



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

Importancia biocultural de seis especies de hongos silvestres de los géneros *Amanita*, *Calostoma* y *Psilocybe* en el estado de Oaxaca

Miriam Deloya Olvera

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

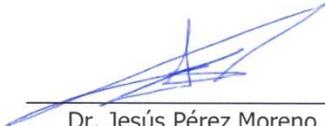
La presente tesis titulada: **Importancia biocultural de seis especies de hongos silvestres de los géneros *Amanita*, *Calostoma* y *Psilocybe* en el estado de Oaxaca.**

Realizada por la alumna **Miriam Deloya Olvera** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



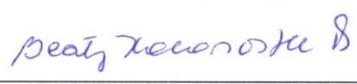
Dr. Jesús Pérez Moreno

ASESORA



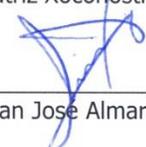
M. en C. Mario Jiménez Ruiz

ASESOR



Dra. Beatriz Xoconostle Cázares

ASESOR



Dr. Juan José Almaraz Suárez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, octubre de 2017

**IMPORTANCIA BIOCULTURAL DE SEIS ESPECIES DE HONGOS
SILVESTRES DE LOS GÉNEROS *Amanita*, *Calostoma* y *Psilocybe* EN EL ESTADO
DE OAXACA**

Miriam Deloya Olvera, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2017

Resumen

El reino Fungi fue registrado por Whittaker en 1969, y actualmente se ha estimado que contiene alrededor de 1.5 millones de especies agrupadas en 10 phyla. Los hongos macroscópicos se encuentran clasificados en los phyla Ascomycetes y Basidiomycetes. Son representados por más de 21 600 especies descritas, de las cuales, al menos 4500 han sido reportadas para México. El objetivo de este trabajo fue identificar taxonómicamente las especies de hongos silvestres de importancia biocultural de los géneros *Calostoma* y *Amanita* utilizadas en el grupo étnico Mixe, así como describir la ceremonia médico-espiritual con hongos del género *Psilocybe* realizada por el grupo étnico Mazateco en la actualidad. Se utilizaron herramientas de microscopía óptica de campo claro, microscopía electrónica de barrido, análisis bioinformático y filogenético así como vistas a las comunidades y entrevistas a pobladores indígenas oriundos de las zonas de estudio. En el presente trabajo se describen dos nuevas especies de importancia biocultural como comestibles del género *Calostoma* y una del género *Amanita* en la región Mixe. Asimismo se presenta un estudio de caso sobre el uso del género *Psilocybe* en la comunidad mazateca de San Antonio Eloxchitlan de Flores Magón, reportando el primer registro del elemento de Temazcal como parte de la ceremonia de sanación con hongos. Las nuevas especies descritas, crecen exclusivamente en bosques de *Quercus obtusata* del territorio Mixe contribuyendo al conocimiento biológico y cultural de la región Neotropical. Por otro lado se registra el uso actual de la ceremonia de sanación con hongos en un municipio mazateco diferente al ya estudiado de Huautla de Jiménez.

Palabras clave: Taxonomía, Importancia biocultural, hongos, comestible, uso ceremonial.

**BIOCULTURAL IMPORTANCE OF SIX SPECIES OF WILD MUSHROOMS
FROM GENUS *Amanita*, *Calostoma* and *Psilocybe* IN THE STATE OF OAXACA**

**Miriam Deloya Olvera, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2017**

Abstract

The Fungi kingdom was recorded by Whittaker in 1969, and currently it has been estimated that contains around 1.5 million species grouped in 10 phyla. Macroscopic fungi are classified as phyla Ascomycetes and Basidiomycetes. They are represented by more than 21 600 described species, of which, at least 4500 have been reported for Mexico. The objective of this work was to identify taxonomically the species of wild fungi of biocultural importance of the genera *Calostoma* and *Amanita* used by the Mixe ethnic group, as well as to describe the medical-spiritual ceremony with species of the genus *Psilocybe* by the Mazatec ethnic group currently carried out. Light field microscopy, electron microscopy, bioinformatic and phylogenetic analysis were used, as well as views of the communities and interviews of indigenous mushroom gatherers from the study areas. In the present work two new species with biocultural importance as food of the genus *Calostoma* and one of the genus *Amanita* in the Mixe region are described. As well as a case study of the use of the genus *Psilocybe* in the San Antonio Eloxchitlan community of Flores Magón, reporting the first record of the Temazcal element as part of the fungus healing ceremony is recorded. The newly described species grow exclusively in *Quercus obtusata* forests of the Mixe territory; therefore this work contributes to the biological and cultural knowledge of the Neotropical region. On the other hand, the current use of fungus healing ceremony in a Mazatec municipality different from that already studied in Huautla de Jiménez is described.

Key words: Taxonomy, biocultural importance, mushrooms, edible, ceremonial use.

Agradecimientos

A mis familiares por el apoyo brindado.

Al Dr. Jesús Pérez Moreno y su apreciable familia por la apertura de puertas.

A las Maestras Patricia Gamboa, Mariana Ferrera y al Dr. Santos Carballar por todo el apoyo, conocimiento y alegrías.

A mis compañer@s de laboratorio por sus atenciones y colaboración.

A la Dra. Beatriz Xoconostle Cázares y al Centro de Investigaciones Superiores Avanzadas (CINVESTAV) por el apoyo intelectual otorgado al abrirme las puertas de su laboratorio.

A los y las Doctores y Maestr@s, del área de microbiología: Dr. Juan J. Almaráz Suárez, Dr. Ronald Ferrera, Dr. Julián Delgadillo, Dr. Alejandro Alarcón, Dra. Magda Reyes, Dr. Faustino Hernández, Dra. Rosalba Cote, M. en C. María Concepción Lara., M. en C. Deisy Pineda, M. en C. Karla Medrano. M. en C. Rosario Cardoso y M. en C. Patricio Sánchez Guzmán. Así como Secretarías, técnic@s y colaboradores del COLPOS que me brindaron herramientas y facilitaron procesos para conseguir esta meta.

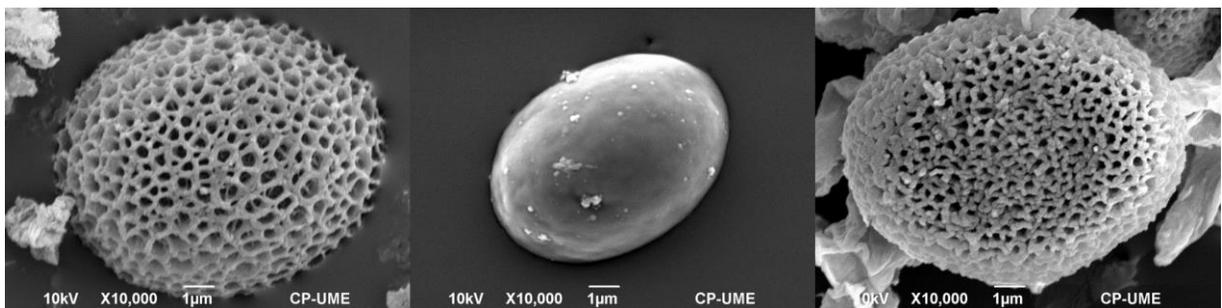
A la Unidad de Microscopía Electrónica del COLPOS, campus Montecillo, a la Dra. Hilda Araceli Zavaleta, Biól. Simón Morales Rodríguez y la Ing. Estela Torres Torres por el apoyo brindado.

Al herbario MEXU de la UNAM y a la M. en C. Celia Elvira Aguirre por permitirme depositar los ejemplares estudiados.

A Rodolfo Alejandro Santana Mercader por la colaboración y apoyo en el trabajo de campo.



**Esta tesis de Maestría en Ciencias forma parte del proyecto CONACYT 2014-
Proyectos de Desarrollo científico para Atender Problemas Nacionales-246674
“Biotecnologías de los hongos comestibles ectomicorrízicos y su impacto en la
mitigación del cambio climático y desarrollo forestal sustentable”.**



Contenido

Capítulo I.....	1
Introducción.....	1
Literatura citada	4
Capítulo II.....	7
Objetivos e hipótesis.....	7
Objetivo general.....	7
Objetivos particulares	7
Hipótesis	7
Capítulo III	8
Dos nuevas especies Neotropicales del género gasteroide <i>Calostoma</i> (Boletales) usadas como alimento entre la comunidad <i>Ayuuk jä'äy</i> del sureste de México	8
Resumen.....	8
Introducción	8
Material y métodos	9
Trabajo de campo	9
Observación, morfología y descripción	10
Microscopía electrónica de barrido.....	10
Extracción de ADN.....	10
Análisis filogenético.....	11
Resultados	12
Taxonomía.....	12
Discusión	16
Conclusiones.....	23
Literatura citada	23

Capítulo IV	26
Nueva especie comestible de la sección <i>Caesareae</i> del género <i>Amanita</i> (Amanitaceae) en el grupo étnico <i>Ayuuk jä'äy del sureste de México</i>	26
Resumen.....	26
Introducción	26
Material y métodos	28
Trabajo de campo	28
Observación, morfología y descripción	28
Microscopía electrónica de barrido	28
Extracción de ADN	29
Análisis filogenético.....	29
Resultados	30
Taxonomía.....	30
Discusión	43
Conclusiones.....	46
Literatura citada	46
Capítulo V	49
El uso ceremonial de los hongos en una comunidad Mazateca del estado de Oaxaca.....	49
Resumen.....	49
Introducción	49
Materiales y métodos	51
Trabajo de campo	51
Extracción de ADN	52
Resultados	52
Discusión	55

Conclusiones.....	56
Literatura citada	56
Capítulo VI.....	58
Conclusiones generales.....	58

Lista de figuras

Figura 1. Localización geográfica de la región Mixe y del municipio de Santa María Tlahuitoltepec (municipio de estudio) en Oaxaca, México.....	3
Figura 2. Localización geográfica de la región Mazateca y de los municipios de Huautla de Jiménez y San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón (zona de estudio), Oaxaca, México.	4
Figura 3. <i>Calostoma naaxtututs</i> . A) y B) Esporomas, C) Espesor de exoperidio, D) Hifas de endoperidio, E) Microfotografía electrónica de espora.....	13
Figura 4. <i>Calostoma tooteic</i> . A), B) y E) Esporomas, D) Microfotografía electrónica de espora con inner exosporio (IEX) y outer exosporio (OEX) C) y F) Hifas de endoperidio.	14
Figura 5. Relaciones filogenéticas de <i>Calostoma naaxtututs</i> (°) y <i>Calostoma tooteic</i> (*) con especies de Boletales comparadas con un agarical.....	16
Figura 6. Etnotaxa utilizado por el grupo <i>Ayuuk jä'äy</i> (Mixe). A) etnotaxa compuesto por dos especies de <i>Calostoma</i> ; B) <i>C. naaxtututs</i> en manos Mixes, C) <i>C. tooteic</i> , recolectada por el grupo Mixe.	19
Figura 7. Esporoma <i>Amanita ayuukjaay</i> . A1). Ejemplar A4 recién cortado. B) Ejemplar A4. Detalle de anillo. C) Ejemplar A1. Detalle de láminas. D) Píleo ejemplar A4. E) Fotografía taxonómica ejemplar A5. F) Ejemplar A1 en campo. H) Ejemplar A5 en campo.....	40
Figura 8. <i>Espora de Amanita ayuukjaay</i> . A) Microscopía óptica de Basidiospora en Melzer. B) Basidiospora en microscopía electrónica de barrido con medidas.....	40
Figura 9. Cortes laminares de <i>Amanita ayuukjaay</i> . A) Cistidios y basidio (señalado). B) Trama divergente. C) Pleurocistidios. D) Acercamiento de basidio. E) Acercamiento de basidio y subhimenio. F) Acercamiento de pleurocistidios claviformes. G) Pleurocistidios (napiforme señalado).....	41
Figura 10. Árbol filogenético del género <i>Amanita</i> . <i>Amanita ayuukjaay</i> 1, 2, 3 y 4 (ejemplares recolectados en el presente estudio).....	42
Figura 11. Comparación de las medidas de las esporas entre la especie descrita y la especie más cercana, filogenética y macroscópicamente <i>A. hayalyuy</i> y <i>A. garabitoana</i> . Realizado con la herramienta de esporogafo de Tullos (2017).	44
Figura 12. Uso de <i>Amanita ayuukjaay</i> en grupo étnico Mixe.....	45
Figura 13. Hongos utilizados por el grupo étnico Mazateco. A) <i>Psilocybe cubensis</i> . B) <i>P.caerulescens</i> . C) <i>P. zaportecorum</i>	52

Figura 14. Uso del temazcal por la comunidad mazateca de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón, después de la ceremonia de sanación con hongos..... 55

Lista de tablas

Tabla 1. Identificación de las morfoespecies por su afinidad molecular en GenBank.....	15
Tabla 2. Características de las especies determinadas en este trabajo y <i>Calostoma cinnabarinum</i>	20
Tabla 3. Características morfológicas de las especies más similares a <i>Amanita ayuukjaay</i> .	33
Tabla 4. Identificación de las morfoespecies por su afinidad filogenética en GenBank.....	39

Capítulo I

Introducción

El reino Fungi, registrado en 1969, es un extenso linaje eucariota que contiene más de 99 mil especies descritas, agrupadas en 10 phyla, igualando a los animales y superando a las plantas. El grupo incluye a los mohos, levaduras, hongos macroscópicos y parásitos de plantas (Blackwell 2011). Este reino habita casi todos los ecosistemas presentes en la tierra, solo superado por las bacterias adaptadas a condiciones extremas (Raspor & Zupan 2006). Al igual que para la mayoría de los organismos, en las regiones tropicales la diversidad es mayor a otras regiones del mundo (Arnold & Lutzoni 2007). Los phyla Ascomycota y Basidiomycota son representados por más de 64,000 y 31,500 especies respectivamente (Kirk *et al.* 2008). La cantidad de hongos macroscópicos descritos el mundo es de 21 679 de especies y se estima que pueden existir entre 53 000 y 110 000 (Müller *et al.* 2007). En México, las primeras clasificaciones taxonómicas bajo el régimen científico, de organismos mexicanos; fueron efectuadas por Kunth (1822-1825) quien clasificó los hongos y líquenes que Humboldt y Bonpland habían recolectado en México (Guzmán, 2008) definiéndolos aún como plantas. Desde la llegada de los españoles y hasta mediados del siglo XX alrededor de 70% de los estudios micológicos fueron efectuados por extranjeros, siendo en la década de 1970 que se da el desarrollo de la micología en México al ocupar el 82.4% de las publicaciones por autores mexicanos. Guzmán (1998) estimó que se conocen 4 500 especies de macrohongos y 2 000 de microhongos en el territorio nacional, esto basado en revisiones bibliográficas y especímenes de colecciones. Dichos datos representan el 6.6% de lo que se conoce en el mundo tomando en cuenta lo señalado por Kirk *et al.* (2008).

Los macromicetos tienen importancia ecológica como degradadores, simbioses y/o patógenos. Dentro de los simbioses la asociación micorrízica resalta por la transferencia de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes del suelo a la planta mediante la intervención del hongo. Los tipos más importantes de micorriza son la arbuscular y la ectomicorriza. La segunda más abundante pero primera en diversidad es la ectomicorriza con más de 20 000 especies (Rinaldi *et al.* 2008), la mayoría basidiomicetes productores de setas, que forman

ectomicorriza con aproximadamente 10% de todas las familias vegetales (Blackwell 2011). Dato interesante para países como México que alberga 72 especies de *Pinus* y 150 de *Quercus* (Pérez-Moreno *et al.* 2008).

Además de su importancia ecológica los hongos han estado relacionados con el ser humano desde tiempos remotos, prueba de ello es la momia Ötzi, quien hace 5300 años llevaba consigo dos especies de hongos, probablemente utilizados para iniciar el fuego y como antibióticos (Peintner, 1998). Grandes civilizaciones como la egipcia utilizaron a los hongos como ceremoniales en el camino de la muerte como lo indican los vestigios y pinturas murales en las tumbas faraónicas (Berlant, 2005). Otras civilizaciones antiguas como los griegos y romanos apreciaban especies de hongos como *Amanita sect. caesareae* por su alto valor gastronómico otorgándole en el nombre el reconocimiento del César (Buller 1914). Del mismo modo en México los hongos han sido utilizados ceremonialmente desde épocas prehispánicas apareciendo en el código *Vindobonensis* de la cultura Mixteca, escrito entre finales del siglo XV e inicios del siglo XVI; y los códigos postconquista Magliabechi y en el Código Núm. 27 de la obra *Códices Indígenas* realizado en 1549 (Garibay-Orijel 2000). Además existen diversas esculturas como hongos piedra y representaciones del uso de los hongos en cerámica (Guzmán 2011).

Por otro lado los ecosistemas son influenciados por los sistemas de intervención humana (Millennium Ecosystem Assessment 2005); el territorio Mexicano alberga 68 grupos étnicos y es uno de los 10 países megadiversos a nivel mundial en los que se han identificado patrones de traslape entre centros de diversidad biológica, centros de origen y difusión agrícola y pecuaria, centros de diversidad lingüística y centros de población rural definiendo así el concepto de importancia biocultural (Toledo & Barrera-Bassols 2008, Harmon 2001). En el sureste mexicano habitan 33 diferentes grupos étnicos. En esta región se han efectuado diversos estudios sobre el conocimiento y uso que las comunidades proporcionan a los hongos. Algunos de los grupos étnicos más estudiados en términos de hongos de importancia biocultural son los grupos Maya (Ruan-Soto & Ordaz-Velázquez, 2015), Mazateco (Guzmán 1959, 2011, 2014), Lacandón (Ruan-Soto *et al.*, 2006), Mixteco (Santiago-Hernández *et al.*, 2017), Totonaco (Vázquez, 2012), Tzeltal (Ramírez *et al.*, 2006) y Zapoteco (Garibay-Orijel,

2009). Sin embargo la mayor parte del conocimiento tradicional resguardado por los grupos étnicos ha sido poco estudiado, al igual que las especies mexicanas existentes en estos territorios y en cuanto a los hongos, este vacío es aún mayor, por lo que existe escasez de información micológica biocultural y taxonómica nacional registrada.

Más de 1000 especies de hongos han sido utilizados como comestibles, medicinales y ceremoniales entre diversas comunidades del mundo (Boa, 2004) y al mismo tiempo, de éstas, más de 480 especies son ectomicorrízicas (Pérez-Moreno & Martínez-Reyes 2014). El conocimiento tradicional sobre los hongos ha sido resguardado por cientos de años en las comunidades étnicas del territorio nacional por lo que el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento biocultural de los géneros *Amanita*, *Calostoma* y *Psilocybe* de las regiones étnicas Mixe (Figura 1) y Mazateca (Figura 2) del estado de Oaxaca. Se utilizaron herramientas morfológicas, microscopía estereoscópica de campo claro y electrónica así como análisis bioinformático y filogenético para la identificación taxonómica de especies de los géneros *Amanita* y *Calostoma*. Por otro lado se presenta un estudio de caso con la descripción del uso ceremonial de los hongos en el municipio Mazateco San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón así como la identificación molecular de las especies utilizadas.

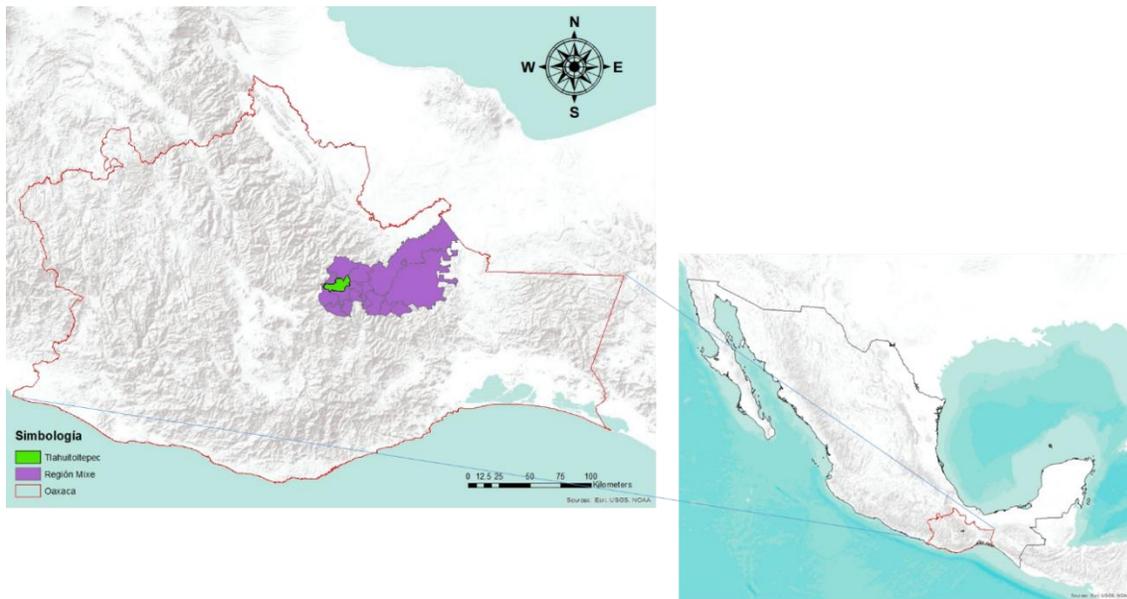


Figura 1. Localización geográfica de la región Mixe y del municipio de Santa María Tlahuitoltepec (municipio de estudio) en Oaxaca, México.

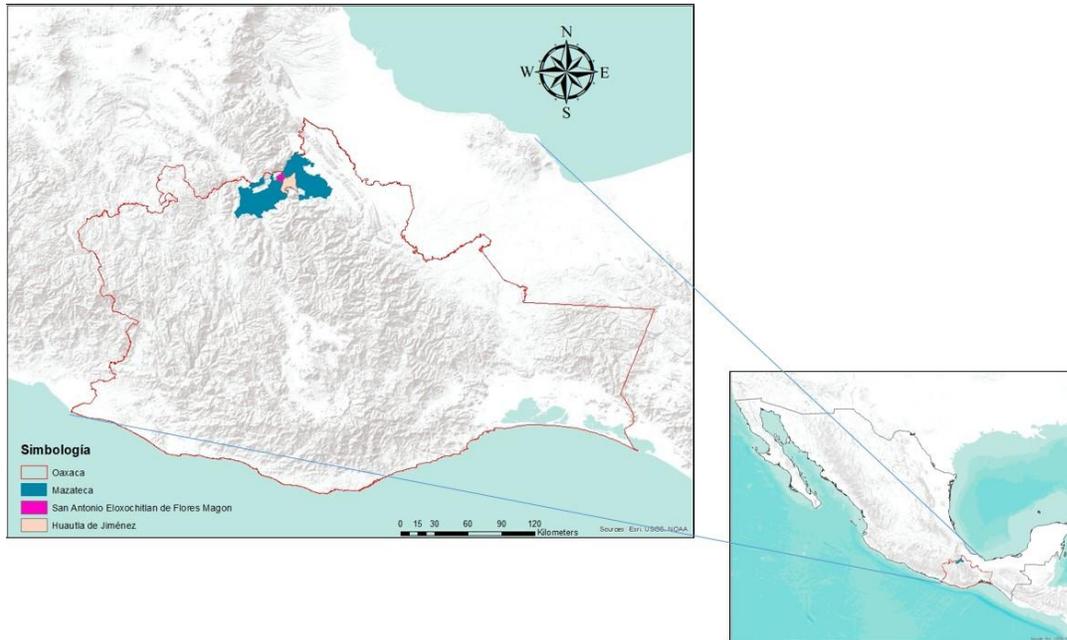


Figura 2. Localización geográfica de la región Mazateca y de los municipios de Huautla de Jiménez y San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón (zona de estudio), Oaxaca, México.

Literatura citada

- Arnold, A. E. & F. Lutzoni (2007) Diversity and host range of foliar fungal endophytes: Are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology* 88: 541 – 549.
- Berlant R. S. (2005) The entheomycological origin of Egyptian crowns and the esoteric underpinnings of Egyptian religion. *Journal of Ethnopharmacology* 102: 275-288
- Blackwell M. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? (2011) *American Journal of Botany* 98(3): 426–438.
- Boa, E. (2004) *Wild Edible Fungi. A Global Overview of Their Use and Importance to People*. Non wood Forest Products Series no. 17. Rome: FAO. 147 pp.
- Buller, A.H.R. (1914) The fungus lores of the Greeks and Romans. *Transactions of the British Mycological Society* 5: 21-66.
- Guzmán, G. (1959) Sinopsis de los conocimientos sobre los hongos alucinógenos mexicanos. *Boletín Sociedad Botánica de México* 24: 14-34.
- Guzmán, G. (1998) Análisis cualitativo y cuantitativo de la diversidad de los hongos en México (Ensayo sobre el inventario fúngico del país). *In: La diversidad*

- biológica de Iberoamérica II*, G. Halffter (ed.). Acta Zoológica Mexicana, nueva serie vol. Especial, CYTED e Instituto de Ecología, Xalapa. p. 111-175
- Guzmán G. (2008) Análisis de los estudios sobre los macromycetes de México. *Revista Mexicana de micología* 28:7-15
- Guzmán G. (2011) El uso tradicional de los hongos sagrados: pasado y presente. *Etnobiología* 9:1-21
- Guzmán G. (2014) Análisis del conocimiento de los hongos sagrados entre los mazatecos después de 54 años. *Etnoecológica* X (1): 21-36
- Garibay-Orijel, R. (2000) *La Etnomicología en el mundo: pasado, presente y futuro*. Tesis de licenciatura inédita, México, UNAM.
- Garibay-Orijel, R. (2009) Los nombres zapotecos de los hongos. *Revista Mexicana de Micología* 30: 43-61.
- Harmon D. (2001) On the meaning and moral imperative of diversity. Maffi, pp.53–70
- Kirk, P. M., P. F. Canon, D. W. Minter y J. A. Stalpers (Eds.). (2008) Ainsworth & Bisby's *Dictionary of the Fungi*. 10ed. International Mycological Institute, CAB International, Wallingford. 784 p.
- Kunth, J.C., (1822-1825) *Synopsis plantarum, quas, in itinere and plagam aequinoctialem orbis novi, collegerunt Al. de Humboldt et Am. Bonpland*. Paris (vol. 1)
- Millennium Ecosystem Assessment (2005) *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Müeller, G. M., J. P. Schmit, P. R. Leacock, B. Buyck, J. Cifuentes, D. E. Desjardin, R. E. Halling, K. Hjortstam, T., Iturriaga, K. H. Larsson, D. J. Lodge, T. W. May, D. Minter, M. Rajchenberg, S. A. Redhead, L. Ryvardeen, J. M. Trappe, R. Watling & Q. Wu. (2007) Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and Conservation* 16:37-48.
- Pérez-Moreno, J., M. Martínez-Reyes, A. Yescas-Pérez, A. Delgado-Alvarado, & B. Xoconostle-Cázares. (2008) Wild mushroom markets in central Mexico and a case study at Ozumba. *Economic Botany* 62: 1-12.
- Peintner, U., Pöder, R., & Pümpel, T. (1998). The iceman's fungi. *Mycological Research*, 102 (10), 1153-1162.

- Raspor, P., & J. Zupan (2006) Yeasts in extreme environments. In: C. Rosa and P. Gábor [eds.], *Biodiversity and ecophysiology of yeasts*, 372 – 417. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Ramírez, I. J., Vásquez-Dávila M. A., Caballero J. J. & León-Avendaño H. (2006) Etnomicología de los Tacuates de Santa María Zacatepec, Putla, Oaxaca. IV Seminario Internacional Efraím Hernández X., In: *Memoriam, Estudios sobre biodiversidad y agrobiodiversidad tropical*. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, Oaxaca
- Rinaldi A. C., Comandini O. & Kuyper T.W. (2008) Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. *Fungal Diversity* 33:1-45
- Ruan–Soto F., Garibay–Orijel, R. & Cifuentes, J. (2006) Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2(3):1746–4269.
- Ruan-Soto, F.; & Ordaz-Velázquez, M. (2015) Aproximaciones a la etnomicología maya. *Revista Pueblos y Fronteras Digital*. 10 (15) pp. 44-69
- Hernández-Santiago F., Pérez-Moreno J., Xoconostle-Cázares B., Almaraz-Suárez J. J., Ojeda-Trejo E., Mata-Montes de Oca G. & Díaz-Aguilar I. (2016) Traditional knowledge and use of wild mushrooms by Mixtecs or Ñuu savi, the people of the rain, from Southeastern Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 12(35):1-22
- Toledo, V. M. & Barrera-Bassols N. (2008) *La Memoria Biocultural: la importancia ecológica de los saberes tradicionales*. Icaria Editorial. Barcelona
- Vázquez M., S. (2012) Nota científica: macromicetos medicinales provenientes de la sierra norte de Puebla, México; depositados en el herbario “Gastón Guzmán”, en cd-rom. *Etnobiología* 10 (2): pp. 34-37

Capítulo II

Objetivos e hipótesis

Objetivo general

Identificar taxonómicamente las especies de hongos silvestres de importancia biocultural de los géneros *Calostoma*, *Amanita* y *Psilocybe* utilizadas por los grupos étnicos Mixe y Mazateco

Objetivos particulares

Identificar taxonómicamente las especies de hongos silvestres de los géneros *Calostoma* y *Amanita* de importancia biocultural en el grupo étnico Mixe.

Contribuir al registro de secuencias genéticas de hongos mexicanos de importancia biocultural.

Describir el uso ceremonial médico-espiritual actual de los hongos del género *Psilocybe* en la comunidad Mazateca de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón.

Hipótesis

Las técnicas moleculares y morfológicas son herramientas complementarias entre sí, para aclarar problemáticas taxonómicas.

Los organismos presentes en el territorio mexicano mantienen diferencias genético-morfológicas con los organismos existentes en otros países.

El conocimiento tradicional del grupo étnico Mixe ha sido poco estudiado por lo que existen usos de los hongos silvestres que no han sido reportados.

Las comunidades mazatecas han mantenido hasta la actualidad sus ceremonias tradicionales sobre el uso de los hongos del género *Psilocybe*.

Capítulo III

Dos nuevas especies Neotropicales del género gasteroide *Calostoma* (Boletales) usadas como alimento entre la comunidad *Ayuuk jä'äy* del sureste de México

Resumen

El género *Calostoma* pertenece al orden de los Boletales y agrupa 26 especies. En el mundo se tiene el registro de tres especies comestibles dentro de este género. El objetivo del presente trabajo fue la identificación taxonómica e importancia biocultural de las especies del género *Calostoma* que se encuentran en la región Mixe, ubicada en el estado de Oaxaca, en el sureste de México. Se realizó trabajo de campo, en la región Mixe, en colaboración con personas oriundas de la comunidad y lecto-escritoras del idioma *ayuuk*. Las especies del género *Calostoma* fueron identificadas utilizando caracterización macro y micromorfológica, herramientas de microscopía óptica y electrónica así como análisis bioinformático y filogenético. Se describen dos especies nuevas para la ciencia *Calostoma naaxtutus* y *Calostoma tooteic*, las cuales poseen importancia biocultural como comestibles en la comunidad Mixe estudiada. Este trabajo contribuye por lo tanto al conocimiento de la diversidad biológica y cultural de esta región Neotropical.

Introducción

El género *Calostoma* Desvaux (1809:92) pertenece a la familia Calostomataceae dentro del suborden Sclerodermatinae en el orden de los Boletales, basados en secuencias de DNA ribosomales, mitocondriales y nucleares (Hibbett *et al.* 2000, Hughey *et al.* 2000, Binder & Bresinsky 2002). La familia se caracteriza por un ostiolo apical con vértices levantados de aristas variables parecidos a una estrella, que da el nombre al género, derivado del griego *kallos* = hermoso, bello y *stoma*= boca (Desvaux 1809, Ulloa & Herrera 1994). *Calostoma* es un género, que incluye 26 especies (Index Fungorum 2017), tres de estas ectomicorrízicas con especies vegetales de las familias Fagaceae, Myrtaceae y Nothofagaceae (Wilson *et al.* 2007, 2012). La especie tipo del género es *C. cinnabarinum* Desvaux (1809:94) la cual ha

sido reportada en varios países de América (Calonge *et al.* 2005, Goulart *et al.* 2007, Wilson *et al.* 2007, Arzu *et al.* 2012) y en China (Wilson *et al.* 2012), el género *Calostoma* está ausente en Europa (Wilson *et al.* 2012).

México es uno de los centros de diversidad biocultural del mundo; por ejemplo el país tiene 68 grupos étnicos y botánicamente 172 especies de encinos. Uno de estos grupos étnicos es el Mixe o *Ayuuk jä'äy*, como se llaman a sí mismos, término que se descompone en *ayuuk*: “lengua” “idioma florido”, y *jä'äy*: “gente”; es decir, la “gente que habla el idioma florido”. Este es un grupo étnico prehispánico compuesto actualmente por más de 130,000 pobladores indígenas (CONEVAL, 2010), con una antigüedad de aproximadamente de 2000 años, por lo que se ha considerado una cultura sucesora de los Olmecas, la cultura madre de Mesoamérica (Barros 2006). La región que habitan los *Ayuuk jä'äy* se localiza en la parte más occidental de la sierra norte del estado de Oaxaca y es denominada también sierra Mixe.

Dentro del género *Calostoma* han sido reportadas tres especies como comestibles por diferentes grupos étnicos en Tailandia, Malasia y México (Abdullah & Rusea 2009, Alatorre 1996, Bandoni *et al.* 1998, Bautista-Nava & Moreno-Fuentes 2009). Sin embargo en términos generales las especies Neotropicales del género *Calostoma* han sido escasamente estudiadas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar taxonómicamente las especies del género *Calostoma* que existen en la sierra mixe, utilizando herramientas morfológicas, microscopía estereoscópica de campo claro y electrónica así como análisis moleculares y filogenéticos. Este estudio también evaluó a las especies de *Calostoma* en términos de su importancia biocultural como alimento en el grupo étnico Mixe.

Material y métodos

Trabajo de campo

De junio a septiembre de 2015 se realizaron 18 visitas de campo al municipio de Santa María Tlahuitoltepec, ubicado en la sierra Mixe del estado de Oaxaca, México. Se efectuaron entrevistas abiertas a los pobladores hablantes de Mixe locales; relacionadas con el consumo, localización e importancia biocultural de ejemplares cuya descripción coincidía con especies

del género *Calostoma*. Un factor que facilitó la recolecta de especímenes y de información de la importancia biocultural de las especies estudiadas fue el hecho de que la segunda coautora del presente trabajo es hablante y lecto-escritora de la lengua *ayuuk* y originaria de la población de estudio. Posteriormente, se hicieron recorridos aleatorios en las zonas boscosas reportadas con presencia de dicho taxa, acompañados de recolectores locales. Se fotografiaron y recolectaron esporomas de especies del género *Calostoma* en diferentes sitios, los cuales fueron georreferenciados.

Observación, morfología y descripción

Se realizó la descripción morfológica de los caracteres macroscópicos de los especímenes recolectados tales como color, forma, tamaño y textura del peridio, estípite, y gleba. Posteriormente los especímenes se deshidrataron en una secadora rústica a aproximadamente 80°C. Después se efectuó una descripción de los caracteres microscópicos: forma, tamaño y ornamentación de las esporas y características del peridio. Con fines prácticos el tamaño y la forma de las basidiosporas fueron presentadas en el formato biométrico propuesto por Tullos & Yang (2017). Así mismo la identificación del árbol asociado como *Quercus obtusata* (Bonpland 1809:26) fue realizada por el Dr. Enrique Guizar Nolasco de la Universidad Autónoma Chapingo, México; especialista en el género *Quercus*.

Microscopía electrónica de barrido

Se montaron las esporas de los especímenes estudiados en portamuestras de bronce con ayuda de una doblecinta adhesiva de cobre. Estas muestras fueron metalizadas con oro y paladio con ayuda de FINE COAT ION SPUTTER JFC-100. Las esporas metalizadas fueron observadas en el microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6390 en el Colegio de Postgraduados, México.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV)

campus Zacatenco; a partir de una porción de un cm de peridio y esporas de 4 especímenes seleccionados por sus características macro y micro morfológicas provenientes de los diferentes sitios de muestreo. El tejido fue congelado en nitrógeno líquido y después macerado en el equipo TissueLyser LT en ciclos de 3 min. La extracción se realizó utilizando el kit PowerSoil® DNA Isolation Kit, se corrieron geles de agarosa a 1% para verificar la calidad del ADN. Los fragmentos de DNA ITS se amplificaron por PCR utilizando la siguiente mezcla de reacción TaKaRa Ex Taq™: 2 µl de buffer, 2.0 de dNTPs y 0.06µl de Ex Taq, 0.4 µl de los oligos ITS4 e ITS5 10µM, 100ng de ADN y H₂O para completar 20µ. Una vez confirmada la amplificación en geles de agarosa, se midió la concentración en el NanoDrop™ 2000/2000c y se secuenció el DNA por el método de Maxam y Gilbert (1977) en la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala de la UNAM.

Análisis filogenético

Las secuencias fueron evaluadas con el programa Chromas Ink y los extremos de baja calidad se removieron. Estas secuencias se compararon con la base de datos de NCBI y se identificaron aquellos registros con mayor similitud. Las 4 secuencias obtenidas de los ejemplares examinados se analizaron en conjunto con 12 secuencias ITS pertenecientes al suborden Sclerodermatineae (Binder & Bresinsky 2002) (dentro de las cuales se incluyen organismos del género *Calostoma*) utilizando *Russula* sp. (Persoon 1796:100) como outgroup siguiendo otro trabajo filogenético hecho con *Calostoma* (Hughey *et al.* 2000). Las secuencias fueron alineadas utilizando el programa CLUSTALW, posteriormente se utilizó el programa Mothur para delimitar las posiciones de inicio y final comunes para todas las secuencias. La topología y las probabilidades estimadas se determinaron con el programa Mr. Bayes v3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003); se utilizó el modelo evolutivo HKY+G, seleccionado como el mejor modelo para nuestro grupo de datos según Mrmodeltest 2.3 (Nylander 2004). Los soportes estadísticos fueron calculados usando un conjunto de 1000 árboles para 200,000 generaciones. Los ejemplares estudiados macroscópicamente, con microscopía óptica de campo claro, microscopía electrónica de barrido y molecularmente, fueron depositados en el herbario MEXU con las claves MEXU29001! MEXU29002!, MEXU29008! y MEXU29009!

Resultados

Los ejemplares recolectados mostraron características morfológicas y moleculares diferentes a las especies descritas actualmente para el género *Calostoma*. El exoperidio y altura del estípite fue diferente entre los ejemplares recolectados; generando dos grupos, uno con exoperidio grueso que se rompe sólo por el ápice y se puede quebrar en diferentes partes pero que no fluye por el corto estípite de máximo 2 cm, y otro grupo que presenta estípite de hasta 5 cm, exoperidio delgado que al madurar se abre por el ápice y fluye por el estípite llevando consigo pequeñas estructuras como semillas que se encuentran embebidas en este exoperidio. Del mismo modo, el tamaño y ornamentación de las esporas fue diferente a las especies descritas para el género y entre los dos grupos de recolecta. La comparación molecular en GenBank reveló porcentajes de similitud por debajo de 95% (Tabla 1) con la especie más similar que fue *C. cinnabarinum*; así mismo la topología del análisis filogenético mostró en clados diferentes a *C. cinnabarinum* y a los ejemplares recolectados, que también se agruparon en las categorías con y sin estípite largo (Figura 5). Dichos argumentos demuestran que en la región de estudio existen al menos dos especies diferentes, y que estas son distintas a las especies ya descritas en el género *Calostoma*.

Taxonomía

Calostoma naaxtututs M. Deloya-Olvera, S. Virgen-Vásquez, B. Xoconostle-Cázares & J. Pérez-Moreno *sp. nov.*

Gasterocarpo en forma de cabeza globosa con estípite corto, formado por cordones longitudinales anastomosados, de color café rojizo, cartilaginoso cuando fresco y duro cuando seco, de 5mm a 15mm de altura × 24 mm de diámetro. La cabeza es de color anaranjado a rojo, de 23 a 30 mm de diámetro, con exoperidio gelatinoso de 3 mm de espesor, hialino, al madurar se abre en el ápice por la parte del ostiolo. Mesoperidio anaranjado rojizo unido al exoperidio. Endoperidio papiráceo de color crema-amarillento. Ostiolo apical en forma de estrella con 5 a 6 aristas levantadas, las cuales se rompen y liberan las esporas. Gleba pulvinosa de color crema blanquecino-amarillento. Esporas ampliamente elipsoides de (9.3) 9.9 – 13.8 (14.6) × (7.0) 7.3 – 10.8 (11.7) μ , ornamentadas con retícula

(exosporio) con una sola capa aglomerada, con espacios irregulares que pueden estar cerrados por la misma retícula. Saco esporal formado por una red de hifas entrecruzadas de 1.5 – 7.8 μ de ancho (Figura 3).

Tipo: Deloya-Olvera 51/ designado en este trabajo: —México. Oaxaca: Santa María Tlahuitoltepec, elevación 2477 m., coordenadas 17°6'27.2"N 96°3'51.5"O, bosque de *Quercus obtusata* 19 de agosto de 2015, (MEXU29001!).

Paratipo: Deloya-Olvera 53/ designado en este trabajo: —México. Oaxaca: Santa María Tlahuitoltepec, elevación 2481 m., coordenadas 17°6'24.4"N 96°3'50.7"O, bosque de *Quercus obtusata* 19 de agosto de 2015, (MEXU29008!).

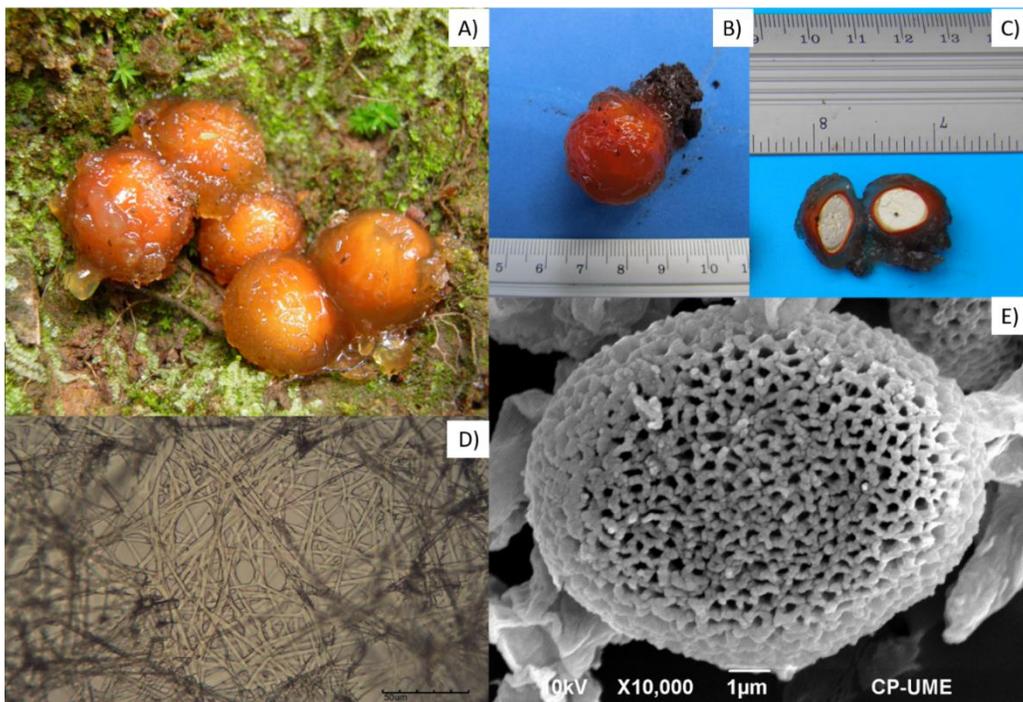


Figura 3. *Calostoma naaxtututs*. A) y B) Esporomas, C) Espesor de exoperidio, D) Hifas de endoperidio, E) Microfotografía electrónica de espora.

Calostoma tooteic M. Deloya-Olvera, S. Virgen-Vásquez, B. Xoconostle-Cázares & J. Pérez-Moreno *sp. nov.*

Gasterocarpo formado por un estípote alto con una cabeza globosa en el ápice; el estípote está formado por cordones longitudinales anastomosados, transparente café-rojizo, cartilaginoso cuando fresco y duro cuando seco, de 1.5 a 5 cm de altura \times 1.8 a 2.20 cm de diámetro. Esta

cabeza es globosa de color anaranjado a rojo que al inicio está cubierta por un delgado exoperidio gelatinoso que contiene como pequeñas “semillas” rojizas que van cayendo embebidas en la gelatina alrededor de la cabeza resbalando por el estípite y dejando a la cabeza totalmente descubierta, esta cabeza tiene un ostiolo apical de 5 a 6 aristas levantadas; Las esporas son elipsoides de $(11.3) 12.2 - 18.0 (19.19) \times (8.5) 8.8 - 12.4 (12.8) \mu$, ornamentadas con retícula (exosporio) con capas interna y externa. Saco esporal formado por una red de hifas de 2.2 a 5.8μ que se degrada (Figura 4).

Tipo: Deloya-Olvera 57 designado en este trabajo: —México. Oaxaca: Santa María Tlahuitoltepec, elevación 2327 m., coordenadas $17^{\circ}6'41.6''N$ $96^{\circ}3'33.7''O$, 19 de agosto de 2015, MEXU 29002!

Paratipo: Deloya-Olvera 58 designado en este trabajo: —México. Oaxaca: Santa María Tlahuitoltepec, elevación 2358 m., coordenadas $17^{\circ}6'59.7''N$ $96^{\circ}3'23.2''O$, 20 de agosto de 2015, MEXU 29009!

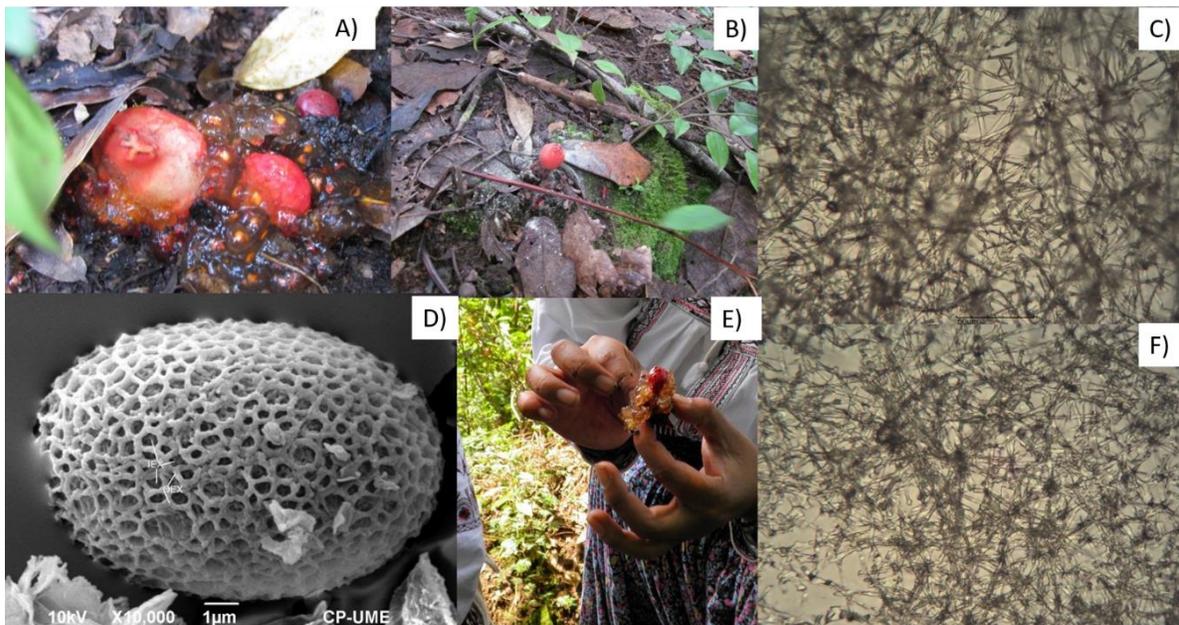


Figura 4. *Calostoma tooteic*. A), B) y E) Esporomas, D) Microfotografía electrónica de espóra con exosporio interno (IEX) y externo (OEX) C) y F) Hifas de endoperidio.

Tabla 1. Identificación de las morfoespecies por su afinidad molecular en GenBank.

Ejemplares muestreados	<i>E</i>	% Id	% Query cover	Coincidencias en NCBI	Accesión GenBank1	Accesión GenBank2
<i>Calostoma tooteic</i> ¹	0.0	94	99	<i>Calostoma cinnabarinum</i>	AY854064.1	MF521437
<i>Calostoma tooteic</i> ¹	2e- 169	87	90	<i>Calostoma japonicum</i>	FJ710191.1	MF521437
<i>Calostoma tooteic</i> ¹	4e- 151	87	78	<i>Calostoma ravenelii</i>	FJ710197.1	MF521437
<i>Calostoma tooteic</i> ²	0.0	91	100	<i>Calostoma cinnabarinum</i>	AY854064.1	MF521439
<i>Calostoma tooteic</i> ²	2e- 169	82	100	<i>Calostoma japonicum</i>	FJ710191.1	MF521439
<i>Calostoma tooteic</i> ²	4e- 151	84	74	<i>Calostoma ravenelii</i>	FJ710197.1	MF521439
<i>Calostoma naaxtututs</i> ¹	0.0	95	100	<i>Calostoma cinnabarinum</i>	AY854064.1	MF521438
<i>Calostoma naaxtututs</i> ¹	0.0	87	88	<i>Calostoma japonicum</i>	FJ710191.1	MF521438
<i>Calostoma naaxtututs</i> ¹	5e- 180	87	84	<i>Calostoma ravenelii</i>	FJ710197.1	MF521438
<i>Calostoma naaxtututs</i> ²	0.0	95	100	<i>Calostoma cinnabarinum</i>	AY854064.1	MF521440
<i>Calostoma naaxtututs</i> ²	0.0	88	88	<i>Calostoma japonicum</i>	FJ710191.1	MF521440
<i>Calostoma naaxtututs</i> ²	3e- 177	87	85	<i>Calostoma ravenelii</i>	FJ710197.1	MF521440

E: probabilidad de error en la identificación. % Id: porcentaje de similitud nucleotídica entre las secuencias. % Query cover: porcentaje de cobertura de las consultas. Acceso GenBank1: número de acceso de las secuencias similares en GenBank; Acceso GenBank 2: número de acceso de las secuencias producidas en este trabajo. ¹: Tipo; ²: Paratipo.

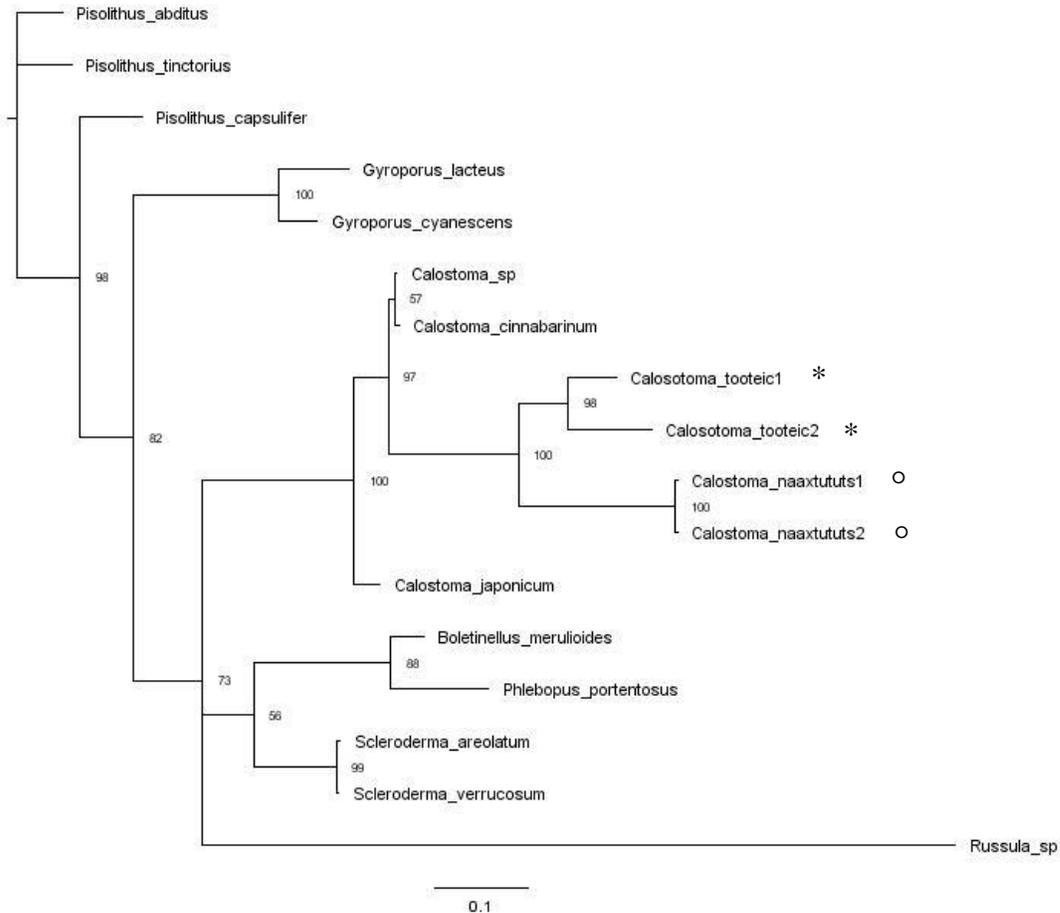


Figura 5. Relaciones filogenéticas de *Calostoma naaxtututs* (°) y *Calostoma tooteic* (*) con especies de Boletales comparadas con un agarical.

Discusión

El género *Calostoma* fue descrito por primera vez en 1809 con características macro morfológicas de ejemplares recolectados en América boreal (Desvaux 1809), posteriormente en 1888 Masee realizó las primeras observaciones con microscopía óptica incluyendo medidas de las esporas e hifas que conforman las diferentes estructuras del hongo así como ilustraciones a color de ejemplares provenientes del este de Estados Unidos de América, desde Massachusetts hasta Carolina (Masee 1888). Coker y Couch (1928) realizaron un trabajo sobre gasteromicetes incluyendo fotografías de ejemplares recolectados en el este de EUA. Castro-Mendoza y colaboradores (1983) utilizaron microscopía electrónica de barrido para diferenciar especies del género en base a la ornamentación de las esporas de ejemplares

recolectados al sureste de Estados Unidos. En 2002 ubican al género dentro del suborden Sclerodermatinae en la familia Calostomaceae basados en la subunidad larga nuclear 28S (Binder & Bresinsky 2002). En 2007 se determinó que la especie tipo del género, *C. cinnabarinum*, recolectada en Massachusetts era capaz de establecer ectomicorriza (Wilson *et al.* 2007). En el presente trabajo se realiza la descripción macro y micromorfológica, molecular y filogenética de dos nuevas especies provenientes del sureste mexicano.

Calostoma tooteic luce muy similar a *C. cinnabarinum*, presentando un estípite mayor a 5 cm, color anaranjado-rojizo y un exoperidio que pierde fluyendo por el estípite junto con las estructuras parecidas a semillas. Sin embargo el color del estípite, tamaño y ornamentación de las esporas y el porcentaje de similitud molecular y análisis filogenético posicionan a *C. tooteic* como una especie diferente. También se diferencia de *C. ravenelii* y *C. japonicum* en la altura del estípite, color del peridio y tamaño de las esporas.

Calostoma naaxtututs también es parecida a lo que describen como estado inmaduro de *C. cinnabarinum* (Masse 1888, Cooker & Couch 1928), sin embargo se encontraron ejemplares maduros con liberación apical de esporas que nunca tuvieron estípite mayor a 2 cm y nunca perdían por completo el exoperidio gelatinoso que no tiene presencia de las estructuras parecidas a semillas, este exoperidio sólo se quiebra por diversas partes. Las esporas presentan diferencias en ornamentación y tamaño. Del mismo modo los porcentajes de similitud molecular agrupan filogenéticamente a esta especie en un cluster diferente a *C. cinnabarinum* y a *C. tooteic*. Esta especie presenta un estípite corto y el exoperidio sólo se quiebra permaneciendo durante la madurez al igual que *C. ravenelii*, sin embargo en esta, el exoperidio es seco y las esporas son de diferente tamaño y ornamentación.

El presente trabajo demuestra que una definición precisa de las especies pertenecientes al género *Calostoma* requiere estudios multienfoque los cuales deben incluir además de los datos macro y micromorfológicos de los esporomas, análisis de las esporas con microscopía electrónica (Casto-Mendoza *et al.* 1983), biología molecular y filogenia.

En la Tabla 2 se presenta un análisis comparativo de las dos especies descritas en el presente trabajo con *C. cinnabarinum* que es la especie tipo del género y la especie más similar molecularmente con porcentajes de similitud de 91-94% con *C. tooteic* y 95% con *C. naxxtututs*.

Existen registros previos de la comestibilidad de especies del género *Calostoma* a nivel mundial. Han sido reportadas como especies comestibles *C. cf. fuscum*, *C. junghuhnia* y *C. cinnabarinum* en Malasia (Goulart *et al.* 2007), Thailandia (Bandoni *et al.* 1998) y México (Bautista-Nava & Moreno-Fuentes 2009) respectivamente. En el presente trabajo se registra por primera vez la comestibilidad e importancia biocultural de las dos nuevas especies descritas en el grupo Mixe, el cual habita el sureste de México. Este es el cuarto registro de la comestibilidad de especies del género *Calostoma* en el mundo y el primer registro del uso alimenticio actual de especies de este género por el grupo étnico Mixe reportando testimonios de 30 pobladores, incluidos niños menores de 10 años, en una comunidad de 199 habitantes. Lo consumen habitualmente como botana de monte, siendo consumido el peridio y la gleba crudos, sólo retiran el exoperidio gelatinoso y el estípite. Los habitantes se refieren a este alimento como *naax tututs* (*naax*=tierra, *tututs*=huevo) traduciéndose como —huevo de tierra— aludiendo a el sabor del hongo referido como sabor parecido al huevo, lo cual es un indicador del mantenimiento del conocimiento tradicional por los miembros de comunidad Mixe actualmente. Este etnotaxa crece en bosques dominados por *Quercus obtusata* y está formado por *C. naxxtututs* y *C. tooteic*, descritos en este trabajo (Figura 6).



Figura 6. Etnotaxa utilizado por el grupo Ayuuk jä'äy (Mixe). A) Etnotaxa compuesto por dos especies de *Calostoma*; B) *C. naaxtututs* en manos Mixes, C) *C. tooteic*, recolectada por el grupo Mixe.

Tabla 2. Características de las especies determinadas en este trabajo y *Calostoma cinnabarinum*.

	<i>C. cinnabarinum</i> (Desv. 1809)	<i>C. cinnabarinum</i> (Massee 1888)	<i>C. cinnabarinum</i> (Coker y Couch 1928)	<i>C. cinnabarinum</i> (Castro-Mendoza et al. 1983)	<i>C. cinnabarinum</i> (Wilson et al. 2007)	<i>C. cinnabarinum</i> (Goulart et al. 2007)	<i>C. naaxtututs</i>	<i>C. tooteic</i>
Medida de cabeza	Sin dato	10 – 20 mm diámetro	Sin dato	10 – 15 mm diámetro	8 – 10 mm grosor	8 – 12 mm	23 – 30 mm	23 – 30 mm
Color cabeza	Purpura diluido	Bermellón a rojo oscuro	Rojo cinnabar	Rojo a anaranjado rojizo, cayendo a anaranjado pálido	Anaranjado oscuro	Marrón a bermellón	Anaranjado oscuro-rojizo	Anaranjado-rojizo
Forma de la cabeza	Esférica	Subglobosa	Sin dato	Globosa	Globosa a subglobosa	Subglobosa	Globosa	Subglobosa

Exoperidio	Delgado, se cae a pedazos	Sin dato	Gelatinoso, delgado, se rompe en la punta y se enreda en sí mismo hasta caer completamente	Grueso, gelatinoso, hialino, se cae al madurar	Grueso, hialino, se cae al madurar	Gelatinoso, liso	Grueso gelatinoso, hialino persistente 3 mm de espesor	Gelatinoso delgado, se cae
Forma de esporas	Elíptica	Elípticas a oblongas	Oblongas a elípticas	Elípticas a oblongas elípticas	Oblongas a elípticas	Elípticas	Ampliamente elipsoide	Elipsoide
Medidas de esporas	Sin dato	15 – 18 × 8 – 10 μ	14 – 20 (24) μ × 6.3 – 8.5	12 – 22um × 6.5-8.5 μ	10 – 20 × 5 – 8 μ	12 – 15 × 8 – 10 μ	(9.3)9.9 – 13.8(14.6) × (7.0)7.3 – 10.8(11.7) μ	(11.3)12.2 – 18.0(19.19) × (8.5)8.8 – 12.4(12.8) μ
Medida del estípote	7 – 10 cm	2 – 5 cm	Sin dato	3.5 cm long × 1.0 – 1.5 cm diámetro	Sin dato	1.5 – 2.0 cm alto × 0.8 – 1.2 cm diámetro	0.5 – 1.5 cm de alto × 0.3 – 1.0 cm diámetro	1.5 – 5.0 cm de alto × 1.5 – 2.0 cm diámetro

estípite	Sin dato	Lacunoso reticulado	Reticulado, corto, ancho	Arreglo de cordones longitudin ales Anastomo sados, Amarillo pálido	Sin dato	Sin dato	Cordones longitudinales anastomosados , café-rojizo, cartilagosos cuando está fresco y duro cuando está seco	Cordones longitudinales anastomosados, café- rojizo, cartilagosos cuando está fresco y duro cuando está seco
----------	----------	------------------------	-----------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------	----------	----------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

*Las características diagnósticas de las tres especies están en letra negrita.

Conclusiones

- Se describen e ilustran dos especies Neotropicales nuevas del género *Calostoma*, perteneciente a los Boletales, basados en macro y micromorfología de esporomas, microscopía electrónica de la ornamentación de las esporas, biología molecular y filogenia.
- Las dos especies nuevas de *Calostoma* tienen importancia biocultural en el grupo *Ayuuk jä'äy* como alimento, y constituyen un etnotaxa denominado “*naaxtututs* (*naax*=tierra, *tututs*=huevo o literalmente huevo de tierra).
- Las nuevas especies descritas fueron recolectadas exclusivamente a elevaciones de 2390 a 2470 m. en bosques de *Quercus obtusata*.
- El presente estudio contribuye a documentar el conocimiento tradicional del grupo *Ayuuk jä'äy*, el cual ha sido conservado durante siglos y actualmente está sujeto a una erosión cultural acelerada, como nunca antes vista.

Literatura citada

- Abdullah F. & Rusea G. (2009) Documentation of inherited knowledge on wild edible fungi from Malaysia. *Blumea* 54: 35–38
- Alatorre, E. (1996). *Etnomicología en la sierra de Santa Martha*. CONABIO. Xalapa. 88 p.
- Arzú, R. Comandini, O. & Rinaldi, A. C. (2012) A preliminary checklist of macrofungi of Guatemala, with notes on edibility and traditional knowledge. *Mycosphere* 3(1): 1-21
- Bonpland & Humbolt (1809) *Plantae aequinoctiales part 10*. Botanical garden. París. 26 p.
- Bandoni, R. J., Bandoni, A. A. & Flegel, T.W. (1998) *The forgotten kingdom*. National Centre for Genetic Engineering and Biotechnology Development Agency, Bangkok. 136 pp.
- Barros van Hóvell tot Westerflie A. (2006) Cien años de guerras mixtes: territorialidades prehispánicas, expansión burocrática y zapotecización en el istmo de Tehuantepec durante el siglo XVI. *Historia Mexicana*, 57 (2): 325-403
- Bautista-Nava, E. & A., Moreno-Fuentes. (2009) Primer registro de *Calostoma cinnabarina* (Sclerodermatales) como especie comestible. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 561-564

- Binder, M. & Bresinsky, A. (2002) Derivation of a Polymorphic Lineage of Gasteromycetes from Boletoid Ancestors. *Mycologia* 94(1): 85-98
- Calonge, F. D., Mata M. & Carranza J. (2005) Contribución al catálogo de los Gasteromycetes (Basidiomycotina, Fungi) de Costa Rica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 62(1): 23-45
- Castro-Mendoza E., Miller O. K. Jr. & Stetler D. A. (1983) AmericaBasidiospore Wall Ultrastructure and Tissue System Morphology in the Genus Calostoma in North America. *Mycologia* 75: 36-45
- Coker, W.C. & Couch, J.N. (1928) *The Gasteromycetes of the eastern United States and Canada*. Dover Publications. New York: 185-193 pp.
- CONEVAL. *Informe Anual Sobre La Situación de Pobreza y Rezago Social*. (2010) SEDESOL. Available from: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/48630/Oaxaca_437.pdf (accessed: 18/08/2017)
- Desvaux, N.A. (1809) Observations sur quelques genres à établir dans la famille des Champignons. *In: Dufour G. & company (eds.) Journal de botanique tome II*. J. B. Sajou, París, pp. 88-105
- Goulart, B. L., Barbosa, S. B. D., Gomes, L. A. & Costa M. L. (2007) O gênero Calostoma (Boletales, Agaricomycetidae) em áreas de cerrado e semi-árido no Brasil *Acta Botanica Brasilica* 21(2): 277-280.
- Hibbett D. S., Gilbert L.B. & Donoghue M. J. (2000) Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407:506-508
- Hughey, B. D., Adams, G. C., Bruns, T. D. & Hibbett, D. S. (2000) Phylogeny of Calostoma, the Gelatinous-Stalked Puffball, Based on Nuclear and Mitochondrial Ribosomal DNA Sequences. *Mycologia* 92: 94-104
- Indexfungorum. (2017). CABI. Available from <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp> (accessed: 16/08/2017)
- Massee, G. (1888) A monograph of the genus Calostoma, Desv. (Mitremyces, Nees). *Annals of Botany* 2: 25–45
- Maxam A. M. & Gilbert W. (1977) A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 74(2):560-564

- Nylander, J.A.A. (2004) *Mr. Modeltest* v2. Program Distributed by the Author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Persoon CH. (1796) *Observationes Mycologicae. Vol 1* Leipzig: PP Wolf, 116 pp.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Tulloss, R.E. & Yang, Z.L. (2017) *Amanitaceae* studies. Available from; <http://www.amanitaceae.org?Welcome>. (Accessed 18/05/ 2017)
- Ulloa, M. & Herrera, M. (1994) Iconografía y etimología de géneros de hongos. *Cuadernos 21*, México. 235 pp.
- Wilson, A. W., Hobbie, E. A., & Hibbett, D.S. (2007) The ectomycorrhizal status of *Calostoma cinnabarinum* determined using isotopic, molecular, and morphological methods. *Canadian Journal of botany* 85: 385–393
- Wilson A. W., Binder M. & Hibbett D. S. (2012) Diversity and evolution of ectomycorrhizal host associations in the Sclerodermatineae (Boletales, Basidiomycota) *New Phytologist* 194(4): 1-18

Capítulo IV

Nueva especie comestible de la sección *Caesareae* del género *Amanita* (Amanitaceae) en el grupo étnico *Ayuuk jä'äy del sureste de México*

Resumen

El género *Amanita* contiene 868 especies descritas, agrupadas en dos subgéneros que se dividen en secciones. El subgénero *Amanita* contiene a la sección *Caesareae* en la cual la especie tipo es *A. caesareae* registrada en Europa, sin embargo los ejemplares provenientes de América presentan características diferentes. México cuenta con 64 grupos étnicos, los cuales ocupan territorios poco explorados en términos biológicos. El objetivo de este trabajo fue identificar taxonómicamente las especies de hongos silvestres del género *Amanita* de importancia biocultural utilizadas entre el grupo étnico Mixe. Se realizaron entrevistas a los pobladores oriundos de la comunidad Mixe sobre el uso de los hongos y se utilizaron herramientas de microscopía óptica de campo claro, microscopía electrónica, análisis bioinformático y filogenético para determinar a las especies taxonómicamente. Se determinó una nueva especie de importancia biocultural como comestible de la sección *Caesareae* del género *Amanita*, localizada exclusivamente en bosques dominados por *Quercus obtusata*. El presente trabajo contribuye al conocimiento de las especies de importancia biocultural presentes en la región Neotropical.

Introducción

El género *Amanita* Persoon (1797:65) podría contener 1000 o más taxa, hasta ahora descritos sobre 868 que probablemente contienen taxa no detectados (Tullos 2017). Este género es dividido en dos subgéneros y estos en secciones monofiléticas (Weiß *et al.* 1998; Zhang *et al.* 2004; Justo *et al.* 2010). El subgénero *Amanita* es subdividido en las secciones *Amanitae*, *Vaginatae* y *Caesareae* y el subgénero *Lepidella* se subdivide en las secciones *Amidella*, *Lepidella*, *Phalloideae* y *Validae*. En la sección *Caesareae* la especie tipo es *Amanita*

caesareae (Scop.) Pers (1801: 252) sin embargo se ha registrado que los ejemplares recolectados en América son diferentes a la descripción de la especie *A. caesareae* proveniente de Europa (Tullos 2005). Guzmán & Ramírez-Guillén (2001), basados en el tamaño de las esporas así como en la sulcación del margen del píleo, considerados elementos importantes para la segregación de especies y estirpes (Bas 1977, Tullos 2009), generaron el complejo *Amanita caesareae* incluyendo a 13 especies provenientes de Canadá, Estados Unidos, México, Asia y África; de las cuales seis fueron reportadas como mexicanas.

México es uno de los centros de diversidad biocultural en el mundo con 68 grupos étnicos y 172 especies de encinos. Uno de estos grupos étnicos es el Mixe o *Ayuuk jä'äy*, como se llaman a sí mismos, término que se descompone en *ayuuk*, “lengua” “idioma florido”, y *jä'äy*, “gente”, es decir, la “gente que habla el idioma florido”; una comunidad prehispánica de más de 130,000 habitantes indígenas (CONEVAL, 2010), con antigüedad de aproximadamente 2000 años, por lo que se ha considerado una cultura sucesora de los Olmecas, la cultura madre de Mesoamérica (Barros 2006). La región que habitan los *Ayuuk jä'äy* se localiza en la parte más occidental de la sierra norte del estado de Oaxaca y es denominada también sierra Mixe. *Amanita caesareae* ha sido valorado desde tiempos ancestrales por los griegos y romanos en donde las personas de alto rango como el llamado Cesar (origen del nombre) le daban un alto valor gastronómico (Buller 1914), actualmente es cotizado en regiones de Italia, Turquía, Nepal, Grecia, España, Guatemala, México entre otros (Boa 2004, Pérez-Moreno & Martínez-Reyes 2014), Nutricionalmente contiene proteínas y minerales (Kiger 1959) y compuestos nutraceuticos con actividad antioxidante, antimicrobiana e hipocolesterolicos (Pérez-Moreno & Martínez-Reyes 2014), además de que forma simbiosis ectomicorrizica con especies de diferentes géneros como *Pinus* y *Quercus*.

Sin embargo en términos generales las especies Neotropicales del género *Amanita* han sido escasamente estudiadas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar taxonómicamente las especies del género *Amanita* que existe en la sierra mixe, utilizando herramientas morfológicas, microscopía estereoscópica de campo claro así como análisis bioinformático y filogenético. Este estudio también evaluó si alguna de las especies de *Amanita* posee importancia biocultural como alimento en el grupo étnico Mixe.

Material y métodos

Trabajo de campo

De junio a septiembre de 2015 se realizaron 18 visitas de campo al municipio de Santa María Tlahuitoltepec, ubicado en la sierra Mixe del estado de Oaxaca, México. Se efectuaron entrevistas abiertas a los pobladores hablantes de Mixe locales; relacionadas con el consumo, localización e importancia biocultural de ejemplares cuya descripción coincidía con especies del género *Amanita*. Un factor que facilitó la recolecta de especímenes y de información de la importancia biocultural de las especies estudiadas fue el hecho de que la segunda coautora del presente trabajo es hablante y lecto-escritora de la lengua *ayuuk* y originaria de la población de estudio. Posteriormente, se hicieron recorridos aleatorios en las zonas boscosas reportadas con presencia de dicho taxa, acompañados de recolectores locales. Se fotografiaron y recolectaron esporomas de especies del género *Amanita* en diferentes sitios, los cuales fueron georreferenciados.

Observación, morfología y descripción

Se realizó la descripción morfológica de los caracteres macroscópicos tales como color, tamaño y textura del píleo, himenio y estípite. Posteriormente los especímenes se deshidrataron en una secadora rústica a aproximadamente de 80°C. Después se efectuó una descripción de los caracteres microscópicos: forma y tamaño de las esporas y características del himenio. Con fines prácticos el tamaño y la forma de las basidiosporas fueron presentadas en el formato de las variables biométricas registradas por Tullos (2017). Así mismo la identificación de la especie arbórea dominante como *Quercus obtusata* (Bonpland 1809:26) fue realizada por el Dr. Enrique Guizar Nolzco de la Universidad Autónoma Chapingo, México; especialista en el género *Quercus*.

Microscopía electrónica de barrido

Se montaron las esporas de los especímenes estudiados en portamuestras de bronce con ayuda de una doblecinta adhesiva de cobre. Estas muestras fueron metalizadas con oro y paladio con ayuda de FINE COAT ION SPUTTER JFC-100. Las esporas metalizadas fueron

observadas en el microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6390 en el Colegio de Postgraduados, México.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) campus Zacatenco; a partir de una porción de un cm de píleo e himenio de 4 especímenes seleccionados por sus características macro y micromorfológicas provenientes de los diferentes sitios de muestreo. El tejido fue congelado en nitrógeno líquido y después macerado en el equipo TissueLyser LT en ciclos de 3 min. La extracción se realizó utilizando el kit PowerSoil® DNA Isolation Kit, se corrieron geles de agarosa a 1% para verificar la calidad del ADN. Los fragmentos de DNA ITS se amplificaron por PCR utilizando la siguiente mezcla de reacción de TaKaRa Ex Taq™: 2 µl de buffer, 2.0 de dNTPs y 0.06µl de Ex Taq, 0.4 µl de los oligos ITS4 e ITS5 10µM, 100ng de ADN y H₂O para completar 20µ. Una vez confirmada la amplificación en geles de agarosa, se midió la concentración en el NanoDrop™ 2000/2000c y se secuenció el DNA por el método de Maxam y Gilbert (1977) en capilar en la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala de la UNAM.

Análisis filogenético

Las secuencias fueron evaluadas con el programa Chromas Ink y los extremos de baja calidad se removieron. Estas secuencias se compararon con la base de datos de NCBI y se identificaron aquellos registros con mayor similitud.

Las cuatro secuencias obtenidas de los ejemplares examinados se analizaron en conjunto con 41 secuencias ITS pertenecientes a la sección *Caesareae* del género *Amanita* utilizando *Russula sp.* (Pers 1796:100) como outgroup. Las secuencias fueron alineadas utilizando el programa CLUSTALW, posteriormente se utilizó el programa Mothur para delimitar las posiciones de inicio y final comunes para todas las secuencias. La topología y las probabilidades estimadas se determinaron con el programa Mr. Bayes v3.2.6 (Ronquist &

Huelsbeck 2003); se utilizó el modelo evolutivo GTR, seleccionado como el mejor modelo para nuestro grupo de datos según Mrmodeltest 2.3 (Nylander 2004). Los soportes estadísticos fueron calculados usando un conjunto de 1000 árboles para 200,000 generaciones. Los ejemplares seleccionados y estudiados macroscópicamente, con microscopía óptica de campo claro y molecularmente, fueron depositados en el herbario MEXU con las claves MEXU28341!, MEXU28342!, MEXU28343! Y MEXU28344

Resultados

Las características morfológicas de los ejemplares seleccionados presentaron características diferentes a las especies descritas para el género *Amanita* (Tabla 3). Los porcentajes de similitud molecular en GenBank fueron de 89 a 97% con las especies más similares (Tabla 4) y el análisis filogenético (Figura 10) agrupó en un clado aparte a los ejemplares recolectados. En base a dichos argumentos se determinó que los ejemplares recolectados constituyen una misma especie, diferente a las descritas hasta el momento y que en este trabajo denominamos *Amanita ayuukjaay*.

Taxonomía

Amanita ayuukjaay M. Deloya-Olvera, S. Virgen-Vásquez, B. Xoconostle-Cázares & J. Pérez-Moreno *sp. nov.*

Etimología – llamada así porque la comunidad Mixe se aut nombra *Ayuuk jä'äy*, término que se descompone en *ayuuk*, “lengua” “idioma florido”, y *jä'äy*, “gente”, es decir, la “gente que habla el idioma florido (Torres-Cisneros, 2004).

Descripción. Píleo: El píleo va de cónico-campanulado a aplanado con el centro umbonado y en ocasiones con la madurez y deshidratación ambiental el centro se deprime ligeramente manteniendo el umbo, este centro es de color ocre-anaranjado más intenso en el umbo, aproximadamente 1/3 del radio, difuminándose a color amarillo brillante con tonalidades verde oliva hacia el margen, entre más humedad haya en el ambiente, el amarillo se ve más claro y brillante y en zonas menos húmedas el amarillo tiene tono un poco más dorado y menos brillante; va de 5cm en su estado inmaduro a 25 cm de diámetro en etapa madura, este píleo es de margen sulcado-estriado no apendiculado cuyas estrías tienen longitud de 1 a 3 cm (0.25 R). De textura lisa, mate o un poco viscoso por la humedad. El contexto es de color

blanquecino, ligeramente más delgado hacia el margen, tiene láminas libres de muy próximas a próximas de color blanquecino con láminas truncadas de diferentes longitudes entremezcladas azarosamente, de margen liso. El velo universal está ausente o en algunas raras ocasiones quedan algunos parches pequeños como remanentes de color blanco.

Estípite: El estípite es de color blanquecino/crema, se va elongando hasta 30 cm y quedan restos de la parte exterior del velo parcial como ornamentación en forma de un patrón determinado de color amarillo-anaranjado a ocre que con el maltrato se torna más oscura (ocre-rojiza), esta capa es muy delgada y frágil al contacto pues se cae o enrolla en sí misma para después caer; el estípite es cilíndrico, de hasta 2.5 cm de grosor, unido en la base a la volva, ligeramente más delgado hacia la punta, el interior es blanco, con un hueco central relleno con material algodonoso de 0.5 a 1.5 cm de luz, con o sin agujeros de larva, no cambia de color con el maltrato.

El velo parcial finalmente forma un anillo apical, membranoso estriado de aproximadamente 5 cm, en donde los primeros 2 cm están unidos al estípite formando una zona de color más amarillo pero con las mismas estrías para entonces soltarse en forma de una falda móvil los siguientes 3 cm; con el tiempo y maltrato esta falda totalmente libre se va adhiriendo al estípite en forma de cinta adhesiva a veces con el margen envuelto en sí mismo, solo un poco suelto en el margen que se vuelve más oscuro.

Después el estípite se desarrolla longitudinalmente por lo que el píleo se libera del velo universal que queda en forma de una volva sacciforme lobular limbada que va de 5 a 9 cm de alto es de color blanco, es membranosa, de 8mm de grosor en la base (que es la parte más gruesa) haciéndose más delgada hacia el margen (Figura 7).

Las esporas son ampliamente elipsoides (

Figura 8) con las siguientes medidas: (5.46) 6.11– 8.63 (9.84) × (4.23)4.79 – 6.9 (7.7)
 $Q^* = 1.30$ 207/4/1

Trama divergente, subhimenio de 2-3 capas de células infladas. Pleurocistitidios de tipo Leptocistidios, con diferentes ápices: mucronado, napiforme, rostrado y claviforme de 21.3 a 27.3 um de largo. Basidios clavados con dos esterigmata 23.3-27 um X 7-10um (Figura 9).

Tipo: Deloya-Olvera 52/ designado en este trabajo —México. Oaxaca: Santa María Tlahuitoltepec, elevación: 2283 m., coordenadas 17°6'27.1" N -96°3'57.9" O, bosque de *Quercus obtusata*, 20 de Agosto de 2015, Holotipo: MEXU28341!

Isotipo: Deloya-Olvera 50/ designado en este trabajo —México. Oaxaca: Santa María Tlahuitoltepec, elevación: 2283 m., coordenadas 17°6'27.1" N -96°3'57.9" O, bosque de *Quercus obtusata*, 20 de Agosto de 2015, MEXU28342!

Paratipo: Deloya-Olvera 54/ designado en este trabajo —México. Oaxaca: Santa María Tlahuitoltepec, elevación: 2461 m., coordenadas 17°6'43.4" N -96°3'34.5" O, bosque de *Quercus obtusata*, 20 de Agosto de 2015, MEXU28343!

Paratipo: Deloya-Olvera 55/ designado en este trabajo —México. Oaxaca: Santa María Tlahuitoltepec, elevación: 2261 m., coordenadas 17°7'5.1" N -96°3'20.5" O, bosque de *Quercus obtusata*, 20 de Agosto de 2015, MEXU28345!

Tabla 3. Características morfológicas de las especies más similares a *Amanita ayuukjaay*.

	<i>Amanita ayuukjaay</i>	<i>Amanita hayalyuy</i>	<i>Amanita garabitoana</i>	<i>Amanita basii</i>	<i>Amanita cochiseana</i>
Color del Píleo	El centro es de color ocre-anaranjado más intenso en el umbo, aproximadamente 1/3 del radio, difuminándose a color amarillo claro brillante con tonalidades verde oliva hacia el margen.	Típicamente café-dorado o amarillo brillante-marrón cuando es visto de lejos amarillo brillante marrón pero en realidad marrón oscuro (a veces de color verde oliva o rojizo) en el disco.	Anaranjado-café (e.g. 55C6-7) a amarillo oliváceo o amarillento café (4B-C7) a moreno oliváceo (mas anaranjado que 4B8) a amarillo anaranjado (4A6), obscuro sobre el disco (eg. , oliva café (mas oliváceo que 5D7-8) a anaranjado-café (6C8) a rojo-café (6E6-7, 10F5)) , muchas veces con una zona oscura	en general más rojo y más marrón sobre el disco y más amarillo sobre el margen rojizo anaranjado a café-anaranjado en “botones” (e.g., 8E6 sobre el disco con 7D7 en el margen o 7A7 sobre el disco con 6A8 en el margen), con el margen anaranjado-amarillo a pálido anaranjado -amarillo a amarillo-anaranjado a anaranjado (4A3, 5A6, 5C6) o rojizo anaranjado (7B5), a veces con manchas pálidas dispersas, con el disco a veces amarillento-anaranjado a anaranjado (5A3-4, 6A6-7) a rojizo-café (7E6) con desvanecimiento del color por la	Anaranjado pálido al principio, rápidamente anaranjado-ocre a pálido anaranjado en el centro del píleo y anaranjado-café en la orilla, esta región es decolorada (excepto en el margen que es amarillo brillante-anaranjado a amarillo brillante), con manchas anaranjado y café desapareciendo con la exposición, y se convierte a intensamente amarillo excepto para la región decolorada en el centro (finalmente un remanente que se convierte casi blanco). La piel del píleo a menudo es de color anaranjado rojo brillante a rojo en sección transversal Incluso justo debajo de una porción descolorida de la superficie del píleo.

		Más brillante en la porción media y más pálido hacia el margen	marrón a castaño en el interior terminal de las estriaciones marginales, seco es café oscuro	luz solar pareciéndose a cochiseana, a veces se convierte en café por el contacto con las manos.	
Tamaño del píleo	de 5–25cm	8–18 (25) cm	60– 212 mm de ancho	65 – 170 mm	60 – 150 mm
Forma del píleo	cónico-campanulado a aplanado con el centro umbonado y en ocasiones con la madurez y deshidratación ambiental el centro se deprime ligeramente	Convexo a ampliamente convexo y plano	Campanulado a fuertemente convexo a convexo a plano convexo con el disco ligeramente deprimido, con un gran amplio umbo subcónico.	Hemisférico al principio, después convexo o subcónico, finalmente planoconvexo, ocasionalmente delgado umbonado al madurar	Convexo a ampliamente convexo con el margen incurvado, a casi plano, no umbonado

	manteniendo el umbo				
Longitud del estriado del margen respecto al radio (R)	0.25R	0.25 R	(0.15R) 0.5R– 0.75R	(0.1R–0.15R)	(0.1–0.2R)
Ornamentación del estípite	Restos del velo parcial siguiendo un patrón determinado , de color amarillo-anaranjado a ocre que con el maltrato se torna más obscura (ocre-rojiza), esta capa es	decorado debajo del anillo con una capa fibrilosa marrón-anaranjado obscuro a ligeramente rojizo que se rompe formando zonas escamosas en forma de	Decorado con escamas secas flocoso-fibrilosas de color ocráceo a café pálido a ligeramente anaranjado-café (5C5) a amarillo (2A3-4) se vuelven más oscuras o más anaranjadas con el contacto) abajo	con fibras flocosas a feltrosas a parches membranosos del limbo interno distribuidas sobre la superficie y debajo del velo parcial, con estos parches se vuelve más intensamente anaranjado y con la edad se oscurece en la superficie	La superficie del estípite es decorada con , escamas a menudo bastante delgadas filetro/flocosas amarillo pálido, y (algunas con tintes anaranjados), con un color de tierra que se desvanece con la edad, débilmente y finamente estriado bajo el anillo aparentando un anillo secundario , y finamente pruinoso arriba del anillo

	muy delgada y frágil al contacto después colapsa o enrolla en sí misma para después caer	zigzag , , estas zonas se decoloran con la edad con el maltrato se vuelve más pálido y café	del velo parcial ligeramente fibrilosa o finamente estriatulada.		
Tamaño del estípite	300 mm × 20 –20.5 mm	150–300 mm × 10 –15 (20) mm	95 –258 × 15 –24 mm	60 –150 × 16 –30 mm	de 60– 120 × 10–25 mm
Forma de las esporas	Hialinas, ampliamente elipsoides , lisas, apiculadas	elipsoide , apiculada, lisa	Hialinas, ampliamente elipsoides a elipsoides, raramente elongadas , lisas, apiculadas	Hialinas, elipsoides a elongadas , lisas, apiculadas	Lisas, de ampliamente elipsoides a elipsoides, raramente subglobosas, ocasionalmente elongadas , A menudo aplastados adaxialmente, a veces hinchadas en un extremo; Apiculus sublateral, cilíndrico a truncado-cónico, corto.

Tamaño de las esporas	(5.46)6.11–8.63(9.84) × (4.23)4.79–6.9(7.7) Q'=1.30 n=207/4/1	8.6)9.3 – 11.7(14) × 6.2–7.8 (9.3) Q'=1.42 (1.29–1.69) n=30	(8.3)8.7–10.0 (10.3) × (6.6) 6.9–7.7 (7.8) μm Q' = 1.29	9.7–11.3 μm × 6.6–7.1 (7.2) μm Q'=1.54	(8.2)9.0–11.9 (13.6) × (6.0) 6.8–8.1(9.4) μm
Basidios	Clavados con dos esterigmata 23.3–27 um × 7–10um	clavados, la mayoría con cuatro esterigmata, la base con fíbulas	No data	43–58 × 9.0–12.1, 4 esterigmata, de 3.5 × 2.0 μm; fíbulas comunes	33–62 × 8.0 – 11.6 μm, pared delgada, 4 esterigmata, fíbulas presentes
Capas y Tipo de subhimenio	Células infladas de 1 – 3 capas de células	Células infladas 1–2 capas de células	Pseudoparenquimatoso o dominado por células infladas 1–3 capas de células	Elementos inflados de 3 o más capas de células	No pseudoparenquimatoso (no comprende solo células infladas)
Vegetación	En bosque dominado por <i>Quercus obtusata</i>	En bosques con roble (<i>Quercus</i>)	En asociación con roble	En bosques de <i>Pinus</i> , de <i>Pinus-Alnus</i> o en <i>Abies-Pinus</i> , sobre arenas arcillosas volcánicas o en bosques dominados por <i>Quercus</i> spp., <i>Pinus</i>	Crece en bosques que contienen una o más especies de árboles de los siguientes géneros: Abeto (<i>Abies</i>), roble (<i>Quercus</i>), y pino (<i>Pinus</i>).

				<i>patula</i> , <i>Abies religiosa</i> , <i>Baccharis conferta</i> , and <i>Arbutus xalapensis</i> nus	
--	--	--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

*Las características diagnosticas de la especie descrita están en letra negrita.

Tabla 4. Identificación de las morfoespecies por su afinidad filogenética en GenBank

<i>A. ayuukjaay</i>	<i>E</i>	% Id	%	Coincidencias en NCBI	GenBank
Query					
cover					
A1	0	93	99	<i>A. calyptroderma</i>	KT87494.1
A1	0	93	99	<i>A. cochiseana</i>	KP866196.1
A1	0	93	93	<i>A. hayalyuy</i>	JX844712.1
A1	0.	92	93	<i>A. arkansana</i>	JX844675.1
A1	0	93	92	<i>A. garabitoana</i>	JX844710.1
A5	0	89	94	<i>A. calyptroderma</i>	KT974942.1
A5	0	89	94	<i>A. cochiseana</i>	KP866196.1
A5	7.00E-178	90	87	<i>A. hayalyuy</i>	JX844712.1
A5	2e-173	88	93	<i>A. arkansana</i>	JX844674.1
A5	2e-163	93	87	<i>A. garabitoana</i>	JX844710.1
A4	0	96	92	<i>A. calyptroderma</i>	KT874942.1
A4	0	97	96	<i>A. cochiseana</i>	KP866196.1
A4	0	97	91	<i>A. hayalyuy</i>	JX844712.1
A4	0	98	88	<i>A. arkansana</i>	JX844674.1
A4	0	96	91	<i>A. garabitoana</i>	JX844710.1
A3	0	89	98	<i>A. calyptroderma</i>	KT87494.1
A3	0	89	99	<i>A. cochiseana</i>	KP866196.1
A3	0	89	91	<i>A. hayalyuy</i>	JX844712.1
A3	0	91	88	<i>A. arkansana</i>	JX844674.1
A3	0	91	88	<i>A. garabitoana</i>	JX844710.1

E: probabilidad de error en la identificación. % Id: porcentaje de similitud nucleotídica entre las secuencias. % Query cover: porcentaje de cobertura de las consultas. GenBank: número de acceso de las secuencias similares en GenBank.



Figura 7. Esporoma *Amanita ayuukjaay*. A1). Ejemplar A4 recién cortado. B) Ejemplar A4. Detalle de anillo. C) Ejemplar A1. Detalle de láminas. D) Píleo ejemplar A4. E) Fotografía taxonómica ejemplar A5. F) Ejemplar A1 en campo. H) Ejemplar A5 en campo.

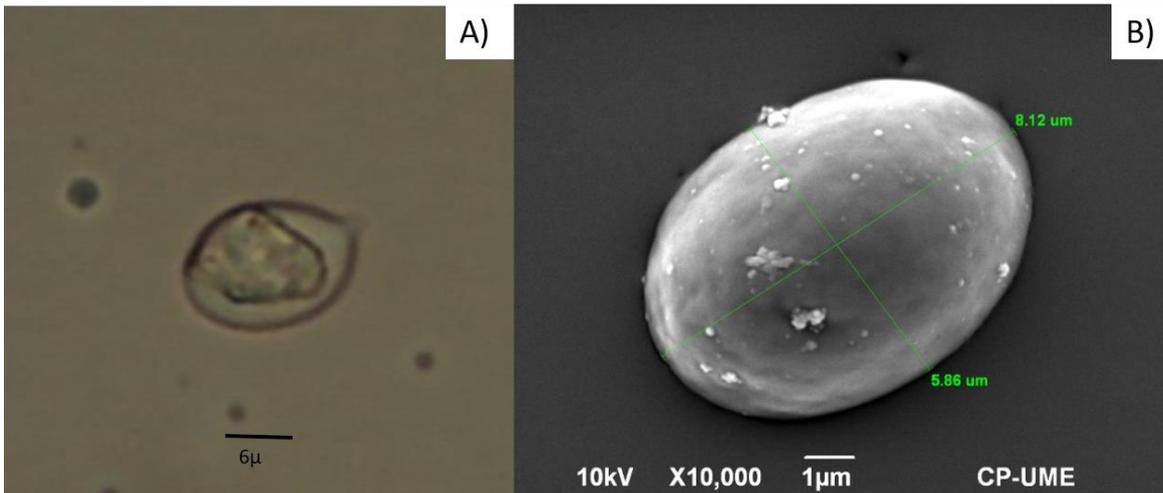


Figura 8. Espora de *Amanita ayuukjaay*. A) Microscopía óptica de Basidiospora en Melzer. B) Basidiospora en microscopía electrónica de barrido con medidas.

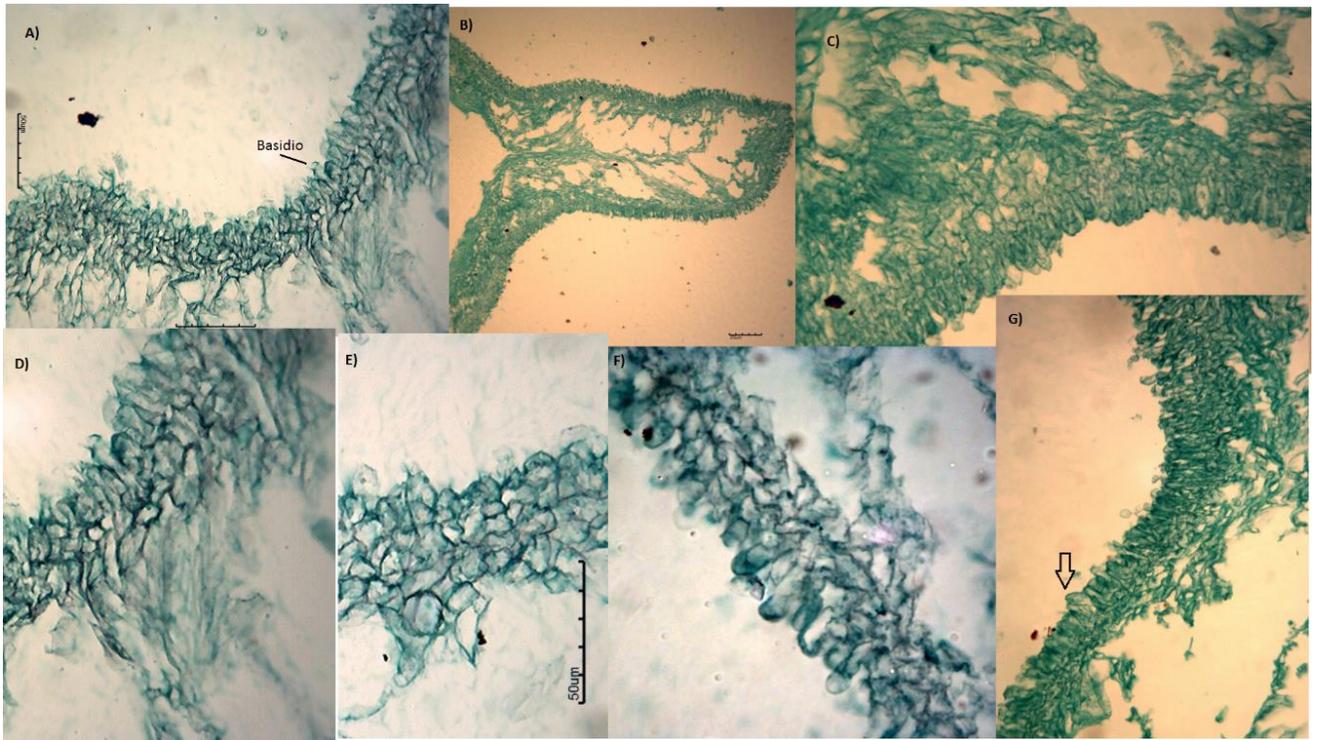


Figura 9. Cortes laminares de *Amanita ayuukjaay*. A) Cistidios y basidio (señalado). B) Trama divergente. C) Pleurocistidios. D) Acercamiento de basidio. E) Acercamiento de basidio y subhimenio. F) Acercamiento de pleurocistidios claviformes. G) Pleurocistidios (napiforme señalado).

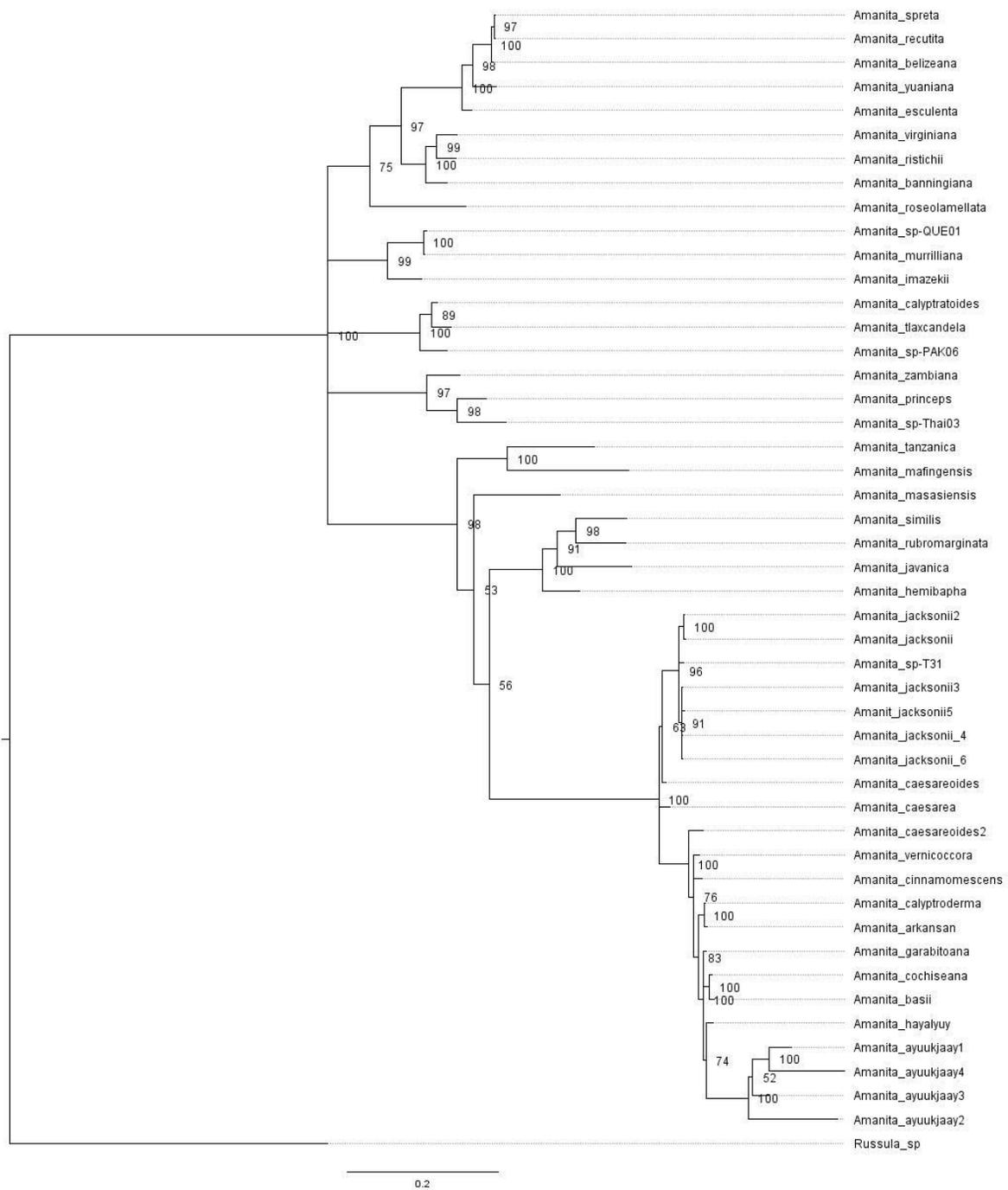


Figura 10. Árbol filogenético del género *Amanita*. *Amanita ayuukjaay* 1, 2, 3 y 4 (ejemplares recolectados en el presente estudio).

Discusión

La especie descrita en este trabajo es muy parecida morfológicamente a *A. hayalyuy* reportada para el estado de Chiapas, es la especie más relacionada filogenéticamente y morfológicamente; sin embargo presenta similitud molecular de 89 a 93%, suficiente para determinarla como una especie diferente, además *A. hayalyuy* tiene esporas más pequeñas (Figura 11) y la ornamentación del estípote es diferente ya que aunque presenta ornamentación escamosa con un patrón determinado, no sigue el claro patrón en zigzag de *A. hayalyuy*. Además de ligeras diferencias en el color del píleo y grosor del estípote. Esta especie podría ser una especie incipiente críptica en la cual la reducción del tamaño de sus esporas puede ser una adaptación local de la especie (Tullos 2005).

Otra de las especies emparentadas filogenéticamente es *A. garabitoana* Tulloss, Halling & G.M. Muell (2011: 169) que ha sido recolectada en regiones de América central como Costa Rica (Tullos *et al.* 2011), la cual a pesar de la relación filogenética, muestra características morfológicas muy distintas a la especie descrita, como color del píleo, tipo de umbo, longitud del estriado del margen del píleo así como también el tamaño de las esporas (Figura 11).

La especie descrita también se relaciona filogenéticamente con *A. basii* Guzmán & Ramírez-Guillen (2001:11) sin embargo esta presenta esporas más grandes, el píleo es más rojo y menos grande en cuanto a diámetro y altura del estípote y la proporción del estriado del margen es menor.

En cuanto a su relación con *A. cochiseana nom. prov.*, la diferencia más grande es que esta no presenta umbo, además del tamaño del anillo y la presencia de estrías debajo del anillo que aparentan un anillo secundario, características ausentes en la especie aquí descrita.

MANUAL SPOROGRAPH

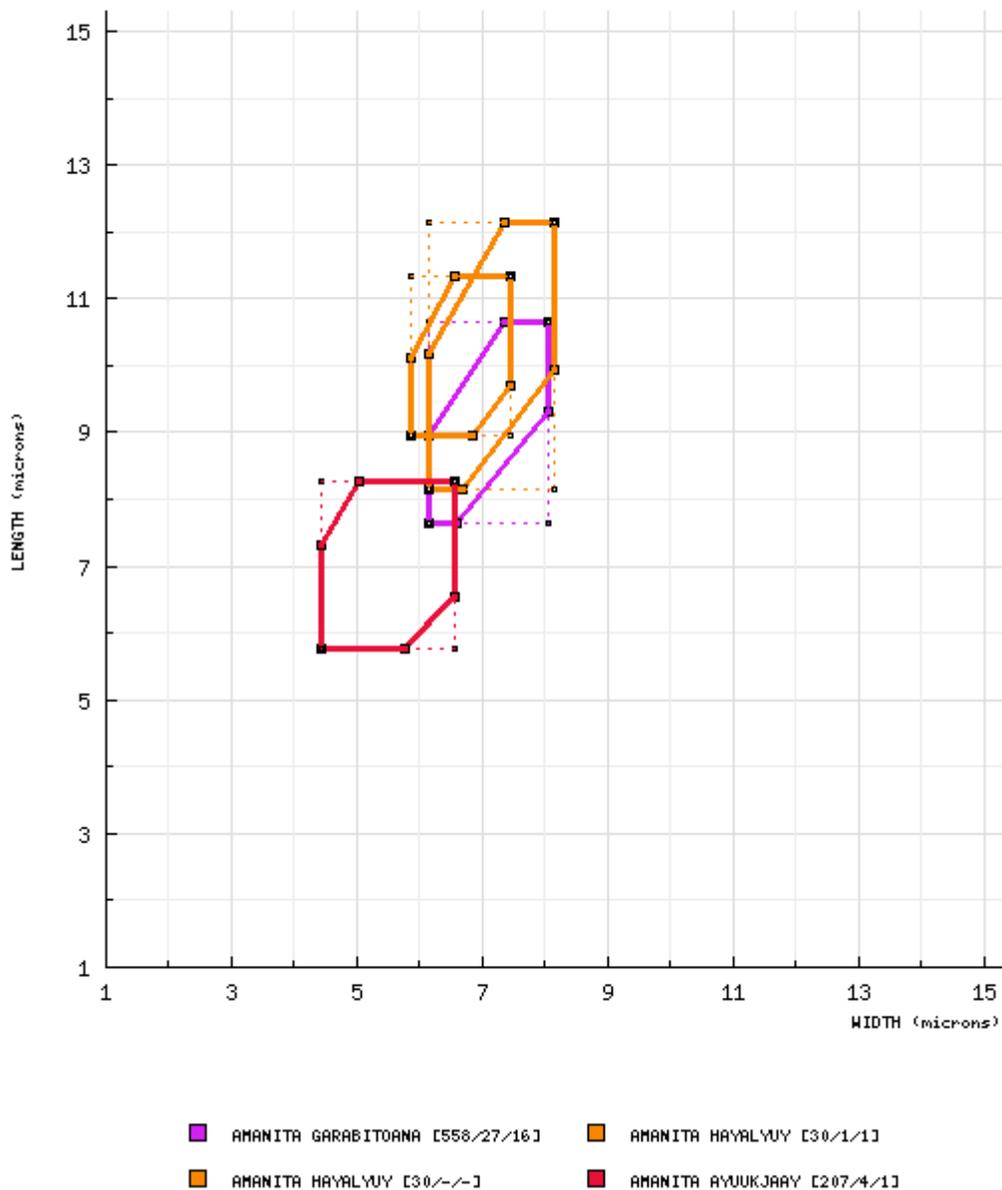


Figura 11. Comparación de las medidas de las esporas entre la especie descrita y la especie más cercana, filogenética y macroscópicamente *A. hayalyuy* y *A. garabitoana*. Realizado con la herramienta de esporografo de Tullos (2017).

Se reporta una nueva especie comestible para el género *Amanita* y el primer registro de su uso por el grupo étnico Mixe; argumentado por el testimonio de 30 pobladores, desde niños

hasta ancianos, en una comunidad de 199 habitantes. Los pobladores aseguran que esta tradición culinaria ha sido heredada generación tras generación, en la cual el hongo es asado en las brasas del comal y posteriormente se le agrega limón y sal para saborearse como un platillo especial. Este hongo es llamado en mixe pu'jts pa'uunk refiriéndose sólo a los hongos del género *Amanita* de color amarillo (Figura 12).



Figura 12. Uso de *Amanita ayuukjaay* en grupo étnico Mixe.

Por otro lado, a pesar de la basta cantidad de hongos presentes en las zonas boscosas y tropicales del país, al igual que otros grupos étnicos como los mayas (Shepard 2008), el grupo Mixe parece enfocar su atención a ciertas especies destacadas por su utilidad y disponibilidad, haciendo énfasis en que este conocimiento ha sido heredado generación tras generación existiendo nombres específicos en su idioma para estos hongos.

Los miembros de la sección *Caesareae* en México han sido reportados en bosques de *Abies* Mill, *Quercus* L. y *Pinus* L. (Pérez-Silva, 1981; Guzmán & Ramírez-Guillén, 2001). Los ejemplares examinados en este trabajo fueron recolectados exclusivamente en bosques dominados por *Quercus obtusata*.

Conclusiones

- Se describe e ilustra una nueva especie Neotropical del género *Amanita*, perteneciente a la sección *Caesareae*, basada en macro y micromorfología de esporomas, biología molecular y filogenia.
- La especie nueva de *Amanita* tiene importancia biocultural en el grupo *Ayuuk jä'äy* como alimento.
- La especie descrita en el presente trabajo incrementa a 10 los taxa Neotropicales dentro de los 89 registrados en la sección *Caesareae* del género *Amanita* conocidas actualmente.
- Las nuevas especies descritas fueron recolectadas exclusivamente a altitudes de 2260 a 2750 m. en bosques de *Quercus obtusata*.
- El presente estudio contribuye a documentar el conocimiento tradicional del grupo *Ayuuk jä'äy*, el cual ha sido conservado durante siglos y actualmente está sujeto a una erosión cultural acelerada, como nunca antes vista.

Literatura citada

- Barros van Hövell tot Westerflinter, A. (2006). Cien años de guerras mixtas: territorialidades prehispánicas, expansión burocrática y zapotecización en el Istmo de Tehuantepec durante el siglo XVI. *Historia Mexicana* 57(2), 1131-1133
- Bas, C. (1977) Species concepts in *Amanita* section *Vaginatae*. In: Clémence H. (Ed.) *The species concept in Hymenomycetes*. Bibl. Mycol. 61, J.Cramer, Vaduz, Liechtenstein. 79-91 pp.
- Boa, E. (2004) *Wild Edible Fungi. A Global Overview of Their Use and Importance to People*. Non wood Forest Products Series no. 17. Rome: FAO. 147 pp.
- Bonpland & Humboldt (1809) *Plantae aequinoctiales part 10*. Botanical garden. París. 26 p.
- Buller, A.H.R. (1914) The fungus lore of the Greeks and Romans. *Transactions of the British Mycological Society* 5: 21-66.
- CONEVAL. *Informe Anual Sobre La Situación de Pobreza y Rezago Social*. (2010). SEDESOL. Available from: <https://>

- [//www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/48630/Oaxaca_437.pdf](http://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/48630/Oaxaca_437.pdf). (Accesed: 18/08/2017).
- Guzmán, G. & Ramírez-Guillén, F. 2001. *The Amanita caesarea-complex*. Bibliotheca Mycologica: 187, J. Cramer, Berlin. 66 pp.
- Justo, A., Morgenstern, I., Hallen-Adams & H.E., Hibbett, D.S. (2010) Convergent evolution of sequestrate forms of *Amanita* under Mediterranean climate. *Mycologia* 102(3):675-88
- Kiger, C.J. 1959. Etude de la composition chimique et de la valeur alimentairc de 57 espèces de champignons supérieurs. *Revue de Mycologie* 24: 161-170.
- Maxam A. M. & Gilbert W. (1977) A new method for sequencing DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences. 74(2):560-564
- Nylander, J.A.A. (2004) MrModeltest v2. Program Distributed by the Author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Pérez-Moreno, J. & Martínez-Reyes, M. (2014) Edible Ectomycorrhizal Mushrooms: Biofactories for Sustainable Development. In: Guevara-Gonzalez R. & Torres-Pacheco I. (Eds.) *Biosystems Engineering: Biofactories for Food Production in the Century XXI*. Springer International Publishing Switzerland 151-233 pp.
- Persoon, C.H. (1797). *Tentamen Dispositionis Methodicae Fungorum in Classes, Ordines, Genera et Familias cum Supplemento Adjecto*. i-iv, 1-76, plates 1-4. Leipzig; Petrum Philippum Wolf.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Shepard, Jr. G., Arora, D. & Lampman, A. (2008) The Grace of the Flood: Classification and Use of Wild Mushrooms among the highland Maya of Chiapas. *Economic Botany* 20 (10): 1–34
- Torres-Cisneros, G. (2004) Mixes in: *Pueblos indígenas del México contemporáneo*. Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. D.F.
- Tulloss, R.E. (2005) *Amanita*-distribution in the Americas, with comparison to eastern and southern Asia and notes on spore character variation with latitude and ecology. *Mycotaxon* 93:189–231.

- Tulloss, R.E. (2009) *Studies in the Amanitaceae* (Ed. R.E. Tulloss). Available from: <http://www.amanitaceae.org/?Home> (Accesed: 30 de Marzo del 2011).
- Tulloss, R.E. & Yang, Z.L. (2017). *Amanitaceae* studies. Available from: <http://www.amanitaceae.org?Welcome>. (Accessed April 18, 2017).
- Tulloss, R.E., Halling, R.E., Mueller, G.M. (2011) *Studies in Amanita (Amanitaceae) of Central America. 1. Three new species from Costa Rica and Honduras. Mycotaxon* 117:165–205.
- Weiβ, M., Yang, Z.-L. & Oberwinker, F. (1998) Molecular phylogenetic studies in the genus *Amanita*. *Canadian Journal of Botany*. 76(7): 1170-1179.
- Zhang, L., Yang, J. & Yang, Z. (2004) Molecular phylogeny of Eastern Asian species of *Amanita* (Agariacales, Basidiomycota): taxonomic and biogeographic implications. *Fungal Diversity* 17: 219-23

Capítulo V

El uso ceremonial de los hongos en una comunidad Mazateca del estado de Oaxaca

Resumen

El uso ceremonial de los hongos en México ha sido registrado desde tiempos prehispánicos. En la década de 1950 este conocimiento fue redescubierto y registrado por la ciencia. Dichos estudios fueron realizados en el municipio Mazateco de Huautla de Jiménez sin embargo la región mazateca se compone de 20 municipios. El objetivo del presente trabajo fue identificar si en el municipio mazateco de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón se realizan ceremonias con hongos así como describir la manera en que se realizan dichas ceremonias en el presente año 2017. Se realizaron entrevistas a los pobladores oriundos de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón sobre el uso ceremonial de los hongos, se consiguieron los hongos reportados por los pobladores y se registró la forma en que esta ceremonia es realizada. Así mismo las especies reportadas fueron identificadas taxonómicamente mediante técnicas moleculares. Se hace el reporte de tres especies del género *Psilocybe* y un estudio de caso describiendo la forma de la ceremonia con hongos realizada en el municipio de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón, en la que se registra por primera vez el uso del Temazcal como parte importante de la ceremonia.

Introducción

El uso de los hongos psicotrópicos en México ha sido registrado en diversos códices, siendo Sahagun (1530) el primero en citarlos como teonanacatl (Guzmán 2011). Posteriormente en 1939 Schultes, con ayuda de Reko, realizó el primer trabajo científico sobre los hongos sagrados de los mazatecos en donde los relaciona con el teonanacatl de los aztecas mencionado por Sahagún. En 1941 en la Universidad de Harvard, Singer identifica taxonómicamente al San Isidro de los mazatecos como *Psilocybe cubensis* (Earle) Singer (1948:37) (Guzmán, 2014); por otro lado los esposos Wasson estudiaron la importancia

social de los hongos en las comunidades del mundo por lo que con el artículo de Schultes se motivaron a visitar México en búsqueda de los hongos mazatecos, siendo hasta 1955 cuando conocen a María Sabina, los hongos y la forma de usarlos; para finalmente publicar en 1957 su trabajo sobre las experiencias con los hongos incluyendo a los mexicanos en el capítulo Teonanacatl. En el mismo año Gordon Wasson publicó un artículo de divulgación sobre este mismo tema y lo popularizó entre médicos, científicos y población general de Estados Unidos y Europa generando visitas de turistas y laboratorios en búsqueda de los psicotrópicos.

En 1958 Singer & Smith publicaron una monografía sobre las especies alucinógenas del género *Psilocybe* incluyendo a 20 de las cuales 6 están presentes en EUA, 1 en Canadá, 5 en centro, Sudamérica y el caribe, 1 en Europa, 1 en África y 7 de México (4 presentes en Huautla de Jiménez) (Guzmán, 2014). A partir de 1958 inician las publicaciones de investigadores Mexicanos (Palacios, 1958; Guzmán 1959; Heim & Herrera 1960; Herrera 1967) sin embargo es hasta 1968, con la creación de la Sociedad Mexicana de Micología, que se da un auge de los investigadores nacionales dedicados al estudio de los macromicetos, en donde Guzmán y Herrera fueron los pioneros y los que siguieron con los estudios sobre el género *Psilocybe*.

En el año 2014, Guzmán realizó un análisis de los conocimientos sagrados entre los mazatecos después de 54 años de haber tenido su primer acercamiento a esta cultura; en dicho trabajo relata cómo fue su experiencia inicial en 1957, así como la historia sobre el redescubrimiento de los hongos neurotrópicos y lo compara con su última visita en 2012 y 2013 relatando un panorama de aculturación propio de la modernidad; sin embargo el uso de los hongos se sigue presentando hasta nuestros días en el municipio Mazateco de Huautla de Jiménez en donde surgió la historia de los hongos sagrados. Por otro lado la región mazateca y sus pobladores abarcan 20 municipios a parte de Huautla de Jiménez por lo que en este trabajo se realizó un acercamiento al municipio Mazateco de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón el cual se encuentra colindando por la parte sur con el municipio de Huautla de Jiménez con el fin de conocer y relatar la forma de uso que le dan a los hongos del género *Psilocybe*.

Materiales y métodos

Trabajo de campo

Se realizó una visita al municipio de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón durante una semana del mes de Junio de 2016 a fin de conocer la comunidad y hacer un primer acercamiento a los pobladores. En esta visita se contó con el apoyo de una familia nativa del municipio y se realizaron entrevistas libres a los pobladores locales sobre la manera en que usan los hongos, básicamente siguiendo las siguientes preguntas: ¿Quién los usa? ¿Para qué? ¿En qué forma son usados? Tras varios días de investigación e insistencia, los pobladores fueron revelando la información que indicó que la ingesta de la medicina de los hongos se hace siguiendo una ceremonia y con la presencia de alguien con experiencia en el uso de los hongos y que generalmente el paciente es quien consigue los hongos, sin embargo aún no habían caído las lluvias esperadas por lo que en ese mes no se encontraron esporomas.

Posteriormente en el mes de Septiembre se realizó otra visita de una semana a la comunidad. Esta vez la visita fue más dirigida ya que la información teórica se había conseguido durante la visita anterior conociendo a una usadora de los hongos quien indicó que por su avanzada edad ella ya no recolectaba los hongos. Conforme a los resultados de la primera visita, se llegó a la conclusión que para observar directamente la ceremonia se tenía que conseguir los hongos.

De este modo, al no conocer bien los sitios en donde crecen los hongos, se decidió comprarlos en el municipio de Huautla de Jiménez, lugar en el que los pobladores de San Antonio Eloxochitlán reportaron conseguirlos cuando no es posible ir al campo. En este lugar se consiguieron ejemplares llamados San isidro, Pajarito y Derrumbe o De caña. Una vez que los hongos fueron comprados nos dirigimos nuevamente a la casa de la curandera solicitándole su guía en la ceremonia, entonces tras insistir y mostrarle los hongos, ella aceptó y procedió a mencionar lo necesario.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) campus Zacatenco; a partir de una porción de un cm de píleo e himenio de un representante de cada nombre común. El tejido fue congelado en nitrógeno líquido y después macerado en el equipo TissueLyser LT en ciclos de 3 min. La extracción se realizó utilizando el kit PowerSoil® DNA Isolation Kit, se corrieron geles de agarosa a 1% para verificar la calidad del ADN. Los fragmentos de ADN ITS se obtuvieron por PCR utilizando la siguiente mezcla de reacción con los reactivos de TaKaRa Ex Taq™: 2 µl de buffer, 2.0 de dNTPs y 0.06µl de Ex Taq, 0.4 µl de los oligos ITS4 e ITS5 10µM, 100ng de ADN y H₂O para completar 20µl. Una vez confirmada la amplificación en geles de agarosa, se midió la concentración en el NanoDrop™ 2000/2000c y se secuenció por el método de Maxam y Gilbert (1977) en la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala de la UNAM.

Resultados

Los resultados del análisis bioinformático revelaron que taxonómicamente el hongo llamado San isidro es *Pisilocybe cubensis* Singer (1948:37) o *Dikitjan en mazateco*, el Pajarito es *P. zapotecorum* R. Heim (1957: 399) o *Dinize* en mazateco y el Derrumbe o de Caña es *P. caerulescens* Murril (1923: 20) llamado *Dichito kishoo* en mazateco (Figura 13). Los nombres en mazateco fueron reportados por la usadora de hongos del municipio de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón.



Figura 13. Hongos utilizados por el grupo étnico Mazateco. A) *Psilocybe cubensis*. B) *P. caerulescens*. C) *P. zapotecorum*.

Tras entrevistar personalmente a diversos pobladores, al menos 20 personas de 7-70 años mencionaron haber usado los hongos o conocer a alguien que los había usado o usa para sanar enfermedades de diversa índole ya sean físicas pero sobre todo emocionales, reportan que los usan en caso de enfermedades o malestares en los que no se puede o no se encuentra la cura con los médicos alópatas. Se necesita una persona curandera (ya sea hombre o mujer) que tenga experiencia de años usando los hongos, esta persona puede o no comer también algunos hongos durante la ceremonia; tanto las personas que ya habían usado los hongos como la curandera entrevistada reportaron que la curación con hongos se da de la siguiente forma:

De preferencia un mes antes de la medicina el paciente debe empezar a comer sólo en su casa, al menos una semana antes debe evitar tener relaciones sexuales, comer “cosas negras” y aceptar invitaciones a comer en otros lugares o comida de otras personas. Durante el día de la medicina sólo se desayuna bien y posteriormente no se consume ningún tipo de alimento ni bebidas pesadas, no se puede estar bajo el efecto de ninguna droga ilegal o legal y se evita mencionar a la gente la posesión y el uso de los hongos.

La ceremonia inicia al anochecer en donde frente a un altar con imágenes católicas, biblia, flores, agua bendita, agua para tomar especial para el paciente, cirio, sahumero con copal y hojas de liquidámbar; el paciente se sienta y se inicia con una reflexión sobre los actos buenos y malos y se reza un Yo confieso, se persignan y se hace una invocación/encargo del paciente a el Señor en Mazateco mezclado con un poco de español, se sahúman los hongos y se le dan al paciente; la cantidad depende de la energía del paciente. Mientras el paciente consume los hongos se hace un canto católico de entrada y se espera en la obscuridad, con el cirio y sahumero prendidos, a que pase el tiempo e inicie el efecto de la medicina; entonces la curandera indica que cuando la luz brille es la señal de que el Señor se está abriendo, dándonos permiso para entrar en él y es entonces cuando hay que tener más presente la intención del porque se tomó la medicina, que es la enfermedad que se quiere sanar, siempre enfocándose en la luz de la llama. Mientras inicia el tiempo de la medicina se hacen rezos de repente o se platica un poco. Cuando empieza a hacer efecto la medicina se ramea todo el

cuerpo del paciente con un ramo de hojas de *Liquidambar*, se le pide que haga respiraciones profundas y se inician los cantos en mazateco intercalados con Padres Nuestros y Ave Marías, de repente preguntando al paciente como se siente e indicándole que el mismo se limpie con las ramas en donde lo sienta necesario o se apriete con las manos y las ramas y expulsando una exhalación profunda; cada tanto hay cantos en mazateco y se pide al paciente que se estire de todas partes, las manos y los pies.

Al pasar la noche puede ser que al paciente le den ganas de vomitar (aliviar) o escupir por lo que es necesario tener a la mano un balde y papel y se le da el agua exclusiva para que se lave o beba y se sahúma. Así pasa la velada entre cantos y rezos tanto en español como mazateco, rameando al paciente y él mismo haciéndolo en las partes que necesite, estirándose o haciendo lo que considere necesario sin perder de vista la luz del cirio, no es recomendable dejar que el paciente se acueste porque se puede olvidar el objetivo de sanación dando el poder a cualquier energía o distracción que se presente.

Cuando el efecto de la medicina ha pasado lo suficiente para que el paciente concilie el sueño se retira a su habitación en donde hay preparado algún alimento caliente como atole o arroz con leche para que en el momento que desee comer se lo pueda servir él mismo. Se deja dormir al paciente el tiempo necesario y al otro día alrededor de medio día se prende el temazcal (Figura 14) para que el paciente se dé un baño rameándose con hojas de liquidámbar, este temazcal es para que el paciente se vaya cerrando energéticamente ya que con los hongos se abre y queda expuesto por lo que es necesario resguardarse en el hogar para irse cerrando. Al salir del temazcal el paciente se cubre muy bien y se acuesta cubierto por cobijas a fin de mantener el calor, se bebe alguna bebida caliente y reposa. Posteriormente ya que ha pasado tiempo de reposo el paciente puede comer o bañarse pero con agua caliente y evitar mojarse o exponerse al frío (no se debe lavar trastes o ropa, mojarse en la lluvia o río, etc.).

Es recomendable dejar pasar de tres a cinco días para viajar o salir a realizar actividades cotidianas pero de no ser posible mínimo un día y al salir tratar de exponerse lo menos posible a situaciones ruidosas o impactantes tratando de estar el mayor tiempo posible en un lugar

tranquilo. Así como evitar tener relaciones sexuales e ingerir medicinas o dogas durante al menos una semana más.

Durante la ceremonia se da la sanación física o emocional o se conoce lo que se necesita saber para sanar; y entre el paciente y el o la curandera se habla sobre la experiencia a fin de programar el tratamiento a seguir.



Figura 14. Uso del temazcal por la comunidad mazateca de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón, después de la ceremonia de sanación con hongos.

Discusión

En 1958 Singer encontró *P. cubensis*, *P. zapotecorum* y *P. caerulescens*, las mismas especies registradas en el presente trabajo casi 60 años después. En el presente trabajo se observó el uso que los mazatecos le dan a los hongos del género *Psilocybe* al igual que los trabajos de Guzmán (1959, 2011 y 2014) sin embargo la zona de estudio fue otro municipio el cual no es tan popular como Huautla de Jiménez, la ceremonia relatada por Guzmán es similar a la descrita en el presente, sin embargo en esta el acostarse deja que el paciente olvide su objetivo de sanación y le da el poder a demás energías por lo que esta postura se debe evitar. Además de que el uso del temazcal no había sido reportado, siendo este muy común en la mayoría de las casas de familias mazatecas del municipio de San Antonio Eloxochitlán y al parecer es

un paso importante de cierre del trabajo de sanación con hongos, además de que también es usado para otros fines en esta comunidad.

Guzmán (2014) reporta la aculturación del pueblo mazateco de Huautla de Jiménez, sufrida en 54 años. Esta perspectiva es compartida por los pobladores mazatecos del municipio de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón acerca de los pobladores de Huautla de Jiménez. En este municipio es difícil conseguir información sobre la sanación con hongos y al conseguirla se hace hincapié en el respeto y claridad del objetivo de la ceremonia. El hermetismo mantenido es a fin de mantener el conocimiento de la ceremonia lo más original posible y evitar problemas secundarios. Guzmán (1959) presenta un listado de nombres en mazateco de los hongos utilizados por los indígenas. En el presente trabajo se registran los mismos nombres en mazateco mantenidos casi sesenta años después.

Conclusiones

- Se reporta la descripción de la ceremonia de sanación con hongos en un municipio mazateco diferente a Huautla de Jiménez agregando a la sanación el elemento del temazcal.
- Tanto las especies como los nombres en mazateco se siguen manteniendo igual a casi sesenta años después del primer reporte científico
- El presente estudio contribuye a documentar el conocimiento tradicional del grupo mazateco, el cual ha sido conservado durante siglos y actualmente está sujeto a una erosión cultural acelerada, como nunca antes vista.

Literatura citada

Guzmán, G. (1959) Sinopsis de los conocimientos sobre los hongos alucinógenos mexicanos.

Boletín Sociedad Botánica de México 24: 14-34.

Guzmán G. (2011) El uso tradicional de los hongos sagrados: pasado y presente.

Etnobiología. 9:21

Guzmán G. (2014) Análisis del conocimiento de los hongos sagrados entre los mazatecos después de 54 años. *Etnoecológica*. X (1): 21-36

- Heim, R. & Herrera T. (1960). Nouvelles contributions à la flore mycologique mexicaine. *Revue de Mycologie* 25: 215-223.
- Herrera T. 1967. Consideraciones sobre el efecto de los hongos alucinógenos mexicanos. *Neurología-Neurocirugía-Psiquiatría* 8: 101-124
- Maxam A. M. & Gilbert W. (1977) A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 74(2):560-564
- Palacios M.A. (1958) Alrededor de los hongos alucinantes. *Mixhuntul (Revista de la facultad de ciencias UNAM)*. 1(3): 22-25
- Sahagún, Fray B. de. 1530. Historia de las Cosas de la Nueva España. Ed. Alfa, México, D.F.
- Schultes, R.E. (1939) *Plantae Mexicanae II: The identification of Teonanácatl, a narcotic Basidiomycete of the Aztecs. Botanical Museum Leaflets Harvard University*. 7(3): 37-56.
- Singer, R. y A.H. Smith. 1958. Mycological investigations on Teonanácatl, the Mexican hallucinogenic mushroom II. A taxonomic monograph of *Psilocybe*, section *Caerulescentes*. *Mycologia* 50: 262-303.
- Wasson, V.P. y R.G. Wasson (1957) *Mushrooms, Russia and History*. Pantheon Books, Nueva York.
- Wasson R.G. (1957) En busca del hongo mágico. Disponible en: <http://www.imaginaria.org/wasson/wasson.htm> accessed: 18/08/2017

Capítulo VI

Conclusiones generales

Se efectúa el reporte de tres nuevas especies de importancia biocultural como alimento en la región Mixe del estado de Oaxaca.

Las especies de la región Mixe reportadas en este trabajo crecen exclusivamente en bosques dominados por *Quercus obtusata*, especie nativa de México.

Se contribuye con secuencias genéticas de especies Neotropicales del territorio mexicano.

Se presenta el elemento Temazcal no registrado antes sobre la ceremonia de sanación con hongos en el grupo étnico Mazateco.

Se concluye que para la determinación precisa de una especie es necesario incluir herramientas de microscopía óptica y electrónica, así como análisis moleculares y filogenéticos.



Maldonado-Matus & Deloya-Olvera, 2016