

Taxonomía y sistemática

## ***Lyophyllum herrerae* sp. nov. uno de los hongos de mayor importancia cultural en el centro de México, con potencial de fructificación en cultivo**

### ***Lyophyllum herrerae* sp. nov, one of the most cultural important mushrooms of Central Mexico with potential for cultivation**

Yolanda Arana-Gabriel <sup>a</sup>, Cristina Burrola-Aguilar <sup>a</sup>,  
Roberto Garibay-Orijel <sup>b, \*</sup>, Adriana Montoya <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias, Centro de Investigación en Recursos Bióticos, Carretera Toluca-Atlacomulco Km 14.5, 50200 Toluca, Estado de México, México

<sup>b</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, Departamento de Botánica, Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 Ciudad de México, México

<sup>c</sup> Universidad Autónoma de Tlaxcala, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Km 10.5 Autopista Texmelucan-Tlaxcala, 90120 Ixtacuixtla, Tlaxcala, México

\*Autor para correspondencia: rgaribay@ib.unam.mx (R. Garibay-Orijel)

Recibido: 22 septiembre 2023; aceptado: 11 diciembre 2024

#### **Resumen**

Las especies del género *Lyophyllum* son ampliamente valoradas por su importancia cultural y biotecnológica. Las especies de la sección *Difformia* son polimórficas debido a su plasticidad fenotípica, lo que dificulta su correcta determinación; en el centro de México estas especies se conocen tradicionalmente como “clavitos”. En el presente trabajo se describe la morfología macroscópica y microscópica, filogenia, interacción ecológica, importancia cultural y se presentan los resultados preliminares de bioensayos de fructificación de *Lyophyllum herrerae* sp. nov. dentro de la sección *Difformia*. *Lyophyllum herrerae* se encuentra entre las 10 especies con mayor importancia cultural en el centro de México, es saprótrofa y altamente variable (aun en cultivo); crece, predominantemente, en bosques de pino aunque también en bosques de oyamel y encino. Aquí demostramos que esta especie es susceptible de cultivo, obteniendo cuerpos fructíferos a nivel experimental. Adicionalmente, se presenta una clave taxonómica para las especies de la sección *Difformia*. Estos hallazgos representan una alternativa en el aprovechamiento de este patrimonio biocultural, generando beneficios alimenticios y económicos para las comunidades locales contribuyendo a la soberanía alimentaria.

*Palabras clave:* Hongos comestibles; Clavitos; Cultivo; Nueva especie; Xolete; Patrimonio biocultural; Filogenia

## Abstract

*Lyophyllum* species are widely valued for their cultural and biotechnological importance. Species of *Difformia* section are polymorphic due to their phenotypic plasticity, which makes their correct identification difficult; in central Mexico, these species are traditionally known as “clavitos”. This paper describes the macroscopic and microscopic morphology, phylogeny, ecological interactions, and cultural importance of *Lyophyllum herrerae* sp. nov. within the section *Difformia*, and presents preliminary results of fruiting bioassays. *Lyophyllum herrerae* is among the 10 most culturally important species in central Mexico. It is saprotrophic and highly variable (even in cultivation); it grows predominantly in pine forests, although it also grows in fir and oak forests. Here, we demonstrate that this species is susceptible to cultivation, obtaining fruiting bodies experimentally. Additionally, a taxonomic key is presented for the species in the *Difformia* section. These findings represent an alternative for harnessing this biocultural heritage, generating nutritional and economic benefits for local communities and contributing to food sovereignty.

**Keywords:** Edible mushrooms; Clavitos; Cultivation; New species; Xolete; Biocultural heritage; Phylogeny

## Introducción

A nivel mundial, algunas especies del género *Lyophyllum* P. Karst., como *L. aggregatum* (Schaeff.) Kühner, *L. connatum* (Schumach.) Singer, *L. decastes* (Fr.) Singer, *L. fumosum* (Pers.) P.D. Orton, *L. shimeji* (Kawam.) Hongo, *L. sykosporum* Hongo y Cléménçon, y *L. ulmarium* (Bull.) Kühner, son utilizadas como alimento y/o como medicina (Boa, 2009; Ukawa et al., 2000). *Lyophyllum shimeji* es una de las especies comestibles más costosas y buscadas en los mercados internacionales junto con otras especies como *Tuber melanosporum* Vittad., *Tricholoma matsutake* (S. Ito y S. Imai) Singer, *Boletus edulis* Bull., *Cantharellus cibarius* Fr., *Amanita caesarea* (Scop.) Pers. y *Lactarius deliciosus* (L.) Gray. *Lyophyllum shimeji* es conocido como “honshimeji” y es considerado como un manjar en Japón y China (Wang y Chen, 2015). A *L. decastes* y *L. semitale* (Fr.) Kühner se les atribuyen propiedades medicinales por sus efectos antineoplásicos e hipoglucémicos (Ukawa et al., 2000). El cultivo de *Lyophyllum* sigue siendo un proceso complejo y largo. *Lyophyllum shimeji* se cultiva de manera comercial, mientras que *L. connatum* y *L. decastes* de manera experimental (Sánchez y Mata, 2012).

En México se han citado 5 especies de *Lyophyllum* con uso alimentario: *L. aggregatum*, *L. decastes*, *L. fumosum*, *L. loricatum* y *L. aff. shimeji*; éstas fructifican entre junio y agosto en bosques de *Abies religiosa*, *Pinus*, *Quercus*, *Abies-Pinus* y *Pinus-Alnus* (Burrola-Aguilar et al., 2012; Estrada-Martínez et al., 2009; Montoya et al., 2004; Garibay-Orijel y Ruan-Soto, 2014; Servín-Campuzano y Alarcón-Cháires, 2018). Las 5 especies son apreciadas por su sabor y, en conjunto, se reportan dentro de las 10 especies con mayor importancia cultural en diversas localidades de estudio, junto con *A. caesarea* s.l., *Cantharellus cibarius* s.l. y *Lactarius indigo* (Garibay-Orijel y Ruan-Soto, 2014). Burrola-Aguilar et al.

(2012) reportan a *L. decastes* y *Lyophyllum* sp. entre los hongos más difíciles de encontrar por los recolectores en Amanalco, Estado de México; sin embargo, Montoya et al. (2004) mencionan que *Lyophyllum* sp. es muy abundante en el Parque Nacional La Malinche, Tlaxcala.

El género *Lyophyllum* es polifilético, de acuerdo con Bellanger et al. (2015). Las especies morfológicas agrupadas en este género se sitúan en 5 clados diferentes (clados: I, Va, Vb, IX, XI) cada uno de los cuales merecería un rango genérico al incluirse miembros de otros géneros como: *Hypsizygus*, *Tephrocybe*, *Clitocybe*, *Calocybe* y *Rugosomyces*. El clado Va corresponde a *Lyophyllum* sección *Lyophyllum* y el clado Vb a *Lyophyllum* sección *Difformia* (Bellanger et al., 2015). Las especies con uso comestible se encuentran dentro de la sección *Difformia*, un clado bien soportado por estudios como los de Bellanger et al. (2015), Sundberg (2010) y Larsson y Sundberg (2011). La sección *Difformia* es monofilética y está integrada por *L. loricatum*, *L. decastes* s.l., *L. fumosum* y *L. shimeji* (Kalamees, 2004; Knudsen y Vesterholt, 2008; Li et al., 2019; Sundberg, 2010). Bellanger et al. (2015) consideran dentro del clado *Difformia* a *L. decastes* s.l., *L. fumosum* y *L. shimeji*, especies morfogénicas e incluyen en la sección 2 filoespecies crípticas no nombradas formalmente. Lavorato y Contu (2015) incluyeron en esta sección a *L. mariae* y Wei et al. (2023) a *L. subdecastes*.

*Lyophyllum* sección *Difformia* se caracteriza porque sus especies presentan forma tricolomatoide o clitocyboide, hábito fasciculado, conado u ocasionalmente solitario; el contexto del esporoma no tiene tonos de color azul ni se ennegrece, en ocasiones es ligeramente pardo; las láminas presentan “hematomas”, las basidiosporas tienen la pared lisa, la forma puede variar de globosas a elipsoides (Kalamees, 2004; Knudsen y Vesterholt, 2008). Su interacción ecológica es muy variada, se ha reportado que *L. shimeji* es una especie micorrizógena facultativa que se asocia con *Pinus* y *Quercus* (Larsson y Sundberg,

2011; Pera y Alvares, 1995; Yamada et al., 2001) y con *Quercus serrata* (Yamanaka, 2009); *L. fumosum* se asocia con *P. silvestris* (Yamada et al., 2001), mientras que *L. loricatum* se ha reportado como saprótrufa y *L. decastes* como saprótrufa y como micorrízica con *P. pinaster* (Pera y Álvarez, 1995; Yamada et al., 2001).

Las especies dentro de la sección *Difformia* han sido reportadas como polimórficas, trabajos como los de Bellanger et al. (2015), Hofstetter et al. (2002) y Moncalvo et al. (2000) mencionan que esta variación morfológica puede estar sujeta a factores como su plasticidad fenotípica o evolución paralela de algunas especies. Esto dificulta su estudio taxonómico, ya que ocasiona confusión en la determinación de las especies generando un gran número de sinonimias.

Dada su importancia cultural y potencial de cultivo, es fundamental realizar taxonomía integral para resolver la problemática de las especies del género. Aspectos como su distribución, interacción ecológica, cultivo y aspectos culturales proporcionan datos relevantes para la delimitación de las especies. Esto permitirá contribuir con el conocimiento del patrimonio micocultural y a desarrollar estrategias de aprovechamiento con enfoques biotecnológicos en beneficio de la seguridad alimentaria y económica de las comunidades locales y originarias.

Por lo tanto, el presente trabajo, tiene como objetivo el empleo de análisis filogenéticos, características macro y micromorfológicas, interacciones ecológicas, aspectos culturales y biotecnológicos (asociados a bioensayos de fructificación) (Wang et al., 2013) para describir a *Lyophyllum herrerae* como una nueva especie con importancia cultural y biotecnológica en el centro de México.

## Materiales y métodos

Los ejemplares se recolectaron en bosques de *Abies religiosa* (Kunth) Schldl. y Cham., *Pinus* spp., *Quercus* spp. y bosques mixtos en Tlaxcala, Estado de México y Ciudad de México. Algunos ejemplares se obtuvieron a partir de un muestreo dirigido con ayuda de la población local y otros se compraron en mercados tradicionales (tabla 1).

La descripción de caracteres macroscópicos se realizó en fresco de acuerdo con las sugerencias de Delgado et al. (2005). Los colores se registraron en fresco considerando los códigos de Kornerup y Wanscher (1978). Los ejemplares fueron fotografiados en fresco y herborizados a no más de 60 °C de acuerdo con Cifuentes et al. (1986). Posteriormente, se etiquetaron y se depositaron en la Colección de Hongos del Herbario Nacional de México en el Instituto de Biología, UNAM (MEXU-HO), Herbario

Universitario TLXM y en el Centro de Investigación en Recursos Bióticos de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Para la descripción de caracteres microscópicos y evidenciar la granulación siderófila se utilizó acetocarmín; así como KOH (10%), agua, azul de algodón, rojo Congo y Melzer para la caracterización de basidios, basidiosporas, subhimenio, trama himenoforal, pileipellis y estipitipellis (Largent et al., 1977). Para las medidas de las esporas ( $n = 20$ ) se realizaron preparaciones temporales a partir de cortes de las láminas y se obtuvo el cociente de forma ( $Q = \text{largo}/\text{ancho}$ ) (Largent et al., 1977); para los basidios y células marginales ( $n = 20$ ) se realizaron cortes transversales de las láminas. Todas las preparaciones se observaron con aumento de 1,000x con un microscopio óptico Motic® y el software Motic digital Microscope DMB3-223 (Motic China Group Co., Ltd., 2001-2004).

Debido a la alta variabilidad morfológica en las basidiosporas de los ejemplares estudiados, se citan los valores promedios y extremos del holotipo y también los tamaños extremos en el resto de los ejemplares revisados de la siguiente manera: (Al) al-CI-bl (Bl)  $\times$  (Aa) aa-Ca-ba (Ba). Donde: CI es el promedio del largo del holotipo, al y bl son los extremos de las medidas de largo del holotipo; Ca es el promedio del ancho del holotipo, aa y ba son los extremos del ancho del holotipo; Al, Bl son las medidas extremas del largo de todos los ejemplares revisados, Aa y Ba son las medidas extremas del ancho de todos los ejemplares revisados. El cociente de las esporas se representa como: Qa-Qc-Qb; donde Qa es el valor mínimo del cociente entre las medias de todos los ejemplares, Qc es el valor del holotipo y Qb corresponde al valor máximo del cociente entre las medias de todos los ejemplares.

Todos los análisis estadísticos se realizaron en el software R (R Core Team, 2024). Se utilizaron las pruebas de Shapiro-Wilk y Lilliefors para determinar la normalidad de los datos; así como la prueba de Levene para la homocedasticidad de varianza. Para el caso en el que los datos no presentaron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y para los casos de normalidad se realizó un Anova de Welch para determinar diferencias significativas del largo, ancho y Q de los ejemplares analizados. Para la diferencia entre los grupos se realizó la prueba de Dunn ( $p < 0.05$ ), además de la prueba de Bonferroni para corregir los errores en las comparaciones múltiples. Los resultados obtenidos fueron graficados utilizando la función ggplot. Las librerías utilizadas en el software R fueron, “car” (Fox y Weisberg, 2019), “ggplot 2” (Wickham, 2016), “readr” (Wickham et al., 2022), “dunn.test” (Dunn, 1964), “FSA” (Ogle et al., 2023), “dplyr” (Wickham et al., 2023) y “viridis” (Garnier et al., 2024).

Tabla 1  
Ejemplares estudiados.

Número de recolecta	Número de herbario	Nombre común	Vegetación	Fecha de recolecta	Estado	Región
GO-2009-278	MEXU 26748	Clavitos	desconocida		Edo. Mex.	Mercado de Amecameca
HC-PNNT-078	MEXU 26594	Clavo de oyamel	Bosque de <i>Abies religiosa</i>	23/07/2008	Edo. Mex.	Zinacantepec
HC-PNNT-246	MEXU 26689	Clavitos	Bosque de <i>Pinus</i> sp.	29/08/2008	Edo. Mex.	Zinacantepec
A. Montoya 3005	TLXM 7001	Xolete regadito	Bosque de <i>Pinus</i> sp.		Tlaxcala	
A. Montoya 3022	TLXM 7002	sin nombre	Bosque de <i>Quercus crasifolia</i> , <i>Q. laeta</i> , <i>Q. laurina</i>	-----	Tlaxcala	-----
Jaime-Salinas 24	TLXM 7003	Xolete de encino	Bosque de <i>Quercus</i> sp.	-----	Tlaxcala	Tlaxco
Jaime-Salinas 36	TLXM 7004	Hongo blanco de monte, xolete blanco	-----	-----	Tlaxcala	Parque Nacional La Malinche
Lorant-Flores A. 47	MEXU 30216	Clavito, Hongo de mata, Güeritos, Negritos, Hongo blanco	-----	12/07/2017	CdMx	Milpa alta, Santa Ana Tlacotenco
Lorant-Flores A. 49	MEXU 30357	Clavito de encinal	Bosque de <i>Quercus</i> sp.	13/07/2017	CdMx	Milpa alta, Santa Ana Tlacotenco
Lorant-Flores A. 52	MEXU 30358	Cuaresmeño	-----	13/07/2017	CdMx	Milpa alta, Santa Ana Tlacotenco
Lorant-Flores A. 66	MEXU 30217	Clavitos	-----	05/08/2017	CdMx	Milpa alta, Santa Ana Tlacotenco
Lorant-Flores A. 42	MEXU 30359	Clavito de encinal	Bosque de <i>Quercus</i> sp.	05/07/2017	CdMx	Milpa alta, Santa Ana Tlacotenco
AGYLy0-5.3	MEXU 28149	Clavitos	Bosque de <i>Abies religiosa</i>	01/07/2015	Edo. Mex.	Zinacantepec
CIRB-H01	CIRB H01	Clavo	Bosque de <i>Pinus</i> sp.	20/07/2019	Edo. Mex.	Coatepec Harinas
CIRB-H02 (holotipo)	MEXU 30365	Clavitos	Bosque de <i>Pinus</i> sp.	25/07/2019	Edo. Mex.	Isidro Fabela
CIRB-H03	CIRB H03	Clavitos	Bosque de <i>Pinus</i> sp.	25/07/2019	Edo. Mex.	Otzolotepec
CIRB-H04	CIRB H04	Clavo	Bosque de <i>Pinus</i> sp.	27/07/2019	Edo. Mex.	Toluca
CIRB-H05	MEXU 30368	Clavo	Bosque de <i>Pinus</i> sp.	27/07/2019	Edo. Mex.	Zinacantepec
CIRB-H06	CIRB H06	Clavitos	Bosque de <i>Pinus</i> sp.	25/07/2019	Edo. Mex.	Capulhuac
CIRB-H07-cultivo	MEXU 30360	-----	Ejemplares cultivados de la cepa IE 983 del ejemplar MEXU 28149	13/06/2023	-----	-----

Para la extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación Sanger se usaron los protocolos de Sambrook et al. (1989) y Sánchez-Ledesma et al. (2022). El ADN se extrajo de ejemplares secos por el método CTAB y se amplificó por PCR en reacciones de 25 µl. Para los análisis filogenéticos se usó la región de los espaciadores transcritos internos ribosomales (ITS), pues ha demostrado discriminar adecuadamente las especies en *L.* sección *Difformia* (Kalamees, 2004; Knudsen y Vesterholt, 2008; Lavorato y Contu, 2015; Li et al., 2019; Sundberg, 2010; Wei et al., 2023). La región de los ITS se amplificó con los oligonucleótidos ITS1F e ITS4. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador MiniAmp Plus (Applied Biosystems, EUA). Los productos de PCR se limpiaron con ExoSAP-IT (ThermoFisher, EUA). Las secuencias de los ITS se obtuvieron en el Laboratorio de Secuenciación de la Biodiversidad y la Salud del Instituto de Biología de la UNAM, utilizando BigDye Terminator 3.1 (ThermoFisher), en ambas direcciones.

Las secuencias de ADN se editaron y alinearon en Geneious Prime 2023 con el algoritmo de Muscle 5.1 (Edgar, 2004). Las secuencias de ADN nuevas se depositaron en GenBank (tabla 2). El alineamiento para los análisis filogenéticos (material suplementario 1) incluyó las secuencias generadas en este estudio, las incluidas previamente en análisis de *Lyophyllum* sección *Difformia* y secuencias de alta similitud de nucleótidos obtenidas de GenBank con el algoritmo Blast (Altschul et al., 1990; tabla 2). Se alinearon un total de 60 secuencias de 11 taxones de la sección *Difformia* y 3 especies de *Tephrocycbe* como grupo externo. El alineamiento tuvo 540 posiciones, éste se revisó manualmente y las regiones de alineamiento ambiguo fueron excluidas.

Se realizaron análisis filogenéticos por el método de inferencia bayesiana y el de máxima verosimilitud. Primero, se eligió el modelo evolutivo más adecuado con Jmodel test 2 (Darrriba et al., 2012), que resultó el HKY85 con proporción de sitios invariables. Los valores de probabilidad posterior bayesiana (PPB) se obtuvieron en MrBayes 3.2.6 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003), se corrieron 4 cadenas de Monte Carlo con 10 millones de generaciones, se muestreó cada 100 y se descartó el primer 10% de los árboles. Se usó Tracer 1.7 para calcular el tamaño efectivo de muestra (ESS, por sus siglas en inglés) y para visualizar la convergencia de las cadenas (Rambaut et al., 2018). Los valores de máxima verosimilitud (MV) se obtuvieron en PhyML 3.3.2 (Guindon et al., 2010) con mil réplicas de bootstrap y optimizando tanto la topología del árbol como el largo de las ramas. Estos análisis se implementaron en Geneious Prime 2023.

Se realizó una clave taxonómica con base en caracteres morfológicos e interacción ecológica para las

especies que han sido reportadas dentro de la sección *Difformia*. Se realizó una revisión bibliográfica detallada sobre las investigaciones enfocadas en el conocimiento micológico tradicional (CMT) en México, con atención en las especies reportadas del género *Lyophyllum* para recabar información relacionada a sus usos, nombres comunes, interacción ecológica, época de fructificación e importancia cultural.

Los cuerpos fructíferos obtenidos de cultivo experimental fueron donados por MycoSeta® para su caracterización macro y microscópica en el presente estudio y para evidenciar la plasticidad morfológica en sus diferentes etapas de desarrollo. Los cuerpos fructíferos fueron obtenidos a partir de la cepa IE 983 aislada de MEXU 28149.

## Resultados

Los análisis filogenéticos de máxima verosimilitud y bayesianos de *Lyophyllum* sección *Difformia* resultaron en la misma topología. Para los análisis bayesianos, todos los parámetros de las cadenas convergieron con un ESS siempre mayor a 4,592. En la figura 1 se observan 2 cladogramas principales: el primero con muy buen soporte (PPB/MV = 1/98) en donde se encuentran *L. littoralis*, *L. loricatum* y *L. decastes* s.l., el segundo clado no tiene soporte y en él se encuentran 3 cladogramas que incluyen a: *L. shimeji*, *L. fumusum* y *Lyophyllum herrerae*. Los ejemplares de esta especie resultaron en un clado monofilético no descrito previamente y bien soportado con PPB = 0.95 y soporte de bootstrap moderado de MV = 78%; es un clado con características morfológicas y microscópicas diagnósticas particulares. Por lo que, a continuación, se describe a *Lyophyllum herrerae* como nueva especie.

### Descripción

*Lyophyllum herrerae* Arana-Gabriel, Burrola-Aguilar, Garibay-Orijel y Montoya, sp. nov.

Fig. 2a-m

Mycobank: MB858523

*Diagnosis.* Cap of 30-90 (-195) mm in diameter; its surface is dry in most cases, but it can be humid or hygrophanous, in a dark brown color. As it matures, the color turns clearer, predominately light pale yellow, pastel grey or brownish-orange, predominately with a greyish-brown, with yellowish-brown to champagne color spots; from convex to flat-convex; incurved margin to straight margin with a crenulated wavy edge; generally showing dark brown, radial fibrils. Gills are subdecurrent to adherent, edge generally smooth to slightly wavy or fimbriated, lamellulae attenuated; in cream color,

Tabla 2

Secuencias de DNA usadas en el análisis filogenético

Especie	GenBank	Voucher	Referencia
<i>Lyophyllum</i> aff. <i>fumosum</i>	KT875064	CB08330	este trabajo
<i>Lyophyllum</i> aff. <i>fumosum</i>	KT875066	AR09641	este trabajo
<i>Lyophyllum</i> aff. <i>fumosum</i>	KY195931	IE981	este trabajo
<i>Lyophyllum</i> cf. <i>lanzonii</i>	KP192546	LIP: PAM060928030	Bellanger et al. (2015)
<i>Lyophyllum conglobatum</i> var. <i>albidopallidum</i>	KP192602	FR2014020	Bellanger et al. (2015)
<i>Lyophyllum decastes</i>	AB269928	Miyagi LD1 Gou	Babasaki et al. (2007)
<i>Lyophyllum decastes</i>	AB285107	Miyagi LD1 Gou (Variety No. 8121)	Babasaki et al. (2007)
<i>Lyophyllum decastes</i>	AB301605	NBRC 33134	Maeta et al. (2008)
<i>Lyophyllum decastes</i>	AF357059	JM87/16(T1)	Hofstetter et al. (2002)
<i>Lyophyllum decastes</i>	FJ810160	dd08054	no publicado
<i>Lyophyllum decastes</i>	HM119485	Ld418	no publicado
<i>Lyophyllum decastes</i>	HM572547	LAS06-152	Larsson y Sundberg (2011)
<i>Lyophyllum decastes</i>	JN983979	Ldec6Q106	Visnovsky et al. (2014)
<i>Lyophyllum decastes</i>	JN983983	Ldec3Q106	Visnovsky et al. (2014)
<i>Lyophyllum fumosum</i>	HM572537	Sundberg090813	Larsson y Sundberg (2011)
<i>Lyophyllum fumosum</i>	HM572538	Lipovac090903	Larsson y Sundberg (2011)
<i>Lyophyllum fumosum</i>	HM572539	SJ02-006	Larsson y Sundberg, (2011)
<i>Lyophyllum fumosum</i>	HM572540	Aase810721	Larsson y Sundberg, (2011)
<i>Lyophyllum fumosum</i>	HM572541	LAS00-144	Larsson y Sundberg, (2011)
<i>Lyophyllum fumosum</i>	JF908340	16077	Osmundson et al. (2013)
<i>Lyophyllum fumosum</i>	JN983977	LfumNif24	Visnovsky et al. (2014)
<i>Lyophyllum fumosum</i>	JX966309	L2010512370	no publicado
<i>Lyophyllum fumosum</i>	JX966310	L2010512371	no publicado
<i>Lyophyllum herrerae</i>	KT875068	HC-PNNT-078	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	KT875069	GO-2009-278	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	KT875070	HC-PNNT-246	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	KY195933	UBC F-32192	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116953	am3005a	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116954	am3022	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116955	CIRB-H01	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i> holotipo	OR116956	CIRB-H02	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116957	CIRB-H03	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116958	CIRB-H04	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116959	CIRB-H05	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116960	CIRB-H06	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116961	Jasq24	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116962	Jasq36	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116963	Lorant-FloresA.47	este trabajo

Tabla 2. Continúa

Especie	GenBank	Voucher	Referencia
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116964	Lorant-FloresA.49	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116965	Lorant-FloresA.52	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116966	Lorant-FloresA.66	este trabajo
<i>Lyophyllum herrerae</i>	OR116967	Lorant-FloresA.92	este trabajo
<i>Lyophyllum littoralis</i>	JX280410	CA20091210	no publicado
<i>Lyophyllum loricatum</i>	JF908336	13175	Osmundson et al. (2013)
<i>Lyophyllum loricatum</i>	JX280406	CA20090202.03	no publicado
<i>Lyophyllum loricatum</i> f. <i>subxanthum</i> holotipo	JX280407	01.12.09	no publicado
<i>Lyophyllum shimeji</i>	HM572522	“Cultivar”	Larsson y Sundberg (2011)
<i>Lyophyllum shimeji</i>	HM572530	Olsen821006	Larsson y Sundberg (2011)
<i>Lyophyllum shimeji</i>	HM572536	Fallman090927	Larsson y Sundberg (2011)
<i>Lyophyllum shimeji</i>	JN983958	AT608	Visnovsky et al. (2014)
<i>Lyophyllum shimeji</i>	JN983959	AT713	Visnovsky et al. (2014)
<i>Lyophyllum shimeji</i>	JN983967	JS10	Visnovsky et al. (2014)
<i>Lyophyllum shimeji</i>	JN983975	INA1	Visnovsky et al. (2014)
<i>Lyophyllum shimeji</i>	JN983985	NZ4Q88	Visnovsky et al. (2014)
<i>Lyophyllum shimeji</i>	MF955187	UBC F-32192	no publicado
<i>Lyophyllum</i> sp.	KF702394	ql-6	no publicado
<i>Lyophyllum tenebrosus</i>	KP192615	LIP:RC11100801	Bellanger et al. (2015)
<i>Tephrocycbe ambusta</i>	AF357057	CBS452.87	Hofstetter et al. (2002)
<i>Tephrocycbe anthracophila</i>	AF357055	HC79/132	Hofstetter et al. (2002)
<i>Tephrocycbe atrata</i>	AF357053	CBS709.87	Hofstetter et al. (2002)

greyish-white or pale yellow, in some cases, they present champagne-colored spots. Stipe of 30-100 (-270) mm long and 5-20 mm wide, central, and sinuous with fibrilous surface; with a cream to yellowish, pale greyish yellow, with some champagne-colored spots that, in certain occasions when manipulating, accentuate to dark brown. Basidia (22.3) 26.6-30.5-33.3 (36.7) × (4.6) 5.3-6.8-9.0 (9.3), 3-4 sterigmata. Basidiospores (3.7) 4.3-4.8-6.0 (7.0) ± 0.58 × 2.3-3.4-4.3 (5.7) ± 0.51 μm, Q = 1.2-1.4-1.6 ± 0.19, ellipsoid to amplified ellipsoid to elongated, hyaline, uni or two-guttulated, cyanophilic and inamyloid. Marginal cells (cheilocystidia) 22.9-41.0 × 3.0-5.2 μm, inconspicuous, filiform-fusiform to cylinder-flexuous, hyaline and they can even be absent in some specimens.

Esporoma: píleo de 30-90 mm de diámetro, en algunos casos alcanza los 195 mm; en estado juvenil es convexo, conforme madura es plano-convexo, en algunos casos llega a ser plano o giboso, con el disco obtuso, vista apical orbicular; margen de incurvado a decurvado o recto

dependiendo del estado de maduración; borde ondulado, crenulado o entero. La superficie es de seca a húmeda, higrófana o ligeramente aceitosa; generalmente tiene fibrillas del mismo color que el píleo, en algunos casos glabra. Unión con el contexto homogénea. El color es muy variable en las diferentes etapas de maduración, por la exposición y la vegetación asociada. En estado juvenil es color café claro en el margen (6D5, 6D3) con el disco café oscuro (5F4-6F5-6F3) y con algunas manchas café claro (5D3, 5E4, 5D1) en todo el píleo (fig. 2a, f). En muchos casos este color puede prevalecer en estado adulto; sin embargo, en algunos otros casos el color es más claro, llegando a ser amarillo claro (4A4), gris pastel (5C1) o naranja parduzco (5C3), predomina el color café grisáceo (5E2) (fig. 2b, c); a veces con manchas de color café amarillento (5F6) a champán (4B4) (fig. 2h, i, l). También pueden ser café oscuro (6F8) a café (8F6) (fig. 2d, e) o crema (4A3) (fig. 2j, l) con tonos grises (5C1) (fig. 2m) o con el disco color café oscuro (6F4) (fig. 2g, k).



Figura 1. Árbol de máxima verosimilitud de *Lyophyllum* sección *Difformia*. En los nodos se muestran los valores de soporte de probabilidades posteriores bayesianas/porcentaje de bootstrap de máxima verosimilitud.

Contexto del píleo y estípite: blanco (A1), sólido, sin cambios de color al maltrato, olor dulce.

Láminas: juntas, subadheridas, adheridas, en algunos casos subdecurrentes, o sinuadas, anchas; borde liso a ligeramente ondulado o fimbriado; con lamélulas atenuadas, color crema (4A3), blanco grisáceo (30B1), amarillo pálido (4A3) o blanco amarillento (2A2), en algunos casos con manchas de color champán (4B4). Esporada blanquecina-crema (4A3).

Estípite: 30-100 mm × 5-20 mm, en algunos casos alcanza los 270 mm de longitud; generalmente central a excéntrico; recto, sinuoso, en algunos casos atenuado a la base; superficie fibrilosa, consistencia carnosa-fibrosa, contexto sólido. Color blanco (A1), crema (4A3), blanco grisáceo (30B1), amarillo pálido(4A3) o blanco amarillento (2A2) igual que las láminas, con algunas manchas de color champán (4B4) o café claro (5D3, 5E4, 5D1), las cuales pueden acentuarse a café oscuro (6F8)



Figura 2. Variación morfológica en los esporomas silvestres de *Lyophyllum herrerae*. a, HC-PNNT-078; b, HC-PNNT-246; c, AGYLyo-5.3; d, GO-2009-278; e, Lorant-Flores A. 66; f, CIRB-H02 (holotipo); g, CIRB H01; h, CIRB H03; i, CIRB H06; j, Lorant-Flores A. 47; k, CIRB H05; l, Jaime-Salinas 24; m, Jaime-Salinas 36. Barras de escala: 20 mm.

con la manipulación; en algunos ejemplares se observa tomento basal o cordones miceliarios.

Basidios: (22.3) 26.6-30.5-33.3 (36.7)  $\times$  (4.6) 5.3-6.8-9.0 (9.3)  $\mu\text{m}$ , claviformes, de 3-4 esterigmas, con fibulas basales, hialinos y con granulación siderófila (fig. 3a-c).

Basidiosporas: (3.7) 4.3-4.8-6.0 (7.0)  $\pm$  0.58  $\times$  2.3-3.4-4.3 (5.7)  $\pm$  0.51  $\mu\text{m}$ , Q = 1.2-1.4-1.6  $\pm$  0.19, de elipsoides a ampliamente elipsoides a elongadas; hialinas, con pared

delgada y lisa, uni o bigutuladas, cianófilas e inamiloides (fig. 3d-f).

En algunos casos se observan células marginales de 22.9-41.0  $\times$  3.0-5.2  $\mu\text{m}$ , filiforme-fusiformes a cilindro-flexuosas, hialinas, inconspicuas (fig. 4a-e). Subhimenio ramificado. Trama himenóforal regular. Pileipellis compuesta por hifas paralelas o ligeramente entrelazadas, de (2.0-) 5.1 (-6.8)  $\mu\text{m}$  de diámetro, con pigmentación intraparietal de color marrón grisáceo

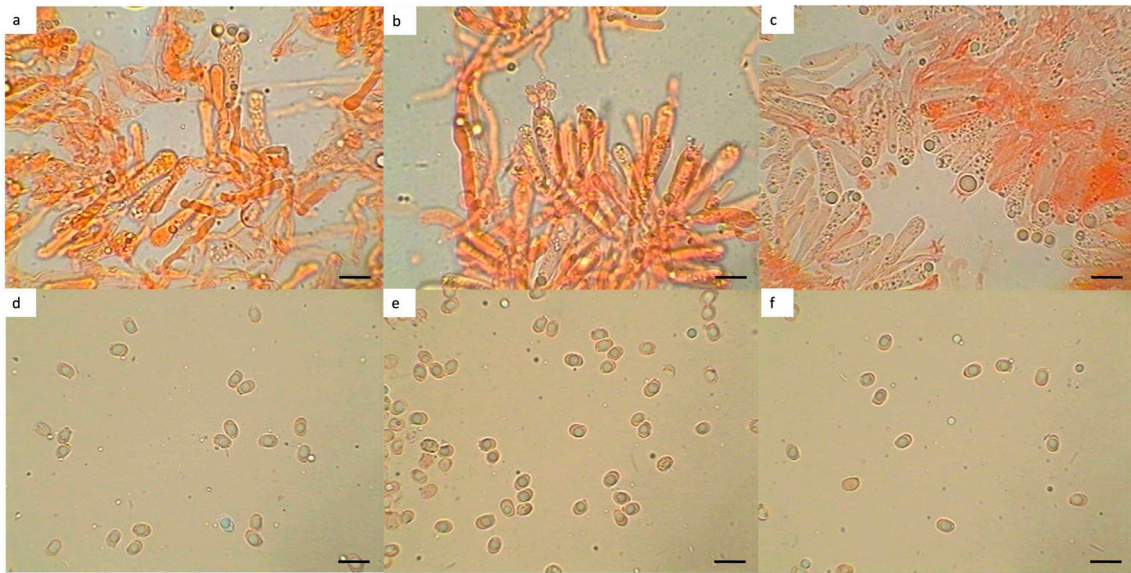


Figura 3. Himenio de *Lyophyllum herrerae*. a-c, Basidios con 3 y 4 esporas; d-f, esporas de *Lyophyllum herrerae*. Tinción con rojo Congo a 1,000x. Barras de escala: 10  $\mu$ m.

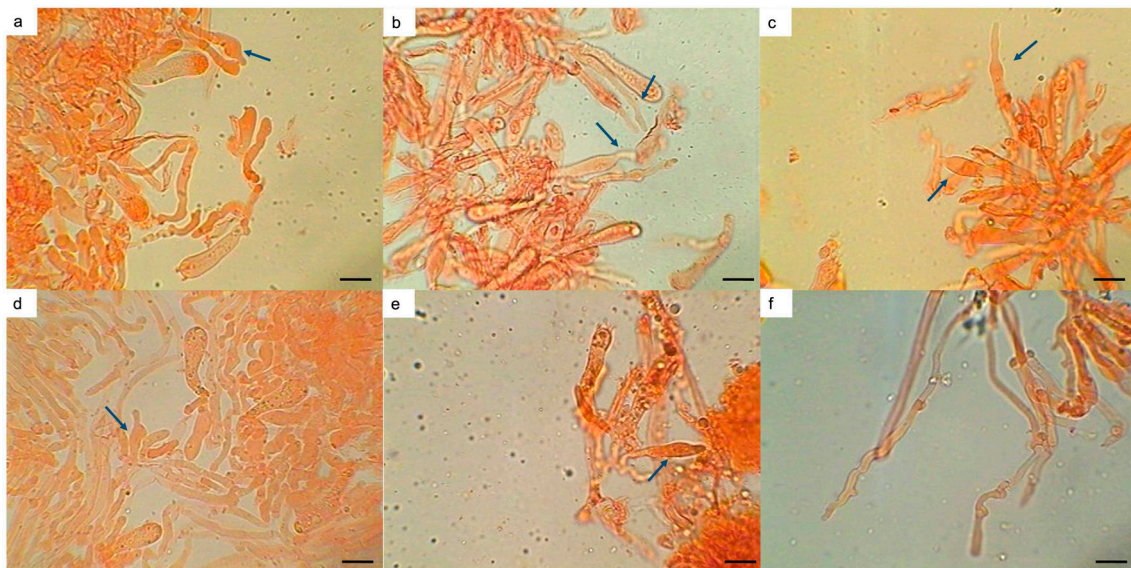


Figura 4. Otras estructuras microscópicas de *Lyophyllum herrerae*. a-e, Células marginales de tipo filiforme-fusiforme y cilindroflexuoso (cada flecha muestra células marginales); f, fibulas del subhimenio. Tinción con rojo Congo a 1,000 x. Barras de escala: 10  $\mu$ m.

(6E3) con tonalidades café (5F4), la pared de las hifas es gruesa (1  $\mu$ m), presentan abundantes fibulas, con algunas hifas tromboplerosas (hifas oleíferas). Estipitipellis, cutis con hifas alargadas y con presencia de fibulas. Fibulas presentes en la mayoría de las hifas (fig. 4f).

#### Resumen taxonómico

*Holotipo*: México, Estado de México, Isidro Fabela, Las Palomas, julio 25, 2019, MEXU 30365, GenBank OR116956. Figura 2f.

*Especímenes examinados:* México, Estado de México: Zinacantepec, Agua Blanca, julio 23, 2008, recolectados en APFFNT (Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca), Sergio Franco Maass, HC-PNNT-078 (MEXU 26594) (fig. 2a), julio 01, 2015, Yolanda Arana Gabriel, AGYLyo-5.3 (MEXU 28149) (fig. 2c); raíces, agosto 29, 2008, José Enrique Figueroa Morales, HC-PNNT-246 (MEXU 26689) (fig. 2b). México, Estado de México: Amecameca, mercado de Amecameca, junio 6, 2009, recolecta, Roberto Garibay Orijel, GO-2009-278 (MEXU 26748) (fig. 2d). Ciudad de México: Milpa Alta, julio, Santa Ana Tlacotenco, julio 12, 2017, recolecta, Angélica Lorant Flores Lorant-Flores A. 47 (MEXU 30216) (fig. 2j), Lorant-Flores A. 66 (MEXU 30217) (fig. 2e), Lorant-Flores A.49 (MEXU 30357), Lorant-Flores A. 52 (MEXU 30358), Lorant-Flores A. 42 (MEXU 30359). México, Estado de México: Coatepec Harinas, paraje de las placas, julio 7, 2019, compra en el seminario, Toluca, CIRB-H01 (fig. 2g); Zinacantepec, Llano Redondo, julio 27, 2019, compra en el seminario, Toluca, CIRB-H05 (MEXU 30368) (fig. 2k); Capulhuac, julio 25, 2019, compra en Oztolotepec, CIRB-H06 (fig. 2i); Oztolotepec, julio 25, 2019, compra en Oztolotepec, CIRB-H03 (fig. 2h); Isidro Fabela, Las Palomas, julio 25, 2019, compra en Temoaya, CIRB-H02 (holotipo MEXU 30365) (fig. 2f). México, Tlaxcala: mercado de Huamantla, Tlaxcala, mayo 27, 2005, recolectados en el PNLM (Parque Nacional La Malinche), Cándida Rodríguez, A. Montoya3005 (TLXM 7001) (fig. 5); 1 km al NO de San Mateo Huexoyucan, julio 18, 2015, A. Montoya, 3022 (TLXM 7002); Tlaxco, El Peñón, sin fecha, Maricarmen Jaime Salinas, Jaime-Salinas 24 (TLXM 7003) (fig. 2l); Parque Nacional La Malinche, 4-7 km al O de Javier Mina, julio 5, 2018, Maricarmen Jaime, Salinas Jaime-Salinas 36 (TLXM 7004) (fig. 2m). Ejemplares cultivados de la cepa IE 983 del ejemplar MEXU 28149, CIRB-H07-cultivo (MEXU 30360) (fig. 6).

*Etimología:* en honor al Dr. Teófilo Herrera, pionero de la Micología en México quien falleció en el año 2020.

*Hábito de crecimiento:* pueden presentar crecimiento epigeo o subhipogeo con crecimiento cespitoso, connado, a veces solitario.

*Interacción ecológica y distribución:* es una especie saprótrofa, crece predominantemente en bosques de *Pinus* spp. (entre las acículas o en la base del zacatonal), aunque también puede encontrarse en bosques de *Abies religiosa* y ocasionalmente en bosque de *Quercus* spp.

*Nombres comunes:* clavitos, clavo, clavo de oyamel, xolete regadito, xolete de encino, hongo blanco de monte, xolete blanco, hongo de mata, güeritos, negritos, hongo blanco, ahuaxulet, ocoxulet, cuaresmeño.

*Cepa:* el micelio crece en medio EMA-PL (agar extracto de malta adicionado con peptona y levadura) a 18 °C, es de color blanco, forma circular, margen fimbriado.

*Cultivos:* depositados en el INECOL, Xalapa, México, IE 983 aislado de MEXU 28149 (fig. 2c).

*Exttype culture:* IE 983

*Observaciones:* el tamaño y la forma de las esporas de *L. herrerae* no es homogéneo entre los ejemplares analizados. Las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y Lilliefors indican que los datos de largo y ancho de las esporas presentan una distribución no normal ( $p < 0.05$ ) y el valor de Q una distribución normal ( $p > 0.05$ ). De acuerdo con la homocedasticidad de las varianzas basadas en la prueba de Levene se presenta homogeneidad en el largo ( $F_{15,304} = 1.6644, p > 0.05$ ) y ancho ( $F_{15,304} = 0.9572, p > 0.05$ ) de las esporas y heterogeneidad para el valor de Q ( $F_{15,304} = 2.9504, p < 0.05$ ). Para el ancho ( $\chi^2 = 79.094, gl = 14, p < 0.05$ ) y largo ( $\chi^2 = 91.417, gl = 14, p < 0.05$ ) de las esporas la prueba de Kruskal-Wallis y Welch de ANOVA para valor de Q ( $F_{14} = 7.8179, p < 0.05$ ) arrojaron que hay diferencias significativas entre los ejemplares analizados (fig. 7).

La similitud nucleotídica intraespecífica en el ITS entre los ejemplares de *L. herrerae* va de 99 a 100%. Mientras que la similitud interespecífica con *L. shimeji* es alrededor de 2% y con *L. fumosum*, *L. conglobatum* y *L. tenebrosus*, es de 3%.

#### Clave taxonómica para las especies reportadas dentro de *Lyophyllum* sección *Difformia*

- 1a Cociente de las esporas  $Q > 1.2$ ..... 2
- 1b Cociente de las esporas  $Q < 1.2$ ..... 3
- 2a Esporas de  $5-6 \times 4-5 \mu\text{m}$ , globosas a ampliamente elipsoides,  $Q = 1-1.4$ , lisas; basidios con 4 esporas. Láminas separadas, ventricosas, adheridas; estípote cilíndrico a clavado, en ocasiones retorcido, hueco con superficie pruinosa, y hábito solitario..... *L. mariae*
- 2b Esporas de  $4.3-6.0 \times 3.0-4.5 \mu\text{m}$ , elipsoides, ampliamente elipsoides a elongadas,  $Q = 1.23-1.49$ , lisas; basidios con 3 a 4 esporas. Píleo con fibrillas, láminas de subdecurrentes a adheridas; estípote sinuoso con superficie fibrilosa, saprótrofo, y hábito cespitoso o connado..... *L. herrerae*
- 3a Pleurocistidios presentes y dispersos de  $2.63-47.57 \times 5.23-11.19 \mu\text{m}$ , fusoide-ventricosos. Esporas de  $3.7-5.0 \mu\text{m}$ , globosas a subglobosas,  $Q = 1.0-1.1$ , lisas; basidios con 4 esporas, raramente 2, y hábito gregario..... *L. subdecastes*

- 3b Pleurocistidios ausentes ..... 4
- 4a Píleo viscoso, higrófono, cartilaginoso. Láminas emarginadas, algunas veces cambian de color a marrón cuando se maltratan. Estípite cilíndrico o ensanchado de la base, algunas veces ligeramente radicante. Esporas de  $5-7 \times 4.5-6 \mu\text{m}$ , globosas a subglobosas,  $Q = 1-1.1$ , lisas, saprótrofo, y hábito fasciculado..... *L. loricatum*
- 4b Píleo deprimido o umbonado..... 5
- 5a Píleo deprimido o umbonado y fibriloso. Láminas emarginadas, estípite cilíndrico a clavado, a menudo excéntrico, fibriloso, pruinoso. Esporas de  $5-6 \times 4.5-5.5 \mu\text{m}$ , globosas a globosas-elipsoides,  $Q = 1-1.2$ , lisas, forma micorrizas con *Pinus*, saprótrofo, y hábito fasciculado..... *L. decastes*
- 5b Píleo de color café a café oscuro ..... 6
- 6a Píleo de color gris, gris oscuro o marrón grisáceo hemisférico a convexo o plano con margen incurvado, superficie lisa. Láminas con una ligera depresión o ligeramente decurrentes, estípite ventricoso a cilíndrico y esporas globosas; forma micorrizas con *Pinus* y *Quercus*, y hábito fasciculado..... *L. shimeji*
- 6b Píleo de color café, café oscuro o café grisáceo, con fibrillas, margen tomentoso incurvado y enrollado. Láminas adheridas a decurrentes. Estípite cilíndrico con la base ensanchada, en ocasiones excéntrico, ligeramente tomentoso-pruinoso; forma micorrizas con *Pinus* y hábito connado..... *L. fumosum*



Figura 5. *Lyophyllum herrerae* en el mercado de Huamantla, Tlaxcala, recolectado en el Parque Nacional La Malinche.

#### Conocimiento tradicional

*Lyophyllum* es uno de los géneros más utilizados con fines comestibles y/o alimenticios en el centro de México, sus especies son recolectadas para venta y autoconsumo (Garibay-Orijel y Ruan-Soto, 2014); cada especie utilizada recibe más de un nombre común. Diferentes investigaciones reportan el uso comestible de *L. decastes*, *L. fumosum*, *L. loricatum*, *L. sp.* y *Lyophyllum* aff. *shimeji*. Los clavitos, macoyitas, hongo de mata, montones o xolete, nombres con los que comúnmente se les conocen, se encuentran dentro de las 10 especies con mayor importancia etnomicológica y económica en México (Burrola-Aguilar et al., 2012; Estrada-Martínez et al., 2009; Montoya et al., 2004; Ramírez-Carbajal, 2017; Servín-Campuzano y Alarcón-Cháires, 2018).

#### Bioensayos de fructificación

Los esporomas obtenidos en bioensayos de fructificación (MEXU 30360) (fig. 6) presentaron variaciones morfológicas y de crecimiento asociadas con las condiciones ambientales. En las primeras etapas de desarrollo los píleos presentan una forma convexa con margen incurvado y coloración café (30E5, 5A5), con el borde ondulado o entero; conforme maduran, el píleo se torna plano-convexo y de coloración más clara siendo amarillo claro (4A4) o naranja parduzco (5C3) con el centro del píleo de color café claro (5D3). En las primeras etapas de desarrollo tanto el píleo como el estípite presentan fibrillas de color café (5D3), las cuales suelen perderse conforme maduran; en algunos otros casos, prevalecen durante todo el tiempo. El estípite puede ser de 2 formas, central o excéntrico. Presentaron un crecimiento epigeo y subhipogeo con hábito cespitoso y solitario. Actualmente, se continúa trabajando con adecuaciones en el cultivo, para identificar las condiciones que se requieren para el desarrollo óptimo de la especie y producción de cuerpos fructíferos bajo condiciones controladas.

#### Comentarios taxonómicos

*Lyophyllum herrerae* se ubica dentro de *L.* sección *Difformia*, es un clado no descrito previamente y de gran importancia cultural que recibe los nombres genéricos de xolete o clavito en el centro de México. Su posición filogenética y la combinación de sus caracteres morfológicos y ecológicos permiten distinguirla como una nueva especie con potencial de fructificación en cultivo.

**Plasticidad morfológica.** *Lyophyllum herrerae* presenta variación en la coloración, tamaño, forma y ornamentación del esporoma, así como el tamaño y forma

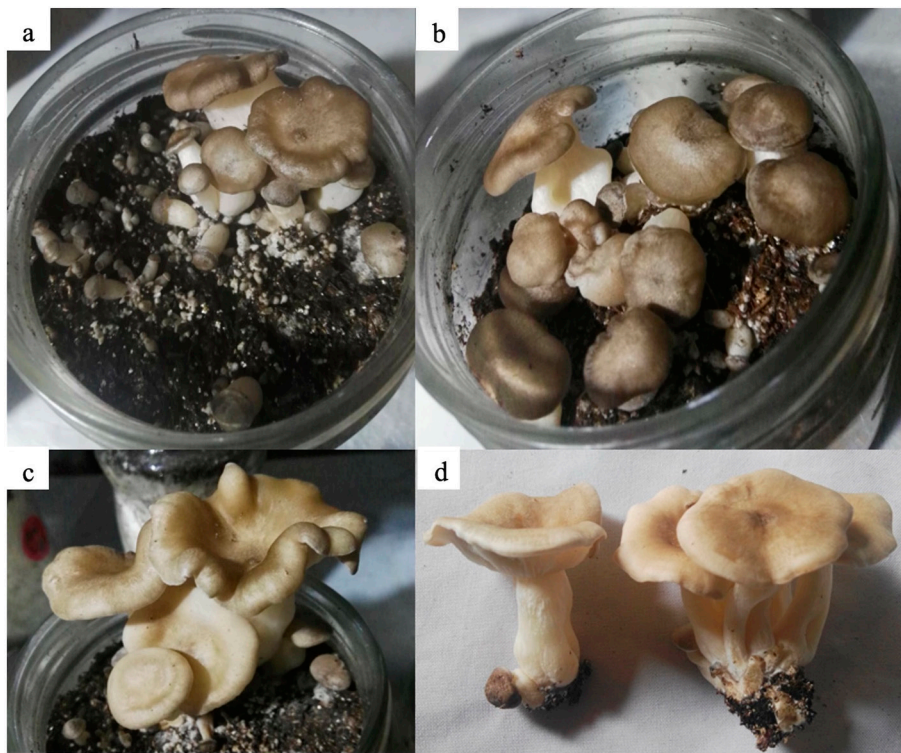


Figura 6. Variación morfológica en los esporomas cultivados de *Lyophyllum herrerae*. Cultivo de la cepa IE 983 obtenida del esporoma MEXU 28140.

de las esporas. Esta variación se observa en los diferentes estados de maduración y asociado a las condiciones sometidas en los bioensayos de fructificación (fig. 6). Otras variables como la vegetación, origen geográfico y factores ambientales también influyen en su morfología como se ha reportado para otras especies de la sección *Difformia* (Bellanger et al., 2015; Hofstetter et al., 2002; Moncalvo et al., 2000). En estados juveniles la coloración del píleo es más oscura y conforme madura la coloración se vuelve más clara hasta tomar tonalidades crema o amarillo claro o amarillo grisáceo; la presencia de fibrillas de color café en el píleo y el estípote fibriloso son las características que más prevalecen en la mayoría de los ejemplares en particular en estado inmaduro; sin embargo, éstas pueden estar ausentes o perderse en ejemplares maduros. Al igual que las otras especies de la sección *Difformia* (Kalamees, 2004; Knudsen y Vesterholt, 2008), esta especie no presenta cambio de coloración en el contexto al maltrato, pero sí presenta algunas manchas café en las láminas y estípote, las cuales en ocasiones son más evidentes con la manipulación.

En la mayoría de los casos, las láminas son subadheridas, adheridas, en algunos casos subdecurrentes o sinuadas.

*Lyophyllum herrerae* se distingue por presentar el estípote central o excéntrico, recto, sinuoso, uniforme o atenuado hacia la base. El hábito de crecimiento es otra de sus características distintivas. *Lyophyllum herrerae* presenta hábito cespitoso y connado e incluso pueden llegar a presentarse de manera solitaria, de aquí el nombre común de xolete regadito (tabla 1). Las variaciones morfológicas de *L. herrerae* son comunes en los taxones que integran la sección *Difformia* (Kalamees, 2004; Larsson y Sundberg, 2011; Yamanaka, 2009), lo cual genera confusión pues comparten caracteres morfológicos en alguna etapa de desarrollo. Esto se atribuye a que las especies de la sección *Difformia* son polimórficas debido a la plasticidad fenotípica intraespecífica y homoplasia (Hofstetter et al., 2002; Moncalvo et al., 1990), hábitat en el que se desarrollan y origen geográfico (Bellanger et al., 2015; Larsson y Sundberg, 2011).

En relación con las características microscópicas, las especies de esta sección presentan esporas de pared lisa, con forma globosa, subglobosa a ampliamente elipsoide ( $Q = 1-1.2$ ). En contraste, *Lyophyllum herrerae* presenta esporas con una forma distinta; el largo y ancho de las esporas es más grande y variable entre ejemplares y son

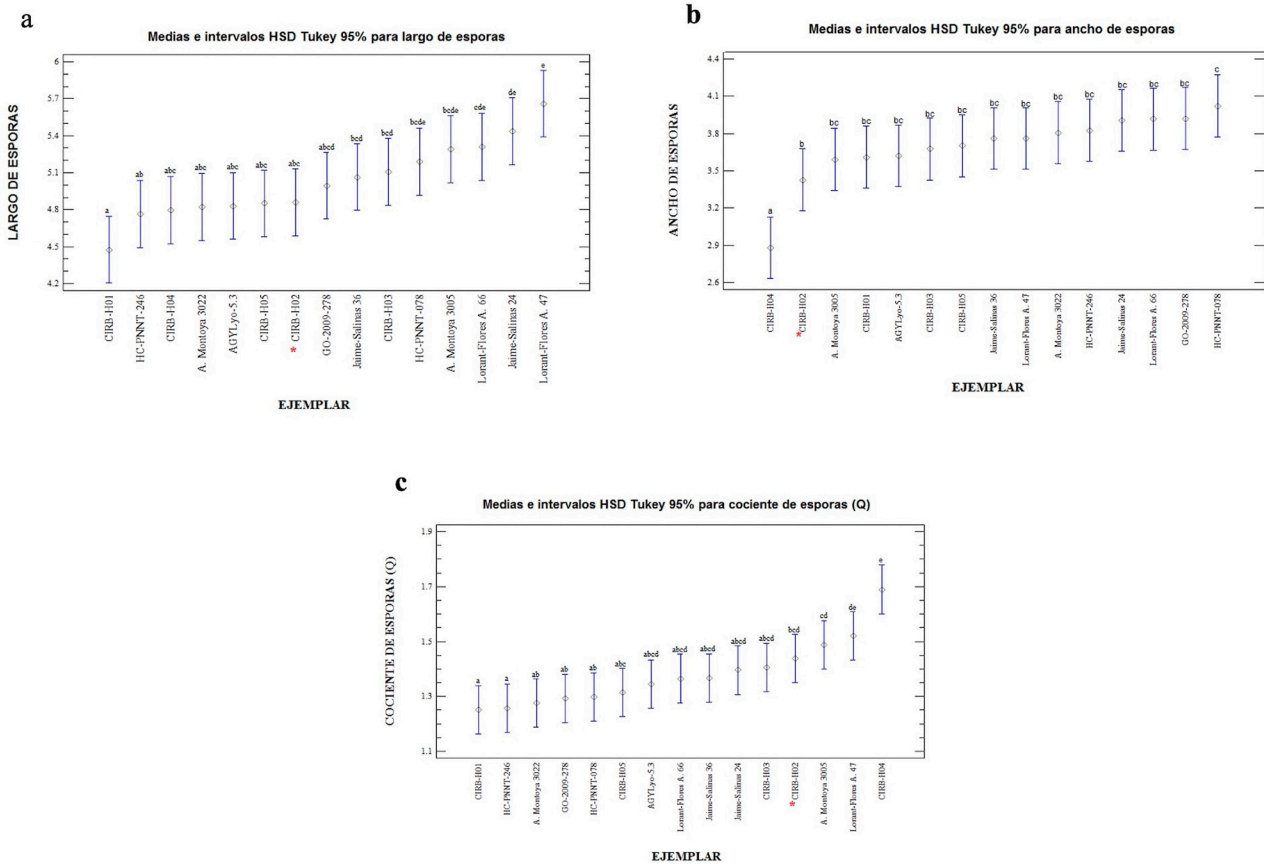


Figura 7. Diagrama de caja y bigotes del largo (a), ancho (b) y Q (c) de las esporas de los ejemplares de *Lyophyllum herrerae*. El diagrama de caja muestra la mediana (“línea en negrita”), el primer y tercer cuartiles (“bisagras”) y los valores atípicos (puntos negros). El asterisco (\*) corresponde al holotipo.

ampliamente elipsoides a elongadas (fig. 7a, b). Para la descripción de la especie se utilizaron las medidas del holotipo y los extremos son los valores mínimos y máximos del resto de los ejemplares. Como se muestra en la figura 7a, el ejemplar CIRB-H01 tiene esporas considerablemente menos largas y los ejemplares CIRB-H07-cultivo y Lorant-Flores A 47 tienen esporas significativamente más largas que el holotipo. En cuanto al ancho de las esporas, el ejemplar CIRB-H04 tiene esporas significativamente menos anchas que el resto de los ejemplares y los ejemplares CIRB-H07-cultivo y HC-PNNT-078 tienen esporas significativamente más anchas que el holotipo (fig. 7b). En cuanto a la forma de las esporas, hay 3 rangos (fig. 7c); en el primero se encuentran los ejemplares CIRB-H01 y HC-PNNT-246 con esporas ampliamente elipsoides ( $Q = 1.2$ ), el segundo, que es mayoritario e incluye al holotipo y a los ejemplares cultivados CIRB-H07-cultivo (tanto esporas de esporada

como de cuerpos fructíferos) tiene esporas elipsoides ( $Q = 1.3-1.5$ ) y el tercer rango (ejemplar CIRB-H04) tiene esporas elongadas ( $Q = 1.6$ ) (fig. 7c). En los mapas de calor se muestran todas las comparaciones significativas entre los ejemplares para el largo (material suplementario 2a), ancho (material suplementario 2b) y valor de Q (material suplementario 2c), lo que refuerza aún más la variación en el tamaño y la forma de las esporas.

Los basidios e hifas de la pileipellis se encuentran dentro del rango de tamaño y forma de las especies de la sección (2-15  $\mu\text{m}$ ). Los basidios al igual que los del resto de la sección presentan de 3-4 esporas (fig. 3a-c) (Kalamees, 2004; Knudsen y Vesterholt, 2008; Li et al., 2019; Sundberg, 2010). Sin embargo, *L. herrerae* en contraste con las otras especies de la sección (Kalamees, 2004; Knudsen y Vesterholt, 2008; Li et al., 2019; Sundberg, 2010), sí presenta células marginales y son de tipo filiforme-fusifforme a cilindro-flexuoso (fig.

4a-e). Las células marginales pueden estar ausentes o si se presentan suelen ser inconspicuas, por lo que se recomienda poner atención en la caracterización microscópica. Sin embargo, éstas no son exclusivas de *L. herrerae*, ya que en otras especies del género han sido reportados como en *L. turcicum*, *L. atrofusum*, *L. subdecastes*, *L. fuscobrunneum*, *L. impudicum*, *L. rosamariae* (Dähncke et al., 2011; Kalamees, 2004; Sesli et al., 2015; Vizzini y Contu, 2010; Wei et al., 2023).

*Interacción ecológica de Lyophyllum herrerae*. En cuanto a su nutrición, *L. decastes* ha sido reportada como saprótrufa y formando ectomicorizas; *L. loriatum* como saprótrufa, *L. fumosum* y *L. shimeji* como ectomicorizógenas. Para *L. subdecastes* y *L. mariae* no se reporta interacción; su distribución es en bosque subalpino donde predomina *Picea crassifolia* (Wei et al., 2023) y en bosque de *Pinus halepensis x brutia*, *Quercus ilex* y *Quercus virgiliana* (Lavorato y Contu, 2015), respectivamente. Nosotros consideramos a *L. herrerae* como saprótrufa debido a que puede completar su ciclo de vida en cultivo y no se ha reportado que realice asociación simbiótica con alguna especie arbórea. El crecimiento del micelio en cultivo *in vitro* ha sido en medios de cultivo generalistas como EMA y PDA (Arana-Gabriel et al., 2018) y para la obtención de cuerpos fructíferos en cultivo experimental, tampoco se ha requerido de establecer una micorrización.

*Lyophyllum herrerae* tiene un intervalo amplio de distribución y habita en los bosques templados del centro de México, se ha recolectado en bosques de *Abies religiosa*, *Pinus* spp. y *Quercus* spp. Se reporta su presencia en primavera, ya que son los primeros en fructificar en la temporada de lluvia (Burrola-Aguilar et al., 2012; Caamal-Caamal et al., 2016; Domínguez et al., 2015; Estrada-Martínez et al., 2009, Franco-Maass et al., 2012; Lara-Vázquez et al., 2013; Montoya et al., 2004; Ramírez-Carbajal, 2017; Servín-Campuzano y Alarcón-Cháires, 2018). En general, las especies de la sección *Difformia* se desarrollan en bosques de *Pinus* y *Quercus*; la similitud en el entorno en el que crecen podría ser una de las principales causas para que ocurra una evolución paralela a pesar de que se encuentran en diferentes puntos geográficos generando así la plasticidad morfológica que tanto dificulta la correcta determinación de las especies.

La distribución geográfica e interacción ecológica puede resultar un carácter importante para discriminar entre especies de la sección *Difformia* (Larson y Sundberg, 2011). Wei et al. (2023) mencionan que existen caracteres morfológicos que son diferentes entre ejemplares dependiendo de la zona donde se encuentran, la altitud y la vegetación. En especies como *L. subdecastes*, la

distribución es en áreas de gran altitud en el noroeste de China, generalmente a una elevación de 3,000 m. Su distribución subalpina en Asia ayudaría a distinguirla de especies morfológicamente parecidas de Europa y EUA (Wei et al., 2023). La condición saprótrufa de *Lyophyllum herrerae* que permite obtener cuerpos fructíferos en condiciones controladas sin necesidad de establecer una micorrización, podría ser considerado un carácter que la distinga de especies como *L. shimeji*.

*Importancia cultural de los clavitos (Lyophyllum spp.) en México*. Debido a la plasticidad morfológica de las especies de la sección *Difformia* existe imprecisión en la determinación de las especies en trabajos taxonómicos o etnomicológicos. Los ejemplares de *L. herrerae* habían sido anteriormente identificados como *L. decastes*, *L. aff. shimeji* y *Lyophyllum* sp. Por lo tanto, es importante corroborar la identidad de las especies estudiadas debido a la importancia cultural, económica y biotecnológica del género *Lyophyllum* en México.

*Lyophyllum* es uno de los géneros más utilizados con fines alimenticios en el centro de México, sus especies son recolectadas para venta y autoconsumo (fig. 5), y a una sola especie se le puede asignar incluso más de un nombre común. Para la región de la Sierra Nevada *L. decastes* s.l. es una de las especies más consumidas por los pobladores, principalmente por su sabor (Estrada-Martínez et al., 2009; Montoya et al., 2004; Ramírez-Carbajal, 2017), se encuentra dentro de las 10 especies con mayor importancia etnomicológica y económica. Incluso los habitantes de la comunidad p'urhépecha de Comachuén, Nahuatzen, Michoacán, consideran que los hongos dan identidad y espiritualidad a las personas. Ellos mencionan que es un honor que compartan atapakua (platillo regional) de terékua pachakua / pa- chakua / *Lyophyllum* aff. *decastes* en la fiesta de Corpus (Servín-Campuzano y Alarcón-Cháires, 2018). *Lyophyllum* spp. alcanza precios en el mercado de hasta \$200 pesos por kilo y un mínimo de \$100 pesos dependiendo de su disponibilidad (Ramírez-Carbajal, 2017). En algunas zonas como en Amanalco en el Estado de México, los clavitos se conservan en almíbar para consumirlos en otra temporada (Burrola-Aguilar et al., 2012), este es uno de los pocos reportes de este tipo de prácticas con *Lyophyllum*. Estos hongos también son deshidratados para la elaboración de collares o rosarios por su peso y dimensiones (Moreno-Fuentes, 2013). Los diferentes nombres comunes que se les asigna a las especies de la sección *Difformia* están relacionados a la vegetación en la que se desarrollan como clavito de encino o cholete de encinar y clavo de oyamel; en cuanto al hábito de crecimiento y forma, se les nombran macoyitas, clavitos, nchjo chixtyu (clavito de acotalera o

mata), pata gorda, lengua de vaca, hongo rugoso y para el caso de *L. herrerae*, xolete regadito, haciendo referencia a su hábito solitario u hongo de mata a su hábito cespitoso y connado.

De acuerdo con la temporada en la que aparecen, en la región de los Tlahuicas, en el Estado de México, *L. decastes* s.l. es nombrado como nchjo nda que se traduce al español como clavito vidrioso. Su nombre también se relaciona con el agua debido a que se desarrollan en temporada de lluvia o de acuerdo con otros caracteres morfológicos como el color, negritos, hongo blanco de monte, xolete blanco, güeritos (para *L. herrerae*, debido a que llega a presentar coloraciones más claras). Algunos otros nombres con los que se les conocen son: cuaresmeño, auexolete, montones, kanghamundo, tablero, chompuetawi o chonjekí (matlatzinca) y uachitas (Burrola-Aguilar et al., 2012; Caamal-Caamal et al., 2016; Domínguez et al., 2015; Estrada-Martínez et al., 2009; Lara-Vázquez, et al., 2013; Molina-Castillo et al., 2019; Montoya et al., 2004; Ramírez-Carbajal, 2017; Salinas-Rodríguez et al., 2017; Servín-Campuzano y Alarcón-Cháires, 2018).

*Potencial económico de Lyophyllum herrerae*. Debido a su importancia cultural y a su forma de nutrición, *Lyophyllum* es un género con potencial para cultivo comercial y, en particular, las especies que se localizan dentro de la sección *Difformia*, que además tienen propiedades funcionales y medicinales (Pokhrel et al., 2006). *Lyophyllum shimeji* se cultiva a nivel industrial pese a ser reportada como una especie micorrízica facultativa, por lo que las demás especies al ser saprótrofas o facultativas son altamente susceptibles para cultivarse (Sánchez y Mata, 2012). Este es el caso de *L. herrerae* que desarrolla cuerpos fructíferos bajo condiciones controladas a partir de cepas nativas de la región de alta montaña del Estado de México (fig. 6).

La domesticación de cepas nativas es una buena alternativa para el manejo regional de germoplasma adaptado a las condiciones climáticas y del sustrato donde se desarrolla de forma natural, eliminando la dependencia de cepas de otros países. El cultivo de *Lyophyllum herrerae* puede ser fomentado en las comunidades rurales en donde tiene importancia cultural y crece en los bosques aledaños. Esto como una estrategia para minimizar el impacto en las poblaciones naturales y para generar un beneficio, alimentario y económico para las familias. Sin embargo, aún es preciso realizar más investigaciones enfocadas en la caracterización de las propiedades nutricionales y medicinales, así como un proceso de domesticación para identificar las características deseables para el sector.

## Agradecimientos

La caracterización molecular y análisis filogenéticos fueron apoyados financieramente a RGO por el proyecto PAPIIT-UNAM IN212521. El trabajo etnomicológico y la recolecta de ejemplares en el Estado de México formaron parte del proyecto “Valoración ecológica y etnomicológica de hongos comestibles silvestres de alta montaña en el Estado de México”, Ciencia de Frontera 2019 del Conacyt 140621 a cargo de CBA y YAG. Se agradece a Gala Viurcos por la elaboración de la versión final de la figura 1, al Dr. Armando Sunny por el apoyo en el análisis estadístico y a Myco Seta® por los cultivos de *Lyophyllum herrerae*.

## Referencias

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. y Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215, 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Arana-Gabriel, Y., Burrola-Aguilar, C., Garibay-Orijel, R., Matías-Ferrer, N., Franco-Maass, S. y Mata, G. (2018). Genetic characterization, evaluation of growth and production of biomass from wild edible mushrooms of *Lyophyllum* of Central Mexico. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 632–640. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.12.002>
- Babasaki, K., Neda, H. y Murata, H. (2007). MegB1, a novel macroevolutionary genomic marker of the fungal phylum Basidiomycota. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71, 1927–1939. <https://doi.org/10.1271/bbb.70.144>
- Bellanger, J. M., Moreau, P. A., Corriol, G., Bidaud, A., Chalange, R., Dudova, Z. et al. (2015). Plunging hands into the mushroom jar: a phylogenetic framework for Lyophyllaceae (Agaricales, Basidiomycota). *Genetica*, 143, 169–194. <https://dx.doi.org/10.1007/s10709-015-9823-8>
- Boa, E. (2005). *Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la población*. Roma: FAO.
- Burrola-Aguilar, C., Montiel, O., Garibay-Orijel R. y Zizumbo-Villarreal, L. (2012). Conocimiento tradicional y aprovechamiento de los hongos comestibles silvestres en la región de Amanalco, Estado de México. *Revista Mexicana de Micología*, 35, 1–16.
- Caamal-Caamal, L. G., Montoya, A., Trejo-Hernández, L. y Castillo-Guevara, C. (2016). Estado del arte relativo al conocimiento tradicional de los hongos silvestres en el estado de Tlaxcala, México. *Mexican Journal of Biotechnology*, 1, 1–14.
- Cifuentes, B. J., Villegas, M. R. y Pérez, L. R. (1986). Hongos. En A. Lot y F. Chiang (Eds.), *Manual de herbario:*

- administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos. México D.F.: Consejo Nacional de la Flora de México.
- Dähncke, R. M., Contu, M. y Vizzini, A. (2011). Two new species of *Lyophyllum* s.l. (Basidiomycota, Agaricomycetes) from La Palma (Canary Islands, Spain). *Mycotaxon*, 115, 65–71.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. y Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and high-performance computing. *Nature Methods*, 9, 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Delgado, F. A., Villegas, R. M. y Cifuentes, B. J. (2005). *Glosario ilustrado de los caracteres macroscópicos en Basidiomycetes con himenio laminar*. México D.F.: Las prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Domínguez, R. D., Arzaluz, R. J. I., Valdés, V. C. y Romero, P. N. P. (2015). Uso y manejo de hongos silvestres en cinco comunidades del municipio de Ocoyoacac, Estado de México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 18, 133–143.
- Dunn, O. J. (1964). Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics*, 6, 241–252.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32, 1792–1797.
- Estrada-Martínez, E., Guzmán, G., Cibrián-Tovar, D. y Ortega-Paczka, R. (2009). Contribución al conocimiento etnomicológico de los hongos comestibles silvestres de mercados regionales y comunidades de la sierra nevada (México). *Interciencia*, 34, 25–33.
- Franco-Maass, S., Burrola-Aguilar, C. y Arana-Gabriel, Y. (2012). *Hongos comestibles silvestres: un recurso forestal no maderable del Nevado de Toluca*. México D.F.: EON.
- Fox, J. y Weisberg, S. (2019). *An R companion to applied regression. Tercera edición*. Thousand Oaks, CA: SAGE Publishing.
- Garnier, S., Ross, N., Rudis, R., Camargo, P. A., Sciaini y Scherer, C. (2024). viridis(Lite) - Colorblind-Friendly color maps for R., viridis package version 0.6.5 <https://sjmgarnier.github.io/viridis/>, <https://doi.org/10.5281/zenodo.4679423>
- Garibay-Orijel, R. y Ruan-Soto, F. (2014). Listado de hongos silvestres consumidos como alimento tradicional en México. En A. Moreno-Fuentes y R. Garibay-Orijel (Eds.), *La etnomicología en México. Estado del arte* (pp. 91–109). México D.F.: Conacyt/ UAEH/ UNAM.
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W. y Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59, 307–321.
- Hofstetter, V., Cléménçon, H., Vilgalys, R. y Moncalvo, J. M. (2002) Phylogenetic analyses of the Lyophylleae (Agaricales, Basidiomycota) based on nuclear and mitochondrial rDNA sequences. *Mycological Research*, 106, 1043–1059. <https://doi.org/10.1017/S095375620200641X>
- Kalamees, K. (2004). Palearctic Lyophyllaceae (Tricholomatales) in Northern and Eastern Europe and Asia. *Scripta Mycologica Tartu*, 18, 1.135.
- Knudsen, H. y Vesterholt, J. (2008). *Funga Nordica: Agaricoid, Boletoid and Cyphelloid Genera, Volumen I*. Dinamarca: Nordsvamp Publishers.
- Kornerup, A. y Wanscher, J. H. (1978). *Methuen handbook of color. 3rd Ed.* London: Eyre Methuen Ltd.
- Largent, D. L., Johnson, D. y Watling, R. (1977). *How to identify mushrooms to genus III: microscopic features*. Eureka, CA: Mad River Press.
- Lara-Vázquez, F., Romero-Contreras, A. T. y Burrola-Aguilar, C. (2013). Conocimiento tradicional sobre los hongos silvestres en la comunidad otomí de San Pedro Arriba; Temoaya, Estado de México. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 10, 305–333.
- Larsson, E. y Sundberg, H. (2011). *Lyophyllum shimeji*, a species associated with lichen pine forest in northern Fennoscandia. *Mycoscience*, 52, 289–295. <http://dx.doi.org/10.1007/s10267-010-0104-1.1>
- Lavorato, C. y Contu, M. (2015). *Lyophyllum mariae*: a new species of section *Difformia* with showy colours from Calabria Italy. *Micologia e Vegetazione Mediterranea*, 30, 97–102.
- Li, Q., Wang, Q., Jin, X., Chen, Z., Xiong, C., Li, P. et al. (2019). Characterization and comparison of the mitochondrial genomes from two *Lyophyllum* fungal species and insights into phylogeny of Agaricomycetes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.037>
- Maeta, K., Ochi, T., Tokimoto, K., Shimomura, N., Maekawa, N., Kawaguchi, N. et al. (2008). Rapid species identification of cooked poisonous mushrooms by using real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 3306–3309. <https://doi.org/10.1128/AEM.02082-07>
- Molina-Castillo, S., Thomé-Ortiz, T. y Espinoza-Ortega, A. (2019). Conocimiento ecológico tradicional y aprovechamiento de los hongos comestibles silvestres en el centro de México. *Agro Productividad*, 12, 3–8. <https://doi.org/10.32854/agrop.v0i0.1394>
- Moncalvo, J. M., Toriola, D. y Cléménçon, H. (1990). Analyse taxonomique du complexe *Lyophyllum decastes* sensu lato (Agaricales, Basidiomycetes) sur la base des caractères culturaux. *Mycologia Helvetica*, 3, 397–415.
- Moncalvo, J. M., Lutzoni, F., Rehner, S. A., Johnson, J. y Vilgalys, R. (2000). Phylogenetic relationships of agaric fungi based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Systematic Biology*, 49, 278–305. <https://doi.org/10.1093/sysbio/49.2.278>
- Montoya, A., Kong, A., Estrada-Torres, A., Cifuentes, J. y Caballero, J. (2004). Useful wild fungi of La Malinche National Park, Mexico. *Fungal Diversity*, 17, 115–143.
- Moreno-Fuentes, A. (2013). Un recurso alimentario de los grupos originarios y mestizos de México: los hongos silvestres. *Anales de Antropología*, 48, 241–272. [https://doi.org/10.1016/S0185-1225\(14\)70496-5](https://doi.org/10.1016/S0185-1225(14)70496-5)
- Ogle, D. H., Doll, J. C., Wheeler, A. P. y Dinno, A. (2023). FSA: Simple fisheries stock assessment methods. R package version 0.9.5. <https://CRAN.R-project.org/package=FSA>

- Osmundson, T. W., Robert, V. A., Schoch, C. L., Baker, L. J., Smith, A., Robich, G. et al. (2013). Filling gaps in biodiversity knowledge for macrofungi: contributions and assessment of an herbarium collection DNA barcode sequencing project. *Plos One*, 8, e62419. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062419>
- Pera, J. y Álvarez, I. F. (1995). Ectomycorrhizal fungi of *Pinus pinaster*. *Mycorrhiza*, 5, 193–200. <https://doi.org/10.1007/BF00203337>
- Pokhrel, C., Sumikawa, S., Iida, S. y Ohga, S. (2006). Growth and productivity of *Lyophyllum decastes* on compost enriched with various supplements. *Micología Aplicada Internacional*, 18, 21–28.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G. y Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67, 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Ramírez-Carbajal, E. (2017). *Etnomicología en la zona Tlahuica-Pjiekakjoo del Estado de México (Tesis)*. Universidad Intercultural del Estado de México, México.
- R Core Team (2024). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ronquist, F. y Huelsenbeck J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Salinas-Rodríguez, M., Gómez-Reyes, V. y Blanco-García, A. (2017). Conocimiento tradicional de los hongos silvestres comestibles y venenosos de dos localidades del municipio de Pátzcuaro, Michoacán. *Biológicas*, 19, 28–34.
- Sambrook, J., Fritsch, E. y Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual. 2a Ed.* Long Cold Island, Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sánchez, J. E. y Mata, G. (2012). Cultivo y aprovechamiento de macromicetos. Una tendencia global en crecimiento. En J. E. Sánchez y G. Mata (Eds.), *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural*. Xalapa: ECOSUR/ INECOL.
- Sánchez-Ledesma, J. A., Guevara-Guerrero, G., Garibay-Orijel, R., Ángeles-Argáiz, R., Ávila-Rodríguez, V., Arreola-Ávila, J. G. et al. (2022). *Tuber caryophilum*, a new truffle species growing in *Carya illinoensis* orchards. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 93, e934893. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2022.93.4893>
- Servín-Campuzano, L. S. y Alarcón-Cháires, P. E. (2018). Conocimiento tradicional de los hongos silvestres comestibles en la comunidad p'urhépecha de Comachuén, Nahuatzen, Michoacán. *Acta Universitaria*, 28, 15–29. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1277>
- Sesli, E., Vizzini, A. y Contu, M. (2015). *Lyophyllum turcicum* (Agaricomycetes: Lyophyllaceae), a new species from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 39, 512–519. <https://doi.org/10.3906/bot-1407-16>
- Sundberg, H. (2010). *Phylogeny of Lyophyllum Section Difformia: Does Hon-shimeji (L. shimeji) occur in Sweden?* Department of Plant and Environmental Sciences, Faculty of Science, Universidad de Gothenburg, Suecia.
- Ukawa, Y., Ito, H. y Hisamatsu, M. (2000). Antitumor effects of (1->3)-beta-D-glucan and (1->6)-beta-D-glucan purified from newly cultivated mushroom, Hatakeshimeji (*Lyophyllum decastes* Sing.). *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90, 98–104. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)80041-9](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)80041-9)
- Visnovsky, S. B., Cummings, N., Guerin-Laguette, A., Wang, Y., Yamada, A., Kobayashi, H. et al. (2014). Detection of the edible ectomycorrhizal fungus *Lyophyllum shimeji* colonising seedlings of cultivated conifer species in New Zealand. *Mycorrhiza*, 24, 453–463. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0552-5>
- Vizzini, A. y Contu, M. (2010). *Lyophyllum rosae-mariae* sp. nov. (Basidiomycota, Agaricomycetes) from la Palma (Canary Islands, Spain). *Mycosphere*, 1, 83–86.
- Wang, X. Q., Zhou D. Q. y Zhang, X. L. (2013). Taxonomic study on the genus *Lyophyllum* in sustainable environment engineering. *Applied Mechanics and Materials*, 340, 975–978. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.340.975>
- Wang, Y. y Chen, Y. L. (2015). Recent advances in cultivation of edible mycorrhizal mushrooms. En Z. M. Solaiman (Ed.), *Mycorrhizal Fungi: use in sustainable agriculture and land restoration*. *Soil Biology*, 41, 375–397. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-45370-4\\_23](https://doi.org/10.1007/978-3-662-45370-4_23)
- Wei, S. W., Lu, B. Y., Wang, Y., Dou, W. J., Wang, Q. y Li, Y. (2023). Morphology and phylogeny of Lyophylloid mushrooms in China with description of four new species, *Journal of Fungi*, 9, 77. <https://doi.org/10.3390/jof9010077>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. New York: Springer-Verlag.
- Wickham, H., Hester, J. y Bryan, J. (2022). *readr: Read rectangular text data*. <https://readr.tidyverse.org>, <https://github.com/tidyverse/readr>
- Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K. y Vaughan, D. (2023). *dplyr: a grammar of data manipulation*. R package version 1.1.4. <https://github.com/tidyverse/dplyr>; <https://dplyr.tidyverse.org>
- Yamada, A., Ogura, T. y Ohmasa, M. (2001). Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by *in vitro* mycorrhizal synthesis. *Mycorrhiza*, 11, 59–66. <https://doi.org/10.1007/s005720000093>
- Yamanaka, K. (2009). Commercial cultivation of *Lyophyllum shimeji*. En J. I. Lelley y J. A. Buswell (Eds.), *Mushroom biology and mushroom products. Proceedings of the 6th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*. Bonn, Alemania.