

## Descripción molecular de hongos macromicetos del género *Amanita* de Villa del Carbón, México, empleando la región LSU rDNA.

*Molecular description of macromicete fungi of the genera Amanita from Villa del Carbón, Mexico using the LSU rDNA.*

Christian A. Feregrino-Feregrino<sup>1</sup>, Miguel René Morales-Garza<sup>2</sup>, Martha Martínez-García<sup>1</sup>, Alejandro Monsalvo-Reyes<sup>1</sup> y Jorge Eduardo Campos-Contreras<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México;

<sup>2</sup>Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad Simón Bolívar, México

chris.feregrino@comunidad.unam.mx

ekimusmx@gmail.com

marmartinezgar@hotmail.com

reyesac2001@gmail.com

jcampos@unam.mx

Recepción: 18 de junio de 2013

Aceptación: 2 de octubre de 2013

(pp. 86 - 94)

### Resumen

Los hongos son un grupo de organismos altamente diverso que cumplen funciones primordiales en los bosques templados. Se caracterizaron morfológica y etnobiológicamente 27 cuerpos fructíferos de hongos del género *Amanita*, colectados en Villa del Carbón, México. Se registraron 7 especies distintas; a partir de encuestas semiestructuradas se obtuvieron 15 nombres vernáculos. Se caracterizó también molecularmente a este grupo de hongos, utilizando la región LSU del rDNA; finalmente se utilizaron distintos métodos bioinformáticos y filogenéticos.

**Palabras clave:** *Amanita*, macromiceto, LSU

### Abstract

Fungi are a highly diverse group of organisms, which account for primary functions on the temperate forests. 27 fruiting bodies of *Amanita*, collected around Villa del Carbón, México, were morphological, ethnobiological and molecularly characterized. 7 different species were listed and 15 traditional names were recorded through semi structured surveys. They were also molecularly characterized using the LSU region of the rDNA using specialized software and phylogenetic methods.

**Keywords:** *Amanita*, macromicete, LSU

### Introducción

**Diversidad y Ecología.** El 70% de la biodiversidad se encuentra en 17 países y México ocupa el cuarto puesto con 12% de la biota. Esta riqueza biológica es explicable por su topografía y heterogeneidad fisiográfica, climática y ecológica (Mittermeier y Goettsch, 1992); aquí se conocen cerca de 7000 especies de hongos, de un total de 200 000 especies estimadas (Guzmán, 1998).

Los principales ecosistemas de México son los bosques templados de Pino, Pino – Encino y Encino (Rzedowski, 2006), que ofrecen la variedad de especies arbóreas vitales para las relaciones simbióticas micorrízicas, que confieren resistencia al estrés y acceso a los nutrientes esparcidos en el terreno (Raina, Chamola y Mukerji, 2004). En la simbiosis ectomicorrízica participan 5415

especies de hongos (2100 sólo en Norteamérica), de las cuales 4450 son epigeos y pertenecen a diversas familias de basidiomicetes y algunas de ascomicetes (Molina, Massicote y Trappe, 1992).

**Etnomicología.** México ocupa el décimo primer lugar en cuanto a diversidad biológica-cultural (Loh y Harmon, 2005), su diversidad cultural y biológica se ven entremezcladas en relaciones etnobiológicas que han sido poco estudiadas y valoradas. En el país existen cerca de 320 especies fúngicas comestibles (Boa, 2004) de los cuales tradicionalmente se consumen 275 (Garibay-Orijel, Rúan-Soto y Estrada-Martínez, 2010) y alrededor de 112 de ellos se venden en mercados locales (Villarreal y Pérez-Moreno, 1989).

La variedad de nombres que las diferentes comunidades les han dado a los distintos hongos dependen de sus colores, formas, hábitat, utilidad, etcétera (Sheppard, Arora y Lampman, 2008).

**Caracterización molecular.** Diversas técnicas moleculares han sido utilizadas en los estudios taxonómicos de hongos, incluyendo secuencias de ácido desoxirribonucleico -DNA del inglés *Deoxyribonucleic acid*- (Gupta, Satyanarayana y Garg, 2004; Saxena, Annapurna y Tilak, 2004). La unidad transcripcional del rDNA contiene los genes para las subunidades ribosomales 28S o *Large Subunit* (LSU), 5.8S, y 18S o *Small Subunit* (SSU), las regiones espaciadoras entre los transcritos o *Internal Transcribed Spacer 1* y 2 (ITS) que separan a los genes 18S, 5.8S y 38S; y la región espaciadora del transcrito externo o *External Transcribed Spacer* (ETS) que se encuentra secuencia arriba de SSU (Hillis y Dixon, 1991).

## Objetivo

Describir hongos de Villa del Carbón mediante tres aproximaciones distintas; estudio de los caracteres fenotípicos y morfológicos de los cuerpos fructíferos; la clasificación tradicional que existe entre los pobladores de Villa del Carbón, México y la descripción molecular que utiliza la comparación de información genética contenida en el DNA de cada célula fúngica.

## Método y materiales

**Zona de estudio.** Villa del Carbón, México tiene una altitud que fluctúa entre 2300 y 3600 msnm; su clima

es templado con invierno seco (Cwb) y temperatura media anual de 20°C con una alta humedad constante. Este estudio se centró en los bosques latifoliados, dominados por *Quercus* (Fagaceae) (SMA-GEM, 2010). Las colectas de cuerpos fructíferos se llevaron a cabo en dos zonas, la primera comprendida entre las coordenadas 19°45'35.41" N, 99°26'58.08" W; 19°45'32.39" N, 99°26'38.01" W; 19°45'45.10" N, 99°26'36.54" W; y 19°45'45.39" N, 99°26'52.97". Y la segunda zona que se encuentra entre 19°45'48.16" N, 99°27'19.20" W; 19°45'43.58" N, 99°27'04.91" W; 19°45'56.82" N, 99°27'01.62" W; y 19°45'59.50" N, 99°27'15.08" W.

**Muestreo.** Durante el periodo de lluvias, se tomaron muestras de hongos macromicetos del suelo, se tomaron fotografías y se registró: georeferencia, tipo de vegetación circundante, fecha y colector. Los cuerpos fructíferos de los hongos fueron descritos morfológicamente (forma del pilio, las láminas, el estípote, color, textura, cambios de color) y se tomaron muestras de tejido.

**Caracterización taxonómica.** Se identificaron los cuerpos fructíferos utilizando claves taxonómicas generales de identificación de hongos macromicetos (Guzmán, 1979).

**Etnomicología.** Se aplicaron encuestas semiestructuradas a 29 personas elegidas al azar que habitan en la cabecera municipal de Villa del Carbón. Este grupo de estudio incluyó a comerciantes y compradores de hongos, así como recolectores y amas de casa. La entrevista tiene la siguiente estructura:

1. El informante deberá nombrar todos los hongos que pueda recordar.
2. El informante deberá mencionar los diferentes usos que conozca para los hongos antes mencionados.
3. El informante señalará si percibe alguna relación entre ciertos hongos y ciertos árboles.
4. El informante reconocerá por nombre y uso a los hongos utilizados en este estudio mediante fotografías, haciendo énfasis en los hongos comestibles.
5. El informante mencionará a los hongos que más comúnmente consume.
6. El informante indicará algunas formas de cocinar o preparar a los hongos.
7. El informante señalará qué hongos no son percibidos como un recurso comestible y por qué.
8. Opcionalmente el informante señalará los lugares de colecta de los hongos.

Adicionalmente, se identificaron a los hongos potencialmente comestibles mediante una revisión y comparación bibliográfica.

**Métodos moleculares.** La extracción de DNA de las muestras de tejido consistió en macerar 0.1 g de muestra en 750 µl de buffer de extracción (Urea 7M, NaCl 0.35M, Tris base 0.05M, EDTA 0.02M, Sarcosina 1%), centrifugar a 12000 RPM por 1' y tomar el sobrenadante, limpiar con 500 µl de fenol-cloroformo (1:1), centrifugar a 12000 RPM por 3' y tomar la fase acuosa, precipitar con 500 µl de isopropanol y 50 µl de acetato de amonio 10M, centrifugar a 12000 RPM por 10' y tirar el sobrenadante, lavar con etanol 70%, centrifugar a 12000 RPM por 3' y tirar el sobrenadante, finalmente resuspender en 50 µl de H<sub>2</sub>O.

A partir del DNA genómico extraído, la región D1/D2 del gen nuclear LSU rDNA fue amplificado por PCR con el par de iniciadores específicos LR0R (ACCCGCTGAACTTAAGC) y LR3 (CCGTGTTTCAAGACGGG) (White, Bruns, Lee y Taylor, 1990).

La PCR se efectuó con las siguientes concentraciones: 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2.5 µM de cada dNTP (Sigma-Aldrich Quimica), 10 µM de cada primer (Sigma-Aldrich Quimica), 2 U Taq polimerasa (Invitrogen, Life Technologies), 1X de Buffer de amplificación (Invitrogen, Life Technologies); y se llevó a cabo en un termociclador (Applied Biosystems) procediendo con el siguiente programa: (1) 94°, 3 min; (2) 5 ciclos de: (I) 94°, 1 min; (II) 45°, 1 min; (III) 72°, 1 min; (3) 30 ciclos de: (I) 94°, 1 min; (II) 50°, 1 min; (III) 72°, 1 min; (4) 72°, 5 min; (5) 4° continuo (Dahlman *et. al.*, 2000). Se comprobó la amplificación de los fragmentos mediante una electroforesis horizontal en un gel de agarosa al 1%; los fragmentos de aproximadamente 450 pb fueron secuenciados utilizando un secuenciador Applied Biosystems 3130 de 16 capilares.

Las secuencias resultantes se compararon en el GenBank, mediante una búsqueda BLAST. Las muestras se caracterizaron de acuerdo con la máxima identidad presentada por los registros del GenBank. Además cada secuencia se comparó con las tres secuencias más afines para reconstruir, mediante métodos bayesianos, el árbol filogenético de los hongos del género *Amanita* utilizando el software MrBAYES (Huelsenbeck *et. al.*, 2012); Se utilizó el modelo evolutivo HKY85 + G determinado por el software JModelTest (Darriba, Taboada, Doballo y Posada, 2012).

## Resultados

Se colectaron 27 cuerpos fructíferos de hongos pertenecientes al género *Amanita* en los alrededores de Villa del Carbón (cuadro 1).

**Cuadro 1.** Hongos colectados pertenecientes al género *Amanita*, números de colecta y nombres vernáculos mencionados por la población encuestada

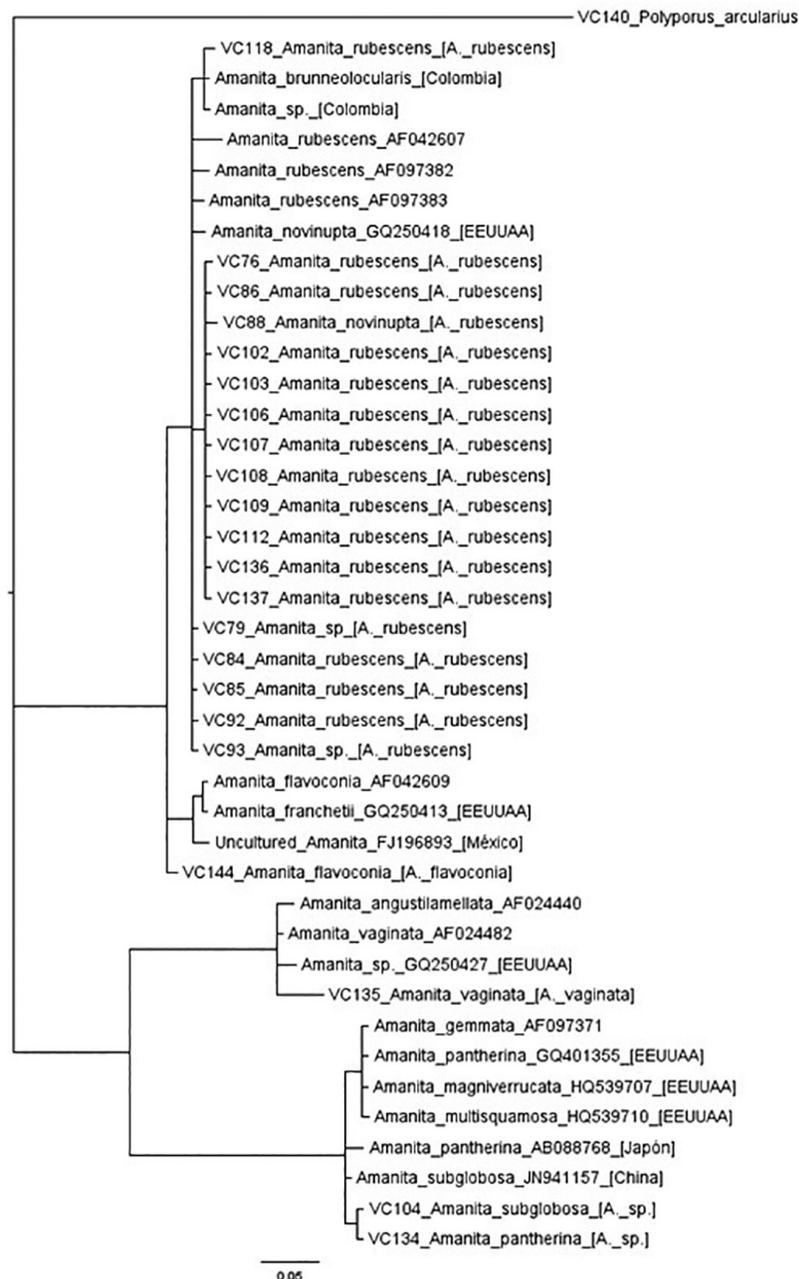
Especímenes	Género y especie	Nombres vernáculos
VC078	<i>Amanita annulatovaginata</i>	N. I.
VC118	<i>Amanita caesarea</i>	Huevo, Kechimón
VC116, 144	<i>Amanita flavoconia</i>	Kechimoncillo, Kechimón corriente
VC104	<i>Amanita sp.</i>	N. I.
VC134	<i>Amanita sp. 2</i>	Mantequero blanco
VC076, 079, 081 084, 085, 086, 088, 092, 093, 102, 103, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 128, 136, 137	<i>Amanita rubescens</i>	Mantequero, manteco
VC135	<i>Amanita vaginata</i>	Perrito

N. I.: No Identificado por la población encuestada

Además de los nombres vernáculos que se muestran en el cuadro 1, la población encuestada mencionó 7 nombres vernáculos más, que no se pudieron asignar a los organismos colectados; se presentan a continuación: Kechimón blanco, Kechimón rojo, Mosco, Mosco pringa, Montero, Pepita y Hongo loco. Las especies más referidas por los habitantes son *A. caesarea* y *A. rubescens*, y las cocinan asándolas o en un caldillo de tomate con pollo.

Se obtuvieron 22 secuencias de LSU rDNA a partir de las cuales realizaron los respectivos análisis BLAST y se designó a cada muestra con la especie determinada del registro que mostró la identidad máxima (figura 1).

**Figura 1.** Árbol filogenético obtenido a partir de las secuencias del género *Amanita*. Grupo externo: *Polyporus arcularius*. VC: Indica el sitio de colecta (Villa del Carbón) los números después de VC indican el número asignado al organismo colectado y enseguida la caracterización molecular



**Cuadro 2.** Comparación de la caracterización Molecular y Morfológica incluyendo nombres vernáculos

Molecular	Morfológica	Vernácula
	<i>Amanita caesarea</i>	Kechimón
	<i>Amanita annulatovaginata</i>	N. I.
<i>Amanita flavoconia</i>	<i>Amanita flavoconia</i>	Kechimón [cillo]
<i>Amanita pantherina</i>	<i>Amanita sp. 2</i>	Perrito
<i>Amanita rubescens</i>	<i>Amanita rubescens</i>	Manteco, Mantequero
<i>Amanita sp.</i>		
<i>Amanita subglobosa</i>	<i>Amanita sp. 1</i>	N. I.
<i>Amanita vaginata</i>	<i>Amanita vaginata</i>	Perrito

N. I.: No Identificado por la población encuestada

## Discusión

De las 7 especies de *Amanita* colectadas en este estudio, se identificaron 4 comestibles, de las cuales 3 son consumidas habitualmente en Villa del Carbón. Estas 3 especies están dentro de las 16 que se reportan como consumidas en México (Garibay-Orijel et. al., 2010).

Comparando con estudios similares, *A. rubescens* es reportada como la única amanita consumida en las zonas aledañas al Valle de Toluca, México (Mariaca, Silva y Castaños, 2001), *A. caesarea*, *A. fulva* y *A. vaginata* son especies consumidas en la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca, Michoacán (Farfán, Casas, Ibarra-Manríquez y Pérez-Negrón, 2007); y al Este del Valle de México *A. caesarea* y *A. rubescens* están reportados para Santa Catarina del Monte, México (Arteaga y Moreno, 2006).

Por otra parte, *Amanita aff. caesarea*, *A. citrina*, *A. crocea*, *Amanita cf. franchetii*, *A. fulva*, *Amanita cf. rubescens*, *A. tuza* y *A. vaginata* son reportadas para las zonas aledañas a la Sierra Nevada del Distrito Federal, México, Morelos y Puebla (Pérez-Moreno, Martínez-Reyes, Yescas-Pérez, Delgado-Alvarado y Xoconostle-Cázares, 2008; Estrada-Martínez, Guzmán y Cibirán, 2009). *A. caesarea*, *A. calyptroides*, *A. franchetii*, *A. fulva*, *A. muscaria*, *A. rubescens*, *A. tuza* y *A. vaginata* son las 8 especies reportadas en el Parque Nacional La Malinche, Tlaxcala (Montoya, Hernández-Totomoch, Estrada-Torres y Kong, 2003; Montoya, Estrada-Torres, Cifuentes y Caballero, 2004; Montoya, Hernández, Mapes, Kong y Estrada-Torres, 2008), y finalmente, *A. caesarea*, *A. muscaria* y *A. rubescens* se reportan para las faldas del Cofre de Perote, Veracruz (Jarvis et. al., 2004).

*A. annulatovaginata* Beeli es un hongo ectomicorrízico de bosques tropicales y subtropicales que ha sido reportado en México solamente en el estado de Veracruz (Guzmán, 1997a). No cuenta con registros previos de comestibilidad alguna y en el municipio de Villa del Carbón tampoco se consume.

El complejo *A. caesarea* en México comprende un grupo de 6 hongos, ectomicorrízicos de bosques de encino y pino, que tienen características altamente semejantes: *A. basii*, *A. tecomate*, *A. tullossii*, *A. yema*, *A. jacksonii* y *A. laurae* (Guzmán y Ramírez-Guillén, 2001); el espécimen tipo es endémico de Eurasia (Neville y Poumarat, 2004). El complejo *A. caesarea* ha sido reportado como consumido en México en los estados de Michoacán, Tlaxcala, Oaxaca, Puebla, Chiapas y México (Mapes, Guzmán y Caballero, 1981; Montoya, Estrada-Torres y

Caballero, 2002; Montoya et. al., 2003; Montoya et. al., 2008; Garibay-Orijel, Cifuentes, Estrada-Torres y Caballero, 2006; Garibay-Orijel, Caballero, Estrada-Torres y Cifuentes, 2007; Pérez-Moreno et. al., 2008; Sheppard et. al., 2008; Arteaga y Moreno, 2006 y Estrada-Martínez et. al., 2009).

*A. flavoconia* Atkinson es un hongo ectomicorrízico que sólo cuenta con un registro de comestibilidad pero no específica el lugar en que es consumido, siendo en México el único país donde se come (Boa, 2004). Es consumido por los habitantes de Villa del Carbón, aunque probablemente sólo cuando las verrugas amarillas de su píleo han desaparecido; fue esta la manera en que les fue mostrada la especie en fotografías.

*A. rubescens* Persoon es un hongo ectomicorrízico que se considera endémico de Eurasia, diversas especies referidas como *A. rubescens* en América probablemente se refieran a *A. novinupta*, *A. flavo-rubens*, *A. brunneolocularis* (Kuo, 2008) e inclusive alguna especie nueva. *A. rubescens sensu lato* se ha registrado como consumido en los estados de Tlaxcala, Veracruz, México, Puebla y Oaxaca (Arteaga y Moreno, 2006; Estrada-Martínez et. al., 2009; Garibay-Orijel, Martínez-Ramos y Cifuentes, 2009; Jarvis et. al., 2004; Mariaca et. al., 2001; Montoya et. al., 2002; Montoya et. al., 2008; Pérez-Moreno et. al., 2008). Esta especie de hongos es consumida activamente por los pobladores de Villa del Carbón y a lo largo de las colectas tuvo la mayor abundancia aparente, ya que se colectaron 19 especímenes.

*A. vaginata* Bulliard es un hongo ectomicorrízico que muy probablemente también sea un complejo de especies distintas. Es considerado comestible en los estados de Tlaxcala, México, Puebla y Oaxaca (Montoya et. al., 2004; Pérez-Moreno et. al., 2008; Estrada-Martínez et. al., 2009 y Garibay-Orijel et. al., 2009). En la zona de la Sierra Nevada, esta especie alcanzó una de las importancias etnomicológicas más altas (Estrada-Martínez et. al., 2009). Esta especie no se consume como alimento en Villa del Carbón.

**Etnomicología.** La comercialización de los hongos comestibles de Villa del Carbón se lleva a cabo en una zona del tianguis reservada especialmente donde se venden también otros recursos forestales no maderables y hortalizas de producción escasa; la mayoría de las personas que se dedican a esta actividad son mujeres.

El comercio de hongos comestibles en los mercados es bastante común en los pueblos de México y ha sido registrado en diferentes zonas montañosas y templadas mostrando algunas semejanzas con el de Villa del Carbón, tal es el caso del Valle de Toluca, México, donde se realiza en los días de tianguis; la venta es realizada exclusivamente por mujeres, aunque la colecta se realiza por toda la familia (Mariaca et. al., 2001). En el pueblo de Ixtlán, Oaxaca los hongos también se venden en los días de Tianguis (Garibay-Orijel et. al., 2007).

Los 15 nombres que se reportan en este trabajo constan de 9 sustantivos principales únicos y 6 variaciones de algunos de éstos, indicados principalmente con adjetivos de color; tal es el caso de los kechimones. Este listado supera por casi el 100% a las 7 especies encontradas, situación que se repite en otros lugares del país, aunque el listado de nombres aquí expuesto supera a otros listados realizados; en el Valle de Toluca, se registraron 5 nombres que corresponden a *A. rubescens* (Mariaca et. al., 2001), al Este del Parque Nacional La Malinche, se registraron 10 nombres en Español, Otomí y Náhuatl que designan a 3 especies de *Amanita* (Montoya et. al., 2002), en las inmediaciones del mismo Parque Nacional, se realizó un listado de 6 nombres para 2 especies (Montoya et. al., 2003), en Ixtlán de Juárez, Oaxaca se utilizan 4 nombres que corresponden a 6 *Amanitas* (Garibay-Orijel et. al., 2006), y en la alta montaña de Chiapas, se registraron 4 nombres en Tzeltal y 4 en Tzotzil para 3 especies de *Amanita* (Sheppard et. al., 2008).

Al analizar los listados libres que dio como resultado esta investigación, no se encontró ningún hongo que fuera mencionado por más del 90% de los informantes y sólo el complejo *A. caesarea* fue mencionado por más del 50%. Los resultados del ejercicio de reconocimiento tampoco mostraron a ninguna especie reconocida por más del 90% de los encuestados; mientras que las amanitas reconocidas por más de la mitad son *A. flavoconia*, *A. rubescens*, *A. vaginata* y *A. annulatovaginata*.

El complejo *A. caesarea* se reporta consistentemente entre los hongos mencionados y reconocidos con mayor frecuencia, y culturalmente más importantes de los bosques templados mexicanos; alrededor de la Sierra Nevada (Estrada-Martínez et. al., 2009), alrededor del Parque Nacional La Malinche (Montoya et. al., 2002; Montoya et. al., 2003; Montoya et. al., 2004), Ixtlán, Oaxaca (Garibay-Orijel et. al., 2007), y alta montaña de Chiapas (Sheppard et. al., 2008).

El complejo *A. caesarea* es llamado **kichimón** o **kechimón** en Villa del Carbón, ninguno de estos nombres se encuentra reportado en la literatura; aunque se hallan registrados los similares kechimo, keximo, kishmú y kishimocjoójó pareciese que kechimo es una derivación de kishmú en la lengua otomí, ambas están relacionadas con el mazahua keximo y kishimocjoójó que es una palabra compuesta por kishimo y -cjoójó, que significan tomate y hongo respectivamente. El significado del otomí kishmú no se registra en ningún documento, incluyendo a "Los Nombres de los Hongos y lo Relacionado a Ellos en América Latina" donde se reporta como nombre común de *A. caesarea* (Farfán *et. al.*, 2007; Guzmán, 1997b).

Muchos de los habitantes de Villa del Carbón discriminan entre kichimón y kichimoncillo. Algunas personas mencionaron que se toma como referencia la volva del hongo, o "huevo"; ya que si éste está presente se trata de un kichimón (complejo *A. caesarea*), pero si el hongo no cuenta con volva, se trata de un kichimoncillo (*A. flavoconia*). En muchos casos esta distinción no se realiza y todos los hongos que parecen ser parte del complejo *A. caesarea* son llamados kichimón; el nombre de kichimoncillo no se encontró registrado en ninguno de los documentos revisados a lo largo de esta investigación.

**Caracterización molecular.** En el caso especial de *A. rubescens*, la caracterización molecular indica que probablemente se encuentren dos especies distintas en el lugar, morfológicamente parecidas.

La figura 1 muestra las relaciones evolutivas que mantienen los hongos del género *Amanita* de acuerdo con la información que proporciona el marcador LSU rDNA. Se observan, además del grupo externo, sólo tres grupos bien definidos; aun así, no se obtuvo la resolución suficiente para resolver la posición taxonómica de ninguna muestra con respecto a la información del banco de datos.

Estos resultados reflejan la naturaleza del gen LSU rDNA como marcador molecular, ya que su resolución a niveles específicos no es la suficiente para reconstruir con claridad las relaciones que mantienen los organismos; a diferencia de los niveles ordinales, en que la resolución de este fragmento genético es lo bastante alta. Este hecho ha sido reconocido anteriormente en algunos otros estudios (Wang *et. al.*, 2006).

Tanto la caracterización morfológica como la molecular coinciden en la identificación de los hongos del género *Amanita*. La identificación molecular, aunque más confiable debido a su repetibilidad (ya que se basa en la comparación de un carácter invariable), tiene su fundamento en la comparación de secuencias provenientes de organismos que han sido identificados morfológicamente, así que hoy en día, ambas técnicas de determinación son interdependientes. Por otro lado, la clasificación tradicional es igualmente importante, debido a que se basa en conocimiento milenario, aunque no científico, que se basa en los mismos caracteres que la determinación morfológica científica, lo cual crea oportunidades de investigación muy interesantes.

## Conclusión

Las especies *Amanita caesarea*, *Amanita rubescens* y *Amanita vaginata* se encuentran consistentemente a lo largo de las zonas boscosas y templadas del país, incluyendo a Villa del Carbón.

De las 7 especies encontradas, *Amanita annulatovaginata* representa un nuevo registro para el centro de México.

4 de los 15 nombres aquí registrados, son denominaciones que no se encuentran enlistados en la bibliografía especializada.

La especie de *Amanita* comestible más importante para los habitantes de la región es *Amanita caesareae*.

De las 7 especies encontradas, 4 son potencialmente comestibles. *Amanita vaginata* aunque ampliamente considerado comestibles en varios puntos del centro del país, no se percibe como un recurso comestible en Villa del Carbón. No existen *Amanitas* que sean consumidos exclusivamente en Villa del Carbón.

La caracterización molecular arrojó como resultado una lista de 6 especies, que a nivel de género coincide totalmente con la caracterización morfológica, y que en ocasiones resuelve la especie en cuestión. 

## Referencias

- Arteaga M., B. y Moreno-Z., C. (2006). "Los hongos comestibles de Santa Catarina del Monte, Estado de México". En: *Revista Chapingo, Serie ciencias forestales y del ambiente*. 12, 125-131.
- Boa, E. R. (2004). *Wild edible fungi, A global overview of their use and importance to people*. Roma: FAO.
- Dahlman, M., Danell, E., Spatafora, J. W. (2000). "Molecular systematics of Craterellus: cladistics analysis of nuclear LSU rDNA sequence data". En: *Mycological Research*. 104: 338 – 394.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. y Posada, D. (2012). "jModelTest2: more models, new heuristics and parallel computing". En: *Nature Methods*. 9: 772.
- Estrada-Martínez, E., Guzmán, G., Cibrián T., D. y Ortega P., R. (2009). "Contribución al conocimiento etnomicológico de los hongos comestibles silvestres de mercados regionales y comunidades de la Sierra Nevada (México)". En: *Interciencia*. 34, 25-33.
- Farfán, B., Casas, A., Ibarra-Manríquez, G. y Pérez-Negrón, E. (2007). "Mazahua ethnobotany and subsistence in the Monarch Butterfly Biosphere Reserve, Mexico". En: *Economic Botany*. 61, 173-191.
- Garibay-Orijel, R., Cifuentes, J., Estrada-Torres, A. y Caballero, J. (2006). "People using macro-fungal diversity in Oaxaca, Mexico". En: *Fungal Diversity*. 21, 41-67.
- Garibay-Orijel, R., Caballero, J., Estrada-Torres, A. y Cifuentes, J. (2007). "Understanding cultural significance, the edible mushrooms case". En: *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 3 (4).
- Garibay-Orijel, R., Martínez-Ramos, M. y Cifuentes, J. (2009). "Disponibilidad de esporomas de hongos comestibles en los bosques de pino-encino de Ixtlán de Juárez, Oaxaca". En: *Revista mexicana de Biodiversidad*. 80, 521-534.
- Garibay-Orijel, R., Rúan-Soto, F. y Estrada-Martínez, E. (2010). "El conocimiento micológico tradicional, motor para el desarrollo del aprovechamiento de los hongos comestibles y medicinales". En Martínez-Carrera, D., Curvetto, N., Sobal, M., Morales, P. y Mora, V. M. *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI* (pp. 243-270). Puebla, México: Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales – COLPOS – UNS – CONACyT – AMC – UPAEP – IMINAP.
- Gupta, V., Satyanarayana, T., Garg, S. (2004). "General Aspects of micorriza". En Mukerji, K. G., Chamola, B. P., Singh, J. *Mycorrhizal Biology* (27-44). Kluwer Academic / Plenum Publishers.
- Guzmán, G. (1979). *Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera*. México: Limusa.
- Guzmán, G. (1997a). *Hongos del estado de Veracruz*. México: Instituto de Ecología A.C.
- Guzmán, G. (1997b). *Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en América Latina (Introducción a la etnomicología y micología aplicada de la región. Sinonimia vulgar y científica)*. Xalapa, México: Instituto de Ecología A. C.
- Guzmán, G. 1998. "Inventing the Fungi of Mexico". En: *Biodiversity and Conservation*. 7: 369 – 384.
- Guzmán, G. y Ramírez-Guillén, F. (2001). "The Amanita caesarea-complex". En: *Bibliotheca Mycologica*, 187.
- Hillis, D. M. y Dixon, M. T. (1991). "Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference". En: *The quarterly review of Biology*. 66, 411-453.
- Huelsenbeck, J., Larget, B., Van der Mark, P., Ronquist, F., Simon, D. y Teslenko, M. (2012). *MrBayes: Bayesian Inference of Phylogeny*. En: <http://mrbayes.sourceforge.net/authors.php>. Consultado el 5 de mayo de 2012.
- Jarvis, M. C., Miller, A. M., Sheahan, J., Ploetz, K., Ploetz, J., Watson, R. R., Palma R., M., Pascario V., C. A., García A., J., López R., A. y Orr, B. (2004). "Edible wild mushrooms of the Cofre de Perote región, Veracruz, Mexico: An ethnomycological study of common names and uses". En: *Economic Botany*. 58, 111-115.
- Kuo, M. (2008). *Amanita rubescens*. En: <http://www.mushroomexpert.com/> Recuperado el 10 de mayo de 2012.
- Loh, J. y Harmon, D. (2005). "A global index of biocultural diversity". En: *Ecological indicators*. 5, 231-241.
- Mapes, C., Guzmán, G. y Caballero N., J. (1981). "Elements of the purepecha mycological classification". En: *Journal of Ethnobiology*. 1, 231-237.
- Mariaca M., R., Silva P., L. del C. y Castaños M., C. A. (2001). "Proceso de recolección y comercialización de hongos comestibles silvestres en el Valle de Toluca, México". En: *Ciencia Ergo Sum*. 8, 30-40.
- Marjanovič, Ž. y Nehls, U. (2008). "Ectomycorrhiza and water transport". En: Varma, A. *Mycorrhiza: State of the art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology and Structure and Systematics* (149-160). Berlin: Springer-Verlag.
- Mittermeier, M. A. y Goettsch, C. (1992). "La importancia de la diversidad biológica de México". En Sarukhán y J. Dirzo. *México ante los retos de la biodiversidad* (63-73). México: CONABIO.
- Molina, H., Massicote, H. y Trappe, J. M. (1992). "Specificity phenomena in mycorrhizal symbiosis: community ecological consequences and practical application". En Allen, M. F. *Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process* (357-423). Londres: Routledge, Chapman and Hall.
- Montoya, A., Estrada-Torres, A. y Caballero, J. (2002). "Comparative ethnomycological survey of three localities from La Malinche volcano, Mexico". En: *Journal of Ethnobiology*. 22, 103-131.
- Montoya, A., Hernández-Totomoch, O., Estrada-Torres, A. y Kong, A. (2003). "Traditional knowledge about mushrooms in a Nahua community in the state of Tlaxcala, Mexico". En: *Mycologia*. 95, 793-806.
- Montoya, A., Kong, A., Estrada-Torres, A., Cifuentes, J. y Caballero, J. (2004). "Useful wild fungi of La Malinche National Park, Mexico". En: *Fungal Diversity*. 17, 115 – 143.

- Montoya, A., Hernández, N., Mapes, C., Kong, A. y Estrada-Torres, A. (2008). "The collection and sale of wild mushrooms in a community of Tlaxcala, Mexico". En: *Economic Botany*. 62 (3), 413-424.
- Neville, P. y Poumarat, S. (2004). "Amaniteae". En: *Fungi Europaei*. 9, 1-1119.
- Pérez-Moreno, J., Martínez-Reyes, M., Yescas-Pérez, A., Delgado-Alvarado, A. y Xoconostle-Cázares B. (2008). "Wild mushroom markets in central Mexico and a case study at Ozumba". En: *Economic Botany*. 62, 425-436.
- Peterson, R. L., Massicotte, H. B. y Melville, L. H. (2004). *Mycorrhizas*. UE: CABI.
- Raina, S., Chamola, B. P., Mukerji, K. G. (2004). "Evolution of mycorrhiza". En: Mukerji, K. G., Chamola, B. P., Singh, J. (Eds.), *Mycorrhizal Biology*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. 1 – 25.
- Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México*. México: CONABIO.
- Saxena, A. K., Annapurna, K. y Tilak, K. V. B. R. (2004). "Molecular approaches to Mycorrhizal Biology". En: Mukerji, K. G., Chamola, B. P., Singh, J. *Mycorrhizal Biology* (45-56) Kluwer Academic / Plenum Publishers.
- SMA-GME (2010). *Datos generales de Villa del Carbón (versión electrónica)*. En: [http://www.edomexico.gob.mx/portalgem/medioambiente/mapa/htm/datos%20generales.asp?op=Villa del Carbón](http://www.edomexico.gob.mx/portalgem/medioambiente/mapa/htm/datos%20generales.asp?op=Villa%20del%20Carb%C3%B3n). Estado de México: Sistema de información ambiental, Gobierno del estado de México. Recuperado el 4 de septiembre del 2010.
- Sheppard, G. H. Jr., Arora, D. y Lampman, A. (2008). "The grace of the flood: Classification and use of wild mushrooms among the Highland Maya of Chiapas". En: *Economic Botany*. 62 (3), 437-470.
- Villarreal, L. y Pérez-Moreno, J. (1989). "Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral". En: *Micología Neotropical Aplicada*. 2, 77-114.
- Wang, Z., Binder, M., Schoch, C. L., Johnston, P. R., Spatafora, J. W. y Hibbett, D. S. (2006). "Evolution of heliotalean fungi (Letiomyces, Pezizomycota): A nuclear rDNA phylogeny". En: *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 41, 295-312.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. (1990). "Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics". En: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White T. J. *PCR Protocols: a guide to methods and applications* (315-322) San Diego, CA, EEUUAA: Academic Press, Inc.