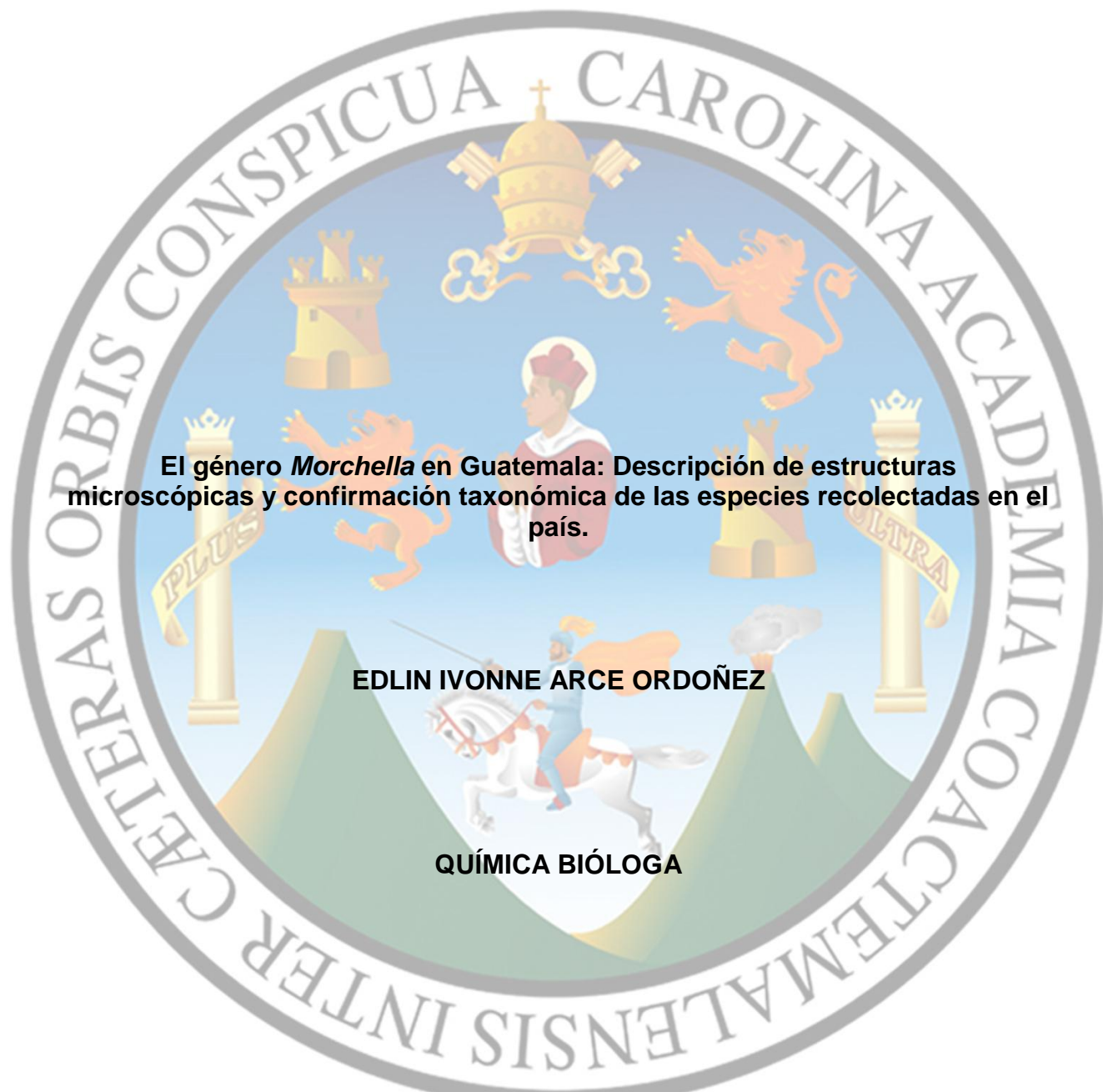


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



El género *Morchella* en Guatemala: Descripción de estructuras microscópicas y confirmación taxonómica de las especies recolectadas en el país.

EDLIN IVONNE ARCE ORDOÑEZ

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, MAYO 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



El género *Morchella* en Guatemala: Descripción de estructuras
microscópicas y confirmación taxonómica de las especies recolectadas en el
país.

Informe de Tesis
Presentado por

EDLIN IVONNE ARCE ORDOÑEZ

Para optar al título de

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, MAYO 2013

JUNTA DIRECTIVA

Oscar C3bar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio G3lvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fayver Manuel de le3n Mayorga	Vocal IV
Br. Maily Graciela C3rdova Aud3n	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:

Por bendecir e iluminar mi vida, por permitirme cumplir este sueño y vivir este momento.

A MIS PADRES:

Angel Arce y Mayra Ordoñez, personas únicas, que con todo su amor, educación, apoyo, esfuerzo y buen ejemplo me ha llevado a ser la persona que soy. Gracias por todo.

A MIS HERMANOS:

Conrado, Ivan, Arlene, Gisselle y Angelito, gracias por todos los buenos momentos, por el cariño, paciencia, y por hacerme la vida más feliz con su compañía.

A MI ABUELITA:

Aura Montoya, por su amor y apoyo incondicional.

A MI SOBRINO:

Sebastián González, para que le pueda brindar un ejemplo de superación.

A MI FAMILIA:

Mis tías, por sus enseñanzas, amor y porque en todo momento me han apoyado. A mis primas, primos y demás familia por su amor fraternal.

A MIS AMIGOS Y AMIGAS:

En especial a Manuel, Julio, Nicté, Aura, Lesly, Mariela y Lourdes, gracias por su apoyo, amistad, cariño y los momentos inolvidables que pasamos juntos.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:

Por haberme dado la oportunidad de haber estudiado, y en especial a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por lo que me enseñó y por haberme dado la oportunidad de desarrollarme como profesional.

A MI ASESOR:

Phd. Roberto Flores Arzú, por la formación, enseñanzas, apoyo y comprensión. Gracias por ser un ejemplo para mi vida profesional

A MIS REVISORAS:

Licda. MC Bran y Dra. Karin Herrera, por su apoyo y colaboración en la realización de éste documento.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL:

A todo el Departamento de Microbiología por el apoyo, tiempo y conocimientos que recibí para saber contribuir a la investigación científica en Guatemala.

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	4
3.1 El género <i>Morchella</i>	4
3.2 Hábitat y Ecología	4
3.3 Filogenia	6
3.4 Comestibilidad	6
3.5 Toxicidad	7
3.5.1 Los síndromes neurológicos por <i>Morchella</i>	8
3.5.2 Las interacciones de <i>Morchella</i> con el alcohol	8
3.6 Información Industrial y Comercial	8
3.7 Información del Mercado Internacional	9
3.8 Microscopia	10
3.9 Especies	11
3.9.1 <i>Morchella guatemalensis</i>	13
3.9.1.1 Características macroscópicas	13
3.9.1.2 Características microscópicas	13
3.9.1.3 Localización en Guatemala	13
3.9.2 <i>Morchella costata</i>	14
3.9.2.1 Características microscópicas	14
3.9.2.2 Localización en Guatemala	14
3.9.3 <i>Morchella esculenta</i>	14
3.9.3.1 Características microscópicas	15
3.9.3.2 Localización en Guatemala	15
3.9.4 <i>Morchella elata</i>	15
3.9.4.1 Características microscópicas	15
3.9.4.2 Localización en Guatemala	16
3.9.5 <i>M. vulgaris</i>	16
3.9.6 <i>M. rotunda</i>	16
3.9.7 <i>M. crassipes</i>	17
3.9.8 <i>M. conica</i> var <i>costata</i>	17
3.9.9 <i>M. deliciosa</i>	18

3.9.10 <i>M. tridentina</i>	18
3.9.11 <i>M. umbrina</i>	19
3.9.12 <i>M. rufobrunnea</i>	19
3.9.13 <i>M. tomentosa</i>	20
3.9.14 Otras especies reportadas	20
4. Justificación	21
5. Objetivos	22
6. Materiales y Métodos	23
6.1 Universo de Trabajo	23
6.1.1 Muestra	23
6.2 Materiales	23
6.2.1 Recursos Humanos	23
6.2.2 Recursos Institucionales	23
6.2.3 Recursos Materiales	24
6.2.3.1 Equipo	24
6.2.3.2 Material estudiado	25
6.2.3.3 Reactivos	26
6.3 Metodología	26
6.3.1 Procedimiento	25
6.3.2 Diseño de Estudio	27
6.3.2.1 Tipo de Estudio	27
6.3.2.2 Muestreo	27
6.3.2.3 Variables	28
6.3.2.4 Análisis Estadístico	28
7. Resultados	29
8. Discusión de resultados	35
9. Conclusiones	41
10. Recomendaciones	42
11. Bibliografía	43
12. Anexos	51

1. RESUMEN

En Guatemala sólo se han reportado cuatro especies de *Morchella*: *M. esculenta*, *M. costata*, *M. elata* y *M. guatemalensis*, esta última reportada como endémica. En este estudio se reporta la presencia de una especie que no había sido identificada anteriormente, *M. rufobrunnea*, la cual ha sido reportada en México y Estados Unidos y que presenta características muy similares a *M. guatemalensis*.

Debido a que en Guatemala no existe un estudio previo sobre el género *Morchella*, se desarrolló un estudio descriptivo en el cual se analizaron las características macroscópicas y microscópicas de 20 especímenes herborizados que fueron recolectados en distintos puntos del país. Estos especímenes se encuentran depositados en la Micoteca "Lic. Rubén Mayorga Peralta – MICG" de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A través del análisis cualitativo de las características macroscópicas del píleo y estípite; de las características microscópicas de las ascas, paráfisis y esporas de los especímenes; y la comparación de los resultados con la literatura norteamericana y europea, se identificaron y se describieron cuatro especies de *Morchella*: *M. costata*, *M. elata*, *M. guatemalensis* y *M. rufobrunnea*, que constituyen nuevo reporte para Guatemala. Asimismo, se encontró que las características microscópicas y a nivel morfométrico del género son homogéneas, lo que concuerda con lo reportado recientemente en otras partes del mundo.

Los resultados obtenidos provienen de especímenes recolectados en su mayoría, en departamentos del área occidental y central de Guatemala, principalmente en regiones con hábitats de clima templado a frío, con abundancia de coníferas.

Con esta investigación se proporciona una base taxonómica local que puede servir como referencia para la identificación de especies en otros países del área centroamericana.

2. INTRODUCCIÓN

El género *Morchella* pertenece a la división Ascomycota, del Orden *Pezizales*, familia *Morchellaceae* (Palazón, 1994). Es uno de los géneros de hongos comestibles más apreciados por su sabor en muchos países de Europa, Asia, Norteamérica y Sudamérica (Guzman & Tapia, 1998). El nombre comercial de las *Morchella* es “Morilla”, palabra española que significa colmena (Palazón, 1994; Guzman & Tapia, 1998). Otros nombres comunes son colmenilla, múrgula, morrongla o simplemente como morquelas. En Guatemala es conocido como Pi’q en idioma Kaqchikel (Morales, 2002; Bran, Morales, Cáceres, Flores, Ariza, Rodríguez y Alarcón, 2002), el cual significa olote de maíz (Cojti, 1998).

Morchella es un género que se encuentra distribuido alrededor del mundo. Todas sus especies se consideran de gran valor culinario, lo que sumado a su escasez, hace que su valor económico sea muy alto, alcanzando el segundo valor comercial a nivel internacional después de las trufas (Pegler, 2003; Flores E, 2009).

El concepto de especies en el género *Morchella* varía ampliamente. Algunos autores reconocen 50 o más especies, mientras que estudios basados en ADN ribosomal sólo reconocen tres especies (Gessner, 1995; Korf, 1973; Kellner, Renker, & Buscot, 2005; Kuo, Dewsbury, O’Donnell, Carter, Rehner, Moore, Moncalvo, Canfield, Stephenson, Metheven & Volk, 2012). Actualmente en Guatemala sólo se han reportado cuatro especies a nivel macroscópico; sin embargo, no hay estudios previos sobre la microscopía de estos especímenes. En la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG” de la Universidad de San Carlos de Guatemala existen varios especímenes de *Morchella* spp, registrados como afines a especies conocidas en Europa y Norteamérica, por lo que se precisó de un estudio a nivel de microscopía para corroborar tal identificación.

La importancia que tiene el género *Morchella* y el poco conocimiento sobre la identidad taxonómica de sus especies en Guatemala hizo oportuno realizar este tipo de estudios, ya que con ello se pudo conocer más acerca de su diversidad y distribución no sólo a nivel local sino también en el Continente.

En este estudio se seleccionaron muestras de *Morchella* spp, provenientes de diversos puntos geográficos del país y que actualmente se encuentran depositadas en la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG” de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. A estas muestras se les analizó y describió las principales estructuras microscópicas de valor taxonómico (ascas, ascosporas y paráfisis) junto a la descripción macroscópica de los cuerpos fructíferos y de su hábitat. Los resultados de las mediciones y descripciones fueron comparados con lo reportado en la literatura europea y norteamericana para determinar las especies a las que pertenecen.

3. ANTECEDENTES

3.1 El género *Morchella* Dill. ex Pers., *Neues Mag. Bot.*: 116 (1794)

El género *Morchella* es un hongo perteneciente a los ascomicetos, con todas sus especies reconocidas como comestibles. Se caracteriza por poseer cuerpos fructíferos con sombrero de aspecto reticulado (Palazón, 1994). Algunos de los nombres comunes son colmenilla, cigarrías, morilla, múrgula, morrongla o simplemente como morquelas. En Guatemala es conocido como Pi'q en idioma Kaqchikel (Morales, 2002), el cual significa olote de maíz (Cojti, 1998).

Las morquelas no tienen el aspecto típico de seta como las amanitas o los boletos, con su forma básica de sombrilla. Lo que más destaca de estos hongos es el píleo compuesto por numerosos alvéolos, de forma que en conjunto asemejan a un pequeño panal de abejas (Anexo 10,11 y 15). La unión de los alvéolos del píleo con el estípite puede producir una depresión más o menos notoria llamada valécula, la cual también puede estar ausente (Palazón, 1994; Guzman & Tapia, 1998). El tamaño de los cuerpos fructíferos de *Morchella* es muy variable. Básicamente, existen dos grupos de morquelas, las blancas y las negras. Las primeras son de color beige y con píleo redondeado, mientras que las segundas son oscuras, negras y con píleo en forma cónica (Molina et al., 1993). En cuanto al estípite, éste es similar en los dos grupos: cilíndrico, blanco, de textura cartilaginosa-quebradiza y totalmente hueco, prolongándose esta oquedad en todo el píleo (Valdebenito, Campos, Larraín, Aguilera, Kahler, Ferrando, García, Sotomayor, 2003; Papetti, Colosini, Chiari, & Marchina, 1990).

3.2 Hábitat y ecología

Morchella se caracteriza por fructificar exclusivamente durante la primavera en Europa (Pegler, 2003; Valdebenito et al., 2003), la zona este de Estados Unidos (Molina et al., 1993; Roody, 2003; Kuo, 2007) y también durante el verano

en áreas quemadas de bosques de coníferas de la zona oeste de Norteamérica (Molina et al., 1993; Kuo, 2007; McFarlane, Pilz, & Weber, 2005). Brotan por lo general en temporadas lluviosas. En el Hemisferio Sur, normalmente se le encuentra en zonas cordilleranas y pre-cordilleranas en Chile, donde fructifica en grupos o en forma cespitosa, principalmente en asociación micorrícica con bosques nativos de tipo forestal (Pognat, 2001; Hall et al., 2003). Cabe destacar que actualmente es posible encontrarlos en asociación con bosques introducidos especialmente de coníferas (McFarlane et al., 2005; Pognat, 2001).

Se puede decir que las colmenillas pueden crecer en cualquier sitio con una riqueza orgánica, mostrando su máximo crecimiento en los hábitats silvestres, pero también crecen con gran facilidad en suelos que se han visto afectados por incendios en temporadas anteriores. Pueden crecer regularmente en pequeñas cantidades en el mismo lugar año tras año (Palazón, 1994; Hall et al., 2003).

En Estados Unidos, las morquela negras fructifican durante la primavera y son las primeras en fructificar dentro de su género, además se caracterizan porque aparecen solas o en pequeños grupos. Las morquelas amarillas aparecen unas semanas después de la negras (Kuo, 2007).

Por otro lado, hay diversas posturas en cuanto al estatus micorrícico del género. Kuo (2007) menciona que la morquelas negras son micorrícicas y son abundantes en áreas afectadas por incendios, mientras que muchas de las morquelas amarillas pueden convertirse en saprobios cuando la planta hospedera muere (Molina et al., 1993; Kuo, 2007).

En Guatemala las especies de *Morchella* se hallan por lo general al final de la época lluviosa y en lugares de alta montaña. Se han encontrado principalmente en la parte occidental del país, en los Departamentos de Totonicapán y Huehuetenango, pero también en Chimaltenango, Sacatepéquez, Quetzaltenango y Guatemala. La especie *Morchella guatemalensis* fue recolectada en un bosque

de *Quercus* y *Cupressus* del Departamento de Chimaltenango (Guzmán, Torres & Sommerkamp, 1985; Bran, Morales, Cáceres, & Flores, 2003).

En cuanto al crecimiento *in vitro* de las morquetas se deben considerar varios aspectos como tipo de sustrato, calidad biológica de los aislamientos miceliares, desarrollo del ascoma, temperatura y pH (Winder, 2006).

Se han utilizado sustratos óptimos que incluyen: sucrosa, manosa y lactosa, pero el crecimiento de algunos aislamientos es sustancialmente reducido (Winder, 2006). Las colmenillas aún no han sido cultivadas con éxito a gran escala por lo que la industria comercial de estos hongos se basa principalmente en la recolección de cuerpos fructíferos silvestres (Pegler, 2003; Winder, 2006; Pilz et al., 2007).

3.3 Filogenia

Algunos autores sugieren que el género contiene tan sólo de 3 a 6 especies, mientras que otros sugieren hasta 50 especies (Gessner, 1995; Korf, 1973). Un análisis filogenético basado en los RFLP (restriction fragment length polymorphism) del gen 28S del RNA ribosomal, apoya la primera hipótesis, es decir, que el género comprende sólo unas pocas especies pero con una variación fenotípica considerable. Sin embargo, otros trabajos de ADN han sugerido que existe más de una docena de grupos distintos de morquetas en América del Norte (Kellner et al., 2005; Krieglsteiner, 1993), incluyendo al menos siete especies genéticas en el grupo de las morquetas amarillas (Kuo, 2007).

3.4 Comestibilidad

Las morquetas y las trufas son los ascomicetos comestibles más apreciadas en el mundo, sobretodo en Norteamérica y en Europa (Guzman & Tapia, 1998; Pegler, 2003; Valdebenito et al., 2003; Kuo, 2007; Hall et al., 2003). *M. esculenta*

debe su nombre en latín a su cualidad de “esculenta o comestible” (Roody, 2003). Las colmenillas tienen un sabor delicado que puede disminuir durante la cocción y sobre todo si se combina con carnes y vegetales, pero son deliciosas cuando se comen solas. Normalmente son preparadas fritas con mantequilla, en algunas ocasiones se conservan deshidratadas, que es un método popular y eficaz de almacenamiento a largo plazo (Pegler, 2003; Valdebenito et al., 2003).

Para la preparación de morquetas se desecha el pie por su rigidez y también es aconsejable raspar las escamas marrones del sombrero, ya que dan cierto amargor. También se acostumbra consumirlas rebozadas en huevo y fritas. El sabor de las morquetas no mejora con el lavado o el mantenimiento en remojo, es más, hasta puede arruinarlo. Debido a su porosidad natural, las morquetas pueden contener trazas de tierra que no pueden ser retiradas después del lavado, por lo que toda la suciedad visible debe ser eliminada con un cepillo, después de cortar el cuerpo por la mitad longitudinalmente, si fuera necesario (Pegler, 2003).

En Estados Unidos, Canadá y Europa las morquetas se venden generalmente en forma deshidratada, las cuales pueden ser reconstituidas por inmersión en agua o leche caliente. También pueden ser congeladas después de freír. Las conservas no se recomiendan debido a la alta presión y a la temperatura, que pueden destruir gran parte de su sabor (Pegler, 2003). En contraste con otros hongos, *Morchella* es un hongo casi ausente en la dieta tradicional guatemalteca (Guzmán et al., 1985).

3.5 Toxicidad

Debido a su contenido en ácido helvético, las colmenillas crudas son tóxicas, toxicidad que se pierde al cocinarlas o secarlas, ya que con estos procesos se destruye la toxina. Incluso *M. esculenta* se considera venenosa en forma cruda (Roody, 2003). En España se ha reportado que el consumo de morquetas puede producir reacciones alérgicas en algunas personas (Kuo, 2007; Hall et al., 2003).

Recientes estudios en Estados Unidos y España, han demostrado varios tipos de intoxicación por colmenillas: cuadros de toxicidad neurológica e interacción con bebidas alcohólicas (Kuo, 2007; Hall et al., 2003; Piqueras, 2003).

3.5.1 Síndromes neurológicos por *Morchella*: la primera referencia que se tiene es de finales de los años setenta cuando varios miembros de la Sección de Micología de Aranzadi (España) consumieron morillas frescas y en tortilla (fritura de patatas), que habían recogido. Todos tuvieron los mismos síntomas al día siguiente: mareos y falta de estabilidad al ponerse de pie, similares a los que padecen las personas que han bebido demasiado. También hay referencia a casos de intoxicación leve por consumo de *Morchella* en Donostia, País Vasco, España (Piqueras, 2003; Piqueras, 1999). En algunos casos el síndrome puede ser leve y pasajero, pero en otros casos puede llegar a ser incapacitante y prolongarse durante varias semanas (Piqueras, 2003; Piqueras, 1999).

3.5.2 Interacciones de *Morchella* con el alcohol: su combinación produce síndrome coprínico, una reacción desagradable que se presenta después de comer *Coprinus atramentarius*, *Clitocybe clavipes*, *Boletus luridus*, algunas morchellas (concretamente *M. augusticeps*), acompañado de cerveza, vino, o cualquier otra bebida que contenga alcohol etílico. Este síndrome también se produce de manera aleatoria en algunas personas que las consumen y que utilizan ciertos medicamentos y productos químicos (Sommerkamp & Guzman, 1990).

3.6 Información industrial y comercial

Existen tres formas de comercializar estos hongos: a) congelados, donde el tipo de congelación más común es el IQF (Individual Quick Frozen) a -24°C, el cual permite descongelar solo las unidades que se quieran utilizar al momento de consumo, b) frescos, operación que se realiza una vez recolectado el hongo

debido a su alta perecibilidad y c) deshidratados, con lo que se logra obtener durabilidad del producto y un mejor precio (Pegler, 2003; Valdebenito et al., 2003).

Los precios varían según los países. En Chile, por ejemplo los precios van de 1 a 6 dólares/kg en peso fresco, hasta 10 dólares/kg e incluso hasta 40 dólares/kg en forma deshidratada. El rendimiento es de aproximadamente 8 a 10 kg de hongo fresco por 1kg de hongo deshidratado (Pegler, 2003; Valdebenito et al., 2003). En Guatemala, la oferta de *Morchella* es muy irregular debido a que es un producto poco conocido y escasamente difundido a nivel nacional. De acuerdo a los reportes de hongos comestibles en Guatemala, se ha encontrado venta de morquelas en el mercado municipal de Totonicapán (Bran et al., 2003; Bran et al., 2002).

3.7 Información del mercado internacional

Las exportaciones de *Morchella* spp en Chile constituyen en promedio el 1.13% del total de las exportaciones de hongos en cuanto a volumen y 16.97% en cuanto a precio en dólares americanos (Valdebenito, 2003).

Este hongo alcanza los mayores precios del mercado exportador de hongos, superando hasta 20 veces más el precio de los hongos exportados bajo esa misma categoría (deshidratados). *Morchella* es el hongo con segundo mayor valor comercial, a nivel internacional, después de las trufas (Pegler, 2003; Flores E, 2009).

En general, los niveles de exportación y precios de la *Morchella* varían de año en año debido al ciclo anual del hongo y a las condiciones climatológicas de los sitios donde se produce (Pegler, 2003; Valdebenito et al., 2003). Por otro lado, los montos de exportación también están influenciados por la demanda externa o compradores existentes. Algunos de los países que exportan morquelas a Europa

y Estados Unidos son Chile, Argentina, Turquía y Mongolia (Valdebenito et al., 2003).

3.8 Microscopía

Los caracteres microscópicos en el género *Morchella* están muy poco diferenciados entre las diversas especies. No obstante, considerándolos en el conjunto de la descripción de una determinada especie, contribuyen a la confirmación de su identidad (Palazón, 1994).

Los ejemplares para estudio deben ser maduros, evitando los de mayor edad, pues sus elementos se agrandan y deforman, situación que complica la identificación de especies. Para el análisis de estructuras microscópicas se puede hacer uso de colorantes como rojo congo o floxina, evitando para las esporas, si es posible, la solución amoniacal, pues las infla en exceso. Cuando las observaciones se hacen sobre material fresco se puede utilizar la solución acuosa; sobre material seco es preciso añadir sodio lauril sulfato, que es un tensoactivo aniónico menos violento que el amoniaco (Palazón, 1994).

Los elementos himeniales se encuentran en el interior de los alvéolos y en las costillas secundarias. Las costillas primarias normalmente son estériles y pueden presentar algunos elementos como falsos pelos. El himenio está constituido por una empalizada de ascas y paráfisis (Anexo 12). Las ascas son grandes, operculadas, a veces talonadas, en muchos casos con espumosis interior; contienen ocho ascosporas, también grandes, elípticas, lisas, hialinas y coronadas de gúttulas en ambos extremos. Las observaciones de las esporas deben hacerse obteniendo la esporada o bien con un fragmento himenial procedente de un ejemplar maduro y/o analizando las esporas que hay fuera de las ascas. Las medidas esporales no tienen un valor definitivo para la determinación y únicamente son de carácter orientativo (Anexo 4 y 7) (Palazón, 1994).

Un tercer elemento himenial, las paráfisis, pueden aportar pistas para la identificación de la especie. Hay que tener en cuenta que sus dimensiones llegan a alterarse en gran medida en los ejemplares muy adultos, por lo que las observaciones deben hacerse con ejemplares maduros pero no en exceso. Las paráfisis son generalmente bifurcadas o ramificadas y con abundantes septos. Es la parte alta de las mismas la que proporciona más elementos de juicio según su forma, ya sea ensanchada, embolada, rómbica, en huso o en tetina (Palazón, 1994).

En la constitución del contexto se observan numerosos elementos celulares esféricos, algo deformes, de tamaño variable según las especies e incluso dentro de un mismo ejemplar, sostenidos por numerosas hifas conectivas. Estos elementos esféricos, que recuerdan a los verdaderos esferocistos de *Russula* y *Lactarius*, son los causantes de la fragilidad de las colmenillas. Otras partes del carpóforo, como la superficie del pie o la valécula, contienen a veces otros elementos como pelos, que ayudan a la identificación de la especie (Palazón, 1994).

3.9 Especies

Para abordar con rigor el estudio del género se debe analizar en primer lugar las características macroscópicas y organolépticas de los ejemplares recolectados, su hábitat, la secuencia de su desarrollo biológico y los caracteres microscópicos (Palazón, 1994).

Según los métodos sistemáticos tradicionales, basados fundamentalmente en características morfológicas, el número de especies en *Morchella* puede variar desde 3 hasta 50 especies, lo que refleja la enorme variabilidad tipológica de los cuerpos fructíferos con relación al hábitat y condiciones específicas (Kellner et al., 2005; Winder, 2006).

En el género *Morchella* los caracteres morfológicos son muy importantes a la hora de la identificación de la especie. Uno de los primeros aspectos que debe observarse es la unión del pie con el sombrero, puesto que este detalle señala la primera división del género. Si se observa la presencia de la valécula, es decir, que la parte baja del sombrero y la parte alta del pie se une formando una depresión, formarán parte de la sección *Distantes* (morquelas negras). Si, por el contrario, la unión del sombrero con el pie se produce de manera continuada, con los alvéolos de la parte baja del sombrero al pie, formarán parte de la sección *Adnatae* (morquelas amarillas) (Palazón, 1994).

En la sección *Distantes* los alvéolos tienden a ordenarse con cierta regularidad y formando unas costillas alineadas, con mayor o menor notoriedad, en sentido vertical y otras en sentido horizontal. Cada alvéolo encerrado entre dos costillas verticales y dos horizontales se llama alvéolo primario, que a su vez puede estar dividido por costillas más bajas, que forman los alvéolos secundarios. En esta sección, el sombrero es de forma cónica u ovoide pero siempre apuntada hacia lo alto. En la sección *Adnatae* los alvéolos, que son todos primarios, están dispuestos sin ningún tipo de orden y sus costillas no presentan ninguna alineación y se hallan todas al mismo nivel. En esta sección el píleo es de forma redonda u oblonga y raras veces algo cónica (Palazón, 1994).

A través de los métodos moleculares de amplificación y análisis del ADN ribosomal, se ha encontrado que existe monofilia (un solo origen genético) de la familia *Morchellaceae* y que existe también una separación genética entre *Adnatae* (morillas amarillas) y *Distantes* (morillas negras). La enorme variabilidad de las características macroscópicas y la consistencia de las características microscópicas como esporas e hifas dificultan la distinción de algunas especies. Un estudio molecular que incluyó numerosas secuencias de morquelas del centro de Europa indica que localmente existen sólo tres especies de color amarillo: *M.*

crassipes, *M. spongiola* y *M. esculenta* y al menos cinco en las morquelas negras: *M. conica*, *M. costata*, *M. elata*, *M. angusticeps* y *M. gigas* (Kellner et al., 2005).

En Guatemala se han reportado solamente cuatro especies, pero éstas fueron descritas a nivel macroscópico: *Morchella guatemalensis* (Guzmán et al., 1985; Bran et al., 2003; Sommerkamp & Guzman, 1990) *M. costata* (Morales, 2002; Sommerkamp & Guzman, 1990), *M. esculenta* (Morales, 2002; Bran et al., 2003; Sommerkamp & Guzman, 1990; Bran, et al., 2002) y *M. elata* (Bran et al., 2003).

3.9.1 *Morchella guatemalensis* Guzmán, Torres & Logemann. (1985).

3.9.1.1 Características macroscópicas: ascocarpo de 50 a 90mm de altura, himenóforo subcilíndrico cónico de 15 a 35mm de diámetro. La superficie está formada por alvéolos largos e irregulares, extendidos principalmente en las costillas transversales y longitudinales. El estípite mide de 20-24 x 10-12mm, cilíndrico pero más ancho en la base. Esta especie se diferencia por su color anaranjado pálido en el himenóforo y blanquecino en el estípite, así como por mancharse de color café vináceo en todas partes, principalmente en el estípite y/o en los especímenes viejos (Guzmán et al., 1985).

3.9.1.2 Características microscópicas: esporas (17)18-22µm de longitud x 11-13µm de ancho, generalmente elipsoidales o subglobosas, hialinas en KOH y con paredes delgadas. Ascas de 280-420 µm x 18-23µm, con 8 esporas. Paráfisis cilíndricas de 50-70(120) µm de largo, hialinas en KOH, multiseptadas, no ramificada, de 6-12 µm de diámetro (Guzmán et al., 1985).

3.9.1.3 Localización en Guatemala: bosque de *Quercus* y *Cupressus* en el departamento de Chimaltenango, también se ha localizado en los departamentos de Sacatepéquez y Guatemala (Morales, 2002; Guzmán et al., 1985; Bran et al., 2003; Sommerkamp & Guzmán, 1990).

3.9.2 *Morchella costata* (Vent.) Pers. (1801).

De aspecto general esbelto, generalmente no sobrepasa los 10 cm. El píleo es ovoide a cónico, con el ápice bastante en punta y claramente puntiagudo en la var. *acuminata*. El color varía, según la edad y las localizaciones, del pardo rojizo a oliváceo. Las costillas primarias, que ennegrecen claramente con la edad, presentan una alineación vertical muy regular, son casi rectas y paralelas desde la base hasta el ápice, por lo que prácticamente en toda la longitud del píleo solamente hay un alvéolo primario entre dos costillas primarias. Las secundarias dividen a las primarias a un nivel más bajo, formando numerosos alvéolos secundarios, cuadrangulares, generalmente más anchos que altos, con fondo plano bien visible y una gran simetría y regularidad. La valécula está perfectamente marcada. El estípite generalmente es más corto que el píleo, poco ensanchado en la base y casi liso en la superficie, con muy poca furfuración, de color blanco (Palazón, 1994).

3.9.2.1 Características microscópicas: esporas pequeñas entre 18-20µm x 11-12 µm. Las ascas miden de 350-400 µm de largo x 20-25 µm de ancho (Palazón, 1994; Boudier, 1982).

3.9.2.2 Localización en Guatemala: Todos los Santos Cuchumatán, Huehuetenango y en el departamento de Guatemala en bosques de *Pinus* spp (Sommerkamp & Guzman, 1990; Bran et al., 2002).

3.9.3 *Morchella esculenta* (L.) Pers.(1801).

Es la especie de mayor tamaño dentro de este género y se distingue por su color amarillo a castaño claro. Apotecio erecto, estipitado, con un píleo de hasta 20 cm o más de alto, simple, esparcido; píleo subgluboso, ovoide a estrechamente cónico. Presenta alvéolos irregulares, profundos y anastomosados, con costillas

estériles que separan depresiones llanas que sostienen el himenio, a menudo con costillas más pálidas (Hall et al., 2003; Hanlin & Tortolero, 1990).

3.9.3.1 Características microscópicas: las esporas miden entre 20-24 μm x 12-14 μm , hialinas, ampliamente elipsoidales a oblongo-elipsoidales. Ascas de 200-250 μm de largo x 18-20 μm de ancho, unitunicas, operculadas, subcilíndricas y estrechas en la base. Paráfisis septadas cerca de la base, ramificadas con ápices clavados (Guzmán et al., 1985; Hanlin & Tortolero, 1990).

3.9.3.2 Localización en Guatemala: bosques de *Pinus ayacahuite* y *Abies guatemalensis* de la aldea Panquix, Totonicapán, Tecpán, Chimaltenago y en el departamento de Guatemala (Bran et al., 2003; Sommerkamp & Guzmán, 1990; Bran et al., 2002).

3.9.4 *Morchella elata* Fr. (1822)

Ascoma cónico de 5-10 (15) cm de alto, algunas veces redondeado, es decir, obtuso-cónico a ovoide-cónico, costillas transversales que se ennegrecen con la edad, estípite de 2.0-7.0 cm de altura por 1.5-3.0 cm de espesor, por lo general la superficie blanquecina de color ocre, rosado o algunas veces negruzco, pubescentes y furfuráceo. Ascas cilíndricas con esporas elipsoides de color crema. (Palazón, 1994) *M. elata* crece solitario, disperso, agrupado, a veces en grandes cantidades después de los incendios forestales, o en el suelo que está afectado, por ejemplo, lugares para acampar, bordes de caminos de tierra, áreas intervenidas recientemente; ocasionalmente en madera de coníferas (Hall et al., 2003; Winder, 2006; Fries, 1822)

3.9.4.1 Características microscópicas: las características microscópicas son muy similares a las de *M. guatemalensis*, excepto el tamaño de las esporas; las de *M. elata* miden entre (19.2)21.1-26.4 (30.2) μm de largo x 13-17.8 μm de ancho, hialinas y lisas sin gotas en sus extremos. Las ascas son cilíndricas de 310

µm de largo x 15 µm de ancho, no amiloides. Contienen ocho ascosporas uniseriadas. Paráfisis septadas, hialinas y filiformes (Guzmán et al., 1985; Cuesta & Jiménez, 2008).

3.9.4.2 Localización en Guatemala: únicamente se ha reportado en el departamento de Totonicapán, en bosques de coníferas (Bran et al., 2003).

3.9.5 *M. vulgaris* (Pers.) Boud.

M. vulgaris tiene el píleo con tendencia redondeado y las costillas tienen un trazado irregular como verdaderas circunvoluciones. El color es generalmente marrón-gris de modo uniforme. Puede alcanzar entre 10-12 cm de altura total y el píleo puede llegar a tener un diámetro que nunca supera 6-7cm (Palazón, 1994; Kobold, 1998).

Los ejemplares desteñidos o casi blancos son individuos que todavía no están maduros y por tanto, estériles y carentes de esporas. El carpóforo es hueco y las paredes internas están recubiertas por una granulosis bastante evidente (Palazón, 1994; Kobold, 1998).

3.9.6 *M. rotunda* (Fr.) Boud. (1822)

Esta especie no supera los 8-10 cm de altura, con un píleo pequeño que en casos excepcionales puede llegar a medir entre 6-7 cm de diámetro (Palazón, 1994; Kobold, 1998).

Forma parte del grupo de *M. vulgaris*, a la cual se asemeja por la forma de píleo y las costillas irregulares. Se diferencia particularmente por su color con tonalidades ocres o incluso amarillo-oro, muy diferente a las tonalidades de su similar. El píleo presenta forma redondeada pero no se excluye la posibilidad de encontrar ejemplares más alargados, casi piramidal. Las costillas que dibujan los

alvéolos son sinuosas, unidas unas con otras de manera irregular. La superficie interna es furfurácea. El estípite tiende a ser cilíndrico, incluso con rugosas nervaduras. (Palazón, 1994; Kobold, 1998).

3.9.7 *M. crassipes* (Vent.) Pers.

Puede alcanzar dimensiones excepcionales dentro del género. Su altura llega incluso hasta los 25 cm. Las tres cuartas partes de esta medida pueden corresponder al estípite. El diámetro de píleo generalmente está entre 12 y 15 cm (Kobold, 1998).

Es una morquela que se distingue por su gran tamaño, por el estípite ensanchado, globoso (Kobold, 1998), a veces incluso vistosamente, y muy largo con respecto a las dimensiones de la píleo. Por lo demás puede considerarse una *M. rotunda* de grandes dimensiones. El color es muy similar: ocre-amarillo a ocre-gris con idéntico aspecto del píleo: formado por muchas costillas de trazado irregular que generan celdillas o alveolos. La forma tiende a la esférica, pero no perfectamente diseñada, a veces, incluso alargada y atenuada arriba con tendencia a la cónica.

3.9.8 *M. conica var costata* Pers. (1818).

Es una seta bastante esbelta que, por lo menos en altura, alcanza valores superiores a otras especies. Puede llegar a 10-12 cm totales. El píleo, considerando su forma, es un poco más estrecho: alrededor de 4-5 cm de diámetro. El color del píleo va de marrón al marrón-grisáceo (Palazón, 1994; Ruiz, 1999).

Forma parte del grupo de *M. cónica*, que comprende varias formas o variedades. El aspecto de este grupo está dado, de manera característica, por la forma cónica, casi puntiaguda del píleo y por el trazado de las costillas que

descienden a casi rectas a partir del vértice, regulares, unidas entre sí por paredes transversales. En este grupo, la superficie externa del píleo, especialmente en el borde de las costillas, tiende a ennegrecer con bastante facilidad. *M. costata* se diferencia por la coloración rosada del estípite. En otras variedades puede ser blancuzco. Las costillas transversales están a la misma altura y son de igual espesor que las longitudinales, delimitando celdillas de diversas dimensiones, más o menos alargadas y con costillas por detrás. El estípite es aproximadamente cilíndrico, pero deformado por rugosidades y protuberancias alargadas. El carpóforo también es hueco (Palazón, 1994; Ruiz, 1999).

3.9.9 *M. deliciosa* Fr. (1822).

En el grupo de *M. cónica* es posiblemente la de menor tamaño. Su altura alcanza los 10 cm como máximo y el diámetro del píleo no supera los 3.4 cm de diámetro, salvo en casos excepcionales (Palazón, 1994; Kobold, 1998).

Aunque se considerada del grupo *M. cónica*, se diferencia por algunas características como costillas poco delineadas longitudinalmente y con borde un poco achatado, plano, dando a las paredes un espesor uniforme que no se atenúa de abajo hacia arriba. Su color es gris-marrón pero con la edad, tiende a ennegrecer sólo de manera mínima. Puede incluso llegar a ser rosada en cada una de sus partes (var. *carnea*). El estípite, con pliegues, pero bastante regular, tiene forma cilíndrica y no es muy grueso. Está recubierto por granulosidades blancas (Palazón, 1994; Kobold, 1998).

3.9.10 *M. tridentina* Boud. (1897).

Esta especie puede alcanzar dimensiones gigantescas para una *Morchella*. Se han encontrado ejemplares de aproximadamente 600 gr de peso, que es mucho si se piensa que en este género los cuerpos fructíferos son prácticamente huecos y que su carne está casi toda concentrada en las paredes de alrededor.

Por término medio puede alcanzar 10-15 cm de altura manteniendo las restantes partes esta proporción (Kobold, 1998).

Los ejemplares excepcionales pertenecen, casi siempre, a esta especie. Otra característica para su reconocimiento es la tendencia a crecer cespitosa (muchos individuos pueden aparecer reunidos sobre un único tocón). Todas las demás *Morchella* crecen aisladas o formando grupos de individuos próximos, no unidos. La forma del píleo es cónico, un poco obtuso, pero en los ejemplares grandes pueden presentarse formas monstruosas, inusitadas. El color va del gris al gris-verduzco y, característica peculiar, los alvéolos son muy pequeños mientras que las paredes transversales son más bajas que las costillas longitudinales. El estípite es blanco, no siempre de forma regular, arrugado (Kobold, 1998).

3.9.11 *M. umbrina* Boud.

Píleo de 3-4cm de diámetro, con forma generalmente globosa o ligeramente ovoidal; color en principio negro, luego gris oscuro o pardo grisáceo, superficie himenial muy sinuosa, ramificada, blanquecina; alvéolos numerosos y profundos, primero redondeados y luego irregulares. El estípite mide entre 2-3 de largo x 1-1.5 cm de ancho, abultado en la base, donde presenta claros surcos cavernosos, superficie casi glabra y color blanquecino, manchado a veces de ocre (Kobold, 1998).

3.9.12 *M. rufobrunnea* Guzmán & F. Tapia (1998).

Píleo de 6-12cm de altura y 3-5cm de ancho; cónicos, sobre todo en los especímenes jóvenes. Himenóforo de color gris cuando es joven y de color amarillo pardo cuando madura, posee costillas longitudinales e irregulares y alvéolos alargados y cortos (Guzman & Tapia, 1998; Kuo, 2004).

El estípite mide entre 3-9 cm de alto y 1-2.5 cm de ancho, algunas veces hinchado en la base; con manchas de color salmón, blanquecino en la parte superior y gris en la parte inferior. De esporas de impresión: de color naranja pálido o de color naranja amarillento. Las esporas miden entre 20-24µm de largo x 14-16µm de ancho, lisas, elípticas. Las ascas miden de 300-360µm de largo x 16-20 µm de ancho (Guzman & Tapia, 1998; Kuo, 2004).

3.9.13 *M. tomentosa* Kuo. (2008).

Píleo de 3-11 cm de altura y 2-5 cm de ancho, con forma de protuberancia o un poco cónica; con los alvéolos y costillas generalmente densas cuando son jóvenes, que se extienden con la madurez y con desarrollo transversal. Cuando el espécimen es joven, su color es gris con costillas negras y alvéolos densos y difusos. Cuando madura, cambia a un color más pálido, amarillento o blanquecino (Kuo, 2008).

3.9.14 Otras especies reportadas: *M. angusticeps*, *M. gigas*, *M. semilibera*, *M. spongiola*, *M. atrotomentosa*, *M. pseudoumbrina*, *M. rigida*, *M. hybrida*, *M. rimosipes* (Palazón, 1994, Molina, 1993; Kobold, 1998).

4. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que buena parte de la clasificación de *Morchella* se realiza por análisis de características macroscópicas, existe mucha discrepancia en cuanto a las especies, porque muchas exhiben la misma morfología y raramente se observan características propias o específicas, lo que dificulta su clasificación.

En Guatemala se han encontrado cuerpos fructíferos de *Morchella* con características semejantes a algunas de las más conocidas en Europa y Norteamérica, por lo que han sido identificadas con los nombres de tales especies o afines a ellas. Sin embargo, dado que estudios micológicos recientes están indicando la presencia de hongos con características endémicas para esta zona del continente (*Morchella guatemalensis*) y que existe una gran influencia de géneros con claro origen norteamericano, por lo que fue fundamental hacer una descripción completa de las muestras recolectadas en el país para determinar las especies que existen en Guatemala.

Con este estudio se pretendió confirmar la especie a la que pertenece cada una de las muestras estudiadas de *Morchella* de la Micoteca "Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG", lo cual permitió conocer de una mejor manera la diversidad del género en el país, su distribución y generar una base taxonómica propia que puede servir de referencia al resto de países del istmo. Esta investigación constituyó el primer estudio formal del género *Morchella* en Guatemala y Centroamérica.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Identificar las especies del género *Morchella* recolectadas en Guatemala, a través de la descripción de las estructuras microscópicas de los especímenes de *Morchella* spp que se encuentran depositados en la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG”.

5.2 ESPECÍFICO

- 5.2.1 Determinar la especie a la que pertenecen los ejemplares herborizados a través de las estructuras microscópicas (ascas, ascosporas y paráfisis).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 UNIVERSO DE TRABAJO

Todas las muestras de *Morchella* recolectadas en Guatemala y que se encuentran depositadas en la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG”, del Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala la cual esta indexado en el Index Herbariorum del New York Botanical Garden desde 2011, bajo el acrónimo MICG.

6.1.1 Muestra

Se analizaron 20 especímenes de *Morchella* spp, escogidos entre las 32 recolectas depositados en la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG” de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Las muestras se escogieron en base a su descripción, procedencia, estado de conservación e identificación inicial.

6.2 MATERIALES

6.2.1 Recurso Humano

- Estudiante: Br. Edlin Arce Ordóñez
- Asesor: Dr. Roberto Flores

6.2.2 Recursos Institucionales

- Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG”, del Departamento de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Laboratorio de Micología del Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Unidad de Biotecnología y Aprovechamiento de Hongos-UBIOTAH, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

6.2.3 Recursos Materiales

6.2.3.1 Equipo

- Microscopio con objetivo de medición con escala graduada en μm , marca Zeiss
- Microscopio estéreo-microscópico marca Jaeger
- Bisturí (para realizar cortes) y hojas de afeitar
- Cuaderno para anotaciones
- Papel mayordomo
- Papel limpiantes
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Computadora
- Cámara fotográfica digital Samsung ES60
- Internet

6.2.3.2 Material estudiado

Tabla 1. Procedencia de los especímenes recolectados en Guatemala y analizados en este estudio.

No.	*No. DE MICOTECA	LUGAR DE RECOLECCIÓN
1	MICG-512	Convento de Capuchinas, Antigua Guatemala, Sacatepéquez.
2	MICG-513	Cerro El Baúl, Quetzaltenango.
3	MICG-514	Jardín de casa en la zona 7, Guatemala.
4	MICG-515	Sin datos de localidad.
5	MICG-516	Jardín de casa en la zona 7, Guatemala.
6	MICG-517	Jardín de casa en la zona 10, Guatemala.
7	MICG-522	Sin datos de localidad.
8	MICG-523	El tejtar, Chimaltenango.
9	MICG-524	Acera de cemento en casa de la zona 7, Guatemala.
10	MICG-2209	Santiago Sacatepéquez, Sacatepéquez.
11	MICG-2210	Tuicoj, Puerta del Cielo, Huehuetenango.
12	MICG-2212	Panquix, Totonicapán.
13	MICG-2213	Tuicoj, Puerta del Cielo, Huehuetenango.
14	MICG-2214	Tuicoj, Puerta del Cielo, Huehuetenango.
15	MICG-2215	Tuicoj, Puerta del Cielo, Huehuetenango.
16	MICG-2216	Sin datos de localidad.
17	MICG-2223	Sin datos de localidad.
18	† MICG-230809	Bosque Municipal, San José Ojetenam, San Marcos.
19	† MICG-19	Sin datos de localidad.
20	† MICG-20	Tecpán Guatemala, Chimaltenango.

Fuente: Base de datos experimental

*MICG: Micoteca de Guatemala "Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG" - codificación de ingreso del espécimen dentro de la colección de hongos.

†Sin código de espécimen

6.2.3.3 Reactivos

- Reactivo de Melzer (medio de contraste y para tinción de estructuras amiloideas)
- Rojo Congo (medio de contraste)
- Agua destilada (para rehidratar muestras)
- KOH al 5%
- Alcohol al 95%
- Etanol al 100%
- Aceite de Inmersión

6.3 METODOLOGÍA

6.3.1 Procedimiento

- a) Se solicitó autorización a la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG”, del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para el análisis de las muestras.
- b) Se escogieron los 20 mejores ejemplares de cada una de las recolectas de *Morchella* spp, se les realizó tratamiento de limpieza con etanol.
- c) Se extrajeron las porciones de interés para el análisis microscópico: superficie fértil del himenio.
- d) A las muestras se les agregó alcohol al 95% durante 30 segundos, luego se les agregó agua destilada para su rehidratación e hidróxido de potasio (KOH) al 5% para mejorar la rehidratación y para el análisis visual directo (observación de esporas).
- e) En algunas muestras fue necesario rehidratarlas con agua destilada durante un minuto, luego con hidróxido de potasio (KOH) al 5% durante un minuto más y posteriormente se agregó Rojo Congo como medio de contraste para observar mejor las microestructuras.

- f) Se llevó a cabo la medición microscópica de las estructuras de interés (ascas, esporas y paráfisis) utilizando el microscopio con ocular calibrado y con objetivo de inmersión (100X) para esporas y con objetivo 40X para ascas y paráfisis, realizando 20 mediciones diferentes de cada estructura.
- g) Se tomó fotografías con cámara digital de las estructuras microscópicas para tener una base gráfica de lo encontrado.
- h) Se realizó una descripción macroscópica de cada muestra, prestando atención principalmente a la orientación de las costillas y los alvéolos primarios y secundarios.
- i) Se registraron los resultados obtenidos en tablas.
- j) Se realizó una comparación de los resultados encontrados con las descripciones de especies reportadas en la literatura europea y norteamericana por medio de tablas.
- k) Se elaboró el informe de los análisis realizados, resultados y conclusiones.

6.3.2 Diseño de Estudio

6.3.2.1 Tipo de Estudio

Descriptivo

6.3.2.2 Muestreo

Las muestras analizadas se seleccionaron de la micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG”. Se analizaron un total de 20 ejemplares (las mejores muestras de cada recolecta) provenientes de los departamentos de Guatemala, Totonicapán, Huehuetenango, Chimaltenango y Sacatepéquez.

6.3.2.3 Variables

- a) Cuantitativas: estructuras microscópicas: ascas, ascosporas y paráfisis (longitud y diámetro en micrómetros).
- b) Cualitativas: forma, apariencia y disposición de las ascas, ascosporas, paráfisis.

6.3.2.4 Análisis Estadístico

- a) Se realizaron 20 mediciones de cada estructura por ejemplar, lo recomendado para trabajos de microscopía de hongos (Basso, 1995), y se obtuvo la media, moda y desviación estándar para el largo y ancho de las ascas, ascosporas y paráfisis.
- b) Se determinó el rango (valor superior e inferior) del largo y ancho de cada una de las estructuras.
- c) Se calculó de la media del *valor Q* (largo/ancho) para las ascosporas.
- d) Se realizó una descripción de la forma, apariencia y disposición de las estructuras macroscópicas y microscópicas.
- e) Finalmente se realizó una comparación de las estructuras analizadas con las claves taxonómicas (Guzman & Tapia, 1998; Flores E., 2009) de especies conocidas pertenecientes al género *Morchella*, y así se determinó la especie a la que pertenecen.

7. RESULTADOS

En este estudio se analizaron tanto las características microscópicas como macroscópicas de 20 muestras registradas como *Morchella*, depositadas en la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG”. Los ejemplares fueron recolectados en distintos puntos del país (Chimaltenango: Tecpán y El Tejar; Huehuetenango: Tuicoj, Todos los Santos Cuchumatán; Totonicapán: Panquix y en el mercado municipal; San Marcos: San José Ojetenam; Quetzaltenango: Cerro El Baúl; Sacatepéquez: Antigua Guatemala; Guatemala: zona 7 y zona 10). Algunos especímenes no tenían anotada su procedencia (Tabla 1).

Las características macroscópicas de cada espécimen se complementó con una descripción detallada acerca de la orientación de las costillas, alvéolos y presencia o ausencia de valécula. En el caso de las muestras MICG-516, MICG-2214 y MICG-2213 no se pudo determinar esta característica debido al mal estado del ejemplar.

7.1 Análisis de esporas

Los resultados del tamaño de las ascosporas se puede apreciar en el anexo 4, en el cual se observa que la muestra MICG-515 posee las esporas de menor dimensión (17.45 x 9.9 μm). El resto presentan gran similitud a pesar de las diferencias macroscópicas y de color del carpóforo. En el anexo 5 se muestra el valor Q de las esporas donde se observa que todas las muestras presentaron un valor Q muy similar, por lo tanto todas las muestras presentaron la misma forma elipsoidal.

7.2 Análisis de ascas

Los resultados de la medición de las ascas mostró que no existe una diferencia marcada tanto en longitud como en diámetro entre cada una de las

muestras analizadas. Solamente se observó diferencia en las muestras MICG-512 y MICG-523 las cuales presentan ascas más pequeñas respecto a las otras.

Además del análisis anterior, se realizó un Análisis de Conglomerados y un Análisis a Escala Multidimensional No Métrica (NMDS) utilizando los valores promedios de largo y ancho de las ascas, paráfisis y coeficiente Q de las esporas, lo que permitió un arreglo de resultados pero éstos no proporcionaron la suficiente información para la clasificación taxonómica de los especímenes estudiados.

7.3 Análisis de paráfisis

Los resultados de medición de las paráfisis indican que tampoco existe diferencia entre las muestras analizadas. En el anexo 2 se detallan las mediciones obtenidas para las paráfisis de los ejemplares guatemaltecos, en las que solamente dos muestras presentan paráfisis un poco más largas que los otros (MICG-512 y MICG-514).

En base a estos resultados, que resultan tan similares, no se puede hacer una identificación hasta especie de todas las muestras analizadas, con excepción de cuatro de ellas y con la ayuda de las características macroscópicas de los ejemplares herborizados, como costillas, alvéolos, valécula y coloración al tacto.

En la tabla 2 se presenta una identificación de las especies, en base a las características microscópicas y macroscópicas obtenidas en los resultados. En ella se indica las cuatro especies cuyas características macro y microscópicas coinciden con *M. guatemalensis*, *M. rufobrunnea*, *M. costata* y *M. elata*. La presencia de *M. rufobrunnea* es el primer reporte para Guatemala.

Tabla 2: Identificación de las muestras de *Morchella* analizadas en este estudio en base a las características macroscópicas y microscópicas.

MUESTRA	*IDENTIFICACIÓN PRELIMINAR	**IDENTIFICACIÓN EXPERIMENTAL
MICG-512	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-513	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-514	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-515	<i>M. costata</i>	<i>M. costata</i>
MICG-516	<i>M. esculenta</i>	<i>Morchella</i> sp.
MICG-517	<i>M. esculenta</i>	<i>Morchella</i> sp.
MICG-522	<i>M. guatemalensis</i>	<i>M. guatemalensis</i>
MICG-523	<i>M. guatemalensis</i>	<i>M. guatemalensis</i>
MICG-524	<i>M. guatemalensis</i>	<i>M. guatemalensis</i>
MICG-2209	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-2210	<i>Morchella</i> sp.	<i>M. rufobrunnea</i>
MICG-2212	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-2213	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-2214	<i>Morchella</i> sp.	<i>M. elata</i>
MICG-2215	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-2216	<i>Morchella</i> sp.	<i>M. guatemalensis</i>
MICG-2223	<i>M. guatemalensis</i>	<i>M. guatemalensis</i>
†Muestra -230809	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
†Muestra-19	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.
†Muestra-20	<i>Morchella</i> sp.	<i>Morchella</i> sp.

Fuente: Base de datos experimental

*Identificación de la boleta de muestra MICG.

**Identificación propuesta en base a los análisis macro y microscópico y de revisión bibliográfica.

† Sin código de espécimen.

A continuación se presentan las descripciones de las especies identificadas en este estudio:

Morchella guatemalensis Guzmán, Torres & Logemann (1985).

Ascocarpo de 80 a 150 mm de longitud, incluyendo estípite. Píleo de 65 a 90mm de longitud por 23 a 40 mm de diámetro, con costillas longitudinales separadas hasta 15 mm y alvéolos un poco alargados, con numerosas

tabicaciones y anastomosis no conspicuas. La forma general es parecida a la de un pincel, cuando son jóvenes y cuando son adultos un poco globosos, color entre amarillento y café se mancha de color café a rojizo particularmente sobre la línea de las costillas y hacia la base del estípite al tacto. Estípite ensanchado de 20 a 85 mm de longitud por 20 a 27 mm de diámetro, interior hueco, blanquecino y de aspecto aterciopelado, cilíndrico y con depresiones hacia la base, color amarillento con algunas manchas naranja, la base presenta micelio blanco. Valécula presente. Esporada de color naranja.

Esporas de 17.0 a 26.0 μm de largo por 11 a 17.5 μm de ancho, Q= 1.5 a 1.7, elipsoidales, hialinas y con paredes delgadas. Paráfisis septadas de 75 a 232.5 μm de largo por 7.5 a 20 μm de ancho, de ápice recto a forma ensanchada en clavada. Ascas de 187 a 255 μm de largo por 15 a 27.5 μm de ancho, con 8 esporas.

Material estudiado: **1) *Morchella guatemalensis*** MICG-522, sin datos de recolección. **2) *Morchella guatemalensis*** MICG-523, El Tejar, Chimaltenango. **3) *Morchella guatemalensis*** MICG-524, Guatemala. **5) *Morchella* sp** MICG-2216, sin datos de recolección. **6) *Morchella guatemalensis*** MICG-2223, sin datos de recolección.

M. rufobrunnea Guzmán & Tapia (1998).

Píleo de 53 a 210 mm de longitud por 32 a 50 mm de diámetro, con forma cónica y de color gris a café oscuro. El ancho máximo de las costillas es de 6 mm con profundidad de los alvéolos de hasta 6 mm por 4 mm de ancho. Valécula presente. El estípite es de color blanquecino, de aspecto granuloso. Con medidas de 14 a 70 mm de largo por 15 a 20 mm de diámetro. La base es alveolada. Superficie basal de color blanco con fibras compactas, se manchaba de marrón con el maltrato. Color de la esporada amarillenta.

Esporas de 20 a 23 μm de largo por 13 a 16 μm de ancho, lisas, elipsoidales con $Q=1.5$, paráfisis septadas de 105 a 155 μm de largo por 7.5 a 17.5 de ancho, con ápice recto. Ascas de tamaño de 257.5 a 390 μm de largo por 17.5 por 25.0 μm de ancho, de forma cilíndrica con 8 esporas uniseriadas.

Material estudiado: ***Morchella* sp** MICG-2210, Todos los Santos Cuchumatán, Huehuetenango.

Morchella elata Fr. (1822)

Píleo de 67 a 75 mm de longitud por 18 a 30mm de diámetro en el ápice y de 27 a 67 mm de diámetro en base, de color café oscureciéndose hacia los bordes tornándose de un color negruzco, con forma aguda, las costillas miden de 5 hasta 10 mm de ancho, de forma longitudinales. El estípite mide de 50 a 10 mm de longitud, la superficie de la base y hacia el píleo es granulosa en la parte exterior y en el interior, de color café a beige en adultos y en jóvenes.

Esporas elipsoidales, de 17 a 25 μm de longitud por 12 a 17 μm de ancho, con un valor $Q=1.4$, paráfisis septadas, alargadas de ápice recto, septadas, con 70 a 150 μm de largo por 10 a 15 μm de ancho. Ascas de 212.5 a 305 μm de largo por 20 a 42.5 μm de ancho, las ascas maduras son cilíndricas y con ocho esporas uniseriadas y las ascas inmaduras son deformes ensanchadas en el extremo superior con acúmulos de esporas.

Material estudiado: ***Morchella* sp** MICG-2214, Todos los Santos Cuchumatán, Huehuetenango.

Morchella costata (Vent.) Pers. (1801).

El píleo no sobrepasa los 105 mm, es de un color gris a un tono oliváceo, subcilíndrico a cónico y con alvéolos gruesos, costillas sobresalientes y alineadas

verticalmente. Valécula presente. El estípite es generalmente más corto que el píleo, de color crema hueco en el interior y de forma cilíndrico.

La principal característica microscópica de esta especie son las esporas pequeñas de 15 a 19 μm de largo por 8 a 11 μm de ancho, con un valor de $Q= 1,8$, elípticas, incoloras, paráfisis en abundancia, de ápice recto hasta forma clavada, de 107.5 a 142.5 μm de largo por 10 a 15 μm de ancho. Ascas cilíndricas de 242.5 a 325 μm de largo por 17.5 a 27.5 μm de ancho.

Material estudiado: ***Morchella sp*** MICG-515, sin datos de recolección.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El género *Morchella* es muy conocido y popular en sus aspectos gastronómicos pero muy poco claro en los taxonómicos (Palazón, 1994). Para conocer más acerca de la diversidad de especies de este género en Guatemala, se realizó un estudio microscópico y de análisis de caracteres macroscópicos de 20 muestras de *Morchella* spp, recolectadas en diferentes partes de Guatemala y depositadas en la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG” (Guzmán & Sommerkamp, 1985).

Los resultados obtenidos en este estudio, al igual que lo encontrado en recientes investigaciones efectuadas en el extranjero, demuestran que *Morchella* es un género en el que la microscopía, al contrario de muchos otros géneros, aporta muy poco y que las diferencias macroscópicas pueden llegar a no ser fáciles de apreciar en algunos casos. Todos los ejemplares son fáciles de identificar hasta género, pero no así la especie. Esta es la causa por la que muchos autores no coinciden en el número de especies que conforman el género, pues hay quienes no consideran más de tres y otros que pueden llegar a cincuenta o más (Gessner, 1995; Korf, 1973; Kellner et al., 2005; Krieglsteiner, 1993; Kuo, 2007 y 2012; Pilz et al., 2007; Wifp et al., 1996).

Es importante resaltar que este es el primer estudio taxonómico sobre este género en Guatemala, por lo que se carece de información detallada sobre el mismo; de allí que la identificación inicial de las especies se basó en la semejanza de las especies que se encuentran en Norteamérica y Europa, que son una referencia obligatoria (Kellner et al., 2005; Kuo, 2007 y 2012; Pilz et al., 2007).

En la sección de resultados se puede apreciar que, de acuerdo al análisis de la dimensiones de las principales estructuras reproductivas (esporas, paráfisis y ascas), existe muy poca diferencia a nivel de microscopía entre las muestras estudiadas, situación que ha sido reportada recientemente en Norteamérica (Kuo,

2007 y 2008) y Europa (Kellner et al.,2005). Por lo tanto, los resultados de este trabajo demuestran que la microscopía de este género tiende a ser homogénea en todo el mundo. Asimismo, hay que considerar que este género es extremadamente polimórfico y las condiciones ambientales como la humedad y la luz solar puede afectar el crecimiento, desarrollo, forma, tamaño y variaciones en el color de los cuerpos fructíferos de *Morchella* (Kuo, 2002 y 2012). Pero con base a la microscopía, el análisis macroscópico de las muestras, el hábitat y el estudio de las descripciones del género *Morchella*, se logró confirmar la identificación de cuatro especies para Guatemala: *M. guatemalensis*, *M. costata*, *M. elata* y *M. rufobrunnea*.

A continuación se presentan los argumentos que respaldan los resultados obtenidos del análisis e identificación de las especies estudiadas.

***M. costata*:** Las características observadas del píleo, himenio y estípite de la única muestra identificada originalmente como *M. costata* (MICG-515), coinciden con las características reportadas en la literatura para esta especie, particularmente las esporas más pequeñas del género (Persoon, 1981). Microscópicamente presentó las esporas más pequeñas en comparación con el resto de las muestras analizadas, y a pesar que la dimensión de las esporas es sólo una cualidad de carácter orientativo y no un factor definitivo para la determinación de especies en *Morchella*, las mediciones obtenidas coinciden con lo reportado para *M. costata* en Europa y Norteamérica. Además, de acuerdo a la clave taxonómica propuesta por Guzmán & Tapia (1998), la muestra MICG-515, concuerda con la forma cónica y costillas sobresalientes.

***M. guatemalensis* y *M. rufobrunnea*:** En Norteamérica, incluyendo México, la mayoría de nombres científicos utilizados para las morquelas locales, es el mismo de las especies que crecen en Europa, pero realmente no se sabe con certeza si estas existen en América, pues al analizar varios ejemplares de Canadá, Estados Unidos y México, a nivel molecular, éstas no coincidieron con las

europas según Pilz et al. (2007). Estos autores sugieren que las únicas especies correctamente identificadas para Norte y Centroamérica son *M. guatemalensis* y *M. rufobrunnea*, por ser nombres nuevos. Sin embargo, tal y como sucede con otros hongos, hay especies de *Morchella* que aún no han sido totalmente aceptadas como especies endémicas por entidades taxonómicas de referencia, como el Código Internacional de Nomenclatura Botánica (Pilz et al., 2007).

Por otro lado, se encontró que varias muestras identificadas como *Morchella* sp encajan con la descripción de *M. guatemalensis*, principalmente por el característico enrojecimiento del carpóforo, característica que también es compartida con algunas morquelas subtropicales (*M. rufobrunnea* y *M. rigidoides*) (Guzmán & Tapia, 1998; Pilz et al., 2007). Sin embargo, *M. rufobrunnea* difiere de *M. guatemalensis* en la forma y color del ascoma, forma y disposición de los alvéolos y color de las manchas. *M. guatemalensis* presenta un himenóforo amarillo a naranja-amarillento o miel en todas las etapas, alvéolos alargados y se mancha de un color vináceo oscuro a rojizo al tacto (Guzmán & Tapia, 1998; Guzmán et al., 1985), características que fueron reportadas para los ejemplares analizados (MICG-522, 523, 524, 2216 y 2223). Por el contrario, *M. rufobrunnea* presenta un color gris cuando es joven y amarillo cuando madura, con alvéolos cortos y se mancha de un color marrón o rosado a rojo ferruginoso (Guzmán & Tapia, 1998; Guzmán et al., 1985). Aunque a la fecha no se ha reportado *M. rufobrunnea* en Guatemala, las observaciones macroscópicas de la muestra MICG-2210 sí coinciden con esta especie, particularmente por la coloración marrón, estípites de aspecto granuloso e himenóforo de color gris (Guzmán & Tapia, 1998), datos que se encuentran anotados en la boleta de descripción del ejemplar. *M. rufobrunnea* es una especie típica del oeste de Norteamérica pero que se ha introducido hasta Michigan desde California (Kuo, Dewsbury, O'Donnell, Carter, Rehner, Moore, Moncalvo, Canfield, Stephenson, Metheven, & Volk, 2012) y México (Guzmán & Tapia, 1998).

Por otra parte, según Guzmán & Tapia (1998), las paráfisis de *M. guatemalensis* son más pequeñas que las de *M. rufobrunnea*, pero en este estudio no se observó una diferencia considerable entre las muestras. Esto puede deberse al hecho de evaluar algunos especímenes inmaduros y muestras secas, tal como ha sido reportado por Baral (1992).

***M. elata*:** El espécimen MICG-2214, recolectado en el Departamento de Huehuetenango, fue ingresado a la colección de hongos como *Morchella* sp. Sin embargo, este espécimen posee características que coinciden con las descripciones de *M. elata* (Fries, 1822), especialmente porque la descripción macroscópica de la boleta adjunta indica que el píleo de los ejemplares jóvenes y adultos eran de un color oscuro, costillas longitudinales y con estípite ligeramente granulado.

En la Micoteca “Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG”, se encontraron muestras ingresadas como *M. esculenta*, pero no se pudo corroborar la especie debido a que los ejemplares no cuentan con una descripción macroscópica completa que detalle todos los aspectos necesarios para su correcta identificación. Aunque su identificación debe ser corroborada, con fines taxonómicos, sería sumamente difícil llevarla a cabo, ya que varios de ellos se encuentran deteriorados, quemados por el secado o degradados por putrefacción. La única forma sería por medio de análisis de ADN, sin embargo, el secado en exceso también afecta el ADN (Ramírez, 2006).

En cuanto al hábitat de crecimiento en Guatemala, el género *Morchella* se encuentra ampliamente distribuido en los departamentos del occidente y centro del país, como fue evidenciado por medio de las boletas de las muestras analizadas y lo reportado en estudios anteriores, donde predomina el clima templado a frío y la abundancia de árboles de coníferas (Bran et al., 2002 y 2003). Sin embargo, las muestras recolectadas presentaron una gran variedad hábitats, desde bosques de coníferas, bosques perturbados, jardines, hasta banquetas y bloques de cemento,

lo cual coincide con lo reportado en Norteamérica y Europa, por lo que no existe una diferencia en cuanto a la variedad de ecosistemas y hábitats descritos en Guatemala (Bran et al. 2003). Sin embargo, no hay muestras de *Morchella* de otros sitios de menor altitud y clima más cálido, donde se han hecho recolectas de macrohongos por personal de la BiotaH. Una referencia importante es que los cuerpos fructíferos de *Morchella* pueden crecer en cualquier sitio con riqueza orgánica (Pilz et al., 2007).

Además es importante mencionar que en cuanto a nivel comercial, existe una diferencia muy grande con el resto del mundo, ya que las morquelas son hongos comestibles muy apreciados (Pegler, 2003) y cuyo precio alcanza cifras importantes en dólares y euros (Boa, 2004). En Guatemala este género se conoce muy poco y sólo se ha encontrado de venta en el mercado de la cabecera municipal de Totonicapán junto a otros ascomicetos (*Helvella lacunosa*, *Helvella* spp y *Gyromitra* sp.) (Bran et al., 2002 y 2003).

En la actualidad los métodos moleculares están modificando la comprensión acerca de la relación entre organismos similares, sea a nivel inter-específico como intra-específico (Wifp et al., 1996). En el caso del género *Morchella*, los resultados actuales son aún un campo confuso (Kuo, 2004), tal como lo demuestra el trabajo de Kuo (2008), en el que se analizaron más de 500 morquelas de diversas procedencias de Norteamérica (Canadá, Estados Unidos y México), muchas de ellas morfológicamente muy similares, y en el que los resultados moleculares revelaron más de una docena de especies genéticamente distintas y diversas de las europeas (Kuo, 2004, 2007 y 2008). En otro estudio filogenético de Kuo et al., (2012) se indicó que existen al menos más de 50 especies de *Morchella* a nivel mundial, y un alto grado de endemismo continental.

A pesar que las especies de *Morchella* se agrupan por sus similitudes macroscópicas, principalmente por su color (negras o amarillas), no necesariamente coinciden molecularmente (Pilz et al., 2007). Como ya se

mencionó anteriormente, las especies del género *Morchella* han sido definidas sobre la base de las características físicas, pero este tipo de estudio está quedando atrás, como resultado de los avances en el estudio de ADN (Kuo, 2004 2007 y 2008). Es muy probable que estudios moleculares de ejemplares guatemaltecos señalen la presencia de especies endémicas como está sucediendo con otros géneros como *Lactarius* y *Boletus* (Flores et al. 2011; Comandini, O., Erős-Honti, Z., Jakucs, E., Flores, R., Leonardi & Andrea C. Rinaldi, 2011).

En este estudio se aplicaron las técnicas estadísticas de análisis Cluster y Escala Multidimensional No-métrica para tratar de obtener diferencias entre las muestras, incluso a nivel intra-específico pero los resultados no dieron ninguna respuesta lógica o relación, pues aparecieron grupos muy confusos. Sin embargo, es probable que parte de los datos que causan confusión sean debidos a la falta de madurez de algunas muestras, que probablemente habrían permitido obtener medidas más estables, aunque, como ya se ha hecho ver, hay tendencia en el género a mantener mucha similitud en la forma y dimensión de sus microestructuras.

Como una contribución al conocimiento de este grupo de hongos, el presente trabajo permite la diferenciación microscópica entre hongos semejantes, como *Verpa* y *Gyromitra* (morillas falsas), algunas de las cuales son potencialmente tóxicas y que llegan a crecer junto a las morquelas (Pilz et al., 2007).

9. CONCLUSIONES

- 9.1 El conjunto de características macroscópicas y microscópicas de los ejemplares analizados indican la presencia de cuatro especies de *Morchella* en Guatemala: *M. guatemalensis*, *M. rufobrunnea*, *M. costata* y *M. elata*.
- 9.2 *M. rufobrunnea* (MICG-2210) hallada en Tuicoj, Puerta del Cielo, Huehuetenango, constituye el primer reporte de esta especie para Guatemala.
- 9.3 En Guatemala la microscopía de este género tiende a ser homogénea en cuanto a esporas, ascas y paráfisis.
- 9.4 Las medidas de esporas, ascas y paráfisis de los ejemplares guatemaltecos resultaron muy similares a las dimensiones de esporas, ascas y paráfisis reportadas en Norteamérica y Europa.
- 9.5 La mayoría de las muestras guatemaltecas presentaron valécula.

10. RECOMENDACIONES

- 10.1 Continuar la búsqueda de ejemplares de *Morchella* en otras áreas del país para confirmar la preferencia de hábitat de clima templado a frío.
- 10.2 Adquirir muestras europeas y norteamericanas para realizar una descripción y comparación microscópica y macroscópica más detallada del género en Guatemala.
- 10.3 Seguir analizando ejemplares de nuevas colectas y ampliar las áreas de muestreo para obtener datos más completos y confiables.
- 10.4 Se recomienda la aplicación de técnicas moleculares con el fin de esclarecer más la situación taxonómica de las muestras analizadas y comprender mejor la identidad y las relaciones evolutivas de las especies del género *Morchella* en Guatemala.

11. BIBLIOGRAFIA

- Alexopoulos C. (1996). *Introductory micology*. Estados Unidos: John Wiley & Sons Inc.
- Alvarez, B. (2009). *Ilustración de la Naturaleza: "El Mundo de los Hongos" en Torre Madariaga/Torre de la Biodiversidad*. Busturia, España.
- Alvarez, C y Morales, O. (2004). *Revisión taxonómica de los géneros de los hongos Morchella y Helvella de la Micoteca "Lic. Rubén Mayorga Peralta", Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Informe final de investigación).
- Baral, H. (1992). Vital versus herbarium taxonomy: morphological differences between living and dead cells of ascomycetes, and their taxonomic implications. *Myco-taxon*, 44:333-390.
- Basso, M. (1995). *Manuale di Microscopia dei Funghi*. Italia: Librería Mykoflora Alassio.
- Boudier, E. (1982). *Icones Mycologicae*. Paris: Reprint Piantanida Lausanne.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., Flores, R., Ariza, J., Rodríguez, E. y Alarcón, D. (2002). *Hongos Comestibles De Guatemala: Diversidad, Cultivo y Nomenclatura Vernácula*. (Fase II). Guatemala: Dirección General De Investigación, USAC.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., & Flores, R. (2003). Contribución al conocimiento de Hongos comestibles de Guatemala. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 1:5-23.

- Comandini, O., Erős-Honti, Z., Jakucs, E., Flores, R., Leonardi, M. & Rinaldi, A. (2011). Molecular and morpho-anatomical description of mycorrhizas of *Lactarius rimosellus* on *Quercus* sp., with ethnomycological notes on *Lactarius* in Guatemala. *Mycorrhiza*, 22:279-287.
- Calonge, F. (1972). Estudio sobre Hongos: Aportación al catalogo de las provincias de Madrid y Segovia. *Anales Inst Bot*, 28:5-34.
- Che, G. (2009). *Descripción y comparación de estructuras microscópicas de Boletus pinophilus Pilat y Dermek de distintas procedencias de Guatemala respecto a las descritas para Europa*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación).
- Cojti, M. (1998). *Diccionario de Idioma Kaqchikel: Kaqchikel español*. Guatemala.
- Cuesta, J., y Jiménez, J. (2008). *Morchella elata*. Recuperado el enero de 2010, de Asociación Micológica: <http://www.amanitacesarea.com/morchella-elata.html>.
- Flores, E. (2009). Desarrollo local; de la mano de lo nuestro. *Lanahue Noticias*, 1-6.
- Flores, R. (1997). *Hongos Ectomicorrícicos asociados a Abies guatemalensis, Pinus rudis y P. ayacahuite de la Sierra de Los Cuchumatanes y su aprovechamiento para la producción de planta forestal micorrizada*. Guatemala: Dirección General de Investigación, USAC.
- Flores, R. (2002). *Hongos Micorrícicos de bosques de pino y pinabete*. Guatemala: Dirección General de Investigación, USAC.

- Flores, R. (2003). *Lactarius* sección *Dapetes* y *Boletus* grupo *Edulis* en Guatemala. Micorrización y estudio filogenético. Universidad de Murcia, España. Tesis Doctoral.
- Flores, R., Honrubia, M., Landaverde, P., Che, G. Maldonado, M. & García J. (7th April, 2011). New species of *Boletus edulis* group in Guatemala and Central America. *Abstract book of the Sixth International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM6)*. Rabat, Morocco.
- Fries, E. (1822). *Systema Mycologicum sistens Fungorum Ordines, Genera et Species, huc usque cognitae, Quas ad Norman methodi naturalis determinavit, disposuit atque descripsit. Morchelea. Systema Mycologicum*, 2:6.
- Gálvez, C. (2011). 55. Gálvez C. *Descripción de especies del género Amanita Pers. (Amanitaceae, Agaricales, Basidiomycota) de las secciones Amanita, Caesareae Y Vaginatae recolectadas en Guatemala*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación).
- García, M. (2010). *Reactivos Químicos para Hongos, tinciones y colorantes para microscopia: Reacciones de los colorantes en diferentes especies de hongos*. Recuperado el junio de 2010, de <http://aeerita.iespana.es/hongos/home/reactivos.htm>
- Gessner, R., Romano, M. & Schultz, R. (1987). Allelic variation and segregation in *Morchella deliciosa* and *M. esculenta*. *Mycologia*, 79:683-687.
- Gessner, R. (1995). Genetic and systematics of North American population of *Morchella*. *Canad. J. Bot.* 1:967-972.

- Gomez, L. (1971). Un Nuevo Discomycete operculado de América Central: *Morchella herediana*, nov. sp. *Darwiniana*, 16:417-426.
- Guzmán, G. Torres, & Sommerkamp, I. (1985). Fungi from Guatemala; I. A new Species of *Morchella* . *Micologia Helvetica*, 1:451-459.
- Guzmán, G., & Tapia, F. (1998). The know morel in Mexico, a description of a new blushing species, *Morchella rufobrunnea*, and new data on *M. guatemalensis*. *Mycologia*, 90:705-714.
- Hanlin, R., y Tortolero, O. (1990). *Géneros Ilustrados de Ascomycetos*. Venezuela: Editorial Botánica S.A.
- Hall, R. (2003). *Edible and Poisonous Mushrooms of World*. Portland, Estados Unidos: Timber Press.
- Index Fungorum. (2011). *Morchella*. Recuperado el 2011, <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>
- Kellner, H., Renker, C., & Buscot, F. (2005). Species diversity within *Morchella esculenta* group (Ascomycota: Morchellaceae) in Germany and France. *Organisms Diversity & Evolution*, 5:101-107.
- Kobold, M. (1998). *Setas, prados y bosques; como identificarlas, respetarlas, recogerlas y cocinarlas*. España: Susaeta.
- Korf, R. (1973). *Discomycetes and Tuberales*. Estados Unidos: Academic Press.
- Krieglsteiner, G. (1993). *Verbreitungsatlas der Grospilze Deutschlands (West)*. Band 2: Schlauchpilze. Ulmer, Stuttgart.

- Kuo, M. (Diciembre de 2002). *When a where morels grow*. Recuperado en el 2010 de: <http://www.mushroomexpert.com/morels/whenwhere.html>
- Kuo, M. (Julio de 2004). *Morchella rufobrunnea*. Recuperado en el 2010 de MushroomExpert.Com: http://www.mushroomexpert.com/morchella_rufobrunnea.html
- Kuo, M. (abril de 2006). *Morchella esculenta*. Recuperado en el 2010 de Mushroomexpert.com: http://www.mushroomexpert.com/morchella_esculenta.html
- Kuo, M. (2007). 100 Edible Mushrooms. United States of America: the University of Michigan Press.
- Kuo, M. (2008). *Morchella tomentosa*, a new species from western North America, and notes on *M. rufobrunnea*. *Mycotaxon*, 105:441-446.
- Kuo, M., Dewsbury, D., O'Donnell, K., Carter, MC., Rehner, S., Moore, JD., Moncalvo, JM., Canfield, S., Stephenson, S., Metheven, A. & Volk, T. (2012) Taxonomic revision of true morels (*Morchella*) in Canada and the United States. *Mycologia*, 1159-1177
- Largent, D., Johnson, D., & Watling, R. (1977). *How to identify mushrooms to genus III: microscopic features*. Estados Unidos: Mad River Press Inc.
- Maldonado, M. (2010). *Determinación y comparación de las microestructuras de Boletus edulis sensu lato de Guatemala con respecto a las microestructuras de Boletus edulis de Europa*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación).

- McFarlane, E., Pilz, D., & Weber, N. (2005). High-elevation gray morels and other *Morchella* species harvested as non-timber forest products in Idaho and Montana. *Mycologist*, 19:62-68.
- Miller, S., Torres, P. & McClean, T. (1994). Persistence of Basidiospores and sclerotia of ectomycorrhizal fungi and *Morchella* in soil. *Mycologia*, 86:89-95.
- Molina, R. (1993). *Biology, Ecology and Social aspects of wild edible mushrooms in the forests of the Pacific Northwest: a preface to managing commercial harvest*. Portland, Estados Unidos : Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station.
- Morales, O. (2002). Estudio Etnomicológico de la cabecera municipal de Tecpán Guatemala, Chimaltenango. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 1:10-20.
- Palazón, F. (1994). El género *Morchella* en bosques de coníferas de Alto-Aragón. *Lucas Mallada*, 6:207-225.
- Papetti, C., Colosini, C., Chiari, M., & Marchina, E. (1990). *Introduzione allo studio dei funghi, Vol I. Museo Civico di Scienze Naturali di Brescia*. Italia: Circolo Micologico Giovanni Carini.
- Pegler, D. (2003). Useful fungi of the world: Morels and truffles. *Mycologist*, 17:174-175.
- Peréz, J., Martínez, M., Yescas, A., Delgado, A., Xoconostle, B (2008). Wild Mushroom Markets in central Mexico and a case study at Ozumba. *Economic Botany* , 62:425-436.
- Pérez, J. (2010). *Los Hongos Comestibles Silvestres; del parque Nacional Iztapa-Popo, Zoquiapan y anexos*. México: Colegio de Postgraduados.

Persoon, C. (1801). *Synopsis Methodica Fungorum*.

Pilz, D., McLain, R., Alexander, S., Villarreal-Ruiz, L., Berch, S., Wurtz, T., Parks, CG., McFarlane, E., Baker, B., Molina, R. & Smith, JE. (2007). *Ecology and management of morels harvested from the forests of western North America*. Estados Unidos: Forest Service Pacific Northwest Research Station.

Piqueras, J. (1999). *El Síndrome cerebeloso por colmenilla; Setas del Alto Aragón*. Barcelona, España: Publicaciones y Ediciones del Alto Aragón, S.A.

Piqueras, J. (2003). La toxicidad de las colmenillas (*Morchella* sp). *Lactarius*, 12:83-87.

Pognat, C. (2001). Estudio de la comercialización de los productos forestales no madereros en la zona de amortiguación de la Reserva Nacional Malleco y propuestas de alternativas por su manejo. *Boletín Divulgativo. INFOR*.

Ramírez, D. (2006) Protocolos para la preservación y manejo de colecciones biológicas. *Boletín Divulgativo. Museo de Historia Natural*, 2006. 117-148

Roody, W. (2003). *Mushrooms of West Virginia and the Central Appalachians*. United States of America: The University Press of Kentucky.

Rubio, E. (2005). Catálogo Provisional de los Macromicetos (Setas) de Asturias. 1-216.

Ruiz, J. (1999). Tres variedades de *Morchella conica*. *Setas y Plantas*, 18:1.

Serrano, P. y Pérez, M. (2006). Setas de Primavera. *Sabor de Aragón*, 48:12-13.

- Sharp A. Some fungi common to the highlands of Mexico and Guatemala and Eastern United States. *Mycologia* 1948; 40:499-502.
- Sommerkamp, I. y Guzmán, G. (1990). Hongos de Guatemala, II. Especies depositadas en el herbario de la Universidad de San Carlos de Guatemala. *Rev Mex Micol*, 6:179-197.
- Sommerkamp Y. (1990) Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Guatemala.
- Valdebenito, G., Campos, J., Larraín, O., Aguilera, M., Kahler, C., Ferrando, M., García, E., Sotomayor, A. (2003). *Morchella* spp. Boletín Divulgativo. *INFOR. Chile*, 7:3-6.
- Veliz, M. (2007). Divesidad Florística de Guatemala. *Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP)*, 6:26-269.
- Wifp, D., Munch, J., Botton, B. & Buscot, F. (1996). DNA Polymorphism in Morels: Complete Sequences of the Internal Transcribed Spacer of Genes Coding for rRNA in *Morchella esculenta* (Yellow Morel) and *Morchella conica* (Black Morel). *Environmental Microbiology*, 62:3541-3543.
- Winder, R. (2006). Cultural studies of *Morchella elata*. *Mycological Research*, 110:612-623
- Yoon, C., Gessner, R. & Romano, M. (1990). Population Genetics and Systematics of the *Morchella esculenta* complex. *Mycologia*, 82:227-235.

12. ANEXOS

Anexo 1. Descripción del hábitat, disposición de costillas, alvéolos y otras características macroscópicas de los ejemplares de *Morchella* analizados en este estudio.

DESCRIPCION MACROSCOPICA	*IDENTIFICACIÓN CONTENIDA EN BOLETA ADJUNTA AL EJEMPLAR
G-512 Creció en orilla de banqueta de cemento (suelo). Valécula presente, sólo alvéolos primarios, dispuestos sin ningún orden. Descripción original muy breve.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-513 Fue hallado en bosque de pino. Valécula presente, las costillas no presentan ninguna alineación y todas se hallan al mismo nivel. Alvéolos todos primarios. Descripción original muy breve.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-514 Se halló creciendo en bloques de cemento en el suelo. Ascocarpo de forma cónica, con alvéolos irregulares. Mide entre 12 a 16 cm de alto por 2 a 6 cm diámetro. Valécula presente.	<i>Morchella</i> sp.
MICG-515 Encontrado en grama de jardín a 3.5 metros de un árbol de eucalipto. Píleo: Longitud de 10.5 cm, de un color gris y con alvéolos gruesos, costillas sobresalientes y alineadas verticalmente. Valécula presente.	<i>Morchella costata</i>
MICG-516 Hallado en jardín de casa zona 07. Alvéolos primarios dispuestos sin ningún orden. Descripción original muy breve.	<i>Morchella esculenta</i>

MICG-517

Fue hallado en Jardín con cipreses, desprendía un olor fuerte a cloro.
Valécula presente, alvéolos todos al mismo nivel, sin orden. Descripción original muy breve.

Morchella esculenta

MICG-522

Se manchaba de rojo-café al tocarlo.
Valécula presente y alvéolos primarios sin ningún orden. Descripción original muy breve.

Morchella guatemalensis

MICG-523

Fue hallado en bosque abierto y perturbado de cipreses y encinos, con la presencia de mucha *Tillandsia usneoides*. Se manchaba de rojo-café al tocarlo.
Valécula presente con alvéolos todos primarios y dispuestos sin ningún orden. Descripción original muy breve.

Morchella guatemalensis

MICG-524

Hallado en un jardín sobre acera de cemento, bajo árbol de fuego (*Brachychiton acerifolium*), se manchaba de rojo-café al tocarlo.
Alvéolos todos primarios y dispuestos sin ningún orden. Valécula presente. Descripción original muy breve.

Morchella guatemalensis

MICG-2209

Hallado en camino de cipreses.
Himenóforo elipsoidal, de 32 a 50mm de longitud por 15 a 20mm de ancho, con costillas blanquecinas y alvéolos grandes, profundos de 22mm por 0.8mm, hasta 0.6mm de profundidad. Superficie interior 5b5 a 5b8, interior de color blanco, granuloso y algodonoso. Valécula presente.
Estípite: hueco, cilíndrico de 20mm largo por 4mm de ancho, de color blanco 5A4 con el contexto 5A5 y el interior blanco.

Morchella sp.

MICG-2210

Píleo: 53 mm de longitud por 32 mm de base, con forma cónica y de color gris a café oscuro $9 \frac{4}{F}$. El ápice mide 14mm. El ancho máximo de las costillas es de 6 mm con profundidad de los alvéolos de 6 mm por 4mm de ancho. Valécula presente

Estípite: Color blanquecino, de aspecto granuloso. Con medidas de diámetro de 20mm en la parte alta por 15mm en la parte media y 20mm en la parte baja. La base es alveolada. Superficie basal de color blanco con fibras compactas, se manchaba de marrón $7 \frac{6}{e}$ con el maltrato.

Color de la esporada: amarillenta cerca al $4 \frac{2}{a}$.

Morchella sp.

MICG-2212

Píleo: de color beige $5 \frac{5-6}{b}$ con costillas longitudinales de 10 mm de separación entre ellas, 60mm de longitud y 40 mm de diámetro, tiene una forma achatada deprimida, la parte interior es de color blanquecino y de superficie granulosa. Valécula presente.

Estípite: 40 mm de longitud hasta 60 mm color blanco beige $5 \frac{2}{a}$ superficie granulosa con gracias hidrófanas. Forma deprimido en algunos ejemplares y en otros atenuado en el ápice ensanchado en la base 20mm de diámetro.

Morchella sp.

MICG-2213

Alvéolos ordenados, costillas en sentido vertical y otras en sentido horizontal, presencia de alvéolos primarios y secundarios.

Descripción original muy breve.

Morchella sp.

MICG-2214

Píleo: de color café $6 \frac{7}{f}$, se oscurece en los bordes tornándose de un color negruzco, mide de 67-75mm de longitud, con forma aguda, de 18 a 30mm de diámetro en el ápice y 27 a 67mm de diámetro en base, las costillas de miden de 5 hasta 10mm de ancho, de forma longitudinales.

Estípite: de 50 a 10mm de longitud, la superficie de la base y hacia el píleo es granulosa en la parte exterior y en el interior. Color café beige $5-6 \frac{6}{d}$ en adultos y en jóvenes.

Morchella sp.

MICG-2215

Valécula presente, algunas costillas alineadas verticalmente y otras horizontalmente, alvéolos primarios y secundarios.

Descripción original muy breve.

Morchella sp.

MICG-2216

Píleo: 65mm de longitud, 40mm de diámetro de base y 2.3cm diámetro de ápice. Color amarillo naranja $5 \frac{6}{b}$, Costillas separadas hasta 15 mm, con alvéolos grandes hasta 13mm de ancho. Valécula presente.

Estípite: Ensanchado, ápice 27mm de ancho por 20mm de diámetro en parte media y 23mm de diámetro en la base, 85mm de longitud. La superficie visible de color amarillo $4 \frac{3}{a}$, Con algunas machas naranja pálido.

Esporada de color naranja.

Morchella sp.

MICG-2223

Ascocarpo de 80 a 100mm de longitud, incluyendo estípite, con costilla longitudinales y alvéolos un poco alargados, con numerosas tabicaciones y anastomosis no conspicua, la forma general es parecida a la de un pincel, cuando son jóvenes y cuando son adultos un poco globoso, color entre amarillento y café $5 \frac{2}{b}$ y $5 \frac{3}{b}$, se mancha de color café a rojizo particularmente sobre la línea de las costillas y hacia la base del estípite. Valécula presente.

Estípite: interior hueco, blanquecino y de aspecto aterciopelado, cilíndrico y con depresiones hacia la base, color amarillento, la base presenta micelio blanco. En adultos hacia la base se mancha de café rojizo

Morchella guatemalensis

MICG-230809

Encontrado en bosque municipal

Píleo: Valécula presente, costillas alineadas, todas primarias.

Morchella spp.

MICG-19

Píleo: Valécula presente, costillas y alvéolos todos primarios y de disposición desordenada

Morchella spp.

MICG-20

Píleo: valécula presente, costillas todas primarias y dispuestas sin ningún orden.

Morchella spp.

Fuente: Base de datos experimental

*Identificación proporcionada por la Micoteca "Lic. Rubén Mayorga Peralta - MICG", del Departamento de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Anexo 2. Dimensiones de Paráfisis de muestras de *Morchella* recolectadas en Guatemala y analizadas en este estudio.

MUESTRA	PARÁFISIS (µm)					
	LARGO*	Min	Max	ANCHO*	Min	Max
MICG-512	154.8 ± 35.7	87.5	225.0	10.1 ± 1.5	7.5	15.0
MICG-513	105.9 ± 12.4	87.5	125.0	14.6 ± 2.2	11.25	20.0
MICG-514	163.0 ± 39.8	97.5	237.5	15.0 ± 2.1	10.0	20.0
MICG-515	123.8 ± 11.3	107.5	142.5	12.7 ± 1.5	10.0	15.0
MICG-516	142.5 ± 26.2	105.0	205.0	13.6 ± 2.7	10.0	20.0
MICG-517	116.6 ± 18.0	92.5	172.5	10.8 ± 1.4	8.8	12.5
MICG-522	131.3 ± 19.0	102.5	177.5	10.1 ± 0.8	8.8	12.5
MICG-523	116.3 ± 20.0	75.0	157.5	10.0 ± 1.1	7.5	12.5
MICG-524	149.9 ± 26.5	112.5	232.5	14.1 ± 1.4	12.5	17.5
MICG-2209	126.4 ± 17.0	87.5	162.5	13.8 ± 1.6	10.0	17.5
MICG-2210	124.1 ± 14.2	105.0	155.0	12.3 ± 2.6	7.5	17.5
MICG-2212	148.4 ± 21.1	107.5	190.0	12.4 ± 2.1	10.0	17.5
MICG-2213	110.0 ± 21.10	85.0	177.5	12.9 ± 1.6	10.0	16.3
MICG-2214	109.1 ± 18.4	70.0	150.0	11.8 ± 1.4	10.0	15.0
MICG-2215	134.0 ± 13.3	112.5	175.0	7.7 ± 1.2	6.3	10.0
MICG-2216	129.1 ± 10.8	100.0	145.0	14.4 ± 2.0	11.3	20.0
MICG-2223	115.8 ± 16.1	90.0	150.0	11.4 ± 2.0	8.8	17.5
MICG-230809	131.7 ± 14.2	105.0	160.0	10.7 ± 1.4	7.5	12.5
MICG-19	145.6 ± 16.0	122.5	170.0	13.1 ± 1.6	10.0	16.3
MICG-20	127.8 ± 16.5	110.0	167.5	12.3 ± 1.6	10.0	15.0

Fuente: Base de datos experimental

* **Media ± desviación estándar**

Anexo 3. Dimensiones de Ascas de muestras de *Morchella* recolectadas en Guatemala y analizadas en este estudio.

MUESTRA	ASCAS (µm)					
	LARGO*	Min	Max	ANCHO*	Min	Max
MICG-512	214.4 ± 35.5	150.0	262.5	22.1 ± 2.0	20.0	25.0
MICG-513	264.9 ± 19.9	225.0	292.5	20.2 ± 1.7	17.5	25.0
MICG-514	294.4 ± 56.4	212.5	462.5	22.0 ± 2.5	17.5	25.0
MICG-515	278.4 ± 21.5	242.5	325.0	23.4 ± 2.6	17.5	27.5
MICG-516	299.4 ± 39.3	247.5	387.5	22.6 ± 3.3	17.5	30.0
MICG-517	289.8 ± 28.5	250.0	345.0	24.5 ± 3.1	17.5	30.0
MICG-522	292.8 ± 34.7	250.0	370.0	21.0 ± 2.6	17.5	27.5
MICG-523	229.8 ± 25.9	187.5	275.0	23.1 ± 3.2	15.0	27.5
MICG-524	315.0 ± 30.3	255.0	390.0	20.4 ± 2.1	16.3	25.0
MICG-2209	280.8 ± 32.3	237.5	372.5	22.0 ± 2.3	17.5	27.5
MICG-2210	305.4 ± 32.2	257.5	390.0	20.9 ± 1.7	17.5	25.0
MICG-2212	306.4 ± 31.4	255.0	375.0	20.5 ± 3.0	15.0	27.5
MICG-2213	272.3 ± 48.1	180.0	355.0	20.8 ± 1.4	17.5	22.5
MICG-2214	255.9 ± 23.2	212.5	305.0	25.4 ± 6.1	20.0	42.5
MICG-2215	299.8 ± 20.2	247.5	330.0	19.3 ± 1.1	17.5	20
MICG-2216	284.9 ± 21.8	247.5	312.5	19.9 ± 3.4	15.0	27.5
MICG-2223	280.0 ± 33.9	232.5	367.5	20.9 ± 2.3	17.5	25.0
MICG-230809	373.5 ± 49.3	305.0	475.0	21.4 ± 2.8	16.25	27.5
MICG-19	295.6 ± 23.3	262.5	357.5	20.3 ± 2.8	15.0	25.0
MICG-20	323.1 ± 28.0	277.5	400.0	20.4 ± 1.5	17.5	22.5

Fuente: Base de datos experimental

* **Media** ± desviación estándar

Anexo 4. Dimensiones de Ascosporas de muestras de *Morchella* recolectadas en Guatemala y analizadas en este estudio.

MUESTRA	ESPORAS (µm)					
	LARGO*	Min	Max	ANCHO*	Min	Max
MICG-512	23.7 ± 2.1	20.0	28.0	15.3 ± 1.5	13.0	18.0
MICG-513	Sin esporas	-	-	-	-	-
MICG-514	22.2 ± 0.9	20	24.0	14.7 ± 0.6	14.0	16.0
MICG-515	17.45 ± 1.0	15.0	19.0	9.9 ± 0.8	8.0	11.0
MICG-516	22.5 ± 1.9	20.0	26.0	14.7 ± 0.9	13.0	17.0
MICG-517	23.3 ± 1.9	20.0	26.0	15.4 ± 0.9	14.0	17.0
MICG-522	23.3 ± 1.5	21.0	26.0	15.1 ± 1.0	14.0	17.5
MICG-523	22.9 ± 1.2	21.0	25.0	14.3 ± 0.7	13.0	16.0
MICG-524	23.0 ± 1.2	20.0	25.0	14.8 ± 1.1	13.0	17.0
MICG-2209	21.3 ± 1.0	19.0	23.0	14.1 ± 1.1	12.0	16.0
MICG-2210	21.4 ± 1.2	20.0	23.5	14.3 ± 0.9	13.0	16.0
MICG-2212	21.7 ± .4	19.0	24.0	14.5 ± 1.0	13.0	17.0
MICG-2213	23.0 ± 1.9	19.0	26.0	14.2 ± 1.2	13.0	16.0
MICG-2214	20.7 ± 2.1	17.0	25.0	14.4 ± 1.3	12.0	17.0
MICG-2215	21.9 ± 1.9	19.0	25.0	14.6 ± 1.0	13.0	16.5
MICG-2216	19.8 ± 1.1	17.0	21.5	12.3 ± 0.7	11.0	14.0
MICG-2223	20.9 ± 1.3	19.0	24.0	13.4 ± 0.8	12.0	15.0
MICG-230809	25.0 ± 1.2	23.0	28.0	15.7 ± 0.7	15.0	17.5
MICG-19	20.2 ± 1.2	18.0	23.0	14.5 ± 1.2	13.0	16.0
MICG-20	19.9 ± 0.8	18.5	22.0	13.6 ± 1.0	12.0	16.0

Fuente: Base de datos experimental

* **Media** ± desviación estándar

Anexo 5. Valor “Q” y forma de ascoporas de muestras de *Morchella* analizadas en este estudio

MUESTRA	VALOR Q	FORMA DE ASCOSPORAS
MICG-512	1.5	Elipsoidal
MICG-513	Sin esporas	Sin esporas
MICG-514	1.5	Elipsoidal
MICG-515	1.8	Elipsoidal
MICG-516	1.5	Elipsoidal
MICG-517	1.5	Elipsoidal
MICG-522	1.5	Elipsoidal
MICG-523	1.6	Elipsoidal
MICG-524	1.7	Elipsoidal
MICG-2209	1.5	Elipsoidal
MICG-2210	1.5	Elipsoidal
MICG-2212	1.5	Elipsoidal
MICG-2213	1.6	Elipsoidal
MICG-2214	1.4	Elipsoidal
MICG-2215	1.5	Elipsoidal
MICG-2216	1.6	Elipsoidal
MICG-2223	1.6	Elipsoidal
MICG-230809	1.6	Elipsoidal
MICG-19	1.4	Elipsoidal
MICG-20	1.5	Elipsoidal

Fuente: Base de datos experimental

Anexo 6. Dimensiones de las estructuras microscópicas de las muestras de *Morchella* recolectadas en Guatemala y analizadas en este estudio.

No.	MUESTRA	*PARÁFISIS (µm)	*ASCAS (µm)	*ASCOSPORAS (µm)
1	MICG-512	(87.5)100.0-162.5(225.0) x (7.5)-10.0(15.0)	(150.0)-237.5(262.5) x 20.0-(25.0)	(20.0)-24.0(28.0) x (13.0)15.0-16.0(18.0)
2	MICG-513	(87.5)-112.5(125.0) x (11.25)-15.0(20.0)	(225)250-282.5(292.5) x (17.5)-20.0(25.0)	Sin esporas
3	MICG-514	(97.5)-187.5 (237.5) x (10.0)-15.0(20.0)	(212.5)262.5-(462.5) x (17.5)20.0-25.0	(20.0)-22.0(24.0) x (14.0) -15.0(16.0)
4	MICG-515	(107.5)-125.0(142.5) x (10.0)-12.5(15.0)	(242.5)-275.0(325) x (17.5)22.5-25(27.5)	(5.0)-18.0(19.0) x (8.0)-10.0(11.0)
5	MICG-516	(105)137.5-145.0(205.0) x (10.0)-12.5(20.0)	(247.5)-312.5(387.5) x (17.5)22.5-25.0(30.0)	(20.0)-21.0(26.0) x (13.0) -15.0(17.0)
6	MICG-517	(92.5)-100.0(172.5) x (8.8)-10.0(12.5)	250.0-(345.0) x (17.5)-25.0(30.0)	(20.0)22.0-25.0(26.0) x (14.0)-16.0(17.0)
7	MICG-522	(102.5)-110.0(177-5) x (8.8)-10.0(12.5)	250.0-277.5(370.0) x (17.5)-20.0(27.5)	(21.0)-24.0(26.0) x (14.0)-15.0(17.5)
8	MICG-523	(75.0)-125.0(157.5) x (7.5)-10.0(12.5)	187.5-237.5(275.0) x (15.0)-22.5(27.5)	(21.0)22.0-23.0(25.0) x (13.0) -14.0(16.0)
9	MICG-524	(112.5)-150.0(232.5) x (12.5)-15.0(17.5)	(255)322.5-325(390.0) x (16.3)-20.0(25.0)	(20.0)-24.0(25.0) x (13.0)-15.0(17.0)
10	MICG-2209	(87.5)120.0-125.0(162.5) x (10.0)-15.0(17.5)	(237.5)-267.5(372.5) x (17.5)-22.5(27.5)	(19.0)-21.0(23.0) x (12.0)-14.0 (16.0)
11	MICG-2210	(105.0)-117.5(155.0) x (7.5)10.0-12.5(17.5)	(257.5)-310.0(390.0) x (17.5)-20.0(25.0)	20.0-22.0(23.5) x (13.0)-14.0(16.0)
12	MICG-2212	(107.5)-137.5(190.0) x (10.0)-12.5(17.5)	(255.0)-267.5(375.0) x (15.0)20.0-22.5(27.5)	(19.0)-22.0(24.0) x (13.0)-14.0(17.0)
13	MICG-2213	(85.0)100.0-102.5(177.5) x (10.0)-12.5(16.3)	(180.0)300.0-355.0 x (17.5)-20.0(22.5)	(19.0)-23.0(26.0) x 13.0-(16.0)
14	MICG-2214	(70.0)-100.0(150.0) x (10.0)-12.5(15.0)	(212.5)-237.5(305.0) x (20.0)-22.5(42.5)	(17.0)-22.0(25.0) x (12.0)-14.0(17.0)
15	MICG-2215	(112.5)-125.0(175.0) x (6.3)-7.5(10.0)	(247.5)287.5-312.5(330) x (17.5)-20.0	(19.0)-23.0(25.0) x (13.0)-15.0(16.5)
16	MICG-2216	(100.0)125.0-135.0(145.0) x (11.3)-15.0(20.0)	(247.5-3)-300.0(12.5) x (15.0)-17.5(27.5)	(17.0)-20.0(21.5) x (11.0)-12.0(14.0)
17	MICG-2223	(90.0)-100.0(150.0) x (8.8)-10.0(17.5)	(232.5)-267.5(367.5) x (17.5)-20.0(25.0)	(19.0)-21.0(24.0) x (12.0)-13.0(15.0)
18	MICG-230809	(105.0)-141.3(160.0) x (7.5)-10.0(12.5)	305.0-362.5(475.0) x (16.25)-20.0(27.5)	(23.0)-25.0(28.0) x (15.0)-16(17.5)
19	MICG-19	(122.5)-132.5(170.0) x (10.0)-12.5(16.3)	(262.5)297.5-305.0(357.5) x (15.0)-20.0(25.0)	(18.0)-20.0(23.0) x (13.0)14.0-16.0
20	MICG-20	(110.0)-112.5(167.5) x (10.0)-12.5(15.0)	(277.5)-302.5(400.5) x (17.5)-20.0(22.5)	(18.5)-20.0(22.0) x (12.0)-14.0(16.0)

Fuente: Base de datos experimental

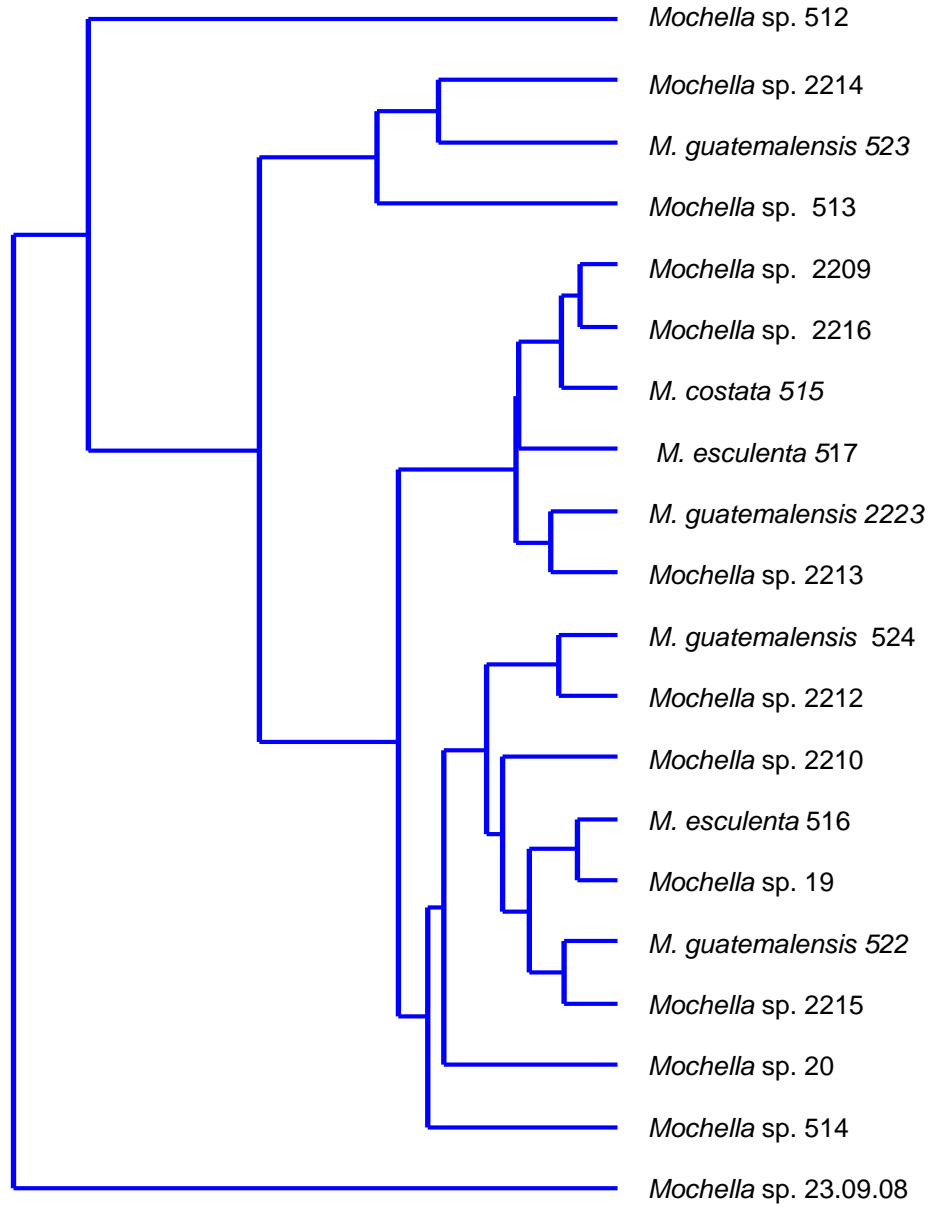
* Moda más los datos entre paréntesis que indican el valor menor y mayor obtenidos de las estructuras analizadas.

Anexo 7. Las posibles formas de las esporas para el género *Morchella*, según el valor aritmético del cociente Q medio.

FORMA DE LA ESPORA	VALOR Q
Esporas globosas	1.01 - 1.05
Esporas subglobosas	1.06 - 1.15
Esporas ampliamente elipsoides	1.16 - 1.30
Esporas elipsoides	1.31 - 1.60
Esporas cilíndricas	2.0 - 3.0
Esporas baciliformes	>3.0

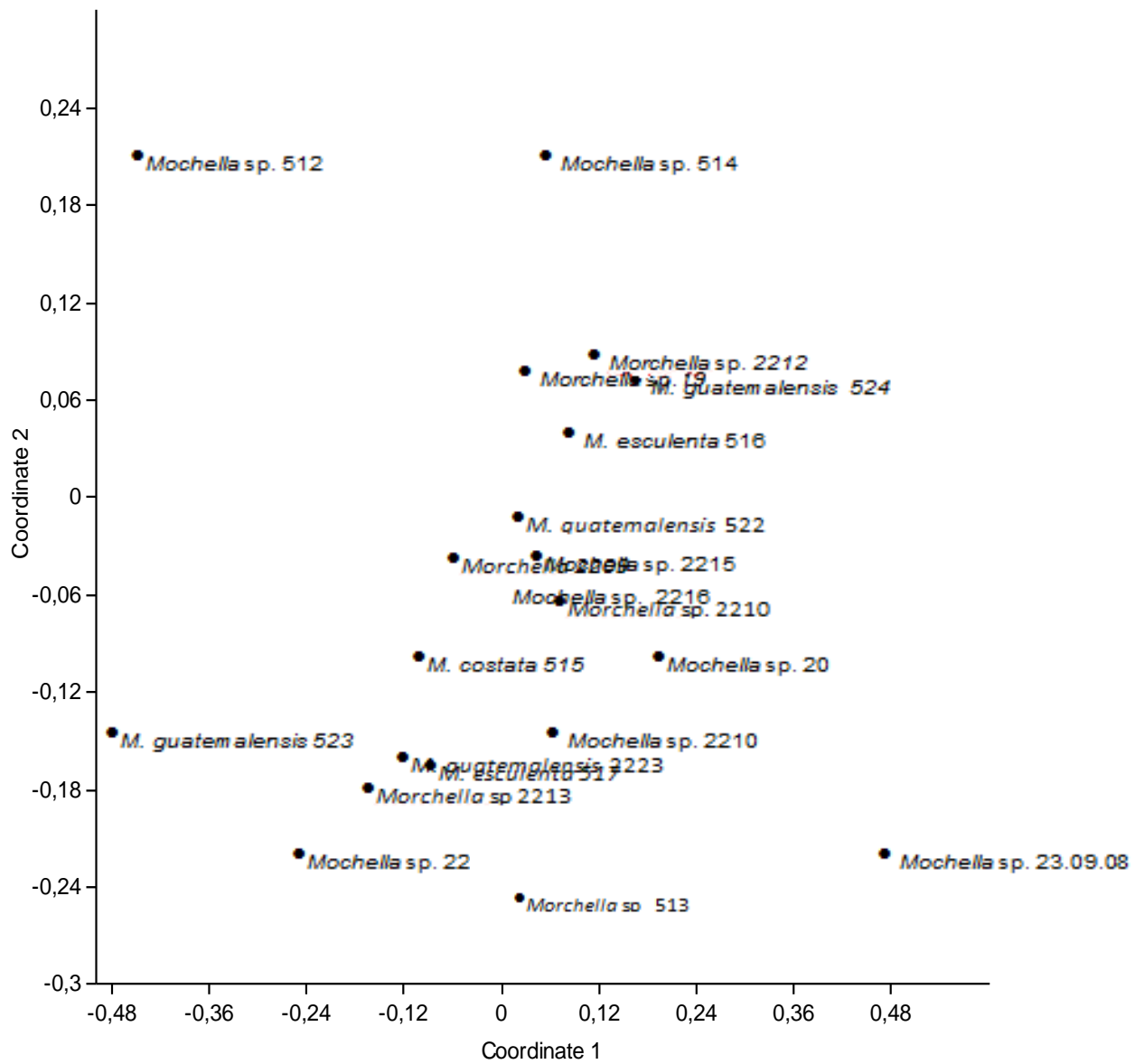
Fuente: Largent, D., Johnson, D., & Watling, R. (1977). *How to identify mushrooms to genus III: microscopic features*. Estados Unidos : Mad River Press Inc.

**Anexo 8. Análisis de Conglomerados (Cluster) de los Caracteres Morfológicos
Microscópicos de *Morchella***



Fuente: datos experimentales

Anexo 9. Análisis a Escala Multidimensional No Métrica (NMDS) de los Caracteres Morfológicos Microscópicos de *Morchella*



Fuente: datos experimentales

Anexo 10. Foto *Morchella sp*



Fuente: Flores, R. (2002). *Hongos Micorrícicos de bosques de pino y pinabete*. Guatemala: Dirección General de Investigación, USAC.

Anexo 11. Ilustración de *Morchella sp*



Fuente: Alvarez, B. (2009). *Ilustración de la Naturaleza: "El Mundo de los Hongos"* en Torre Madariaga/Torre de la Biodiversidad. Busturia, España.

Anexo 12. Microscopía de *Morchella* *Morchella elata*



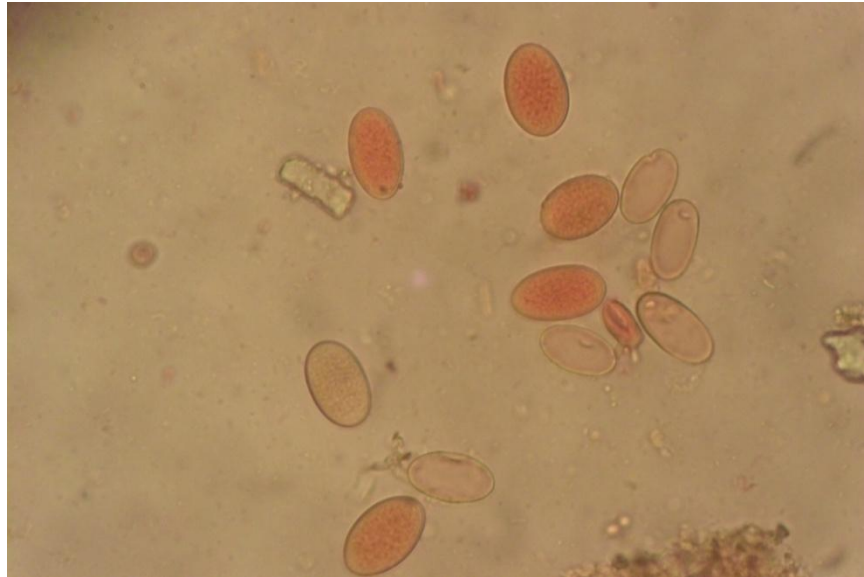
Fuente: *Morchella*. *Morchella elata* var. *Purpurascens*. (2011). Recuperado el 2012, de Discover life: http://www.discoverlife.org/mp/20p?see=I_MWS26526&res=640

Paráfisis de *M. Tomentosa*



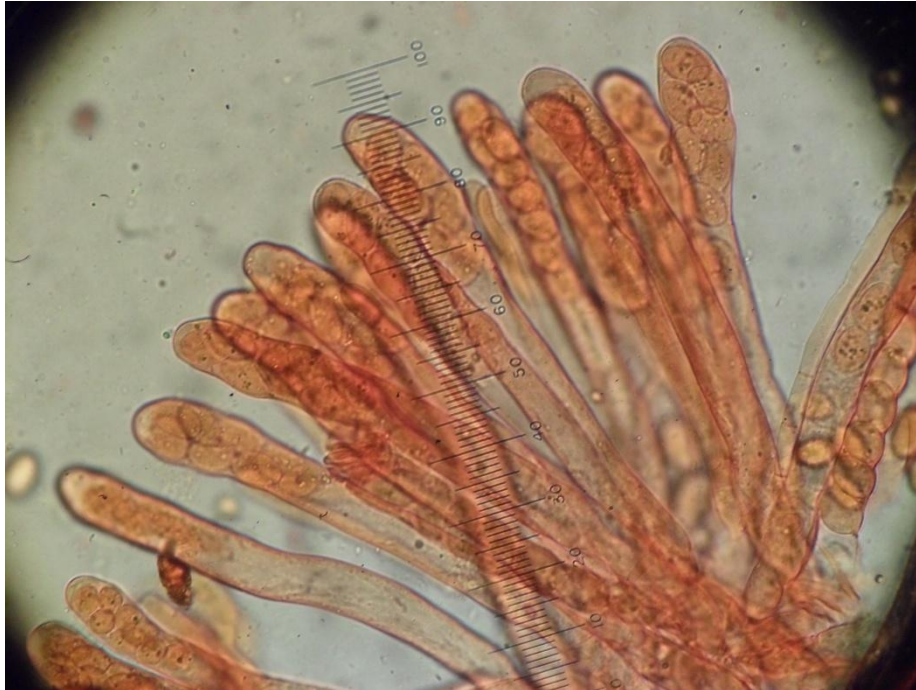
Fuente: Kuo, M. (2008). *Morchella tomentosa*, a new species from western North America, and notes on *M. rufobrunnea*. *Mycotaxon*, 441-446.

Ascosporas



Fuente: experimental

Ascas



Fuente: experimental



Fuente: experimental

Paráfisis



Fuente: experimental

Anexo 13. Preparación de reactivos

- **Reactivo de Melzer:** disolución Yodada a la que se le ha añadido hidrato de cloral, para medir en esporas, basidios, ascas e hifas, la reacción amiloide, coloración azul, o reacción dextrinoide si es coloración rojiza marrón. Se utiliza en setas con esporada hialina, blancas. Además permite ver la ornamentación de las esporas (García).

Solución Madre con:

- Yoduro potásico..... 1,5g
- Yodo..... 0,5g
- agua destilada 20 ml y agitar

Preparación de reactivo: tomar 5 ml de la solución madre y añadir 5 gr de cristal de hidrato de cloral y agitar (García).

- **Rojo Congo:** 1g de polvo de Rojo Congo disuelto en 100ml de agua destilada. Muy utilizado para colorear la pared de las hifas. Colorea el endosporo de algunas esporas. Si se mezcla con amoniaco sirve también para rehidratar. Con SDS (Sodio Dodecyl Sulfato) es un detergente que ayuda a quitar las burbujas de aire; recomendable para microfotografía, pero es irritante para la piel, es cancerígeno (García).

- **Azul de lactofenol**

Composición (39):

- Fenol.....0,1 gr
- Acido láctico.....8 ml
- Agua destilada.....10 ml
- Glicerina.....20 ml
- Azul de anilina (C.I. 42755)...0.5 g

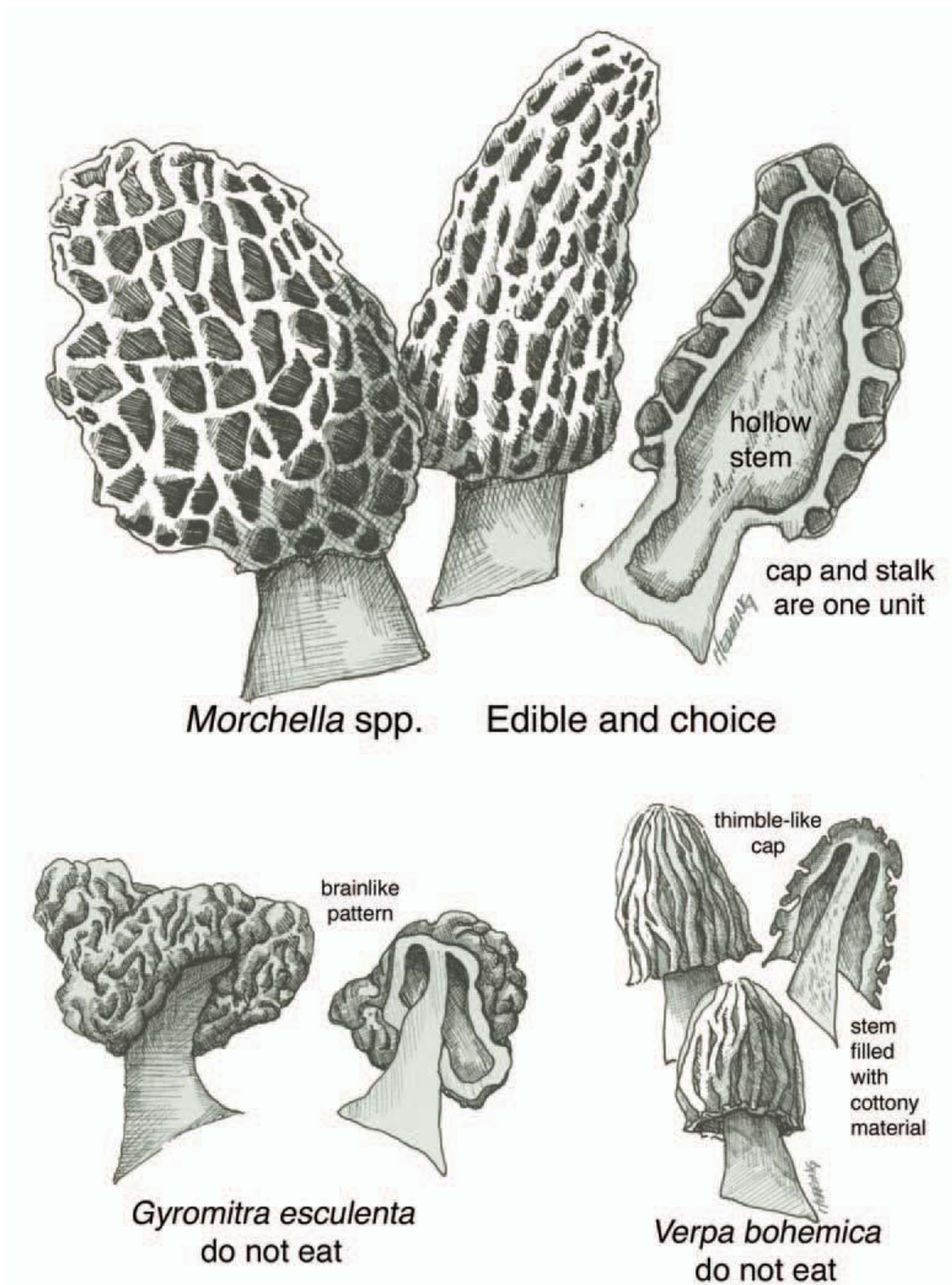
Preparación de reactivo: se disuelve calentando ligeramente en fenol, el ácido láctico, el agua destilada y la glicerina; se deja enfriar y se añade el azul de anilina. Se deja reposar durante 24 horas. Se filtra y se guarda en botella de color topacio (*Preparación de colorantes*)

Anexo 14. Clave taxonómica de Especies de *Morchella*

- 1a. Ascoma sin rubor (pero puede oscurecerse con la edad)..... 2
- 1b. Ascoma con rubor (puede ser difícil de discernir en ascomas jóvenes)..... 6
 - 2a. Himenóforo amarillento, negruzco en la vejez y ascomas pútrido..... 3
 - 2b. Himenóforo gris a negruzco..... 5
- 3a. Con costillas irregulares, formando alvéolos cortos, himenóforo globoso, Subcilíndrico a cónico, algunas veces estípite de espesor grueso..... ***M. esculenta***
- 3b. Con costillas longitudinales..... 4
 - 4a. Costillas transversales y sobresalientes, formando alvéolos Cortos y redondeados..... ***M. costata***
 - 4b. No son muy comunes las costillas transversales, con alvéolos Alargados..... ***M. elata***
- 5a. Himenóforo globoso con alvéolos cortos, redondeados y costillas Irregulares..... ***M. umbrina***
- 5b. Himenóforo subcilíndrico a cónico, con alvéolos alargados..... ***M. angusticeps***
 - 6a. Himenóforo de color amarillo anaranjado o color miel, en todas las etapas, con costillas longitudinales y alvéolos alargados, se mancha de un color vináceo oscuro a rojizo marrón..... ***M. guatemalensis***
 - 6b. Himenóforo gris cuando es joven y amarillo pardo cuando Madura, con costillas longitudinales e irregulares, alvéolos alargados A cortos, se mancha de un color marrón o rosado a rojo ferruginoso.... ***M. rufobrunnea***

Fuente: Guzman, G., & Tapia, F. (1998). The know morel in Mexico, a description of a new blushing species, *Morchella rufobrunnea*, and new data on *M. guatemalensis*. *Mycologia*, 705-714.

Anexo 15. Diferencia macroscopica entre *Morchella*, *Gyromitra* y *Verpa*



Fuente: Pilz, D. (2007). *Ecology and management of morels harvested from the forests of western North America*. Estados Unidos: Forest Service Pacific Northwest Research Station.

Anexo 16. Glosario Micológico

Ácido helvético: Compuesto de una mezcla de ácidos carboxílicos, contenidos en las especies del género *Gyromitra* y *Helvella* entre otros. Su acción principal es hemolítica. También es hepatotóxica y nefrotóxica. Antagonista de la metamina

Ascomycota: Los ascomicetos o Ascomycota constituyen una división dentro del Reino Fungi. Son hongos con micelio tabicado que producen ascosporas endógenas. La reproducción puede ser de dos tipos: asexual, por esporas exógenas (conidios o conidioesporas), y sexual, esporas endógenas (ascospora).

Alveolo: Celdilla parecida a las de los panales de la miel.

Amiloide: similar al almidón, coloreándose de negro azulado con el yodo. Las esporas presentan reacción química amiloide con el reactivo de Melzer, aparece en *Melanoleuca*, *Leucopaxillus*, *Mycena*.

Asca: Célula más o menos alargada, con forma de saco, donde se forman las esporas de origen sexual de la clase *Ascomicetes*. En substitución de este término suele utilizarse asco.

Ascosporas: Esporas que se producen en el interior de un asco (a), como resultado de un proceso de reproducción sexual.

Carpóforo: Cuerpo fructífero del hongo en el cual se hallan los órganos de reproducción sexual. Se pueden distinguir tres clases: cleistotecio, peritecio y apotecio.

Cespitosa: Cuerpos fructíferos que se desarrollan juntos pero no fusionados.

Cuerpo fructífero: Estructura reproductora que produce el hongo sobre el sustrato, cuya función es dispersar las esporas.

Coníferas: (división *Pinophyta*) son árboles o arbustos caracterizados por portar estructuras reproductivas llamadas conos.

Costilla: Línea o pliegue saliente en la superficie del píleo o sombrero del hongo. Forma los alveolos.

Esferocistos: Células grandes, globosas u ovals, que se encuentran entre las células alargadas de la trama de las *Russulas* y *Lactarius*.

Estípite: Pie que sostiene el píleo y que lo eleva de la superficie.

Gútula: Cavidad o vesícula en el protoplasma de una célula, que contiene una solución acuosa de varias sustancias, denominada jugo vacuolar. Gotita de aceite.

Hialino: Transparente, como si fuera de cristal, o por lo menos diáfano. Translúcido.

Himenio: Superficie sobre la cual se forman las estructuras reproductoras responsables de producir las esporas.

Himenóforo: Parte del hongo donde nacen las esporas; por ejemplo, láminas, tubos, espinas, dientes, pliegues, etc.

Micorriza: Simbiosis o relación estrecha entre la raíz de una planta y el micelio de un hongo; esta asociación es beneficiosa para ambos.

Operculado: Dícese de los esporangios o ascas que se abren por un pequeño opérculo o tapadera. En general cualquier órgano con opérculo.

Ovoide: Con forma de huevo.

Paráfisis: Célula estéril que se encuentra en el himenio, tanto de los basidiomycetes como de los Ascomycetes.

Píleo: (Sombrero) Parte superior de un cuerpo fructífero.

Pezizales: es un orden del subfilo Pezizomycotina, en el filo Ascomycota. Tiene un número de especies de importancia económica, como los *Morchella*, las trufas negras y las trufas blancas del género *Tuber*, y las *Terfeziaceae* trufas del desierto. Son también de gran importancia ecológica porque forman micorrizas con una variedad de árboles.

Saprobio: Organismo que obtiene su alimento a partir de la sustancia orgánica muerta o en descomposición.

Valécula: Surco entre dos costillas. Se aplica principalmente en las morquetas. Pequeña depresión circular o surco en el sombrero o pie. En el género *Morchella* define la depresión que se forma entre el final de los alvéolos y la unión del pie con el píleo.

Anexo 17. Bibliografía de los libros originales

620

MORCHELLA.

Habitat in Italia. *Areolae* oblongo-rhomboideae. *Stipes* deorsum incrassatus.

4. MORCH. VINDOSA: pileo conico margine crispo, rugis vndulatis anastomosantibus, stipite sulcato - tessellato. *Gmel. l. c. sub Phallo.*

Phallus crispus, stipite sulcato - tessellato; pileo ampliore et crispo. *Venten. l. c. p. 512. Micheli t. 34. f. 4.*

In Italia huc vsque ad ruderata inventa. *Stipes* deorsum attenuatus, superficie reticulatus?

5. MORCH. COSTATA: stipite compresso, dense foraminulato, pileo conico obtuso grandi, costis longitudinalibus insignito. *Ventenat l. c. p. 510. sub Phallo.*

Phallus Anastomosis: pileo oblongo margine adnato, rugis decurrentibus anastomosantibus, stipite crasso. *Gmel. l. c. p. 1449. — Mich. t. 35. f. 3.*

In Italiae agris crescit.

Pileus longus, ouatus. *Areolae* longissimae, venis transuersis anastomosantes. *Stipes* pileo subbreuior. (*Q. ic.*)

6. MORCH. HYBRIDA: pileo acute conico breui, areolis oblongis costatis venis

Hæc quattuor varietates, quarum singula innumeris gradet formis (Cf. *Sterb. t. 10 Menzel. l. c. Bradley Farm. dir. p. 65. &c.*) non distinguendæ sunt, nam color non satis constans *) & areolarum forma evidenter e pilei pendet.

2. *M. deliciosa*, pileo subcylindrico acuto basi adnato, costis longitudinalibus firmis, rugis transversalibus connexis, stipite lavi.

Boletus flavicans, capitulo foliato! *Vaill. par. p. 21.*
Fungus cavernosus. Weinm. herb. t. 533. f. 1.
 (etiam accedit *Menzel. var. 2.*)

Præcedenti sapidior, variet. ♂ valde affinis, at non facile subjungenda ob characteres satis acutos. Stipes cavus, pileo brevior, vix unquam unciam attingens, 3-4 lin. circiter crassus, subæqualis, sed variat basi incrassatus & compressus; sub lente villo tenui, exsiccatione in squamulas secedente, tectus. Pileus e conico-cylindricus, 1-2 $\frac{1}{2}$ unc. longus, costis subparallelis, vix anastomosantibus, sed rugis transversalibus junctis. Areolæ oblongo-lineares, profund. Color hæcenus flavicans, raro livido-pallens observatus. *In graminosis frondosis ad agrorum margines, vere.* (v. v.)

3. *M. elata*, pileo conico obtusiusculo basi adnato, costis longitudinalibus membranaceis, transversalibus junctis, stipite furfuraceo.

*) Accuratissimus Bulliard, neglecta forma, tres secundum colorem enumerat varietates: a.) alba, dein straminea. b.) cinerea. g.) fusea; dein nigrescens. Cf. *Dec. Fr. 2. p. 213.* Harum hæc nostræ ♂, illa β, ista α proxima.

2-3 unc. longus, sed substantia reliquis multo tenuiore; costæ longitudinales, valde elevatæ, membranaceæ, flaccidæ, rarissime anastomosantes, sed costis transversalibus angustioribus junctæ; unde oriuntur areolæ rhombeo-diformes, intus læves. Color gilvo-brunneus Sapor aquosus fatuus, jove pluvio turgēt, sicco corrugato-contrahitur, nigrescit & valde foetet, ut commedi nequeat. *In silvis abiegnis, præcipue locis humidis adustis, raro. Vere.* (v. v.)

Boletus esculentus &c. n. 5. *Mich. gen. p. 203. t. 85. f. 3.* quoad iconem exactissime in nostrum fungum quadrat Vereor tamen, ne aliam speciem esculentam, costis firmis &c. intellexerit. Ex hac Mich. in figura orta est *Phallus Anastomosis* Batsch., *Phallus costatus* Ventenat l. c. p. 510. *Morch. costata* Pers. syn. p. 620. *Nascitur in Italiæ agris.* — Ab utraque certe differt *M. costata* Schmidt & Kunz. ex n. 195; sec. meum specimen incompletum *M. deliciosæ* varietatem brunneam sistere videtur.

Fuente: Fries, E. (1822). Systema Mycologicum sistens Fungorum Ordines, Genera et Species, huc udque cognitæ, Quas ad Norman methodi naturalis determinavit, disposuit atque descripsit: Morchelea. *Systema Mycologicum*, 2:6.

Edlin Ivonne Arce Ordoñez
Autora

Dr. Roberto Flores Arzú
Asesor

Licda. María del Carmen Bran
Revisora

Dra. Karin Herrera Aguilar
Revisora

M.A. María Eugenia Paredes S.
Directora Escuela Química Biológica

Dr. Óscar Cobar Pinto
Decano Facultad CCQQ y Farmacia