde oliva (30F4), cámaras globosas a irregulares, vacías. **Columela** distintiva, gruesa, poco ramificada, gris (1B1) translúcida. Olor a mamey. Sabor muy amargo. **Peridio** 35-100 (-200) μm de grosor, compuesto por hifas hialinas a café-amarillentas, entretrejidas, septadas, de pared delgada, 2-4 μm en diámetro, reactivo de Melzer café claro con el margen amarillo claro, KOH amarillo claro a dorado; fíbulas comunes en las hifas. Cistidios ausentes. **Trama** variable en el grosor, compuesta por hifas capitadas, hialinas, de pared delgada, 10-16 x 5-8 μm . **Basidios** hialinos, cilíndricos a clavados, de pared delgada, 25-45 x 5-6 μm , 6 esporas. **Esporas** sésiles o con un pedicelo corto, lisas, 4.5-5 x 2-2.5 μm , elipsoides a oblongas, paredes menores de 0.5 μm de grosor, en KOH hialinas a ligeramente verde claro, verde oliva en masa, en reactivo de Melzer ligeramente hialinas, oliva claro en masa.

Distribución, hábitat y estación: Estado de México, solitario, se encontró expuesto sobre el musgo en un bosque de *Abies religiosa*. Agosto.

Recolectas examinadas: ESTADO DE MÉXICO, La Puerta, Zinacantepec, 21 de agosto de 2009, 26107 (MEXU).

Discusión: *Hysterangium* y *Trappea* son muy parecidas macro y microscópicamente, pero las esporas tan pequeñas de *Trappea* permiten fácilmente separarla de las especies de *Hysterangium*. *Trappea darkeri* está registrada para los bosques templados de Norteamérica, un análisis filogenético de *T. phillipsii* y *T. pinyonensis* sugiere que se les debe dar un género propio dentro la familia Gallaceae (Hosaka et al. 2006). Segundo registro para México, el primero fue reportado en la tesis de Uribe-Arróyave (1998) para el estado de Tlaxcala.

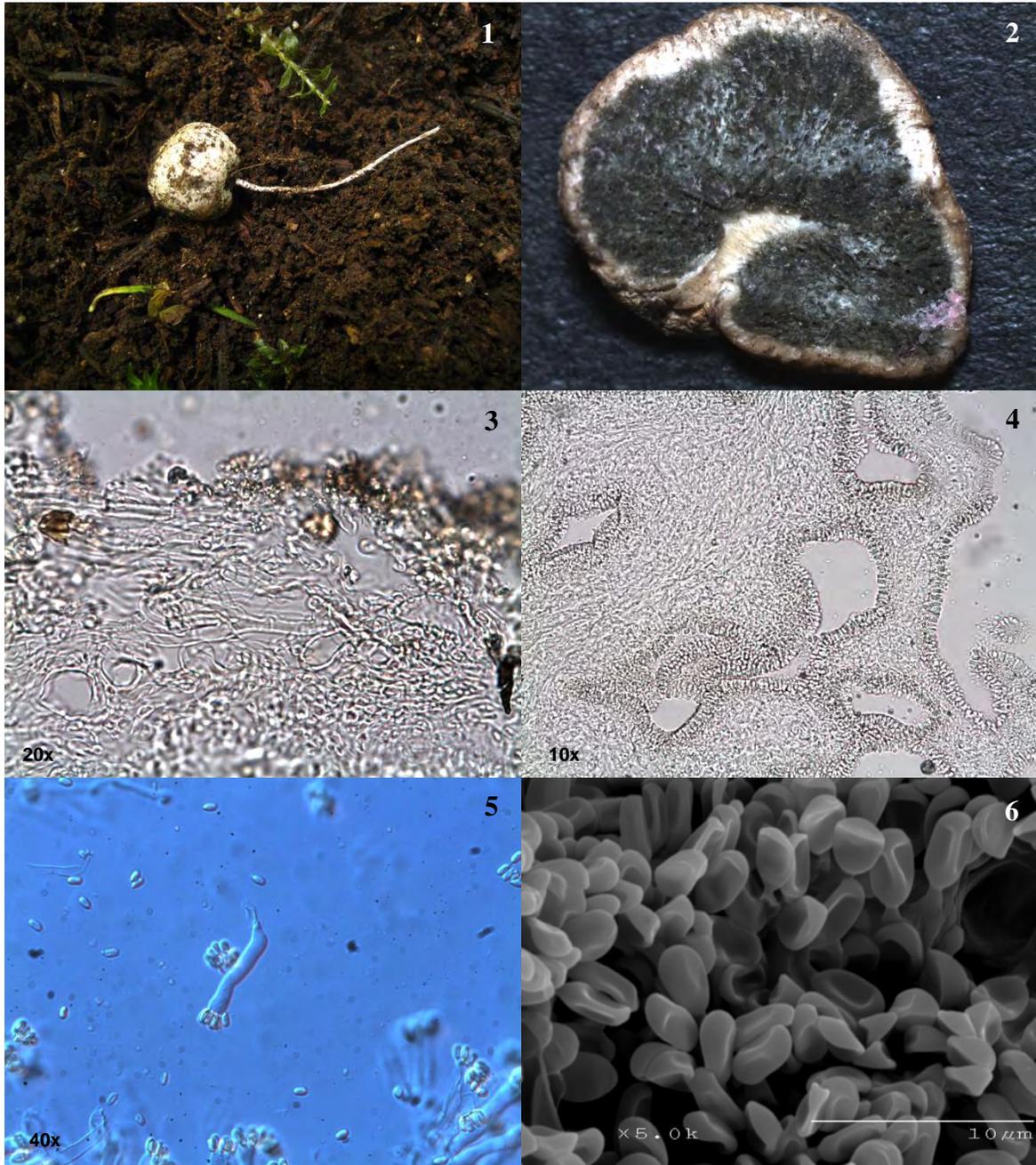


Figura 38. Características macro y microscópicas de *Trappea darkeri*: 1. Esporoma, 2. Gleba, 3. Estructura de la epicutis, 4. Estructura de la subcutis, 5. Basidio y esporas, 6. Esporas en MEB.

Delimitación de especies del género *Rhizopogon*

El umbral simple de GMYC arrojó 32 entidades (especies putativas de *Rhizopogon*), 21 agrupamientos y 11 son *singletons*, excluyendo el grupo externo (figura 39). El intervalo de confianza para el número de agrupamientos de ML fue 14-26 y 20-47 para el número de entidades de ML. El umbral múltiple obtuvo 20 agrupamientos y 9 *singletons*, dando un total de 29 entidades (especies putativas), excluyendo el grupo externo (figura 40). El intervalo de confianza para el número de agrupamientos de ML fue de 14-22 y 21-50 para el número de entidades de ML. Reid y Carstens (2012) mencionan que bajo ciertas circunstancias, la transición de eventos de especiación a eventos coalescentes puede ser indistinguible (por ejemplo, una combinación de eventos de especiación rápidos y tamaños efectivos de la población grandes) causando que el modelo tenga intervalos de confianza amplios.

Al comparar los dos árboles se encontraron más similitudes que diferencias. Dentro del subgénero *Amylopogon* se encuentra RGS. Nuestro objetivo era conocer si esta especie estaba compuesta por más de una entidad. Tanto el umbral simple como el múltiple separaron RGS en tres entidades, pero de distinta forma. Una entidad compuesta por la mayoría de nuestras recolectas de RGS, además de algunas secuencias de la base de datos, *Rhizopogon* sp., *R. semireticulatus*, *R. salebrosus* y *R. subcaerulescens* (entidad siete, figura 39; entidad cinco, figura 40). La otra entidad está compuesta exclusivamente por cuatro de nuestras secuencias (entidad ocho, figura 39 y entidad seis, figura 40). Esta entidad contiene tres recolectas provenientes de Michoacán [GO2009398 (MEXU 26487), GO2008056 (MEXU 25964), GO2008021 (MEXU 25942)] y una del estado de México [GO2009398 (MEXU 26487)]. Estas dos entidades son constantes en ambos umbrales. La única diferencia ocurrió en cómo se situó GO2010152-RGS (MEXU 26255). En el umbral múltiple, pertenece a la entidad uno (figura 40), compuesta además por *R. subpurpurescens*. En el umbral simple, se presenta a esta secuencias como un *singleton* (entidad uno, figura 39), cercano a la entidades dos y tres (figura 39), compuestas por *R. subpurpurescens*, pero no parte de la mismas entidades. La discrepancia entre el método y la morfología se da dentro de esta especie, que nombramos como *R. grupo salebrosus* (determinado con datos morfológicos) ya que la separa en tres entidades.

Dentro del subgénero *Rhizopogon*, compuesto por nuestra secuencia de *R. superiorenensis* var. *mexicanus* (*singleton*) y la entidad conformada por *R. luteolus*. Ambos clados fueron constantes en los dos árboles. Dentro del subgénero *Versicolores*, nuestras secuencias de *R. evadens* se agruparon dentro de una sola entidad (número 14 en la figura 39 y 12 en la figura 40). Dicho clado fue igual para ambos umbrales. La segunda diferencia se encontró dentro del subgénero *Villosuli*, sección *Versicolores*, el umbral simple agrupó en dos entidades las secuencias dentro de este subgénero (22 y 23), mientras que el umbral múltiple las agrupó todas dentro de una sola entidad (19). La tercer diferencia se encontró dentro del subgénero *Roseoli*, el umbral simple ubicó todas nuestras secuencias de *R. pseudoroseolus* en una sola entidad (26), mientras tanto, el umbral múltiple agrupó nuestras secuencias en la entidad (22 y 23). El umbral simple concuerda con la morfología, mientras que el umbral múltiple separa a GO-2010-077 (MEXU 26510), de nuestras otras secuencias de *R. pseudoroseolus*. Sin embargo, morfológicamente no hay alguna diferencia evidente en cuanto a la coloración y estructura del peridio o el tamaño y forma de las esporas.

DISCUSIÓN

Como resultado de este trabajo, de las 35 especies determinadas, se reportan siete nuevas especies para la ciencia, pertenecientes a los géneros *Elaphomyces*, *Hysterangium* y *Pachyphloeus*. Se obtuvieron 12 nuevos registros para México, todos a nivel específico. Debido a que la mayoría de los trabajos han sido realizados principalmente en el noroeste de México y sólo una pequeña parte en el centro del país, se logró abarcar una mayor área para este proyecto, dando como resultado la ampliación de la distribución de 14 especies.

Debido a que en la investigación se trabajó con 17 géneros, los retos taxonómicos fueron diferentes y se abordaron de distinta manera. Algunos géneros son más diversos que otros, dificultando la determinación a nivel específico. Por ejemplo, *Rhizopogones* un género muy diverso, con caracteres diagnóstico poco informativos y en algunos casos, las especies no están bien definidas. Por otro lado hay géneros donde se pueden apreciar diferencias morfológicas claras, como es el caso de *Hysterangium*, siendo la estructura del peridio y la ornamentación de la espora los caracteres que determinan la identidad del espécimen, haciendo mucho más fácil su determinación taxonómica.

Las claves taxonómicas existentes pueden ser muy útiles para darnos una aproximación sobre la identidad de nuestra recolecta, como es el caso de *Gautiera*, *Melanogaster*, *Hysterangium*; sin embargo, muchas veces, las claves no incluyen especies americanas, como es el caso de *Pachyphloeus*. Es recomendable corroborar las descripciones; no obstante, es muy probable encontrar especies no incluidas en los distintos trabajos, ya que en nuestro país este grupo no ha sido estudiado de manera exhaustiva y quizá se trate de un nuevo registro para México o una nueva especie.

Como se mencionó en la metodología, la recolecta de los hongos hipogeos fue oportunista, es decir, nuestros muestreos fueron realizados paralelamente con otros muestreos, ya sea de suelo o raíces. Quizá, esta pudo ser una limitante en el estudio, ya que el esfuerzo de muestreo no fue igual para todos los sitios. Sería preferible realizar el mismo esfuerzo de muestreo para todos los sitios, además, sería importante

considerar realizar recolectas durante las cuatro estaciones, con el fin de conocer la composición de especies a lo largo del año.

Nuestro trabajo contribuyó con el conocimiento de la diversidad de hongos hipogeos en un área de estudio particular; sin embargo, como se señaló en los antecedentes, los trabajos de Cázares et al. (1992) y Uribe-Arróyave (1998) son comparables con el nuestro, debido a la similitud de los objetivos y la metodología. Cázares et al. (1992) recolectaron en los estados de Nuevo León, Coahuila, Durango y Tamaulipas, reportando 24 especies de trufas, correspondientes a 12 géneros, de esos 12 géneros, se comparten ocho. A nivel específico, se comparten únicamente cinco especies, esto puede retribuirse al tipo de bosque donde se recolectaron los ejemplares, ya que en dicho trabajo, se enfocó principalmente en recolectas provenientes de bosques de encino, algunas de pino-encino y unas cuantas de bosques de abeto o pino.

Uribe-Arróyave (1998) reporta 21 especies de hongos hipogeos en el estado de Tlaxcala. En este trabajo se recolectó en cinco sitios, dos de ellos se encuentra en el parque nacional La Malinche. Las especies pertenecen a 20 géneros, de estos se comparten 12. A nivel específico, se comparten cinco especies, esto puede deberse a que su estudio incluyó varios tipos de vegetación, bosque de *Pinus*, bosque de *Abies religiosa*, bosque de *Pseudotsuga*, bosque de *Pinus-Quercus*, en nuestro trabajo. Estos resultados demuestran la gran diversidad de hipogeos que se pueden encontrar dependiendo de la época del año que muestreas, los tipos de vegetación que incorporas al proyecto y el esfuerzo de muestreo. Por ello es importante seguir conduciendo este tipo de proyectos direccionados hacia este grupo, con el fin de conocer la gran diversidad de trufas en nuestro país.

Para el pacífico noroeste de los Estados Unidos de América, Trappe et al. (2009) mencionan que los bosques de esa zona albergan más de 350 especies de trufas en 55 géneros, dicha diversidad es atribuida a la gran diversidad de plantas ectomicorrizas, comprendidas mayoritariamente en cinco familias, Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae y Salicaceae, junto con la diversidad de hábitats en el bosque y las condiciones climáticas. Además de esto, tienen a un grupo importante de investigadores, los cuales se han encargado de caracterizar dicha zona.

Respecto a los sitios de muestreo, los volcanes resultan ser los más homogéneos, en cuanto al tipo de muestreo, por lo tanto, son más comparables entre ellos, que el resto de los sitios. La Malinche fue el volcán con mayor número de especies (13), también fue el sitio con el mayor esfuerzo de muestreo (en comparación con los otros sitios, este volcán tiene más visitas por localidad), Nevado de Toluca con siete especies, Nevado de Colima, con seis especies, Pico de Orizaba con cinco especies, cerro Patambam con cuatro especies, Popocatepetl e Iztaccíhuatl con tres especies cada volcán, dos especies son reportadas para el Ajusco, y una especie para cerro San Andrés. No se registraron especies para el sitio Izta-Popo.

Hay dos taxones dentro del ENTM que consideramos es importante mencionarlos, *Rhizopogon* grupo *salebrosus* y *T. separans*. Ambos se encuentran distribuidos prácticamente en todo el eje. Gracias a estas características, ambas especies podrían emplearse como inóculo, con el fin de aumentar la supervivencia de plántulas en programas de reforestación, quizá *T. separans* tenga además un potencial dentro de las trufas comestibles.

Garibay-Orijel et al. (2013) realizaron un trabajo sobre los hongos presentes en bancos de esporas en el ENTM, reportando por primera vez a *T. separans* como formador de bancos de propágulos. Mencionan además, que los hongos con esporas o propágulos de resistencia son capaces de producir bancos de inóculo latente en el suelo, y pueden utilizarse para desarrollar inóculos para micorrizar plántulas y reforestar con ellas. Con esta información, podemos concluir que *T. separans* es una especie ecológicamente importante, y con un gran potencial de aplicación y aprovechamiento.

El conocimiento sobre los hongos hipogeos en México es escaso comparado con muchos otros grupos (Cázares et al. 1992). En México desde Lumholtz (1902) hasta Guevara et al. (2013) se han reportado 34 géneros y 79 especies, la mayoría de estas especies han sido encontradas en el noreste de México. Después de conocer estas cifras, surge la pregunta, ¿Por qué conocemos tan poco de las trufas en México? La respuesta más sencilla sería porque no hay mucha gente buscándolas. Si bien, se realizan expediciones para recolectar trufas en México, éstas son organizadas por extranjeros, específicamente los investigadores de Estados Unidos, en colaboración

con Gonzalo Guevara, el único investigador residente en México que trabaja con esporomas de hongos hipogeos como su línea central de investigación. Por lo tanto no existe un grupo integral en México, que impulse dicha investigación. Hay muchas razones detrás de la respuesta, quizá pueda deberse a su hábito, a la dificultad para encontrarlas. No obstante, en los últimos 10 años, el interés ha crecido, y se han hecho aportaciones en diferentes géneros.

Como se mencionó anteriormente, los esfuerzos de muestreo de las trufas han sido direccionados en zonas específicas del país, principalmente en los estados de Nuevo León, Coahuila, Tamaulipas, Estado de México, Tlaxcala, y Durango. Éste es el primer trabajo donde se abarca una zona tan grande como el ENTM. Los bosques de pino son los mejor representados en este trabajo; sin embargo, aún faltan muchos sitios por muestrear, los cuales tiene gran potencial, como lo son los bosques de *Quercus*, *Abies* y *Pseudotsuga*. Una zona de muestreo que sería interesante explorar en México, es la Sierra Madre Occidental, ya que es la única cordillera que no está representada para este grupo. Algo que es importante señalar es que nuestro trabajo estuvo delimitado casi exclusivamente a muestreos de verano, debido a que aún no conocemos la corología de las trufas en México, sería considerable muestrear durante todo el año.

En México aún quedan muchos sitios por explorar, si bien existen algunos que se han muestreado más intensivamente, como es el caso del noreste del país, hay otros sitios donde solo se ha recolectado una vez y eso no es suficiente para poder hacer cualquier tipo de conjeturas. Otro de los problemas al que nos enfrentamos es la dificultad de determinar muchas especies con únicamente con datos morfológicos, muchas veces solo tenemos una recolecta de alguna especie, y para su determinación se requiere tener todos los estadios de desarrollo, entre los cuales pueden existir diferencias significativas en cuanto al color, tamaño, olor u ornamentación de las esporas. En ese caso, una simple recolecta no es suficiente para la determinación. Por otra parte, Bidartondo y Bruns (2002) mencionan que debido a las similitudes morfológicas entre algunas especies, más de una especie puede haber sido clasificada bajo un solo nombre, es en estos casos, donde los análisis de ADN pueden ayudarnos a resolver este tipo de ambigüedades.

El potencial de este grupo es muy grande, desde aportaciones al conocimiento taxonómico, su aplicación como inóculo, hasta su aprovechamiento económico como un recurso no maderable. En México no se ha podido explotar este recurso. La razón principal es la falta de información sobre grupo. La dinámica sobre el conocimiento de las trufas en Europa es totalmente distinta al de América, específicamente, Estados Unidos. En Europa, el conocimiento sobre los hipogeos tiene un origen empírico, principalmente en el Mediterráneo, y este conocimiento tradicional ha sido complementado con las aportaciones de la ciencia. Mientras que en Estados Unidos, este conocimiento se ha ido construyendo poco a poco, gracias al interés de algunos investigadores, que se han multiplicado con el paso del tiempo y han permeado dicho interés en la comunidad, un ejemplo claro de ello es la organización *North American Truffling Society*, dicho interés, ha impactado también en nuestro país.

Nuestra propuesta es tomar como ejemplo lo que han hecho en Estados Unidos, y aplicarlo en México con algunas modificaciones, de acuerdo con nuestros recursos y necesidades. Debemos saber cuáles especies reportadas para la república tienen un potencial económico. En México por lo que conocemos, hay al menos siete que podrían ser aprovechadas de esta manera, *Tuber gibbosum*, *T. regiomontanum*, *T. separans*, *Melanogaster ambiguus*, *M. minysporus*, *M. tuberiformis* y *M. variegatus*. Destacando *T. gibbosum* conocida como la trufa blanca de Oregón, esta especie se puede encontrar en los mercados locales de dicho estado, es bastante popular y se vende a un precio moderado (\$1,300 por kg). Sin duda esta especie se podría explotar económicamente. Se considera que existe suficiente información para diseñar distintos programas, los cuales promuevan la creación de empleos para muchas personas. La plantación de árboles truferos no solo beneficiaría a los campesinos, sino también al bosque y todo lo que esto desencadena.

Respecto a los resultados obtenidos con el GMYC para la delimitación de especies del género *Rhizopogon*, en general tuvo un desempeño congruente con las identificaciones morfológicas. Por ejemplo, nuestras recolectas de *R. pseudoroseolus*, el umbral simple concordó con las determinaciones morfológicas; sin embargo, el umbral múltiple dividió la morfoespecie en dos entidades. Respecto a la morfoespecie *R. evadens*, ambos umbrales la recuperan en una sola entidad. No obstante, el único

conflicto se presentó dentro del subgénero *Amylopogon*, específicamente *R.* grupo *salebrosus*, el modelo lo separó en tres entidades. Como se mencionó en la discusión particular de *R.* grupo *salebrosus* la división dada por el análisis de delimitación de especies no puede relacionarse con la división de las entidades a nivel morfológico, ya que las únicas variantes morfológicas son las reacciones químicas, carentes de carácter diagnóstico.

Se ha señalado que muchas especies de hongos bien fundamentadas y estrechamente relacionadas, especialmente, especies hermanas/especies crípticas difieren en solo una o varias posiciones nucleotídicas a nivel de los ITS (Nilsson et al. 2008; Kovács et al. 2011). Bidartondo y Bruns (2002) mencionan que una sola región (ITS) quizá no pueda distinguir entre especies estrechamente relacionadas. Quizá para cada subgénero dentro del género deban diseñarse cebadores específicos para poder separar entre especies. Sin embargo el uso de los ITS como código de barras de especies es especialmente importante cuando se trabaja con muestras ambientales (Schoch et al. 2012).

CONCLUSIONES

- Con base en la información morfológica, se determinaron 35 especies de hongos hipogeos para el ENTM. Contribuyendo con 19 especies para el país, incluyendo nuevas especies y primeros registros. Ahora son 98 los taxones de trufas para México. De las 16 especies reportadas anteriormente para la república, se amplió el conocimiento de su distribución y se tienen más localidades por taxón.
- Se presentan siete nuevas especies (*Elaphomyces* sp. nov. 1, *Elaphomyces* sp. nov. 2, *Hysterangium* sp. nov. 1, *Hysterangium* sp. nov. 2, *Pachyphloeus* sp. nov. 1, *Pachyphloeus* sp. nov. 2, *Pachyphloeus* sp. nov. 3), indicando la importancia de este tipo de estudios para el conocimiento de la diversidad de trufas en México.
- Se reportan 12 nuevos registros para México (*E. incrassata*, *H. cerebriformis*, *H. coriaceum*, *G. angustispora*, *Gymnomyces* sp. 1, *Gymnomyces* sp. 2, *Lactarius* sp., *Melanogaster* aff. *tuberiformis*, *Russula* sp., *R. evadens*, *R. pseudorosaelus* y *Rhizopogon* grupo *salebrosus*).
- *Rhizopogon* grupo *salebrosus* fue el taxón con mayor número de recoletas de esporomas (21), y se encontró en nueve de los 28 sitios.
- *Tuber separans* se recolectó en 11 ocasiones y se distribuyó en diez sitios de los 28 muestreados, siendo este taxón con mayor distribución en el ENTM.
- El volcán con mayor riqueza fue La Malinche, con 13 especies. Los sitios exactos con mayor riqueza fueron Nevado de Colima y carretera Morelia-Atécuaro, con seis especies cada uno.
- Con base en las divergencias genéticas calculadas y los arboles filogenéticos inferidos sugieren que RGS es en realidad un grupo compuesto por al menos dos especies.

LITERATURA CITADA

- Akaike H. 1974. A new look at the statistical identification model. *IEEE Trans Automatic Control* 19:716-723.
- Albee-Scott S. 2007. The phylogenetic placement of the Leucogastrales, including *Mycolevis siccigleba* (Cribbeaceae), in the Albatrellaceae using morphological and molecular data. *Mycological Research* 111: 653-662.
- Allen M.F. 1991. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Barraclough T.G., Nee S. 2001. Phylogenetics and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*. 16:391-399.
- Barraclough T.G., Herniou E. 2003. Why do species exist? Insights from sexuals and asexuals. *Zoology* 106:275-282.
- Barraclough T.G., Hughes M., Ashford-Hodges N., Fujisawa T. 2009. Inferring evolutionarily significant units of bacterial diversity from broad environmental surveys of single-locus data. *Biology Letters* 5:425-428.
- Benítez-Badillo G. 1986. Árboles y flores del Ajusco. Instituto de Ecología. Museo de Historia Natural de la Ciudad de México. México. 183 p.
- Bidartondo M.I., Bruns T.D. 2002. Fine-level mycorrhizal specificity in the Monotropoideae (Ericaceae): specificity for fungal species groups. *Molecular Ecology* 11(3):557-569.
- Binder M., Bresinsky A. 2002. Derivation of a polymorphic lineage of gasteromycetes from boletoid ancestors. *Mycologia* 94:85-98.
- Bonito G.M., Gryganskyi A.P., Trappe J.M., Vilgalys R. 2010. A global meta-analysis of *Tuber* ITS rDNA sequences: species diversity, host associations and long-distances dispersal. *Molecular Ecology* (19):4994-5008
- Calonge F.D., Vidal J.M. 2005. *Gastrolactarius denudatus* (Basidiomycotina, Russulales), a new species from Mexico. *Revista Mexicana de Micología* 21:59-62.
- Castellano, M.A. 1988. The taxonomy and ecology of the genus *Hysterangium* (Basidiomycotina, Phallales). Corvallis, OR: Oregon State University. Ph.D. thesis.

- Castellano M.A., Trappe J.M., Maser Z., Maser, C. 1989. Keys to spores of the genera of hypogeous fungi of North Temperate forests with special reference to animal mycophagy. Mad River Press: Eureka, California.
- Castellano M.A., Bougher N.L. 1994. Consideration of the taxonomy and biodiversity of Australian ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 159:37-46.
- Castellano M.A., Trappe J.M., Vernes K. 2011. Australian species of *Elaphomyces* (Elaphomycetaceae, Eurotiales, Ascomycota). *Australian Systematic Botany* 24:32-57.
- Castellano M.A., Guevara G., García J., Trappe J.M. 2012. *Elaphomyces appalachiensis* and *E. verruculosus* sp. nov. (Ascomycota Eurotiales, Elaphomycetaceae) from eastern North America. *Revista Mexicana de Micología* 35:17-22.
- Cázares E., García J., Castillo J., Trappe J.M. 1992. Hypogeous fungi from northern México. *Mycologia* 84:341-359.
- Cázares E., Guevara G., García J., Trappe J.M. 2008. *Melanogaster minysporus* sp. nov., a new sequestrate member of the Boletales from Mexico. *Revista Mexicana de Micología* 28:67-69.
- Ceccarelli F.S., Sharkey M.J., Zaldívar-Riverón, A. 2012. Species identification in the taxonomically neglected, highly diverse, Neotropical parasitoid wasp genus *Notiospathius* (Braconidae: Doryctinae) based on an integrative molecular and morphological approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62:485–495.
- Chacón S., Guzmán G. 1983. Ascomycetes poco conocidos en México. *Boletín Sociedad Mexicana de Micología* 18:183-218.
- Ciardo D.E., Schär G., Böttger E.C. et al. 2006. Internal transcribed spacer sequencing versus biochemical profiling for identification of medically important yeasts. *Journal of Clinical Microbiology* 44:77–84.
- Claridge A.W. 2002. Ecological role of hypogeous ectomycorrhizal fungi in Australian forests and woodlands. *Plant Soil* 244:291-305.
- Claridge A.W., Trappe J.M. 2005. Sporocarp mycophagy: nutritional, behavioral, evolutionary, and physiological aspects. En: *The fungal community—its organization*

- and role in the ecosystem, 3ra ed. (Dighton J.; White J.M., Oudemans P., eds.). CRC Press: Boca Raton, Florida., pp. 599-611.
- Claridge A.W., May T.W. 1994. Mycophagy by Australian mammals. *Australian Journal of Ecology* 19:251-275.
- Contreras-Medina R., Castañeda-Aguado D., González-Zamora A. 2007. Gimnospermas. En: Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana (Luna I., Morrone J.J., Espinosa D., eds.). UNAM, México D.F., pp. 129-138.
- Delgado-Aguilera J., Julián-Delgado C., Delgado-Muriel M.L. 1997. Glosario micológico. *Lactarius*: Boletín de la sociedad micológica 6:23-71
- De Queiroz K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* 56(6):879-886.
- Donaldson R., Stoddart M. 1994. Detection of hypogeous fungi by Tasmanian bettong (*Bettongia gaimardi*: Marsupialia; Macropodoidea). *Journal of Chemical Ecology* 20: 1201-1207.
- Drummond A.J., Rambaut A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7:214.
- Eberhardt U., Verbeken A. 2004. Sequestrate *Lactarius* species from tropical Africa: *L. angiocarpus* sp. nov. and *L. dolichocaulis* comb. nov. *Mycological Research* 108:1042-1052.
- Espinosa D., Ocegueda S., Aguilar C., Flores O., Llorente-Bousquets J. 2008. El conocimiento biogeográfico de las especies y su regionalización natural, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 33-65.
- Esselstyn J.A., Evans B.J., Sedlock J.L., Anwarali Khan .FA., Heaney L.R. 2012. Single-locus species delimitation: a test of the mixed Yule-coalescent model, with an empirical application to Philippine round-leaf bats. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 279:3678-3686.
- Farjon A. 1996. Biodiversity of *Pinus* (Pinaceae) in Mexico: speciation and paleoendemism. *Botanical Journal of the Linnean Society* 121:365-384.
- Farjon A., Styles B.T. 1997. *Pinus* (Pinaceae). The New York Botanical Garden, New York. *Flora Neotropical Monograph* 75.

- Ferrusquía-Villafranca I. 2007. Ensayo sobre la caracterización y significación biológica. En: Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana (Luna I., Morrone J.J., Espinosa D., eds.). UNAM, México D.F., pp 7-23.
- Fogel R., Trappe J.M. 1978. Fungus consumption (mycophagy) by small animals. *Northwest Science* 52:1-31.
- Fontaneto D., Herniou E.A., Boschetti C., Caprioli M., Melone G., Ricci C., Barraclough T.G. 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biol.* 5:e87.
- Fujisawa T., Barraclough T.G. 2013. Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed Yule coalescent (GMYC) approach: A revised method and evaluation on simulated datasets. *Systematic Biology* 62:707-724
- García J., Pedraza D., Silva C.I., Andrade R.L., Castillo J. 1998. Hongos del estado de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro.
- García-Romero L., Guzmán G., Herrera T. 1970. Especies de macromicetos citadas de México I: Ascomycetes, Tremellales y Aphilophorales. *Boletín Sociedad Mexicana de Micología* 4:54-76.
- Gardes M., Bruns T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes: application to identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2:113-118
- Garibay-Orijel R., Morales-Marañón E., Domínguez-Gutiérrez M., Flores-García A. 2013. Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84:153-169.
- Gerdemann J.W., Trappe J.M. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir No. 5*. The New York Botanical Garden. 76 p.
- Grubisha L.C., Trappe J.M., Molina R., Spatafora J.W. 2002. Re-examination of infrageneric relationships inferred from phylogenetic analyses of ITS sequences. *Mycologia* 94:607-619.
- Guevara G., Castellano M.A., García E., Cázares E., Trappe J.M. 2008a. *Hysterangium* (Hysterangiales, Hysterangiaceae) from northern Mexico. *Revista Mexicana de Micología* 28:95-100.

- Guevara G., Bonito G., Cázares E., Rodríguez J.A., Vilgalys R. 2008b. *Tuber regimontanum*, new species of truffle from Mexico. *Revista Mexicana de Micología* 26:17-20.
- Guevara G., Stielow B., Tamm H., Cázares E., Göker M. 2011. *Genea mexicana* sp. nov., and *Geopora toluca*, sp. nov., new hypogeous Pyronemataceae from Mexico, and the taxonomy of *Geopora* reevaluated. *Mycological Progress* 11(3):711-724.
- Guevara G., Bonito G., Trappe J.M., Cázares E., Williams G., Healy R.A., Schadt C., Vilgalys R. 2012. New North American truffles (*Tuber* spp.) and their ectomycorrhizal associations. *Mycologia* 105(1):194-209.
- Guevara G., Bonito G., Cázares E. 2013. Revisión del género *Tuber* (Tuberaceae: Pezizales) de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*: S39-S49.
- Guzmán G. 1971. Notas sobre los géneros *Radiigera* y *Mesophelliopsis*. *Boletín Sociedad Mexicana de Micología* 5:7-11.
- Guzmán G. 1988. Dos nuevas especies de *Macowanites* en México. *Revista Mexicana de Micología* 4:115-121.
- Healy R.A., Bonito G., Guevara G. 2009. The truffle genus *Pachyphloeus* in the U.S. and Mexico: phylogenetic analysis and a new species. *Mycotaxon* 107:61-71.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L. 2002. Biological identification through DNA barcodes, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270:313-321.
- Hibbett D.S. 2004. Trends in morphological evolution in homobasidiomycetes inferred using maximum likelihood: a comparison of binary and multistate approaches, *Systematic Biology* 53:889-903.
- Hibbett D.S. 2007a. After the gold rush, or before the flood? Evolutionary morphology of mushroom-forming fungi (agaricomycetes) in the early 21st century. *Mycological Research* 111:1001-1018.
- Hibbett D.S., Binder M., Bischoff J.F., [et al.]. 2007b. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 111:509-547.
- Hibbett D.S., Ohman A., Glotzer D., Nuhn M., Kirk P., Nilsson R.H. 2011. Progress in molecular and morphological taxon discovery En: *Fungi and options for formal classification of environmental sequences. Fungal Biology Reviews* 25:38-47.

- Hosaka K., Bates S.T., Beever R.E., Castellano M.A., Colgan III W., Dominguez L.S., Nouhra E.R., Geml J., Giachini A.J., Kenney S.R., Simpson N.B., Spatafora J.W., Trappe J.M. 2006. Molecular phylogenetics of the gomphoid-phalloid fungi with an establishment of the new subclass Phallomycetidae and two new orders. *Mycologia* 98:949-959.
- Hosford D.R., Trappe J.M. 1980. Taxonomic studies on the genus *Rhizopogon* II. Notes and new records of species from Mexico and Caribbean countries. *Boletín Sociedad Mexicana de Micología* 14:3-15.
- Hudson R.R. 1990. Gene genealogies and coalescent process. En: Futuyma D.J, Antonivics J. editors. Oxford, Oxford University Press, p. 1-44.
- Izzo A., Agbowo J., Bruns T.D. 2005. Detection of plot-level changes in ectomycorrhizal communities across years in an old-growth mixed conifer forest. *New Phytologist* 166:619–30.
- Johnson C.N. 1996. Interactions between mammals and ectomycorrhizal fungi. *Trends in Ecology and Evolution* 11:503-507.
- Kong A., Hernández Y., Estrada-Torres A., Montoya A. 2008. Notes on *Cystangium pineti* and *Macowanites mexicanus* (Russulaceae). *Cryptogamie Mycologie* 29 (3): 285-292
- Lanave C., Preparata G., Saccone C., Serio G. 1984. A new method for calculating evolutionary substitution rates. *Journal of Molecular Evolution* 20: 86-93
- Lebel T., Tonkin J.E. 2007. Australasian species of *Macowanites* are sequestrate species of *Russula* (Russulaceae, Basidiomycota). *Australian Systematic Botany* 20: 355-381.
- Lumholtz C. 1902. Unknown Mexico. Vol. 1. Charles Scribner's Sons, New York. 530 pp.
- May RM. 2011. Why worry about how many species and their loss? *PLoS Biology* 9(8):e1001130.
- Malajczuk N., McComb A.J., Lonergan J.F. 1975. Phosphorus uptake and growth of mycorrhizal and uninfected seedlings of *Eucalyptus calophylla* R. Br. *Australian Journal of Botany* 23: 231-238.

- Maser C.M., Trappe J.M., Nussbaum R.A. 1978. Fungal-small mammal interrelationships with emphasis on Oregon coniferous forests. *Ecology* 59: 799-809.
- Maser C., Claridge A.W., Trappe J.M. 2008. *Trees, truffles and beasts: how forests function*. Rutgers University Press: Piscataway, New Jersey. 281 p.
- McGraw R., Duncan N., Cázares E. 2002. Fungi and other items consumed by blue-gray tail dropper slug (*Prophyaon coeruleum*) and the papillose tail dropper slug (*Prophyaon dubium*). *The Veliger* 45: 261-264.
- Miller S.L. 1986. Hypogeous fungi from the Southeastern United States I. The genus *Rhizopogon*. *Mycotaxon* 27: 193-218.
- Miller S.L., McClean T.M., Walker J.F., Buyck B. 2001. A molecular phylogeny of the Russulales including agaricoid, gasteroid and pleurotoid taxa. *Mycologia* 93:344-354.
- Miller S.L., Larsson E., Larsson K.H., Verbeken A., Nuytinck J. 2007. Perspectives in the new Russulales. *Mycologia* 98: 960-970.
- Monaghan M.T., Wild R., Elliot M., Fujisawa T., Balke M., Inward D.J.G., Lees D.C., Ranaivosolo R., Eggleton P., Barraclough T.G., Vogler A.P. 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Systematic Biology* 58:298-311.
- Montoya A., Kong A., Estrada-Torres A., Cifuentes J., Caballero J. 2004. Useful wild fungi of La Malinche National Park, Mexico. *Fungal Diversity* 17: 115-143.
- Moreno-Arroyo, B., J. Gómez y E. Pulido. 2005. *Tesoros de nuestros montes. Trufas de Andalucía*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía. 352 pp. Córdoba.
- Moreno-Fuentes A., Aguirre-Acosta E., Pérez-Ramírez L. 2004. Conocimiento tradicional y científico de los hongos en el estado de Chihuahua, México. *Etnobiología* 4:89-105.
- Nee S., May R.M., Harvey P.H. 1994. The reconstructed evolutionary process. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 344:305-311.
- Pons J., Barraclough T.G., Gomez-Zurita J., Cardoso A., Duran D.P., Hazell S., Kamoun S., Sumlin W.D., Vogler A. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology* 55(4):595-609.

- Posada D. 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25:1253-1256.
- Puillandre N., Modica M.V., Zhang Y., Sirovitch L., Boisselier M.C., Cruaud C., Holford M., Samadi S. 2012. Large scale species delimitation method for hyperdiverse groups. *Molecular Ecology* 21:2671-2691.
- Rambaut A., Drummond A.J. 2007. Tracer v1.4. Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Reid N.M., Carstens B.C. 2012. Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: A Bayesian implementation of the General Mixed Yule Coalescent model. *BMC Evolutionary Biology* 12:196.
- Rodríguez-Palma M., Estrada-Torres A. 1996. Some Stemonitales (myxomycetes) from the State of Tlaxcala, Mexico. *Mycotaxon* 60:79-102.
- Sanderson M.J. 2003 r8s: inferring absolute rates of molecular evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. *Bioinformatics* 19:301-302.
- Sarnari M. 1998. Monografía ilustrada del Genere *Russula* in Europa. Tomo Primo. 799 p.
- Schoch C.L., K.A., Huhndorf S., V., Spouge J.L., Levesque C.A., Chen W. y Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:6241-6246.
- Singer R., 1985. Studies on secotiaceous fungi I. A new species of *Cystangium*. *Mycologia Helvetica* 1(6):417-425.
- Singer R., Smith A.H. 1960. Studies on secotiaceous fungi. IX. The astrogastraceous series. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* 21:1-112.
- Smith A.H., Zeller S.M. 1966. A preliminary account of the North American species of *Rhizopogon*. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 14: 1-178.
- Smith S.E., Read D.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press: San Diego California. 605 p.
- Smith M.E., Trappe J.M., Rizzo D.M. 2006. *Genea*, *Genabea* and *Gilkeya* gen. nov.: ascomata and ectomycorrhiza formation in a *Quercus* woodland. *Mycologia* 98: 699-716.

- Stamatakis A. 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22: 2688-2690.
- Stielow B., Bubner B., Hensel G., Münzenberger B., Hoffmann P., Klenk H.P., Göker M. 2010. The neglected hypogeous fungus *Hydnotrya bailii* Soehner (1959) is a widespread sister taxon of *Hydnotrya tulasnei* (Berk.) Berk. y Broome (1846). *Mycological Progress* 9: 195-203.
- Talavera G., Dinca V., Vila R. 2013. Factors affecting species delimitations with the GMYC model: Insights from butterfly survey. *Methods in Ecology and Evolution* 4:1101-1110
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Steker G., Nei M., Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Tang C.Q., Leasi F., Obertegger U., Kieneker A., Barraclough T.G., Fontaneto D. 2012. The widely used small subunit 18S rDNA molecule greatly underestimates true diversity in biodiversity surveys of the meiofauna. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:16208-16212.
- Thaxter R. 1922. A revision of Endogonaceae. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences* 57: 291-351.
- Thiers H.D. 1984. The secotioid syndrome. *Mycologia* 76: 1-8.
- Trappe J.M. 1977. Three New Endogonaceae: *Glomus constrictus*, *Sclerocystis clavispora* and *Acaulospora scrobiculata*. *Mycotaxon* 6:359-366.
- Trappe J.M. 1979. The orders, families, and genera of hypogeous Ascomycotina (truffles and their relatives). *Mycotaxon* 9:297-340.
- Trappe J.M. 1988. Lessons from alpine fungi. *Mycologia* 80:1-10.
- Trappe J.M. 2004. The ways of herbaria: A cautionary note for users of herbarium collections. *Inoculum* 55:3-4.
- Trappe J., Guzmán G. 1971. Notes on some hypogeous fungi from Mexico. *Mycologia* 63:317-345.
- Trappe J.M., Maser C. 1977. Ectomycorrhizal fungi, interactions of mushrooms and truffles with beasts and trees. En: *Mushrooms and man: an interdisciplinary*

- approach to mycology (Walters, T., ed.). Linn-Benton Community College: Albany, Oregon. 165-179.
- Trappe J.M., Guzmán G., Vázquez Salinas C. 1979. Observaciones sobre la identificación, distribución y uso de los hongos del género *Elaphomyces* en México. Boletín Sociedad Mexicana de Micología. 13: 145-150.
- Trappe J.M., Claridge A.W. 2005. Hypogeous fungi: evolution of reproductive and dispersal strategies through interactions with animals and mycorrhizal plants. En: The fungal community— its organization and role in the ecosystem. 3rd ed. (Dighton J.; White J.M., Oudemans P., eds). CRC Press: Boca Raton, Florida. pp. 613-623.
- Trappe M., Evans F., Trappe J.M. 2007. Field guide to North American Truffles. Ten Speed Press: Berkeley, California. 136 p.
- Trappe J.M., Molina R., Luoma D.L., Cázares E., Pilz D., Smith J.E., Castellano M.A., Miller S.L., Trappe M. 2009. Diversity, ecology, and conservation of truffle fungi in forests of the Pacific Northwest. Gen Tech. Rep. PNW GTR-722. Portland, Oregon: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. 202 p.
- Uribe-Arróyave I.E. 1998. Contribución al conocimiento de los hongos hipogeos del estado de Tlaxcala. México, DF: Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Tesis de maestría.
- Valencia-Ávalos S. 2007. Encinos. En: Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana (Luna I.; Morrone J.J., Espinosa, D., eds.). UNAM, México D.F. pp. 139-148.
- Vizzini A., Zotti M., Ryman S., Ghigone S. 2010. Typification of *Octaviania rubescens* (Paxillineae, Boletales) and phylogenetic hypotheses for genus *Alpova*. Mycologia 102 (4):967-975.
- Wanscher J.H., Koerup A. 1991. Farver i farver. 6ta Ed. Copenhagen: Politikens Forlag.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: PCR Protocols: a guide to methods and applications. (Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J., eds.). Academic Press, New York, USA:315–322.

- Wiens J.J. 2007. Species delimitation: New approaches for discovering diversity, *Systematic Biology* 56(6):875-878.
- Yang Z. 1994. Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: Approximate methods. *Journal of Molecular Evolution* 39:306-314.
- Yarza-de la Torre E. 1992. Volcanes de México. UNAM, Instituto de Geografía, México, D.F. 173 p.
- Zeller S. M., Dodge C.W. 1929. *Hysterangium* in North America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 16:83-123.

APÉNDICE I

Tabla 6. Resultados de la búsqueda de BLAST.

Espece	MEXU	Longitud sec (pb)	Taxón	No. acceso GenBank	% identidad
<i>Cystangium pineti</i>	26260	663	<i>Russula roseipes</i>	AY061716	98.6
			<i>R. tuci</i>	AY061720	97.2
<i>Endogone lactiflua</i>	26462	564	<i>E. lactiflua</i>	AY997045	90
			<i>Mucoromycotina</i> sp.	JF414170	86
	26211	628	<i>E. lactiflua</i>	AY997045	90.3
			<i>Mucoromycotina</i> sp.	JF414170	84.6
<i>Elaphomyces sp. nov. 1</i>	26085	658	<i>E. aculeatus</i>	JF907985	84
			<i>E. maculatus</i>	JF907988	83.6
<i>Gautieria angustispora</i>	26540	1005	<i>Gautieria</i> sp.	AF377093	93.4
			<i>G. monticola</i>	AF377090	93.2
			<i>G. monticola</i>	AF377075	98.2
<i>G. monticola</i>	26450	996	<i>Gautieria</i> sp.	AF377084	98
			<i>G. monticola</i>	AF377076	98.3
	26451	1023	<i>G. monticola</i>	AF377075	98.1
<i>Genea</i> aff. <i>arenaria</i>	26058	737	<i>G. arenaria</i>	DQ206845	95.6
			<i>G. arenaria</i>	DQ206848	94.8
<i>Gymnomyces sp. 1</i>	26457	660	<i>G. fallax</i>	AY239349	100
			<i>G. fallax</i>	AY239329	99.5
<i>Gymnomyces sp. 2</i>	26509	671	<i>G. xerophilus</i>	DQ028476	97.3
			<i>G. xerophilus</i>	DQ028474	97.2
	26266	669	<i>G. xerophilus</i>	DQ028474	97.6
			<i>G. xerophilus</i>	AY603102	97.5

Continuación **tabla 6...**

Especie	MEXU	Longitud sec (pb)	Taxón	No. acceso GenBank	% identidad
<i>Hydnotrya cerebriformis</i>	26498	703	<i>H. cerebriformis</i>	GQ140235	98.5
			<i>H. cerebriformis</i>	GQ140234	98.5
<i>Hysterangium sp. nov. 1</i>	26257	622	<i>Hysterangium</i> cf. <i>separabile</i>	DQ974810	95.6
			<i>Hysterangium</i> sp.	JN022511	80.2
<i>H. coriaceum</i>	26454	596	<i>H. crassirhachis</i>	DQ365631	95.8
			<i>H. separabile</i>	EU563921	95
	26503	540	<i>H. crassirhachis</i>	DQ365631	95.5
			<i>H. crassirhachis</i>	DQ365632	95.3
	26507	513	<i>H. crassirhachis</i>	DQ365632	95.7
			<i>H. crassirhachis</i>	DQ365633	95.5
<i>H. velatisporum</i>	26168	667	<i>Hysterangium</i> cf. <i>separabile</i>	DQ974810	94.2
			<i>H. separabile</i>	EU563921	79.6
	26459	339	<i>Hysterangium</i> cf. <i>separabile</i>	DQ974810	90.1
			<i>Hysterangium</i> sp.	JN022511	80.8
	26517	614	<i>Hysterangium</i> cf. <i>separabile</i>	DQ974810	93.4
			<i>H. separabile</i>	EU563921	81.7
<i>Hysterangium aff. separabile</i>	26505	596	<i>H. crassirhachis</i>	DQ365631	95.4
			<i>Hysterangium</i> sp.	JN022511	94.9

Continuación **tabla 6...**

Especie	MEXU	Longitud sec (pb)	Taxón	No. acceso GenBank	% identidad
<i>Lactarius</i> sp.	25958	676	<i>L. fumosus</i>	EU819438	98.5
			<i>L. fumosus</i>	JN797631	98.1
<i>Leucogaster rubescens</i>	26094	566	<i>L. rubescens</i>	JN022513	87.1
			<i>L. citrinus</i>	EU846258	85
<i>Melanogaster aff. tuberiformis</i>	26464	734	<i>Melanogaster</i> sp.	JN022499	98.5
			<i>M. intermedius</i>	EU784372	95.9
<i>Pachyphloeus sp. nov. 1</i>	26842	647	<i>P. marroninus</i>	EU543209	99.2
			<i>Pachyphloeus</i> sp.	HQ324990	94.3
	26844	608	<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102398	99.6
			<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102409	99.5
<i>Pachyphloeus sp. nov. 2</i>	26847	660	<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102398	99.5
			<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102409	99.3
	26843	649	<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102398	99.7
			<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102409	99.5
	26845	650	<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102398	99.7
			<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102409	99.5

Continuación **tabla 6...**

Especie	MEXU	Longitud sec (pb)	Taxón	No. acceso GenBank	% identidad
<i>Pachyphloeus</i> sp. nov. 3	26846	661	<i>P. carneus</i>	EU543202	98.4
			<i>Pachyphloeus</i> sp.	JN102477	98.2
<i>Rhizopogon</i> <i>guzmanii</i>	26256	683	<i>R. guzmanii</i>	AF377130	99.2
			<i>Rhizopogon</i> sp.	AF351873	98
<i>R. evadens</i>	26242	703	<i>R. roseolus</i>	JQ888193	99.4
			<i>R. evadens</i>	AY880945	99
	26241	743	<i>R. roseolus</i>	JQ888193	99.3
			<i>R. evadens</i>	AY880945	98.7
	26470	744	<i>R. roseolus</i>	JQ888193	99.2
			<i>R. evadens</i>	AY880945	99
	26288	731	<i>R. roseolus</i>	JQ888193	99.4
			<i>R. evadens</i>	AY880945	99
	26147	744	<i>R. roseolus</i>	JQ888193	99.3
			<i>Rhizopogon</i> sp.	DQ680181	98.8
<i>R. fuscorubens</i>	26084	522	<i>R. fuscorubens</i>	AY880943	99.8
			<i>Rhizopogon</i> sp.	AJ515426	99.6
<i>R. pseudoroseolus</i>	26480	617	<i>R. roseolus</i>	GQ179939	97.7
			<i>R. roseolus</i>	GQ179942	97.7
	26486	658	<i>R. pseudoroseolus</i>	GQ267483	97.3
			<i>R. rubescens</i>	CQ267486	97.3
	26510	684	<i>R. rubescens</i>	GQ267846	96.8
			<i>R. pseudoroseolus</i>	GQ267483	96.8

Continuación **tabla 6...**

Especie	No. recolecta	Longitud sec (pb)	Taxón	No. acceso GenBank	% identidad
RGE	26516	682	<i>Rhizopogon</i> sp.	AF377160	99.8
			<i>Rhizopogon</i> sp.	AF377161	99.7
RGE	26471	682	<i>Rhizopogon</i> sp.	AF377164	99
			<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	98.7
	26456	682	<i>Rhizopogon</i> sp.	AF377164	99.3
			<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.2
	26499	682	<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.7
			<i>R. salebrosus</i>	DQ822822	99.6
	25964	682	<i>Rhizopogon</i> sp.	AF377160	99.1
			<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99
	26167	733	<i>R. salebrosus</i>	AF351874	99.4
			<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.3
	26455	682	<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.4
			<i>R. salebrosus</i>	DQ822822	99.3
	26487	682	<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.5
			<i>R. salebrosus</i>	DQ822822	99.3

Continuación **tabla 6...**

Especie	MEXU	Longitud sec (pb)	Taxón	No. acceso GenBank	% identidad
	26179	733	<i>R. salebrosus</i>	AF351874	99.6
			<i>Rhizopogon aff. salebrosus</i>	AY880931	99.6
	26495	682	<i>Rhizopogon aff. salebrosus</i>	AY880931	99.3
			<i>R. salebrosus</i>	DQ822822	99.2
	26474	682	<i>Rhizopogon sp.</i>	AF377164	99
			<i>Rhizopogon aff. salebrosus</i>	AY880931	98.8
			<i>R. salebrosus</i>	AF351874	99.5
	26173	733	<i>Rhizopogon aff. salebrosus</i>	AY880931	99.5
			<i>R. salebrosus</i>	AF351874	99.4
	26170	733	<i>Rhizopogon aff. salebrosus</i>	AY880931	99.4
			<i>R. subpurpurescens</i>	AF058308	98.6
	26255	684	<i>R. subpurpurescens</i>	EU669318	98.5
			<i>Rhizopogon aff. salebrosus</i>	AY880931	99.4
	26171	733	<i>R. salebrosus</i>	AF351874	99.4
			<i>Rhizopogon aff. salebrosus</i>	AY880931	99.4
	26172	733	<i>R. salebrosus</i>	AF351874	99.4

RGE

Continuación **tabla 6...**

Especie	No. recolecta	Longitud sec (pb)	Taxón	No. acceso GenBank	% identidad	
RGE	25942	682	<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.3	
			<i>R. salebrosus</i>	DQ822822	99.2	
	26487	682	<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.5	
			<i>R. salebrosus</i>	DQ822822	99.3	
	26460	682	<i>Rhizopogon</i> sp.	AF377164	99.6	
			<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.3	
	26285	692	<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.6	
			<i>R. salebrosus</i>	DQ822822	99.3	
	26512	682	<i>Rhizopogon</i> aff. <i>salebrosus</i>	AY880931	99.6	
			<i>R. salebrosus</i>	DQ822822	99.4	
	R. superiorensis var. mexicanus	25946	818	<i>R. succosus</i>	AF62933	98.1
				<i>R. luteolus</i>	EU784398	95.3
25989		818	<i>R. succosus</i>	AF62933	98.1	
			<i>R. luteolus</i>	EU784398	95.3	
Russula sp.	26476	573	<i>Russula</i> aff. <i>cessans</i>	JF834474	97.7	
			<i>Russula</i> aff. <i>cessans</i>	JF834326	97.7	
	26523	621	<i>Russula</i> sp.	JF834374	97.2	
			<i>R. cessans</i>	FJ845437	97	

Continuación **tabla 6...**

Especie	No. recolecta	Longitud sec (pb)	Taxón	No. acceso GenBank	% identidad
<i>Schenella pityophilus</i>	26489	548	<i>Pyrenogaster pityophilus</i>	FJ789613	98
			<i>P. pityophilus</i>	FJ789612	97.8
<i>S. simplex</i>	26482	546	<i>S. pityophilus</i>	JX431059	94.9
			<i>S. pityophilus</i>	FR821766	94.5
<i>Tuber maculatum</i>	25995	613	<i>Tuber</i> sp.	GQ221447	99.7
			<i>T. oligospermum</i>	JN392248	89.4
	26218	606	<i>Tuber</i> sp.	GQ221447	98.7
			<i>T. oligospermum</i>	FM205505	90
<i>T. separans</i>	26514	615	<i>T. separans</i>	GQ221448	97.4
			<i>T. separans</i>	HM485387	97.2
	26522	614	<i>T. separans</i>	HM485387	97.9
			<i>T. separans</i>	HM485386	97.8

APÉNDICE II

21 entidades
11 *singletons*

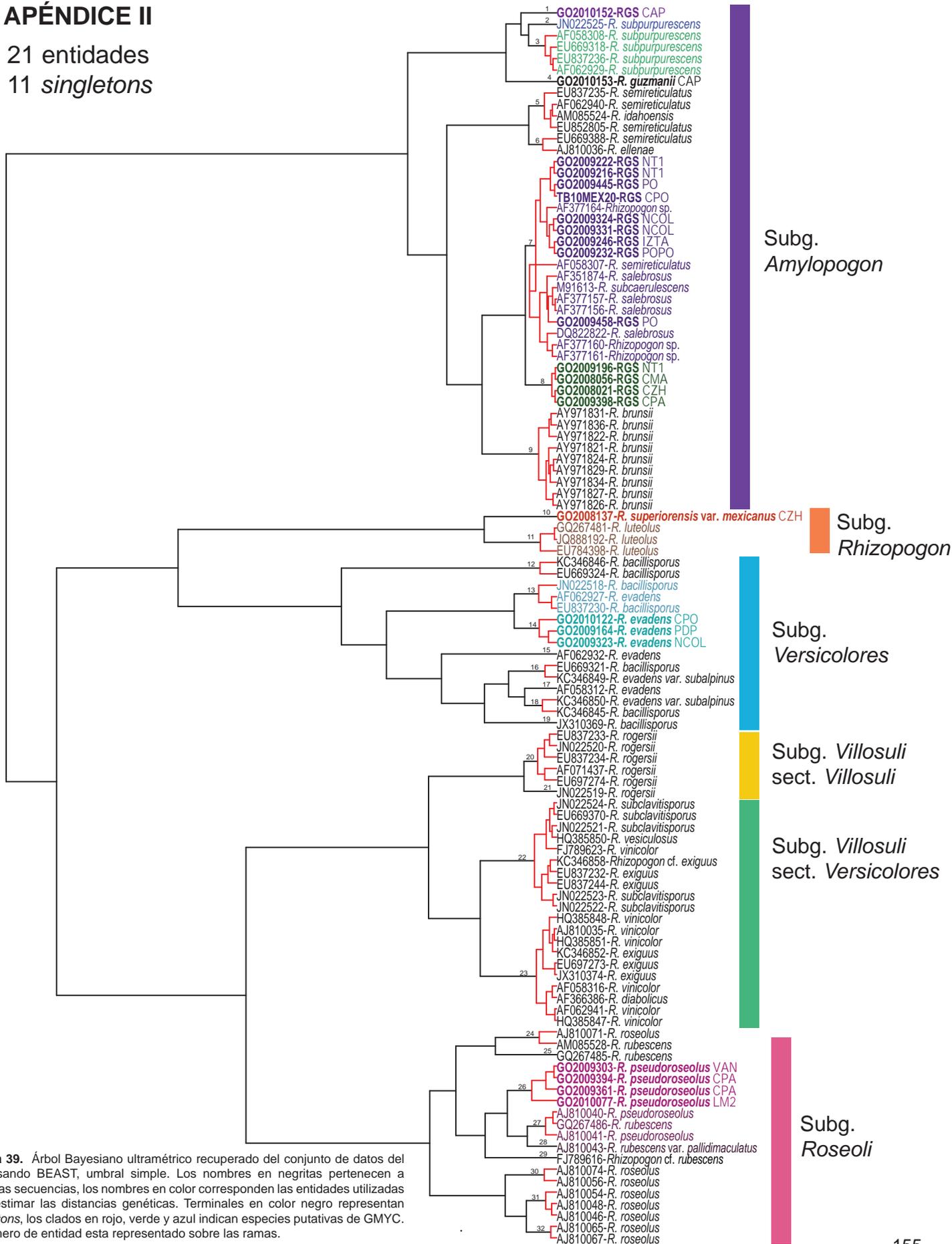


Figura 39. Árbol Bayesiano ultramétrico recuperado del conjunto de datos del ITS usando BEAST, umbral simple. Los nombres en negritas pertenecen a nuestras secuencias, los nombres en color corresponden las entidades utilizadas para estimar las distancias genéticas. Terminales en color negro representan *singletons*, los clados en rojo, verde y azul indican especies putativas de GMYC. El número de entidad está representado sobre las ramas.

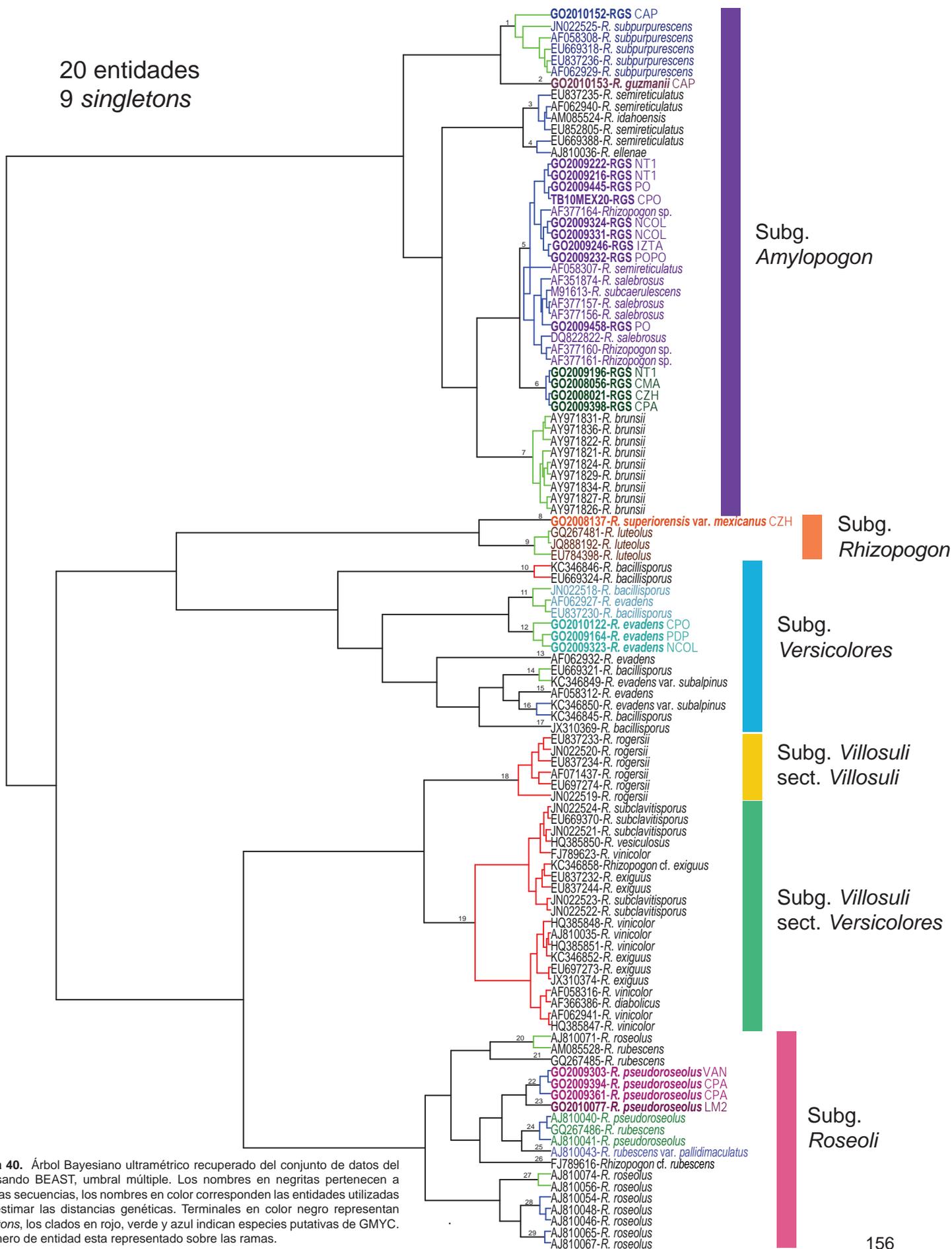


Figura 40. Árbol Bayesiano ultramétrico recuperado del conjunto de datos del ITS usando BEAST, umbral múltiple. Los nombres en negritas pertenecen a nuestras secuencias, los nombres en color corresponden las entidades utilizadas para estimar las distancias genéticas. Terminales en color negro representan *singletons*, los clados en rojo, verde y azul indican especies putativas de GMYC. El número de entidad está representado sobre las ramas.

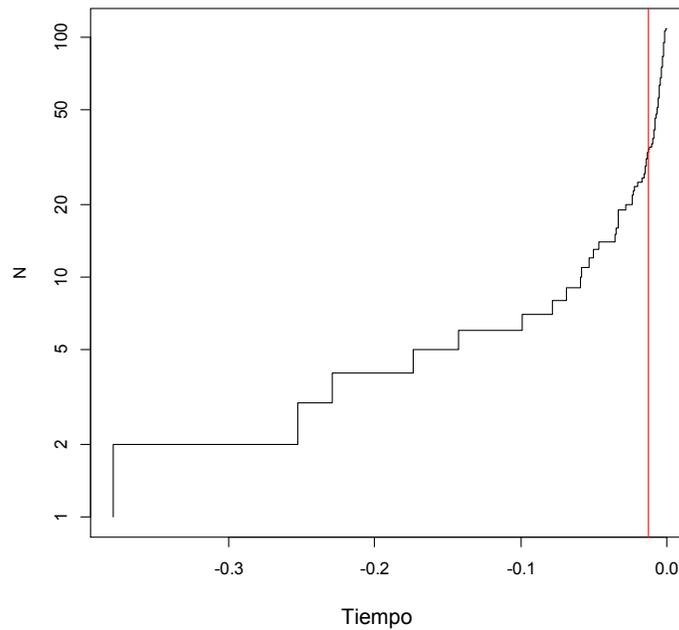


Figura 41. **Diversificación de linajes (eje y representa el numero acumulado de linajes) a través del tiempo (eje x representa estimaciones de tiempo relativo).** La línea vertical representa el umbral óptimo entre los eventos de especiación y los eventos de coalescencia. Gráfica basada en umbral simple.

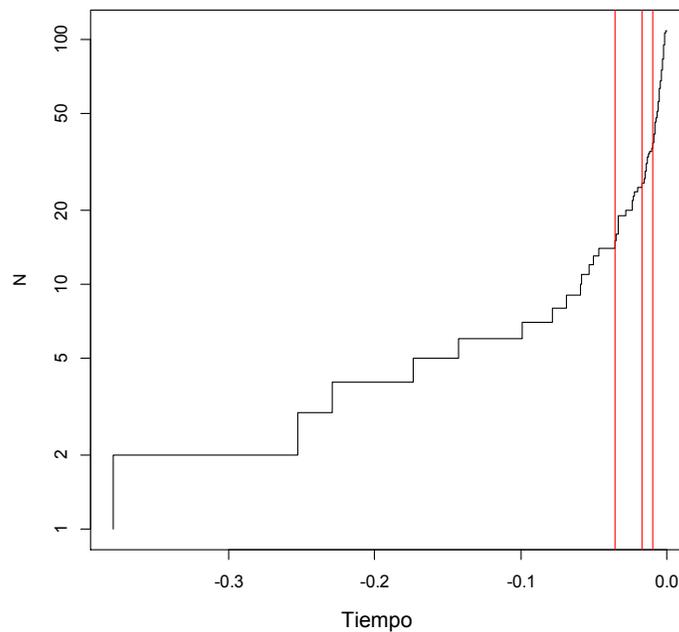


Figura 42. **Diversificación de linajes (eje y representa el numero acumulado de linajes) a través del tiempo (eje x representa estimaciones de tiempo relativo).** Las líneas verticales representan los umbrales óptimos entre los eventos de especiación y los eventos de coalescencia. Gráfica basada en umbral múltiple.

APÉNDICE III

Estimación de la divergencia evolutiva sobre pares de secuencias entre y dentro de grupos del genero *Rhizopogon*.

El número de diferencias de bases por sitio de un promedio sobre todos los pares de secuencias entre y dentro grupos se muestran en las siguientes tablas (6-9).

Tabla 7. **Divergencia genética estimada dentro de los grupos, basados en las entidades de GMYC umbral simple.** Distancias p sin corregir expresadas en porcentaje. La información dentro del paréntesis representa la entidad correspondiente con el árbol (FIGURA 39).

Grupos	Distancia p (%)
RGS I (E-1)	N/A*
SUBPUR I (E-2)	N/A
SUBPUR II (E-3)	0.19
GUZMANII (E-4)	N/A
RGS II (E-7)	0.23
RGS III (E-8)	0.00
SUPERIORENSIS (E-10)	N/A
LUTEOLUS (E-11)	0.13
BACILLISPORUS-E (E-13)	0.64
EVADENS (E-14)	0.51
PSEUDOROSEOLUS (E-26)	0.67
PSEUDO-RUB (E-27)	0.38
RUBESCENS-P (E-28)	N/A

*N/A: no aplica, ya que la entidad solo cuenta con una secuencia.

Tabla 8. Divergencia genética estimada entre los grupos, basados en las entidades de GMYC umbral simple. Distancias p sin corregir expresadas en porcentaje. La información dentro del paréntesis representa la entidad correspondiente con el árbol (FIGURA 39).

Grupos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. RGS I (E-1)												
2. SUBPURI(E-2)	1.53											
3. SUBPURII(E-3)	0.77	1.25										
4. GUZMANII(E-4)	1.53	2.30	1.53									
5. RGS II (E-7)	2.54	2.93	2.26	2.93								
6. RGS III (E-8)	2.49	2.87	2.20	2.87	0.12							
7. SUPERIORENSIS(E-10)	12.64	13.22	12.64	13.03	13.65	13.60						
8. LUTEOLUS(E-11)	12.58	13.15	12.58	12.96	13.59	13.54	3.96					
9. BACILLISPORUS-E(E-13)	9.83	10.41	9.83	10.41	10.09	10.03	12.58	12.71				
10. EVADENS(E-14)	9.58	10.15	9.58	10.15	9.83	9.77	12.45	12.58	0.83			
11.PSEUDOROSEOLUS(E-26)	6.47	6.51	6.23	7.28	6.76	6.75	14.94	14.30	11.67	11.54		
12. PSEUDO-RUB(E-27)	6.39	6.77	6.39	6.77	6.80	6.77	14.81	14.18	11.69	11.56	2.03	
13. RUBESCENS-P(E-28)	6.32	6.70	6.32	6.70	7.12	7.09	14.94	14.30	11.62	11.49	2.16	1.21

Tabla 9. **Divergencia genética estimada dentro de los grupos, basados en las entidades de GMYC umbral múltiple.** Distancias p sin corregir expresadas en porcentaje. La información dentro del paréntesis representa la entidad correspondiente con el árbol (Figura 40).

Grupos	Distancia p (%)
SUBPUR-RGS (E-1)	0.71
GUZMANII (E-2)	N/A*
RGS I (E-5)	0.23
RGS II (E-6)	0
SUPERIORENSIS (E-8)	N/A
LUTEOLUS (E-9)	0.12
BACILLISPORUS-E (E-11)	0.63
EVADENS (E-12)	0.51
PSEUDOROSEOLUS I (E-22)	0
PSEUDOROSEOLUS II (E-23)	N/A
PSEUDO-RUB (E-24)	0.38
RUBESCENS-P (E-25)	N/A

*N/A: no aplica, ya que la entidad solo cuenta con una secuencia.

Tabla 10. **Divergencia genética estimada entre los grupos, basados en las entidades de GMYC umbral múltiple.** Distancias p sin corregir expresadas en porcentaje. La información dentro del paréntesis representa la entidad correspondiente con el árbol (Figura 40).

Grupos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1. SUBPUR-RGS (E-1)											
2. GUZMANII (E-2)	1.66										
3. RGS I (E-5)	2.42	2.93									
4. RGS II (E-6)	2.36	2.87	0.12								
5. SUPERIORENSIS (E-8)	12.74	13.03	13.65	13.60							
6. LUTEOLUS (E-9)	12.68	12.96	13.59	13.54	3.96						
7. BACILLISPORUS-E (E-11)	9.93	10.41	10.09	10.03	12.58	12.71					
8. EVADENS (E-12)	9.67	10.15	9.83	9.77	12.45	12.58	0.83				
9. PSEUDOROSEOLUS I (E-22)	6.13	7.09	6.52	6.51	14.75	14.11	11.43	11.30			
10. PSEUDOROSEOLUS II (E-23)	6.86	7.85	7.47	7.47	15.52	14.88	12.39	12.26	1.34		
11. PSEUDO-RUB (E-24)	6.45	6.77	6.80	6.77	14.81	14.18	11.69	11.56	1.79	2.75	
12. RUBESCENS-P (E-25)	6.39	6.70	7.12	7.09	14.94	14.30	11.62	11.49	1.92	2.87	1.21

APÉNDICE IV

GLOSARIO GENERAL

Basado en Delgado-Aguilera et al. 1997

- **Amiloide:** Que cambia de color a azul al reaccionar con el yodo (reactivo de Melzer), por contener sustancias amiláceas o similares al almidón.
- **Apéndice hilar:** También llamado hilum o hilo, es el divertículo que sobresale del hilo de las basidiosporas.
- **Asca:** Célula en forma de saco o bolsa que generalmente tiene un número definido de esporas que se forman después de la cariogamia y la meiosis; son características de los ascomicetos y son homólogas a los basidios.
- **Ascoma:** También llamado ascocarpo, es el esporocarpo de un hongo ascomiceto, estructura productora y portadora de ascas.
- **Basidioma:** Cualquier estructura que produce basidios, puede ser simple o muy compleja.
- **Basido:** Célula especial característica de los basidiomicetos, sobre la cual se desarrollan las basidiosporas sostenidas por los esterigmas; el basidio es homólogo al asca, aunque en estas las esporas son exógenas y en el asca son endógenas.
- **Cable:** Hebras de hifas empaquetadas, presentes en el género *Rhizopogon*.
- **Capilicio:** Elementos hifales en la gleba de muchos hongos gasteroides que constituyen una masa interna elástica, algodonosa o esponjosa.
- **Capitado:** Dícese del órgano que afecta la forma de la cabeza.
- **Células angulares o isodiamétricas:**
- **Clavado:** En forma de clava o maza.
- **Columela:** Estructura estéril central rodeada o cubierta por tejido esporógeno o esporas.
- **Contexto:** Conjunto fibroso que constituye el cuerpo del píleo o estípite en los basidiomicetos.

- **Cutícula:** Membrana protectora que cubre el sombrero de la seta.
- **Dermatocistidio:** Cistidio de la superficie piléica o de la superficie del pie.
- **Digitiforme:** En forma de dedo.
- **Dimórfico:** Que tiene dos formas. Productor de dos tipos de zoosporas. Hongo capaz de crecer en forma de levadura o en forma miceliar.
- **Elementos cistidioides:** Elementos del himenio que comprenden principalmente cistidios y cistidiolos.
- **Empalizado:** Tipo de arreglo de la gleba, en el cual los peridiolos están dispuestos de manera radial, simulando una cerca o valla.
- **Endocistidio:** Cistidio que se encuentra en la trama pileica, epitelial o himenoforal.
- **Endoperidio:** Capa interna del peridio, se presenta cuando éste está compuesto por dos o tres capas, como en los hongos gasteroides del género *Geastrum* y *Radiigera*. La capa media es el mesoperidio y la externa es el exoperidio.
- **Epicutis:** Capa externa de la cutícula.
- **Epitecio:** Capa situada sobre la superficie del himenio de un apotecio, formada por la unión de los ápices de las paráfisis existentes en los ascomicetos.
- **Esferocistos:** Células grandes, globosas u ovals, que se encuentran entre las células alargadas de la trama de las *Russulas* y *Lactarius*.
- **Esporocarpo:** Cuerpo fructífero productor y portador de esporas.
- **Estipitelis:** Cutícula del estípite.
- **Exosporio:** Capa situada en la basidiospora por debajo del perisporio, generalmente no pigmentada.
- **Exoperidio:** Capa externa del peridio.
- **Fíbula:** Conexión hifal a manera de puente; característica del micelio secundario o dicariótico de muchos basidiomicetos; que intervienen en el mantenimiento de la dicariosis.
- **filamentoso:** Constituido por filamentos; o filiforme, delgado como un hilo.
- **Gametangio:** Estructura reproductiva directamente implicada en la producción de gametos.

- **Gleba:** Parte interna y carnosa de hongos de forma gasteroide. Consta de una parte himenófora fértil y una parte estéril. Puede ser compacta, gelatinosa, compartimentada en varios o un único peridiolo. En la madurez, en algunos casos se transforma en una masa oscura, polvorienta, frecuentemente filamentosa.
- **Heterómero:** De estructura con diferentes tipos de hifas mezcladas: cilíndricas alargadas e hifas con elementos cortos e inflados, subglobosos, típico de los Russulales.
- **Hifas laticíferas:** Tipo de hifa que origina látex de diversa naturaleza y color. Ejemplo: *Lactarius*.
- **Himenóforo:** Capa portadora de himenio, por ejemplo: pliegues, dientes, laminillas.
- **Lóbulos:** Cada una de las partes, a manera de ondas, que sobresalen en el borde de una cosa.
- **Lóculo:** Cavidades o cámaras donde se encuentra el himenio que puede producir ascas o basidios dependiendo de la especie de hongo que se trate.
- **Loculado:** Que está provisto de lóculos.
- **Macrocistidios:** En el género *Lactarius*, denominación que tienen los cistidios debido a su gran tamaño.
- **Marmoleado:** Hace referencia al aspecto de la gleba, originado por la diferencia de colores entre la parte estéril y las venas, de algunos géneros de hongos hipogeos como *Tuber* o *Pachyphloeus*.
- **Membranoso:** Con estructura delgada, semejante a una membrana.
- **Mesocutis:** Capa intermedia entre la epicutis y la subcutis cuando el peridio está diferenciado en tres capas como ocurre en el género *Schenella*.
- **Octoesporada:** Referido a las ascas, que contienen ocho esporas.
- **Paráfisis:** Elementos estériles entre los fértiles, por ejemplo hifas estériles entre las ascas del himenio de un ascocarpo.
- **Pedicelo:** Extremidad delgada que acompaña algunos tipos de esporas. También se suele emplear esta palabra en el mismo sentido de estípite y pie. Pie o pequeño pie, rabillo, pedúnculo.

- **Pellis:** Capa superficial del cuerpo fructífero de los basidiomicetos, que a veces se designa con el incorrecto nombre de cutícula.
- **Peridio:** Envoltura protectora de la gleba.
- **Peridiolo:** Pequeña bolsa o cámara glebal de los Nidulariales y algunos Geastrales; contiene las basidiosporas, pero actúa totalmente como unidad de propagación.
- **Peridiopellis:** Capa superficial del peridio, este término usualmente se utiliza para describir a los Russulales.
- **Pseudoparénquima:** Agregado de hifas con células globosas que recuerdan un parénquima.
- **Pseudoparenquimático:** Pertenciente o relativo al pseudoparénquima.
- **Retículo:** Tejido en forma de red. Redecilla.
- **Rizomorfo:** Parecido, con forma de raíz. Conjunto de hifas fuertemente apretadas y resistentes que forman un cordón.
- **Rostrado:** Con algún saliente en forma de apéndice.
- **Subcutis:** Capa interna de la cutícula.
- **Subhimenio:** Estrato simple situado entre la trama himenófora y el himenio. Es donde se origina el himenio.
- **Sublaminada:** Tipo de gleba donde las láminas están fusionadas, es decir, no son completamente libres.
- **Subpellis:** Capa inferior de la pellis.
- **Suprapellis:** Capa superior de la pellis.
- **Tejido plectenquimático:** Término general empleado para designar todos los tipos más comunes de “tejidos” fúngicos; los dos tipos más comunes de tejidos son el prosénquima y el pseudoparénquima.
- **Trama:** Conjunto de hifas estériles flojamente entretejidas, sobre las que se apoya el tejido portador del himenio. Contexto. Es la parte del cuerpo fructífero que no pertenece a las superficies ni al himenio y que habitualmente llamamos carne.
- **Tricoderma:** Elementos hifales filiformes o en forma de folículo.

- **Uniseriado:** Se refiere a la misma disposición que toman todas las esporas en el interior de las ascas.
- **Utrículo:** Capa externa que cubre a las esporas del género *Hysterangium*.
- **Vena:** Parte estéril que recorre de forma sinuosa la gleba de los hongos hipogeos globosos.
- **Ventricoso:** Hinchado a modo de vientre.
- **Zigosporangio:** Estructura sexual de reposo propia de los zigomicetos que se produce después de la fusión de los gametos.
- **Zigosporas:** Zigoto de reposo, con pared gruesa, de los zigomicetos.