

Estudios quimiotaconómicos en hongos del subgénero *Dermocybe* (Fungi, Basidiomycota, Cortinariaceae) asociados a bosques de *Nothofagus* del Centro Sur de Chile

Seminario de título presentado a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas para optar al título de Bióloga.



Por: Javiera Sofia Farías Cartes  
Profesor Guía: Dr. Götz Palfner

Concepción, Chile 2023

Este seminario ha sido desarrollado en el Laboratorio de Micología y Micorriza, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Profesor guía

Dr. Götz Palfner

---

Dr. Oscar Toro

---

Dr. José Becerra

---

Profesor coordinador Seminario de Título

Dr. Víctor Hernández

---

## AGRADECIMIENTOS

En estos 6 años de mucho esfuerzo, de inmensas dudas y grandes recompensas, solo queda agradecer a todas las personas que me acompañaron en este proceso y que también hicieron más fácil y llevadero las dificultades y resquemores que trajo consigo estos años.

A mi querido profesor guía, Götz Palfner. Por haber trabajado junto a mi dos largos años y recibirme cálidamente en su laboratorio. Por mantener en mí la llama de la investigación, y ayudarme a encontrar lo que realmente me gustaba. Siempre apoyándome en cada idea que se me iba ocurriendo en el camino. Por sus herramientas y consejos, y permitirme ir más allá de lo que me podía entregar.

Al profesor Oscar Toro por su entrega y apoyo en esta investigación. Quien sin ser mi profesor guía, me recibió en su oficina largas horas para ayudarme en la metodología. A la profesora Glenda Fuentes, por estar ahí y siempre brindarme su apoyo y calidez. Una fuente de inspiración gigante.

Agradecer a mi querida madre Marcela, porque sin ella no estaría aquí ni sería quien soy ahora. Por siempre impulsarme a seguir, y apoyarme en cada momento, incluso cuando no me entendía o tenía miedos de mis locuras y viajes. A mi hermana mayor Paula, por su amor incondicional, y amor de madre. Mi familia, por quererme como soy, y dejarme ser y vivir libremente a mi modo, que se no es algo fácil. Gracias, mil gracias.

A mis amigas leales, Amaranta y Valentina. Mis dos grandes pilares. Su amistad me mantuvo a flote. Por las risas, lágrimas y conversaciones profundas y otras no tan profundas. Por su entrega tierna y cálida, y acompañarnos tantos años. Por siempre darme calma en tiempos de angustia.

A mis amigos de carrera: Frani, Simona, Paulo, Javi, Paci, Noe y Claudio. Sin ustedes mis magnolitos, nada hubiera sido posible. Por haber hecho este transcurso de la carrera algo sumamente hermoso. Las risas y apoyo incondicional me los llevare por siempre en el corazón. Espero que la vida me siga regalando momentos junto a ustedes.

Y especialmente a Diego. La verdad hace falta hojas para transmitir lo que me diste estos tres últimos años. Significaste libertad, y amor del bueno. Tu eterna pasión por la montaña y sus plantas me hicieron seguirte a alturas que creí imposibles. Me hiciste ver la naturaleza a través de tus ojos, y eso me acompañara por siempre. Tu sello me seguirá adonde vaya, y tu fuerza y valentía siempre serán un lugar al que iré en momentos de temor.

## Índice de figuras

Figura 1. Estructura química de una antraquinona. Elaboración propia (2022) .....	8
Figura 2. Mapa de distribución de las zonas de muestreo y localidades estudiadas. Elaboración propia (2022).....	14
Figura 3. Fotografías de los sitios muestreados en Nahuelbuta, Trongol Alto: A) Punto 1, determinado por un curso de agua y un sotobosque de menor densidad; B) Punto 4, caracterizado por una mayor densidad del sotobosque, y mayor altura; C) Bosque de araucaria-coihue. ....	15
Figura 4. Fotografías de los bosques de Quirihue, del Fundo el Guanaco: A) Se muestra el bosque dominado por <i>N. glauca</i> en zonas de mayor altitud; B) Bosque dominado por <i>N. glauca</i> , con ejemplares de mayor tamaño; C) Muestreo y recolección de basidiomas. ....	16
Figura 5.1. Especies de macrohongos registrados en orden alfabético; a: <i>Cortinarius micaceus</i> ; b: <i>Cortinarius teresae</i> ; c: <i>Cortinarius viscovenetus</i> ; d: <i>Cortinarius xanthopus</i> ; e: <i>Cortinarius austroarmillatus</i> nom. prov.; barra en todas fotografías corresponde a 2 cm. ...	28
Figura 5.2. Especies de macrohongos registrados en orden alfabético; f: <i>Cortinarius steglichii</i> nom. prov.; g: <i>Cortinarius aff. veronicae</i> ; h: <i>Dermocybe amoena</i> ; i: <i>Dermocybe icterina</i> ; j: <i>Dermocybe nahuelbutensis</i> ; barra en todas fotografías corresponde a 1 cm. ....	29
Figura 6. Especies del subgrupo <i>Dermocybe</i> bajo luz UV 366 nm. a) <i>Cortinarius aff. veronicae</i> ; b) <i>Dermocybe amoena</i> ; b.2) <i>D. amoena</i> con inflorescencia naranja; c) <i>D. icterina</i> .....	29
Figura 7. Recopilación de los perfiles pigmentarios mediante cromatografía en capa fina (TLC) con luz blanca. A) cmi: <i>Cortinarius micaeus</i> ; dte: <i>Cortinarius teresae</i> ; cvi: <i>Cortinarius viscovenetus</i> ; cxa: <i>Cortinarius xanthopus</i> ; dam: <i>Dermocybe amoena</i> ; dic: <i>Dermocybe icterina</i> . B) dic: <i>Dermocybe icterina</i> ; dna: <i>Dermocybe nahuelbutensis</i> ; dps: <i>Dermocybe pseudosplendida</i> nom. prov.; aus: <i>Dermocybe austroarmillatus</i> nom. prov.; cig: <i>Cortinarius steglichii</i> nom. prov.; cve: <i>Dermocybe aff. veronicae</i> . La línea azul indica el frente del solvente de 5 cm.....	31
Figura 8. Recopilación de los perfiles pigmentarios en cromatografía en capa fina (TLC) con tratamiento de vapor de amonio (NH <sub>3</sub> ). La línea azul indica el frente del solvente.....	32

Figura 9. Recopilación de los perfiles pigmentarios mediante cromatografía en capa fina (TLC) con UV 366 nm. La línea azul indica el frente del solvente de 5 cm. .... 34

Figura 10. Recopilación de los perfiles pigmentarios mediante cromatografía en capa fina (TLC) con UV 254 nm. La línea azul indica el frente del solvente de 5 cm. .... 36

Figura 11. Análisis de clúster (UPGMA) a través del coeficiente de similitud de Gower basado en los datos de pigmentos registrados en 27 colecciones. A) Luz blanca, B) Adición con amonio (NH<sub>3</sub>). Los números bajo los nodos indican el valor de Bootstrap de 1000 réplicas. .... 38

## **Índice de tablas**

Tabla 1. Colecciones analizadas en este estudio. Las especies están listadas en orden alfabético. .... 19

## RESUMEN

*Cortinarius* es el mayor género de Agaricales con una distribución mundial, con más de 2700 especies en ambos hemisferios. Su alta riqueza de especies se ve reflejado en una variada morfología y presencia de metabolitos secundarios, caracterizando grupos infragenéricos enteros, como es el caso del subgrupo *Dermocybe*. Las especies de *Dermocybe* (Fungi, Basidiomycota), género ectomicorrícico de extensa distribución en ambos hemisferios, se caracterizan por los colores vivos de oliva, rojizo a amarillento de los basidiomas. Estos pigmentos son derivados de antraquinonas, clase de compuestos que ayudan a delimitar este género taxonómicamente dentro de la extensa familia Cortinariaceae. Sin embargo, a diferencia de los taxones australianos y europeos, el rol de la composición pigmentaria en la delimitación de especies de *Dermocybe* en el Cono Sur ha sido poco investigado. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue la caracterización quimiotaxonómica de los hongos del género *Dermocybe* que se encuentran asociados a bosques nativos de *Nothofagus* del Centro Sur de Chile. Se realizaron varias campañas de terreno en la región del Biobío, y en la región del Ñuble, durante los meses de mayor fructificación. 10 especies fueron encontradas, las cuales se caracterizaron morfológica y microscópicamente para su identificación preliminar. Los pigmentos fueron investigados mediante cromatografía en capa fina (TLC). Los datos cuantitativos derivados de las placas en condiciones de luz visible y con luz UV a 366 nm y a 254 nm fueron analizadas de acuerdo con su similitud mediante un análisis de clúster. La comparación de los datos de pigmentación mostró patrones relativamente específicos para las especies chilenas que componen al subgrupo *Dermocybe*.

Palabras clave: Cromatografía, taxonomía, pigmentos.

## ABSTRACT

*Cortinarius* is the largest genus of Agaricales with a worldwide distribution, with more than 2700 species in both hemispheres. Its high species richness is reflected in a varied morphology and presence of secondary metabolites, characterizing entire infrageneric groups, as is the case of the *Dermocybe* subgroup. *Dermocybe* species (Fungi, Basidiomycota), an ectomycorrhizal genus widely distributed in both hemispheres, are characterized by the bright olive, reddish to yellowish colors of the basidiomata. These pigments are derived from anthraquinones, a class of compounds that help to delimit this genus taxonomically within the extended family Cortinariaceae. However, unlike Australian and European taxa, the role of pigment composition in the delimitation of *Dermocybe* species in the Southern Cone has been little investigated. Therefore, the main objective of this study was the chemotaxonomic characterization of fungi of the genus *Dermocybe* associated with native *Nothofagus* forests of central southern Chile. Several field campaigns were carried out in the Biobío region and in the Ñuble region, during the main months fruiting. Ten species were found, which were characterized morphologically and microscopically for preliminary identification. Pigments were investigated by thin layer chromatography (TLC). Quantitative data derived from the plates under visible and UV light conditions at 366 nm and 254 nm were analyzed according to their similarity by cluster analysis. Comparison of the pigmentation data showed relatively specific patterns for the Chilean species composing the *Dermocybe* subgroup.

Keywords: Chromatography, taxonomy, pigments.

## INTRODUCCIÓN

### ANTRAQUINONAS

Los pigmentos fúngicos presentan una diversidad estructural y química única con una extraordinaria gama de colores. Los hongos filamentosos producen varios pigmentos no carotenoides característicos, entre ellos las quinonas, como las antraquinonas y las naftoquinonas (Gessler *et al.* 2013), por lo que los pigmentos derivados de antraquinonas están ampliamente difundidos en el reino de los hongos, dando una gran diversidad de tintes a los basidiomas.

Las quinonas constituyen una clase de compuestos orgánicos caracterizados por la presencia de una estructura cíclica de dicetona. Dentro de la gran variedad de compuestos derivados de las quinonas, las antraquinonas representan un subgrupo importante. Su estructura se basa en el sistema aromático rígido de tres anillos de antraceno, que contiene dos funciones ceto en las posiciones 9 y 10 (9,10-dioxoantracenos) (Malik & Müller 2016).

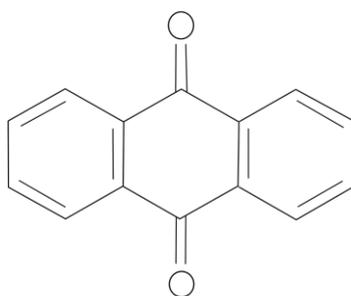


Figura 1. Estructura química de una antraquinona. Elaboración propia (2022).

La variedad de antraquinonas naturales que existen, se les atribuye a la gran variedad de sustituyentes como OH, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OH, CHO, COOH, etc., así como por la reducción de los grupos carbonilo (a antronas y antracenos) y los dobles enlaces en el anillo bencénico (hidroquinonas). Estos compuestos se denominan colorantes carbonílicos, siendo uno de los grupos en la naturaleza más importantes de estructuras colorantes y pigmentarias. Las antraquinonas son capaces de producir

una amplia gama de colores, desde amarillos hasta rojos e incluso tonalidades azules. Esto se debe a sus cromóforos conjugados relativamente cortos, que en formas simples dan pigmentaciones amarillas, pero también permiten la unión de sustituyentes donantes y aceptores para producir grandes cambios batocrómicos, dando coloraciones rojizas o azules (Räisänen 2019).

Una característica importante de estos compuestos es la posesión de cromóforos para la absorción de los espectros electrónicos. La fuerte absorción en la región ultravioleta se debe a la presencia de cromóforos formados por sistemas de dobles enlaces conjugados (Fouillad *et al.* 2016).

La pigmentación de los esporomas fúngicos puede variar con la edad y algunos sufren cambios de color distintivos al magullarse; por ello, los colores de las setas son una de las características más utilizadas en la identificación taxonómica (Pagano & Dhar 2015). Además, los pigmentos fúngicos tienen distintas funciones, como la de protección al organismo de los daños causados por la radiación ultravioleta y los ataques bacterianos, o desempeñar un papel como atrayentes de insectos (Velíšek & Cejpek 2011). En el caso de las antraquinonas, incluso se ha documentado que algunos de los pigmentos de antraquinona amarillos y rojos tienen propiedades laxantes que repelen a los animales, evitando así daños físicos del cuerpo fructífero (Mueller *et al.* 1999). Estas propiedades de los pigmentos en los hongos han demostrado los usos de las antraquinonas para importantes efectos farmacológicos como la acción laxante (Nadal *et al.* 2003), antitumoral (Lee *et al.* 2001), antimutagénica (Edenharder *et al.* 1995), antiinflamatoria (Kuo *et al.* 2001), antiviral (Koyama *et al.* 2001), antifúngica (Manojlovic *et al.* 2005) y propiedades antioxidantes (Ze-Hong *et al.* 2018). Estas características hacen a las antraquinonas un compuesto con una amplia aplicación en la industria farmacológica.

En las industrias textiles, el uso de las antraquinonas naturales ha sido empleado como una alternativa de tinción más sustentable y ecológica, al tener efectos menos tóxicos en el ambiente que los tintes sintéticos y son fácilmente degradables evitando la alta contaminación ambiental (Narsing *et al.* 2017). Además, en los últimos años se han utilizado como colorantes para bebidas, dulces y otros alimentos (Nagia & Mohamedy 2007; Räisänen 2009).

Hongos y líquenes, al tener derivados de antraquinonas, se han utilizado como una fuente ecológica interesante de pigmentos.

Las antraquinonas están distribuidas en varios géneros dentro del Reino Fungi. Entre ellos destacan los pigmentos encontrados en *Aspergillus* spp., *Eurotium* spp., *Fusarium* spp., *Dreschlera* spp., *Penicillium* spp., y géneros de la división Basidiomycota, como el subgrupo *Dermocybe* dentro del género *Cortinarius* (Gessler *et al.* 2013).

#### GÉNERO *CORTINARIUS*

*Cortinarius* (Fungi, Agaricales, Cortinariaceae) es uno de los géneros fúngicos micorrícicos más diversos con más de 2700 especies descritas en todo el mundo, siendo reconocido por muchos micólogos por su gran gama de tonalidades y formas (Garnica *et al.* 2005; Soop *et al.* 2019). A nivel morfológico, sus basidiomas se caracterizan generalmente por tener un velo parcial fibroso en forma de cortina, de donde proviene su nombre, y basidiosporas de color marrón óxido o marrón, verrucosas.

Sin embargo, aunque el género sea relativamente fácil de identificar, la taxonomía a nivel de especie de *Cortinarius* puede ser uno de los retos más difíciles de la micología, y su filogenia sigue siendo estudiada (Peintner *et al.* 2004; Liimatainen *et al.* 2022). Macroscópicamente, los miembros de este género son muy variables: su hábito varía de pileado a secotioide (ej: *Thaxterogaster* spp.); la cutícula del píleo puede ser seca, fibrosa a viscosa; el velo puede variar de ser fugaz a persistente, permaneciendo en el estípite; y los basidiomas pueden ser coloridos brillantes o de colores más opacos y de colores oscuros.

Como simbioses ectomicorrícicos (ECM), son componentes esenciales de los ecosistemas forestales, mejorando la productividad de las plantas, sosteniendo el flujo y distribución de nutrientes vitales como los nitratos y los fosfatos (Smith & Read 2010; Bodeker *et al.* 2014), y en el caso de Sudamérica son vitales para la salud de los bosques de *Nothofagus*, y a la mantención de sus ciclos biogeoquímicos, otorgando estructura y estabilidad a las asociaciones vegetales nativas (Lazo 2001; Palfner 2001 Clemmensen *et al.* 2015).

En términos de su distribución, el género *Cortinarius* está presente en otros continentes, en países como Australia y Nueva Zelanda, donde comparten un número considerable de especies y clados (Peintner *et al.* 2004; Garnica *et al.* 2009). Sin embargo, ninguna especie del hemisferio sur aparece de forma natural en el

hemisferio norte (Stefani *et al.* 2014). Esto se explica por la estrecha coevolución del hongo ectomicorrícico y su planta huésped, tanto es así que a menudo se plantea la hipótesis de que la asociación con el huésped podría afectar a la especiación y distribución por una distribución gondwánica. Lo que coincide con investigaciones taxonómicas, que han revelado que las especies australianas y meridionales de *Cortinarius* son claramente diferentes de sus homólogas del hemisferio norte (Salgado Salomón *et al.* 2018).

La diversidad de *Cortinarius* del hemisferio norte y de Nueva Zelanda y Australia ha sido ampliamente estudiada al llamar la atención de taxónomos y químicos por igual debido a sus cuerpos fructíferos a menudo brillantemente pigmentados (e.g., Garnica *et al.* 2003; Truong *et al.* 2019). Sin embargo, aparte del trabajo pionero de Moser & Horak, (1975) hay relativamente pocos estudios que se hayan centrado en la diversidad de los *Cortinarius* sudamericanos. Los primeros estudios de *Cortinarius* en Sudamérica, se remontan a Spegazzini (1887a, b). Posteriormente, Singer & Moser (1965) citaron 18 especies de la Cordillera Pelada. La mayoría de las descripciones de especies fueron aportadas por Moser y Horak (1975) y Horak (1980) desde los bosques de *Nothofagus* andino patagónicos argentino-chilenos. Otros, como Singer (1960), Singer y Smith (1963) y Horak y Moser (1965), describieron otras 21 especies patagónicas secuestradas en *Thaxterogaster*.

Hasta el día de hoy, se han descrito más de 250 especies en el Cono Sur (Valenzuela & Moreno 1997) y Chile presenta más de 200, siendo categorizado como el principal género micorrícico para las especies del género *Nothofagus* (Garrido 1988; Valenzuela 1993; Garnica *et al.* 2002).

Por su gran variedad morfológica y diversidad de especies, se llevó a la creación de subgrupos para facilitar su identificación. El sistema histórico y más completo de clasificación de los *Cortinarius* sudamericanos propuesto por Moser & Horak (1975) distingue 7 subgéneros: (1) *Phlegmacium*: especies con un basidioma carnoso y robusto, un píleo de viscoso a glutinoso y un estipe seco u ocasionalmente glutinoso, (2) *Sericeocybe*: especies con un píleo sedoso a brillante, y un estipe de colores blanquecinos, violetas o de tonalidades azules, (3) *Myxacium*: especies con el píleo y estipe glutinoso, (4) *Paramyxacium*: especies pequeñas y membranosas, con un píleo más o menos higrófono y transparentemente estriado, (5) *Telamonia*: especies de coloraciones oscuras de café a grisáceo, con un píleo seco o glutinoso, higrófono y que se tornan negros en reacciones con KOH, (6) *Leprocybe*: especies con un píleo

de color canela o anaranjado y un estipe de color oliva a amarillo que contiene sustancias fluorescentes, y finalmente (7) *Cystogenes*: especies con un píleo anaranjado, canela o marrón, y un estipe amarillo, ocre, anaranjado o verdoso, a veces con queilocistidios y pleurocistidios incrustados.

Su extraordinaria riqueza de especies se ve reflejada en una gran diversidad de metabolitos secundarios, a menudo caracterizando grupos enteros. Un caso emblemático es el subgrupo *Dermocybe*, caracterizado por poseer pigmentos del tipo antraquinonas (Keller *et al.* 1988), pero incluso hasta la fecha, solo una pequeña porción de las especies de *Cortinarius* han sido analizadas en un nivel químico (Lam *et al.* 2019; Garnica *et al.* 2005).

#### SUBGRUPO *DERMOCYBE*

Las especies de Sudamérica de *Dermocybe*, que se caracterizan por el color entre rojo, oliva y amarillento de sus basidiomas, fueron clasificadas por Moser & Horak (1975) como un género aparte. Pero estudios moleculares han demostrado que *Dermocybe* es más un subgrupo dentro de *Cortinarius* (Chambers *et al.* 1999). Actualmente, un total de 18 especies de *Dermocybe* han sido descritas para Sudamérica (Argentina, Chile), y alrededor de 10 están presentes en nuestro país (Garrido 1988).

Tras el descubrimiento de llamativos pigmentos y compuestos secundarios en *Dermocybe* (Arnold *et al.* 1987; Gill & Steglich 1987), los taxónomos de *Cortinarius* han tenido grandes expectativas respecto a la quimiotaxonomía a la hora de describir y diferenciar las especies.

Las antraquinonas se encuentran en gran variedad en los hongos del género *Cortinarius* y su presencia y distribución han demostrado ser útiles como marcadores quimiotaxonómicos en la delimitación de las especies (Greff *et al.* 2017), en donde métodos cromatográficos como la cromatografía en capa fina (TLC), se han convertido en métodos taxonómicos eficaces para la separación e identificación de antraquinonas, y de clasificación de estas especies (Räisänen *et al.* 2000). Los brillantes colores amarillos y rojos de las especies de *Dermocybe* fueron estudiados por químicos a lo largo de la historia. Ya en 1925 los primeros derivados de las antraquinonas se aislaron de *Cortinarius sanguineus* (Wulfen) Gray., pero tuvieron que pasar otros cuarenta años hasta que se lograra la elucidación estructural

completa de las primeras antraquinonas fúngicas (AQ), es decir, la dermoluteína y la dermorubina. (Siewert et al. 2022).

Mientras que varias de las quinonas aisladas hasta la fecha, como la emodina, la fisciona, y la endocrocina se encuentran también en otros organismos, otros como la dermocibina, la dermoluteína, cinnaluteína, dermorubina y cinnarubina están restringidos a *Cortinarius* y en particular al subgénero *Dermocybe* (Gill 2003; Gill & Steglich 1987; Velíšek & Cejpek 2011; Zhou & Liu 2010). La abundancia y facilidad de extracción de estos pigmentos y otros relacionados, junto con su eficiente separación cromatográfica y su rápida identificación, ha llevado a su uso como marcadores quimiotaxonómicos durante los estudios micológicos de las variedades europeas (Keller 1995, 1982) y sudamericanas (Gruber 1975) de estas especies (Archard et al. 1985).

Los estudios quimiotaxonómicos de *Dermocybe* realizados por Gruber (1975) utilizando cromatografía en papel, y por Keller (1982) y Keller & Ammirati (1983), y estudios hechos en cromatografía en capa fina en Hoiland (1984), Kidd (et al. 1985), y Jones & Tom (2008), han demostrado que es posible diferenciar los taxones infragenéricos por los patrones de pigmentos, y que el contenido de pigmentos puede ser utilizado para ayudar a la sistemática del grupo.

Como el reconocimiento de las especies de *Cortinarius* se ha basado casi exclusivamente a su morfología y ecología, el objetivo del presente estudio fue realizar un estudio morfotaxonómico y quimiotaxonómico de las especies de *Dermocybe* de los bosques de *Nothofagus* del Centro-Sur de Chile. Para ello, se planteó el uso de herramientas cromatográficas en TLC para la caracterización de los miembros chilenos del subgénero *Dermocybe* rescatando sus patrones pigmentarios, e identificar coherencia entre patrones de pigmentos y otros atributos diagnósticos para la caracterización e identificación de estas especies. Se esperaba que los atributos morfológicos y químicos de las especies chilenas de *Dermocybe* se complementen, permitiendo establecer un concepto taxonómico integral, donde el método de TLC sería el adecuado para separar las especies nativas de *Dermocybe* según su composición de pigmentos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. ZONAS DE MUESTREO

Se realizó un estudio taxonómico de las especies fúngicas asociadas a dos localidades con bosques de *Nothofagus* de la Región del Biobío en los meses de mayor fructificación de hongos, entre abril y finales de junio. Se muestreo en remanentes de bosque nativo en la cordillera de Nahuelbuta entre las comunas de Curanilahue y Los Álamos, en los sectores de Trongol Alto ( $37^{\circ}31' S$ ,  $73^{\circ}11' N$ ) y Caramávida ( $37^{\circ}42' S$ ,  $73^{\circ}10' W$ ). También se muestreó en bosques de *N. glauca* (Phil.) Krasser y *N. obliqua* (Mirb.) Oerst. Comuna de Quirihue, en el Fundo el Guanaco ( $36^{\circ}13' S$ ,  $72^{\circ}37' N$ ) (Fig. 2).

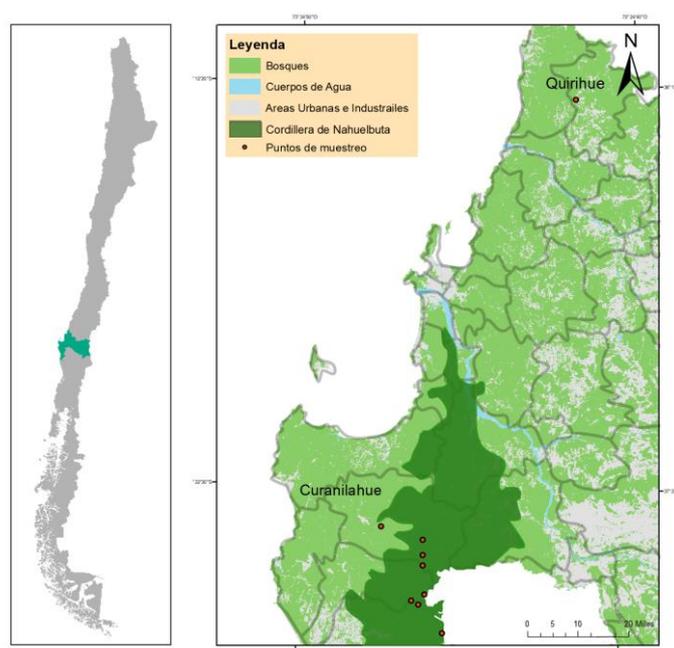


Figura 2. Mapa de distribución de las zonas de muestreo y localidades estudiadas. Elaboración propia (2022).

La primera localidad estudiada fue en la Cordillera de Nahuelbuta, la cual es una porción de la Cordillera de la Costa, ubicada entre la ribera sur del Río Biobío y la norte del Río Imperial. El clima corresponde al tipo mediterráneo húmedo (Sarricolea *et al.* 2016), y presenta una alta riqueza de especies de flora y fauna, y rica en especies endémicas que solo existen en esta zona (Villagrán *et al.* 1998; Pliscoff

2003; Ortiz & Ibarra-Vidal 2003). Las especies que componen los bosques generan un mosaico de formaciones boscosas conformado por especies como el Canelo (*Drimys winteri* J.R. Forst. & G. Forst.), la Araucaria (*Araucaria araucana* (Molina) K. Koch) que está presente en altitudes de 800 a 1.500 m (Donoso *et al.* 2008), y el Coihue (*N. dombeyi* (Mirb.) Oerst.), árbol del género *Nothofagus* que predomina en varios sectores de la cordillera de Nahuelbuta (Fig. 3).

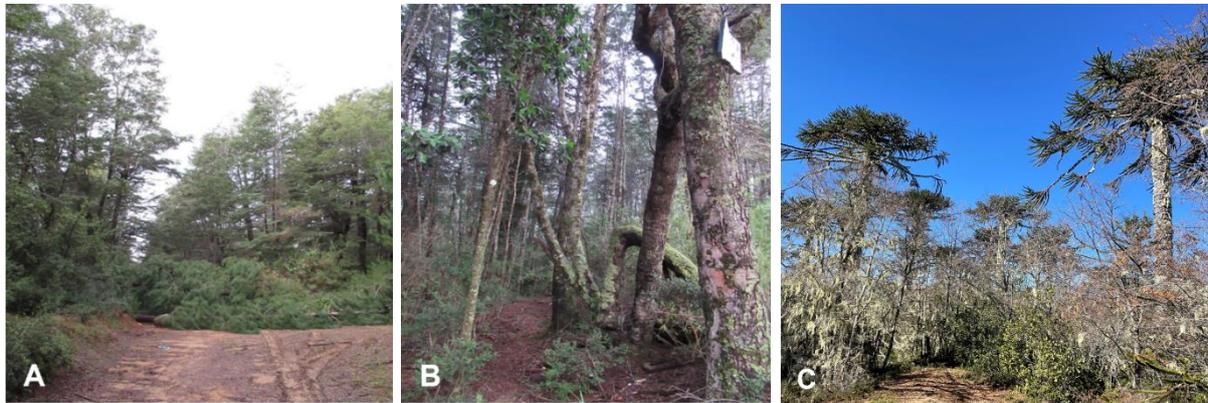


Figura 3. Fotografías de los sitios muestreados en Nahuelbuta, Tringol Alto: A) Punto 1, determinado por un curso de agua y un sotobosque de menor densidad; B) Punto 4, caracterizado por una mayor densidad del sotobosque, y mayor altura; C) Bosque de araucaria-coihue.

La segunda localidad corresponde al Fundo el Guanaco, en Quirihue, capital de la Provincia de Itata, Región de Ñuble (Fig. 4). Esta zona corresponde a un bosque remanente del tipo forestal Roble-Hualo de la cordillera de la Costa. Al igual que los bosques de Nahuelbuta, la zona se encuentra dominada por grandes áreas de extensión de *Pinus radiata* D.Don.

La localidad corresponde al límite sur de la distribución de *N. glauca*, árbol endémico chileno que actualmente debido a la profunda transformación que ha experimentado su hábitat, ha sido declarada una especie vulnerable en el Libro Rojo de la Flora Terrestre de Chile (Benoit 1989).



Figura 4. Fotografías de los bosques de Quirihue, del Fundo el Guanaco: A) Se muestra el bosque dominado por *N. glauca* en zonas de mayor altitud; B) Bosque dominado por *N. glauca*, con ejemplares de mayor tamaño; C) Muestreo y recolección de basidiomas.

## 2. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La metodología de muestreo en las zonas de muestreo fue dirigida a especies del grupo *Dermocybe*, donde se realizaron pruebas diagnósticas como el uso de solución de KOH para demostrar la presencia de pigmentos del tipo antraquinona.

Los hongos se recolectaron mediante el protocolo de recolección, identificación e inventariación de hongos de acuerdo con Palfner & Casanova-Katny (2019), donde cada especie encontrada fue documentada en terreno con fotografías *in situ*, y se realizaron georreferencias, descripciones del cuerpo fructífero y el sustrato asociado. Para las reacciones de KOH, se realizaron sobre cuerpos fructíferos frescos y se documentaron con fotografías en terreno. Las porciones de los esporocarpos con KOH fueron desprendidas para evitar la degradación de la muestra y la interferencia con otras pruebas químicas.

Para los estudios macroscópicos de las especies, se realizaron sobre material fresco *in situ* y refrigerado hasta un máximo de tres días después de su recolección para luego ser deshidratados para su conservación. Los basidiomas fueron documentados mediante fotografías, primero *in situ* y después tomadas en laboratorio tomadas sobre un fondo de color neutro con una cámara fotográfica digital Nikon D60 en una cámara de fotodocumentación Camag Reprostar 3 equipada con tubos fluorescentes de calidad luz fría, y de luz ultravioleta (UV) de 366 nm en basidiomas frescos.

La caracterización e identificación de los hongos en laboratorio, se realizó sobre las estructuras microscópicas de los basidiomas. Se colocaron fragmentos de los

esporomas deshidratados del tejido reproductivo (himenio) y del cutis del sombrero o del peridio sobre un portaobjeto y se rehidrataron con una solución de KOH al 10%, y luego se observaron con un microscopio Olympus CX31 (Olympus, Tokio, Japón), bajo un aumento máximo de 1000x.

Se midió el tamaño (largo y ancho) de las esporas revisando la forma, textura, ornamentación y el color de estas. Se realizaron al menos 20 mediciones de esporas diferentes por individuo y se registró el valor promedio de la relación longitud/anchura (Qr). Se caracterizó la presencia/ausencia y forma de cistidios en el himenio. Las especies se determinaron con literatura relevante (Moser & Horak 1975; Horak 1980), y la información sistemática y los nombres científicos actuales de las especies se confirmaron en el sitio web Index Fungorum ([www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org)).

### 3. EXTRACCIÓN DE LOS PIGMENTOS Y CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC)

El material fúngico seco (0,05 - 0,5 g), incluyendo secciones del píleo y del estípite de al menos dos cuerpos fructíferos por especie, se pulverizaron en un mortero, y se extrajeron exhaustivamente de forma independiente con una mezcla de solventes de tolueno, formiato de etilo, y ácido fórmico en las proporciones 10:5:3 respectivamente. Cada extracto se dejó macerar por al menos 24 horas en los solventes, para luego ser filtrado con papel filtro para eliminar las impurezas y restos de material fúngico. Se utilizó un mínimo de dos muestras por especie para asegurar la consistencia de la codificación de las bandas por especie, con excepción de la muestra *Dermocybe pseudosplendida* nom. prov., que solo tuvo una muestra.

La separación de los pigmentos se realizó mediante una cromatografía en columna sobre sílica gel 60 F254 de aluminio de 20 x 20 cm (Merck). Dependiendo de la concentración del extracto, se aplicó de 2 a 10 µl de extracto con la ayuda de un capilar de plástico en una línea base de 1 cm del borde inferior de la placa. Se aplicó de 3-4 gotas de concentrado para luego aplicarle calor para evaporar el solvente. Este proceso se repitió de 4-5 veces para asegurar la consistencia de las bandas extraídas. Las placas se revelaron a temperatura ambiente en una cámara de TLC estándar de vidrio. El disolvente de la fase móvil fue tolueno-formiato de etilo-ácido fórmico (10:5:3; v/v/v). El desarrollo de las placas de TLC se terminó cuando el frente del

disolvente alcanzó los 5 cm de la línea base. La placa revelada se secó con aire caliente para evaporar los disolventes de la placa. La placa resultante se montó en un gabinete de exposición Camag Reprostar 3 y se capturaron las imágenes con luz blanca, y a luz UV 254 nm y luz UV 366 nm, y con adición de vapor de amonio en luz blanca para observar los cambios batocrómicos de los pigmentos.

Luego, se calculó el factor  $R_f$  o factor de retención de cada banda de pigmento, dividiendo la distancia recorrida por la banda (medida desde el centro de la banda) por la distancia recorrida por el frente del disolvente.

#### 4. DIGITALIZACIÓN DE CROMATOGRAMAS Y PROCESAMIENTO DE DATOS CUANTITATIVOS

La adquisición de imágenes digitales se realizó con el gabinete de exposición Camag Reprostar 3 y cámara digital Nikon D60. Tras la adquisición de los datos, se recortó un área apropiada de la placa de TLC a partir del tamaño original del fotograma, y posteriormente se aplicaron filtros de conversión a escala de grises en caso de ser necesario. Se extrajeron las bandas a través de secciones transversales seleccionadas de los carriles cromatográficos de las imágenes digitales con la ayuda del software ImageJ (ver. 1.50i). La cuantificación de las manchas cromatográficas se realizó manualmente contabilizando la presencia de bandas por cada milímetro.

El procesamiento de los datos cuantitativos relativos a la intensidad de las bandas separadas se inspeccionó con procedimientos estadísticos de agrupación jerárquica aglomerativa utilizando el software Past 3.24, a través de una matriz de similitud de Dice para la matriz de datos con la luz UV 254 nm y una matriz de similitud de Gower (Sørensen) para la luz blanca, con adición de amonio y luz UV 366 nm. En el caso de los análisis de Gower, a cada color se le aplicó un valor. El dendrograma utilizado fue el UPGMA, donde los sistemas cromatográficos con una alta similitud se agrupan en clústeres. Se calculó el índice de correlación cofenética ( $r^2$ ) para medir la distorsión de la matriz realizada. Luego, a través del método de Bootstrap (BS) con 1000 réplicas se evaluó la fiabilidad de los resultados de la agrupación en una forma estadísticamente cuantificable.

## RESULTADOS

### 1. COMPOSICIÓN TAXONÓMICA

Se identificaron un total de 10 especies, representadas en la Tabla 1. Tres de las especies aquí listadas, *Cortinarius aff. veronicae* (Fig 5.2), *Cortinarius steglichii* nom. prov. (Fig 5.1), y *Cortinarius austroarmillatus* nom. prov. (Fig 5.2) no están actualmente descritas para Chile, y el estudio bibliográfico tampoco permitió el reconocimiento de ambas especies, sin embargo, las múltiples expediciones a terreno permitieron constatar su presencia regular en la Cordillera de Nahuelbuta en el sector Trongol Alto, demostrando su hallazgo con fotografías, su localización geográfica, esporas y muestras secas de los especímenes.

Tabla 1. Colecciones analizadas en este estudio. Las especies están listadas en orden alfabético.

Especie	Código (CONC-F)	Localidad, Comuna	Fecha recolección	<i>Nothofagus</i> asociado
<i>Cortinarius micaceus</i>	2062	Curanilahue, Trongol Alto	21-05-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius micaceus</i>	2070	Curanilahue, Nahuelbuta	28-05-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius steglichii</i>	2083	Curanilahue, Trongol Alto	11-06-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius steglichii</i>	2110	Curanilahue, Trongol Alto	26-06-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius teresae</i>	1441	Curanilahue, Nahuelbuta	17-05-2015	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius teresae</i>	1447	Malleco, Curacautín	23-05-2015	<i>N. obliqua</i>

<i>Cortinarius teresae</i>	1851	Curanilahue, Caramavida	01-05-2018	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius viscovenetus</i>	1776	Malleco, Parque Nacional Nahuelbuta	9-05-2017	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius viscovenetus</i>	1963	Arauco, Cañete	21-05-2019	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius xanthopus</i>	2085	Curanilahue, Caramavida	12-06-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius xanthopus</i>	2086	Curanilahue, Caramavida	12/06/2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius austroarmillatus</i> nom. prov.	0725	Concepción, Predio la Cantera y El Guindo	16-05-2011	<i>N. obliqua</i>
<i>Cortinarius austroarmillatus</i> nom. prov.	X	Curanilahue, Trongol Alto	18-06-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius aff. veronicae</i>	2069	Prov. Malleco, Comuna Angol, Butamalal	28-08-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Cortinarius aff. veronicae</i>	2088	Curanilahue, Trongol alto	18-06-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Dermocybe amoena</i>	2065	Curanilahue, Trongol alto	21-05-2022	<i>N. dombeyi</i>

<i>Dermocybe amoena</i>	2066	Curanilahue, Trongol alto	21-05-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Dermocybe amoena</i>	2073	Quirihue, Fundo el Guanaco	11-06-2022	<i>N. glauca</i>
<i>Dermocybe icterina</i>	2089	Quirihue, Fundo el Guanaco	18-06-2022	<i>N. glauca</i>
<i>Dermocybe icterina</i>	2106	Curanilahue, Trongol alto	18-06-2022	<i>N. dombeyi</i>
<i>Dermocybe nahuelbutensis</i>	2064	Tome, sector San Antonio	25-05-2022	<i>N. obliqua</i>
<i>Dermocybe nahuelbutensis</i>	2074	Quirihue, Fundo el Guanaco	11-06-2022	<i>N. glauca</i>
<i>Dermocybe nahuelbutensis</i>	2077	Quirihue, Fundo el Guanaco	11-06-2022	<i>N. glauca</i>
<i>Dermocybe pseudosplendida</i> nom. prov.	1787	Curanilahue, Caramavida	21-05-2017	<i>N. dombeyi</i>

---

De las 10 especies, 6 pertenecen al subgrupo *Dermocybe*. La mayor diversidad de especies se distribuye en la localidad de Nahuelbuta, donde se detectaron 16 de las 25 colecciones (64%).

La especie llamada provisionalmente *Cortinarius steglichii*, se aproxima macroscópicamente mucho a *Cortinarius (Myxacium) ignotus* E., una especie de Nueva Zelanda, particularmente en el tono amarillo pálido del cuerpo fructífero, pero

se diferencian con que la primera no presenta viscosidad en su estructura, por lo tanto no pertenecería al subgrupo *Myxacium*, y además este presenta la particularidad de presentar cistidios, estructuras ausentes en la especie europea, y escasamente presentes en las especies de *Cortinarius*.

## 2. TAXONOMÍA

### *Cortinarius micaceus* M.M. Moser

Macromorfología: Píleo convexo a umbonado, seco de tono marrón-oliváceo, tornándose claro en el margen; laminillas adnatas, densas con lamélulas de color marrón claro; estípite cilíndrico o subclavado, seco, amarillo-castaño; reacción con KOH (10%): en todas partes tornándose rojo.

Micromorfología: esporas elipsoides, verrugosas de color castaño-rojizo, de 7-9 x 4-6  $\mu\text{m}$ , Q = 1,57.

Material examinado: CONC-F 2062, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 33' 27,2", LO 73° 11' 05,9", 800 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 21-V-2022, Leg. G. Palfner, det. N. Arnold.

CONC-F 2070, Chile, Región de la Araucanía, Provincia de Malleco, comuna de Angol, camino a Cañete a Parque Nacional Nahuelbuta, Butamalal Bajo, LS 37° 49' 05,4", LO 73° 05' 37,8", 970 msnm, sobre suelo y hojarasca bajo *N. dombeyi*, 28-V-2022, Leg. J. Farias, det. N. Arnold.

### *Cortinarius steglichii* nom. prov.

Macromorfología: Píleo convexo a umbonado, seco, de color castaño claro en el centro volviéndose claro en el margen, y en la madure tornándose castaño oscuro; laminillas adnatas, de color crema con el borde amarillo; estípite seco, firme, amarillo pálido de base bulbosa a claviforme, fibroso con restos de cortina amarillo-castaño.

Micromorfología: esporas elipsoides, verrugosas de 10-12 x 5-7  $\mu\text{m}$ , Q = 1,86; queilocistidios ramificados, cilíndricos de color amarillo en fresco, tornándose lila en contacto con KOH, de 85-100  $\mu\text{m}$  largo, último tabique de 25-47 x 8-10  $\mu\text{m}$ .

Material examinado: CONC-F 2083, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 34' 27", LO 73° 10' 22", 735

msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 11-VI-2022, Leg. C. Araneda, det. G. Palfner.

CONC-F 2110, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 31' 22,5", LO 73° 11' 0,79", 735 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 26-VI-2022, Leg. J. Farias, det. G. Palfner.

*Cortinarius teresae* (Garrido) G. Garnier

Sinónimo: *Dermocybe teresae* Garrido 1988

Macromorfología: Píleo convexo, aplanado, brillante, de tono rojizo, ligeramente fibroso; laminillas concoloras adnatas, densas; estípite cilíndrico, clavado engrosado en la base, con restos rojos de su fugaz cortina; reacción con KOH (10%): en todas partes tornándose rojo-pardusco a negro.

Micromorfología: esporas de color rojizo-castaño, elipsoides, verrugosas, de 8-10 x 4-6 µm, Q = 1,64. No presenta cistidios.

Material examinado: CONC-F 0392, Chile, Región del Maule, Provincia de Cauquenes, Reserva Nacional Los Ruiles, LS 35° 50' 00", LO 72° 30' 35", sobre suelo de hojarasca, bajo *N. glauca* y *N. alessandrii*, 03-VII-2008, Leg. et det. G. Palfner.

CONC-F 1441, Chile, Región de la Araucanía, Provincia de Malleco, comuna de Angol, Parque Nacional Nahuelbuta, sendero del sector de camping a Piedra del Águila, LS 37° 49' 43", LO 73° 00' 01,5", 1180 msnm, sobre suelo y hojarasca bajo *N. dombeyi*, 17-V-2015, Leg. et det. N. Arnold.

CONC-F 1447, Chile, Región de la Araucanía, Provincia de Malleco, comuna de Curacautín, km 11,8, camino a Laguna Blanca, LS 38° 24' 27", LO 71° 42' 21,7", 989 msnm, bosque de *N. obliqua* y *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 23-V-2015, Leg. et det. N. Arnold.

CONC-F 1851, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, Comuna de Los Álamos, Caramavida, sector Piedra El Queso, LS 37° 39' 09,9", LO 73° 06' 29,8", 1045 msnm, sobre suelo y hojarasca bajo *N. dombeyi*, 01-V-2018, Leg. et det. G. Palfner.

*Cortinarius viscovenetus* E. Horak

Macromorfología: Píleo convexo aplanado, higrófono, viscoso, finamente estriado, de color amarillo oliváceo tornándose más claro en el margen; laminillas emarginadas de

tono gris-oliva; estípite clavado-bulboso, seco, en la base tornándose amarillo oscuro o amarillo-marrón.

Micromorfología: esporas amigdaliformes, verrugosas de 9-11 x 5-7  $\mu\text{m}$ , Q = 1,62.

Material examinado: CONC-F 1963, Chile, Región de la Araucanía, Provincia de Malleco, comuna de Angol, camino a Cañete a Parque Nacional Nahuelbuta, entre sector Toldos y Butamalal bajo, LS 37° 49' 06,5", LO 73° 05' 37,5", 960 msnm, sobre suelo de hojarasca bajo *N. dombeyi*, 21-V-2019, Leg. et det. N. Arnold.

CONC-F 1776, Chile, Región de la Araucanía, Provincia de Malleco, comuna de Angol, Parque Nacional Nahuelbuta, sendero del sector camping a Piedra del Águila, LS 37° 49' 31", LO 73° 00' 38", 1150 msnm, sobre suelo y hojarasca bajo *N. dombeyi*, 09-V-2017, Leg. N. Arnold, det. G. Palfner.

#### *Cortinarius xanthopus* M.M. Moser

Macromorfología: Píleo cónico, campanulado, higrófono de 1-3 cm, seco, a veces transparente y rayado, de color marrón anaranjado; laminillas adnatas, emarginadas, subdistantes, de tono amarillo anaranjado; estípite cilíndrico, seco, estriado, primero amarillo claro de base naranja-castaño oscuro.

Micromorfología: esporas elipsoides subamigdaliformes, verrugosas de 7-11 x 4-7  $\mu\text{m}$ , Q = 1,72.

Material examinado: CONC-F 2085, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de los Álamos, cordillera de Nahuelbuta, AAVC Caramavida, sector Don Alfonso, LS 37° 42' 37", LO 73° 10' 21,2", 820 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 11-VI-2022, Let. et det. G. Palfner.

CONC-F 2086, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Caramavida, LS 37° 42' 37", LO 73° 10' 21,12", 820 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 11-VI-2022, Leg. et det. G. Palfner.

#### *Cortinarius austroarmillatus* nom. prov.

Macromorfología: Píleo convexo a umbonado, seco, de color rojizo oscuro en el centro, volviéndose más claro al margen, higrófono; laminillas adnatas, de color rojizo-rosáceo; estípite cilíndrico, seco, claviforme, fibroso relleno, luego hueco, de color rosa pálido con restos rojizos de cortina.

Micromorfología: esporas amigdaliformes, verrugosas de 8-11 x 4-6  $\mu\text{m}$ , Q = 1,65.

Material examinado: CONC-F 0725, Chile, Región del Biobío, Provincia de Concepción, Predio La Canterra y El Guindo, LS 36°50' 15", LO 73° 01 27", 159 msnm, en bosque mixto dominado por *N. obliqua* y *Aextoxicon punctatum*, sobre suelo y hojarasca, 16-V-2011, Leg. et det. N. Arnold.

Sin Código, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 32' 41,35", LO 73° 11' 32,29", 710 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 18-VI-2022, Leg. et det. N. Arnold.

*Cortinarius aff. veronicae*

Macromorfología: Píleo convexo-aplanado a deprimido, seco, higrófono, de color naranja-rojizo en el centro, tornándose más claro al margen, el borde se rompe al madurar; laminillas adnatas, apretadas, de color naranja-ocráceo; estípote cilíndrico, firme, seco, clavado con la base bulbosa, color blanco a castaño-anaranjado, con restos de velo color naranja oscuro; reacción con KOH (10%): en todas partes tornándose rojo a rojo-pardusco; exposición a luz UV 366: muestra una fluorescencia de color naranja intenso en el ápice del estípote.

Micromorfología: esporas verrugosas, elipsoides de color castaño-rojizo, de 7-10 x 4-6 µm, Q = 1,68.

Material examinado: CONC-F 2069, Chile, Región de la Araucanía, Provincia de Malleco, comuna de Angol, camino a Cañete a Parque Nacional Nahuelbuta, Butamalal bajo, LS 37° 49' 05,8", LO 73° 05' 37,5", 979 msnm, sobre suelo y hojarasca bajo *N. dombeyi*, 28-V-2022, Leg. V. Lefiqueo, det. N. Arnold.

CONC-F 2088, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 31' 21,5", LO 73° 10' 57,3", 715 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 18-VI-2022, Leg. J. Farias, det. G. Palfner.

*Dermocybe amoena* M.M. Moser & E. Horak

Sinónimo: *Cortinarius amoenus* (M.M. Moser & E. Horak) G. Garnier

Macromorfología: de tamaño pequeño a mediano, gregario; píleo hasta 65 mm de diámetro, centro de color castaño, borde castaño-amarillento y estriado; laminillas primero amarillas, tornándose ferruginosas; estípote cilíndrico o levemente clavado, hasta 120 x 15 mm, amarillo; reacción con KOH (10%): en todas partes tornándose

rojo a rojo-pardusco; exposición a luz UV 366: muestra una fluorescencia de color amarillo en toda la extensión del estípite y laminillas, a veces mostrando un tono anaranjado en el ápice del estípite.

Micromorfología: esporas elípticas hasta amigdaliformes, verrugosas, ferruginosas, de 8-9 x 5-6  $\mu\text{m}$ , Q = 1,66.

Material examinado: CONC-F 2065, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 31' 23,5", LO 73° 11' 01,8", 730 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 11-VI-2022, Leg. J. Farias, det. G. Palfner.

CONC-F 2066, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 34' 33,6", LO 73° 10' 22,1", 720 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 21-VI-2022, Leg. J. Farias, det. G. Palfner.

CONC-F 2073, Chile, Región del Ñuble, Provincia de Itata, Comuna de Quirihue, Fundo el Guanaco, orilla de sendero, LS 36° 13' 22,8", LO 72° 37' 35,5", 380 msnm, sobre suelo y hojarasca bajo *N. glauca*, 11-VI-2022, Leg. et det. G. Palfner.

*Dermocybe icterina* E. Horak

Sinónimo: *Cortinarius icterinus* (E. Horak) E. Horak

Macromorfología: Píleo convexo, deprimido volviéndose expandido en la madurez, amarillo-oliváceo oscuro en el centro y amarillo claro hacia el margen, finamente estriado, margen irregular; laminillas anexas a emarginado-adnatas, ventricosas apretadas, amarillas a ocráceo-amarillentas; estípite cilíndrico, delgado, claviforme, amarillo-oliva, fibroso, con restos de cortina de color amarillo-castaño; reacción con KOH (10%): en todas partes tornándose rojo brillante; exposición a luz UV 366: muestra una fluorescencia de color naranja en toda la extensión del estípite.

Micromorfología: esporas elipsoides, verrugosas, ferruginosas de 7-8 x 4-6  $\mu\text{m}$ , Q = 1,54.

Material examinado: CONC-F 2106, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 31' 21,2", LO 73° 10' 57", 715 msnm, en bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 18-VI-2022, Leg. J. Farias, det. G. Palfner.

CONC-F 2089, Chile, Región del Biobío, Provincia de Arauco, comuna de Curanilahue, Sector Trongol Alto, LS 37° 31' 21,5", LO 73° 10' 57,3", 715 msnm, en

bosque nativo dominado por *N. dombeyi*, sobre suelo y hojarasca, 18-VI-2022, Leg. J. Farias, det. G. Palfner.

*Dermocybe nahuelbutensis* Garrido & E. Horak

Sinónimo: *Cortinarius nahuelbutensis* (Garrido & E. Horak) G. Garnier

Macromorfología: Píleo convexo aplanado, volviéndose deprimido en la madurez, seco, oliváceo-amarillo; laminillas concoloras, adnatas, apretadas con lamélulas; estípite cilíndrico, o clavado, seco, de tono amarillo con restos de cortina de color castaño claro; reacción con KOH (10%): en todas partes tornándose rojo.

Micromorfología: esporas elípticas amigdaliformes, verrugosas, ferruginosas de 8-12 x 5-6  $\mu\text{m}$ , Q = 1,78.

Material examinado: CONC-F 2064, Chile, Región del Biobío, Provincia de Concepción, Comuna de Tomé, lado poniente Ruta 158 Agua Amarilla a Rafael, Sector San Antonio, LS 36° 42' 29", LO 72° 51' 48,2", 260 msnm, bosque de *N. obliqua*, sobre suelo y hojarasca, 25-V-2022, Leg. G. Palfner, det. N. Arnold.

CONC-F 2074, Chile, Región de Ñuble, Provincia de Itata, comuna de Quirihue, Fundo el Guanaco, orilla de sendero, LS 36° 13' 23,2", LO 72° 37' 37,2", 390 msnm, sobre suelo y hojarasca bajo *N. glauca*, 11-VI-2022, Leg. et det. G. Palfner.

CONC-F 2077, Chile, Región de Ñuble, Provincia de Itata, comuna de Quirihue, Fundo el Guanaco, orilla de sendero, LS 36° 13' 22,7", LO 72° 37' 34,5", 380 msnm, sobre suelo y hojarasca bajo *N. glauca*, 11-VI-2022, Leg. et det. G. Palfner.



Figura 5.1. Especies de macrohongos registrados en orden alfabético; a: *Cortinarius micaceus*; b: *Cortinarius teresae*; c: *Cortinarius viscovenetus*; d: *Cortinarius xanthopus*; e: *Cortinarius austroarmillatus* nom. prov.; barra en todas fotografías corresponde a 2 cm.





Figura 5.2. Especies de macrohongos registrados en orden alfabético; f: *Cortinarius steglichii* nom. prov.; g: *Cortinarius aff. veronicae*; h: *Dermocybe amoena*; i: *Dermocybe icterina*; j: *Dermocybe nahuelbutensis*; barra en todas fotografías corresponde a 1 cm.

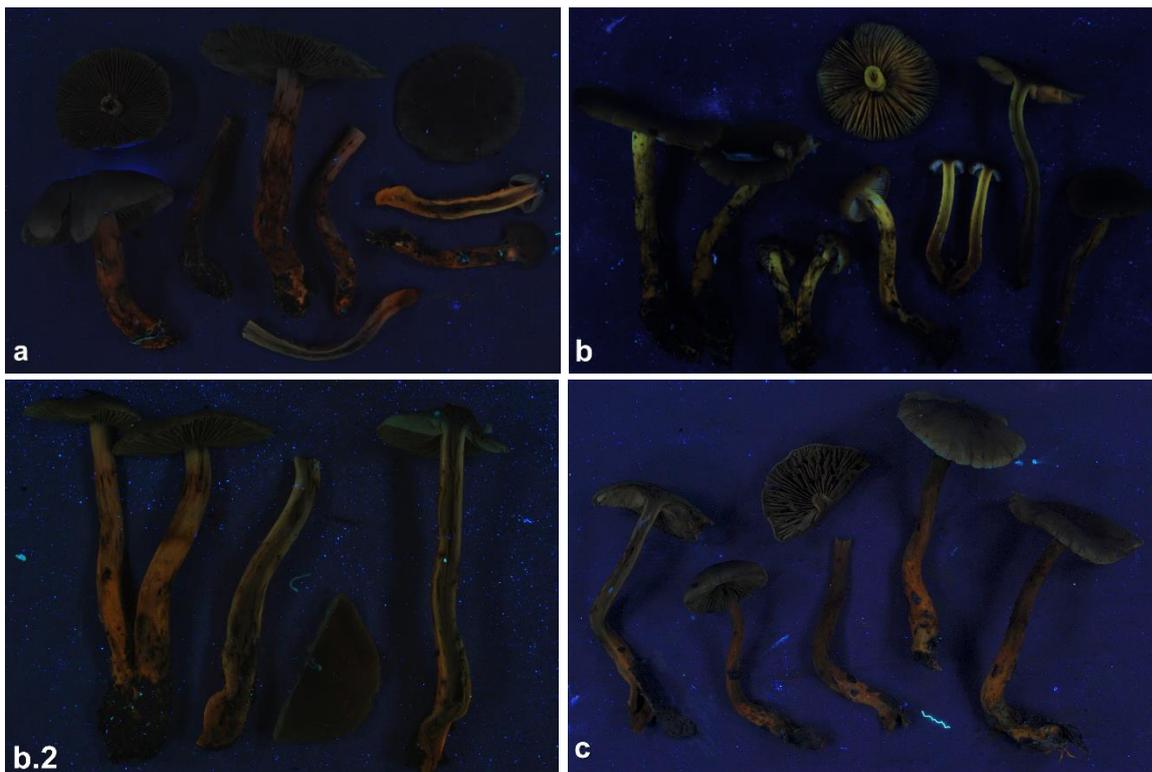


Figura 6. Especies del subgrupo *Dermocybe* bajo luz UV 366 nm. a) *Cortinarius aff. veronicae*; b) *Dermocybe amoena*; b.2) *D. amoena* con fluorescencia naranja; c) *D. icterina*.

### 3. CROMATOGRAFÍA

Se observaron patrones distintivos para cada especie (Fig. 7), con excepción de las especies pertenecientes al subgrupo *Cortinarius* que no extrajeron ningún pigmento. En el primer patrón con luz blanca (Fig. 7a), las muestras de *C. teresae* compartieron tres bandas de color morado rojizo [1, 2, 3] a  $R_f = 0,64, 0,48$  y  $0,38$ . El patrón general de pigmentos fue idéntico para las cuatro colecciones.

Para la especie *D. amoena*, al menos dos de las cuatro colecciones mostraron una banda de color verde oliváceo débil de rápida migración [4] en  $R_f = 0,82$ , que colindaba con una banda de color amarillo [5] en  $R_f = 0,77$ , seguido por una banda naranja fuerte [6] en  $R_f = 0,69$ . Solo una de las colecciones CONC-F 2066 mostró una banda naranja débil [7] en  $R_f = 0,64$ . Una banda verde olivácea [8] en  $R_f = 0,54$  es fuerte en CONC-F 2066 pero débil en las otras colecciones de la especie. Debajo, una banda oliváceo débil [9] en  $R_f = 0,41$ .

Los perfiles de *D. icterina* compartieron dos bandas amarillas débiles [10, 11] en  $R_f = 0,59$  y  $0,69$ , que pudiesen ser las mismas bandas que compartieron las colecciones de *D. amoena* y *D. nahuelbutensis* en las posiciones [6, 8] respectivamente, que se corrieron por acción del ascenso del solvente al final de la placa, ya que presentan pequeñas diferencias de color y posición.

La colección CONC-F 2106 compartió una banda amarilla débil [12] con las colecciones de *D. nahuelbutensis* en  $R_f = 0,59$ .

La especie *D. nahuelbutensis* en el segundo patrón (Fig 7b), mostró varios puntos de similitud con otras colecciones. Una banda olivácea débil [4] se registró para dos de las colecciones de *D. amoena* (CONC-F 2065 y CONC-F 2073), *D. nahuelbutensis* y *D. pseudosplendida* nom. prov., en  $R_f = 0,82$ . Una banda amarilla [5] fue compartida para dos de las colecciones de *D. amoena* (CONC-F 2065 y CONC-F 2073), *D. nahuelbutensis*, *D. pseudosplendida* nom. prov. y *C. aff. veronicae* en  $R_f = 0,77$ . Una banda olivácea débil fue única para las colecciones de *D. nahuelbutensis* [13] en  $R_f = 0,48$ .

El perfil de la especie *D. pseudosplendida* nom. prov., a pesar de compartir bandas con *D. amoena* y *D. nahuelbutensis* y *C. aff. veronicae*, la banda rojiza fuerte y ancha [14] con  $R_f = 0,48$  solo fue registrada para su perfil pigmentario.

Los perfiles de las colecciones de *D. austroarmillatus* nom. prov., compartieron una banda rojiza [15] a  $R_f = 0,57$ .

Para la especie *C. aff. veronicae*, se registró una banda amarilla [6] a  $R_f = 0,67$  en todas las colecciones, banda compartida por las colecciones de *D. amoena* y *D. icterina*, seguida por una banda de menor migración de color rojiza intensa [16] a  $R_f = 0,50$ . Esta banda indicaría ser similar a la banda rojiza en la posición [14] vista en *D. pseudosplendida* nom. prov..

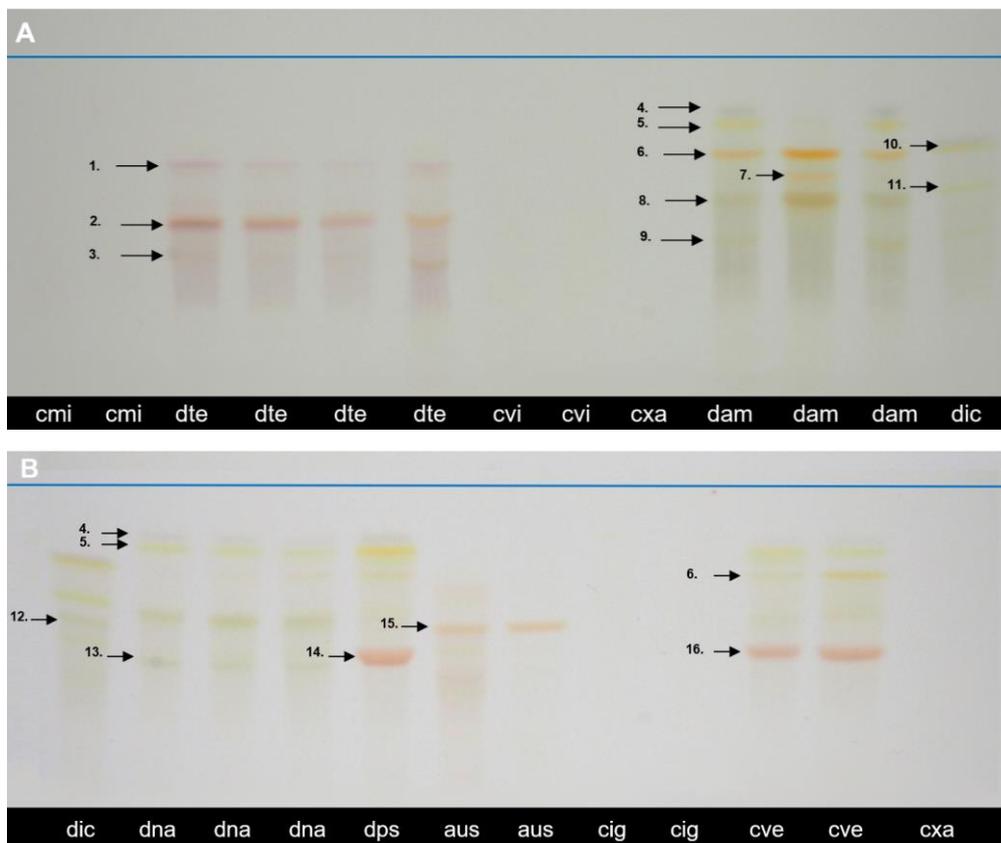


Figura 7. Recopilación de los perfiles pigmentarios mediante cromatografía en capa fina (TLC) con luz blanca. A) cmi: *Cortinarius micaeus*; dte: *Cortinarius teresae*; cvi: *Cortinarius viscovenetus*; cxa: *Cortinarius xanthopus*; dam: *Dermocybe amoena*; dic: *Dermocybe icterina*. B) dic: *Dermocybe icterina*; dna: *Dermocybe nahuelbutensis*; dps: *Dermocybe pseudosplendida* nom. prov.; aus: *Dermocybe austroarmillatus* nom. prov.; cig: *Cortinarius steglichii* nom. prov.; cve: *Dermocybe aff. veronicae*. La línea azul indica el frente del solvente de 5 cm

En la recopilación de los perfiles pigmentarios expuestos a vapor de amonio ( $\text{NH}_3$ ) (Fig. 8), se observaron cambios batocrómicos de coloración de algunas bandas.

Para el caso de las colecciones en el segundo patrón (Fig. 8b) de la especie *D. pseudosplendida* nom. prov., para la banda rojiza [14], esta se volvió morado/lila intenso en respuesta a la reacción con vapor de amonio. En las colecciones de *D.*

*austroarmillatus* nom. prov., la banda rojiza [15], tuvo un cambio de coloración, y se volvió de color anaranjado luego de la reacción con amonio [17]. Y en el caso de *D. aff. veronicae*, la banda anteriormente rojiza [16] con un Rf de 0,48 se vuelve de color morado/lila intenso [19].

En el caso de otras especies, no hubo un cambio batocrómico de las bandas, sino que aparecieron otras, como en el caso de *D. amoena* en el primer patrón (Fig. 8a), que aparecieron dos bandas de menor migración de color oliva [a, b], de Rf = 0,4 y 0,22.

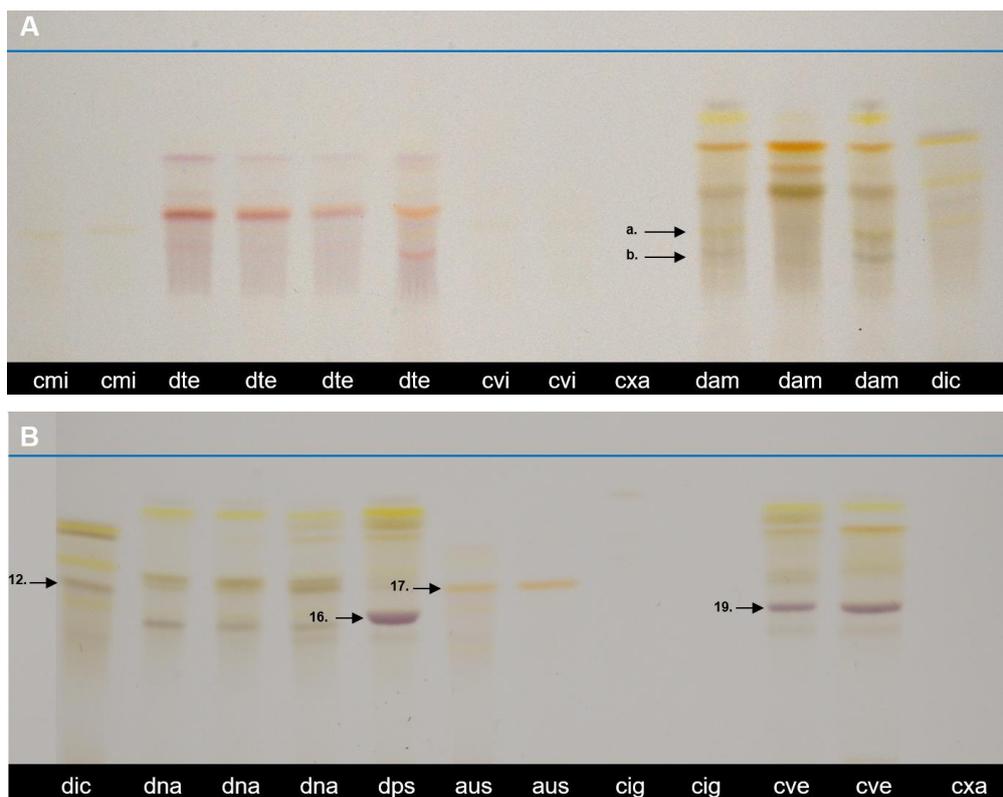


Figura 8. Recopilación de los perfiles pigmentarios en cromatografía en capa fina (TLC) con tratamiento de vapor de amonio (NH<sub>3</sub>). La línea azul indica el frente del solvente

Los perfiles pigmentarios expuestos bajo luz UV 366 nm (Fig. 9) mostraron fluorescencia visible. Todos los perfiles contuvieron una banda celeste brillante intensa con una migración rápida [1] a Rf = 0,73. Esta banda corresponde a Ergosterol, el principal esteroles componente de las membranas celulares de los hongos. Las bandas del mismo tono, pero más débil [2, 3, 4] corresponden a derivados del ergosterol.

Las colecciones de *D. teresae* en el primer patrón de bandas (Fig. 9a) compartieron una banda morada oscura [5] a  $R_f = 0,4$ , que colindó con una banda negra [6] a  $R_f = 0,38$ .

Una banda celeste intensa [8] de  $R_f = 0,27$  se encontró en las colecciones de *C. viscovenetus* y *D. amoena*, y de *D. austroarmillatus* nom. prov..

Todas las colecciones de *D. amoena*, y una de las colecciones de *D. aff. veronicae* CONC-F 2088 compartieron una banda amarilla débil de migración rápida [9], con  $R_f = 0,92$ .

Una banda amarilla [10] a  $R_f = 0,8$  es débil en las colecciones de *D. nahuelbutensis*, pero más intensa en las muestras de *D. amoena* y *D. aff. veronicae*. Debajo, una banda amarilla débil [11] a  $R_f = 0,65$  en las colecciones de *D. amoena*, pero distinta [17] en el perfil de una de las colecciones CONC-F 2066 siendo de color anaranjado intenso.

Una banda de color negro [12] a  $R_f = 0,53$  en las colecciones de *D. amoena* y *D. nahuelbutensis*, pero distinta en *D. icterina* [18], que presenta la banda de color amarillo débil.

Una banda celeste débil en *D. amoena* [13] pero de gran intensidad en *D. nahuelbutensis*, *D. pseudosplendida* nom. prov. y en una de las colecciones de *C. aff. veronicae* CONC-F 2069 de  $R_f = 0,4$ . Debajo de este, una banda rojiza de baja intensidad [14] de  $R_f = 0,44$  se encontró en las colecciones de *D. amoena*, *D. icterina* y *D. nahuelbutensis*. Además, los perfiles de *D. amoena* comparten dos bandas amarillas débiles [15, 16] de menor migración a  $R_f = 0,38$  y  $0,21$  respectivamente estando también presente una de estas [16] en las colecciones de *D. icterina*.

En la segunda placa de patrones cromatográficos (Fig. 9b), la colección de *D. icterina* CONC-F 2106 presentó una banda celeste débil [19] a  $R_f = 0,48$ .

En dos de las colecciones de *D. nahuelbutensis* CONC-F 2074 y CONC-F 2077, y en las colecciones de *D. pseudosplendida* nom. prov. y *D. aff. veronicae* una banda negra [20] de  $R_f = 0,44$ , de baja intensidad en *D. nahuelbutensis*, pero intensa en las otras muestras.

El perfil pigmentario de la especie nom. prov. *D. austroarmillatus* nom. prov., mostró una banda específica de color rojizo intenso [21] a  $R_f = 0,55$  que la diferenció de las demás colecciones. Además, una colección CONC-F 0725 presentó una banda de menor migración de color celeste intenso [22] a  $R_f = 0,42$ .

Las colecciones de *D. aff. veronicae* a pesar de mostrar varios puntos de similitud con las colecciones de *D. amoena*, *D. nahuelbutensis* y *D. pseudosplendida* nom. prov., presento unas bandas tenues de color rojizo [23] a  $R_f = 0,65$  que las diferenció de los otros perfiles.

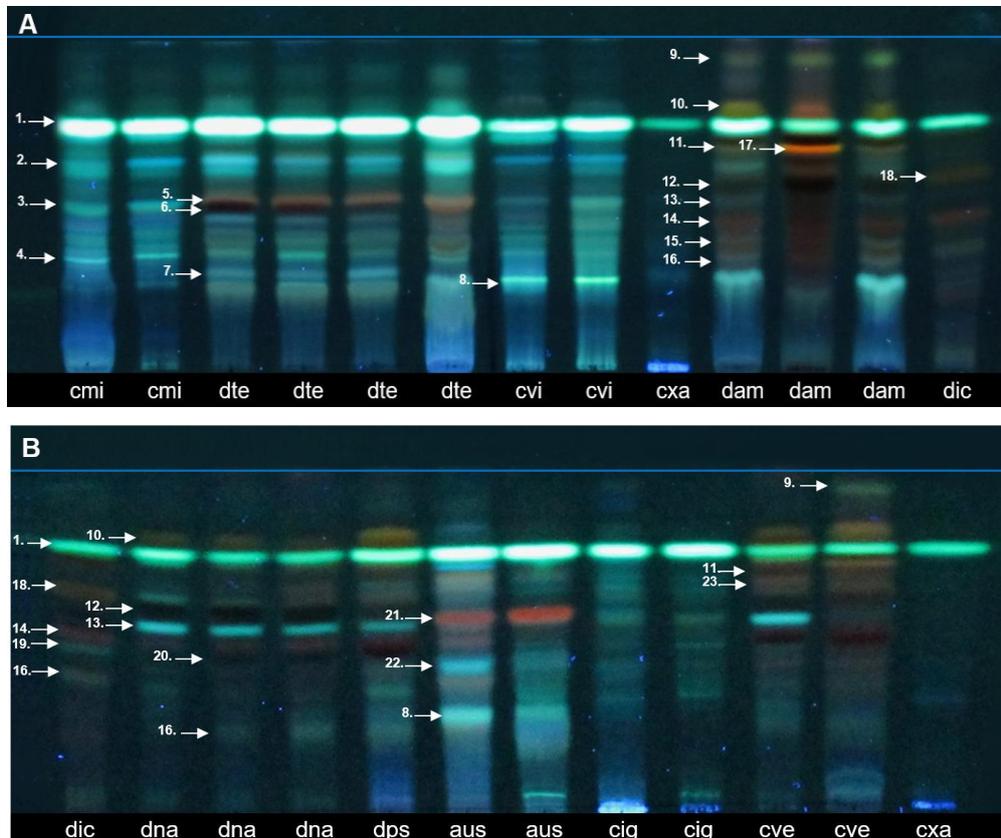


Figura 9. Recopilación de los perfiles pigmentarios mediante cromatografía en capa fina (TLC) con UV 366 nm. La línea azul indica el frente del solvente de 5 cm.

Las placas bajo luz UV a 254 nm (Fig. 10) fueron procesadas por el software ImageJ, donde la imagen fue convertida a 8 bit, para hacer mayor contraste de las luces y sombras de las bandas. Las bandas en este caso se visualizaron como manchas de color negro.

En el caso del primer patrón de bandas pigmentarias (Fig. 10a), todas las colecciones comparten una banda de gran intensidad en la posición [2], a un  $R_f = 0,36$ .

Solo una de las colecciones de *C. micaceus* CONC-F 2062 presentó una banda en la posición [1] con un valor de  $R_f = 0,51$ .

Una banda en la posición [3] con una alta migración de  $R_f = 0,68$ , fue compartida por las colecciones de *C. viscovenetus*, *D. amoena*, *D. icterina*, y una de las colecciones de *C. micaceus* CONC-F 2070.

Para las colecciones de *D. teresae*, compartieron tres bandas únicas en la posición [4] de  $R_f = 0,66$ , una banda [5] a  $R_f = 0,48$  de gran intensidad y una última de menor migración en la posición [6], con un  $R_f = 0,24$ .

La banda de posición [7] fue compartida por todas las colecciones, de migración rápida tenue, pero intensa en *C. viscovenetus* a  $R_f = 0,94$ .

Las colecciones de *D. amoena*, *D. icterina*, *D. nahuelbutensis*, *D. pseudosplendida* nom. prov., *D. austroarmillatus* nom. prov., y *C. aff. veronicae* compartieron una banda en la ubicación [8] a  $R_f = 0,56$ .

Dos bandas continuas [9, 10] se presenciaron en las especies *D. amoena*, *D. nahuelbutensis*, *D. pseudosplendida* nom. prov. y *D. aff. veronicae* con  $R_f = 0,82$  y  $0,78$  respectivamente.

Los perfiles de *D. amoena* CONC-F 2066 y *D. icterina* compartieron una banda de menor migración [11] a  $R_f = 0,45$  y una banda de mayor migración [12] a  $R_f = 0,62$  solo fue registrada para las colecciones de *D. amoena* CONC-F 2066, CONC-F 2973 y para la colección *D. icterina* CONC-F 2106.

Una banda débil de baja migración en el sitio [13] a  $R_f = 0,38$  fue determinada en la colección *D. nahuelbutensis* CONC-F 2077, y en la especie *C. aff. veronicae*.

Dos bandas continuas de misma intensidad [14, 15] se encontraron en las colecciones de *D. pseudosplendida* nom. prov. y en *D. aff. veronicae* a  $R_f = 0,76$  y  $0,71$  respectivamente.

Una banda de gran intensidad [17] y una banda débil de menor migración [16] fueron solo compartidas entre las colecciones de *D. pseudosplendida* nom. prov. y *D. aff. veronicae* a  $R_f = 0,23$  y  $0,13$ .

Se registró una banda única de rápida migración para *C. steglichii* en la ubicación [18] a  $R_f = 0,8$ .

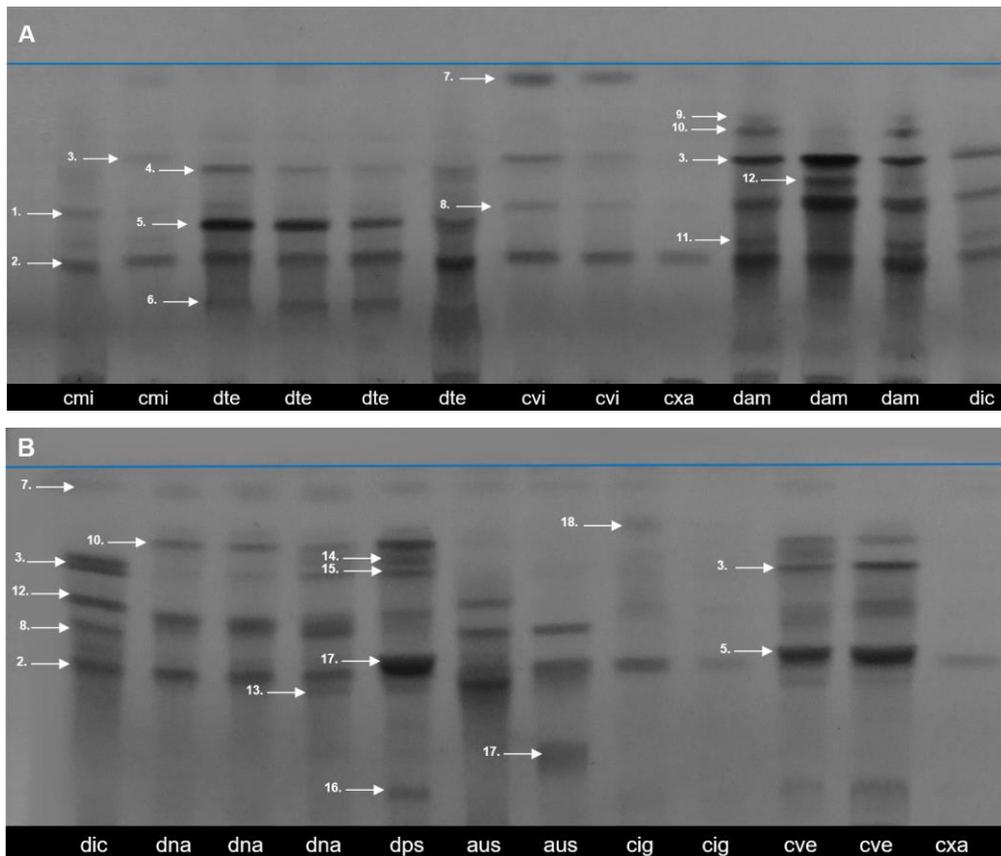


Figura 10. Recopilación de los perfiles pigmentarios mediante cromatografía en capa fina (TLC) con UV 254 nm. La línea azul indica el frente del solvente de 5 cm.

#### 4. ANÁLISIS DE DATOS

El análisis de clustering fue realizado sobre las variables de pigmentación y de color de las 27 colecciones (Tabla 1) se realizó para todas las variables, con un análisis de Bootstrap de 1000 réplicas (Fig. 11) a través del método UPGMA.

Para el caso de la luz blanca (Fig. 11a), el análisis se hizo a través de un análisis de similitud de Gower (Sørensen), con un coeficiente de correlación de 0.9043. En general todas las colecciones que conforman el subgrupo *Dermocybe* formaron grupos cohesivos que se ajustaban a las 4 especies existentes: *C. teresae*, *D. icterina*, *D. amoena* y *D. nahuelbutensis*, y a 3 nuevas especies denominadas provisoriamente como *C. aff. veronicae*, *D. pseudosplendida* nom. prov., y *C. austroarmillatus* nom. prov..

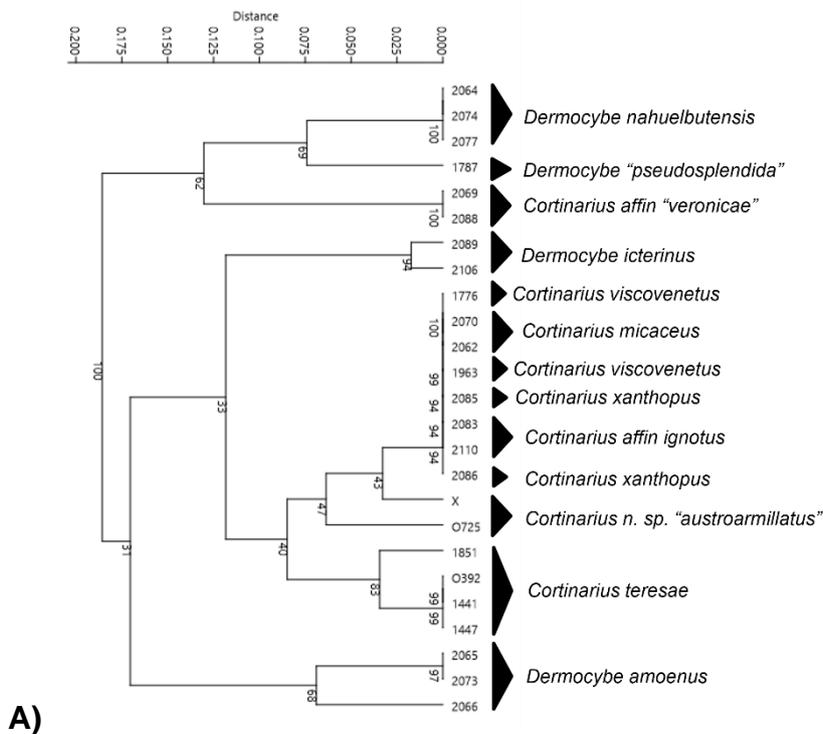
Las especies que no forman parte del subgrupo *Dermocybe*, no mostraron un patrón pigmentario distintivo, por lo tanto, el análisis de agrupación las muestra como idénticas, con un alto valor de similitud del 99% para las especies *C. micaceus* y *C.*

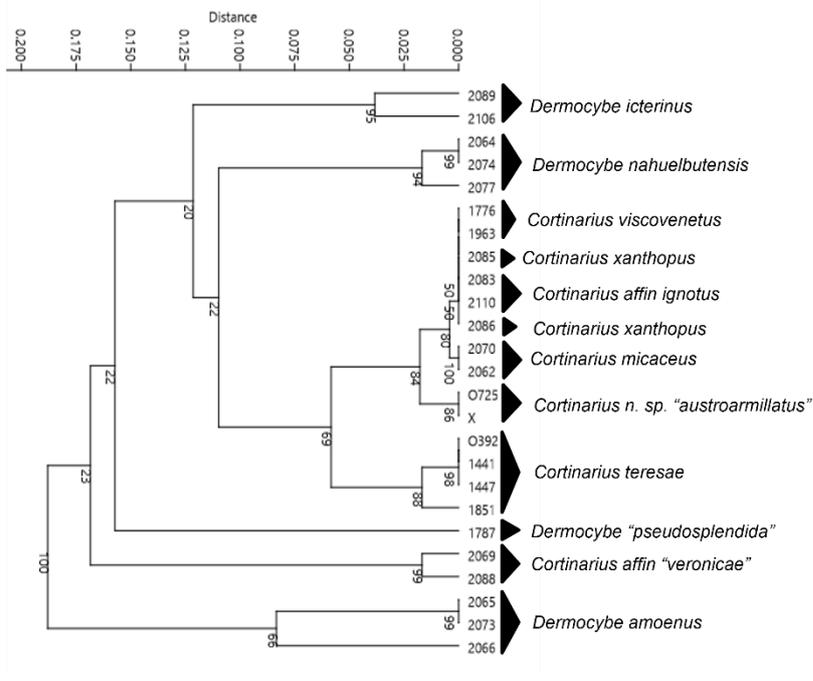
*viscovenetus* y un 94% de similitud para las especies *C. xanthopus* y *Cortinarius steglichii* nom. prov (anteriormente nombrada “ignotus”).

Las colecciones de *D. teresae* se agruparon formando un solo clúster, mostrando un 99% de similitud, mostrándose similares a la colección de *D. austroarmillatus* nom. prov. quien, a pesar de no formar un conglomerado en común, sale de las especies pertenecientes a *Cortinarius s. str.*

Para las especies *D. nahuelbutensis*, *D. pseudosplendida* nom. prov. y *D. aff. veronicae* muestran un alto nivel de similitud, pero las colecciones que conforman las especies *D. nahuelbutensis* y *D. aff. veronicae* forman grupos distintivos, con un 100% de similitud.

Los patrones al reaccionar con vapor de amonio (NH<sub>3</sub>), sufrieron cambios batocrómicos (Fig. 11b). Según los análisis de similitud, se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,9177. En general, los conglomerados se mantienen al compararlos con la luz blanca (Fig. 11a), pero vemos algunos cambios. Las colecciones de *D. amoena* se muestran fuera del grupo, y *D. pseudosplendida* nom. prov. se muestra similar a *D. aff. veronicae*.





**B)**

Figura 11. Análisis de clúster (UPGMA) a través del coeficiente de similitud de Gower basado en los datos de pigmentos registrados en 27 colecciones. A) Luz blanca, B) Adición con amonio (NH<sub>3</sub>). Los números bajo los nodos indican el valor de Bootstrap de 1000 réplicas.

En el caso de los patrones de las bandas bajo luz UV a 366 nm (Fig. 11c) se obtuvo un valor de correlación del 0,8763. Se muestra una clara diferenciación entre las especies con un alto valor de soporte de BS. Todas las colecciones formaron conglomerados cohesivos conformes a las 7 especies existentes *C. micaceus*, *C. xanthopus*, *C. viscovenetus*, *D. teresae*, *D. amoena*, *D. nahuelbutensis*, y a las 3 nuevas especies *D. aff. veronicae*, *Cortinarius steglichii* y *D. austroarmillatus* nom. prov. (todas tratadas bajo el subgrupo *Dermocybe*).

Las colecciones de *D. amoena* se muestra separada de las otras colecciones, exhibiendo un alto valor de soporte, con un 99% de similitud, con excepción de la colección CONC-F 2066 que obtuvo un 97% de similitud con las otras colecciones.

La especie *D. nahuelbutensis* se muestra similar a las especies *D. pseudosplendida* nom. prov. y a *D. aff. veronicae* formando un conglomerado con las últimas dos, donde *D. pseudosplendida* nom. prov. muestra algunas diferencias que las separan de *D. aff. veronicae*. Pero cada especie obtuvo un patrón distintivo.

*C. xanthopus*, *D. icterinus* y *D. steglichii* ("ignotus") forman otro conglomerado, donde *D. icterina* y *D. steglichii* tuvieron su patrón distintivo con un alto valor de BS con un 100% de similitud, con excepción de *C. xanthopus*, quien tuvo bajo valor de BS con un valor 59%.

*D. teresae* y *D. austroarmillatus* nom. prov. forman otro conglomerado, donde *D. teresae* se diferencia de *D. austroarmillatus* nom. prov..

Los patrones de los pigmentos bajo luz UV a 254 nm (Fig. 11d), se analizaron bajo el análisis de similitud de Dice, con un coeficiente de correlación de 0,8914. Las bandas muestran en general, patrones distintivos para cada especie con altos valores de soporte de BS, con excepción de las colecciones pertenecientes a la especie *C. xanthopus*, que no mostró una similitud entre sus bandas.

Las colecciones pertenecientes al subgrupo *Dermocybe* obtuvieron patrones que las diferencian entre sí, con altos valores de soporte de BS. Las colecciones de *D. austroarmillatus* nom. prov. y *D. teresae* muestran un grupo con un alto valor de similitud del 88%. Ambas especies con patrones distintivos: *D. teresae* con el 100% de similitud de sus bandas, y *D. austroarmillatus* nom. prov. con el 99%.

Las colecciones de *C. viscovenetus*, *D. amoenus*, *C. xanthopus* CONC-F 2085 y *C. micaceus* forman otro conglomerado, donde las especies *C. viscovenetus*, *C. micaceus* y *D. amoena* exhiben patrones que las distinguen.

Las especies *D. icterina* y *D. nahuelbutensis* componen otro grupo, donde cada una presenta un patrón distintivo, con altos valores de BS.

*D. pseudosplendida* nom. prov. y *D. aff. veronicae* se agrupan, donde esta última muestra el 100% de similitud de sus bandas.

Las colecciones de *D. steglichii* y *C. xanthopus* CONC-F 2086 se muestran agrupados, pero no mostraron patrones distintivos.

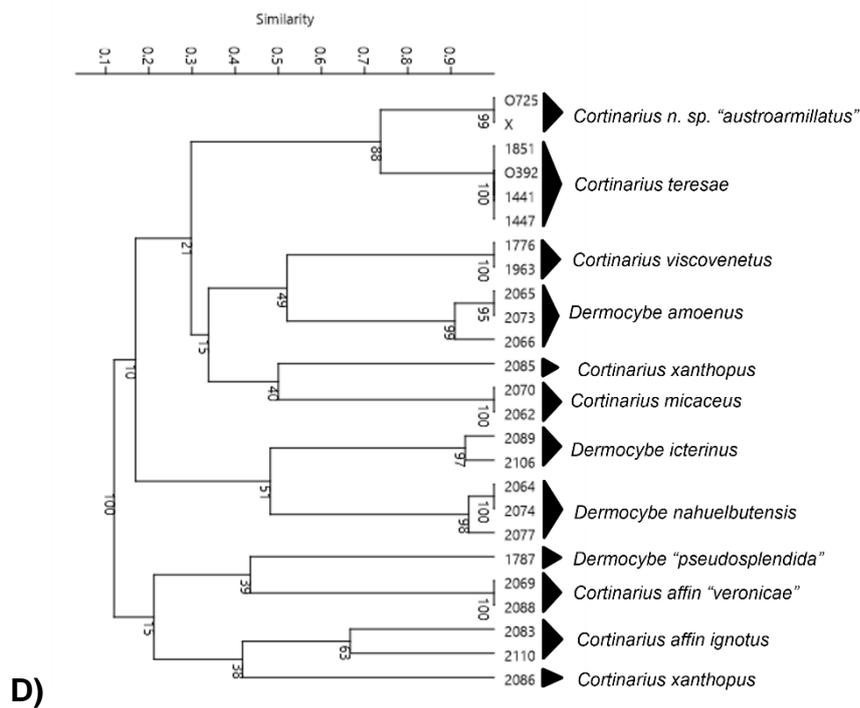
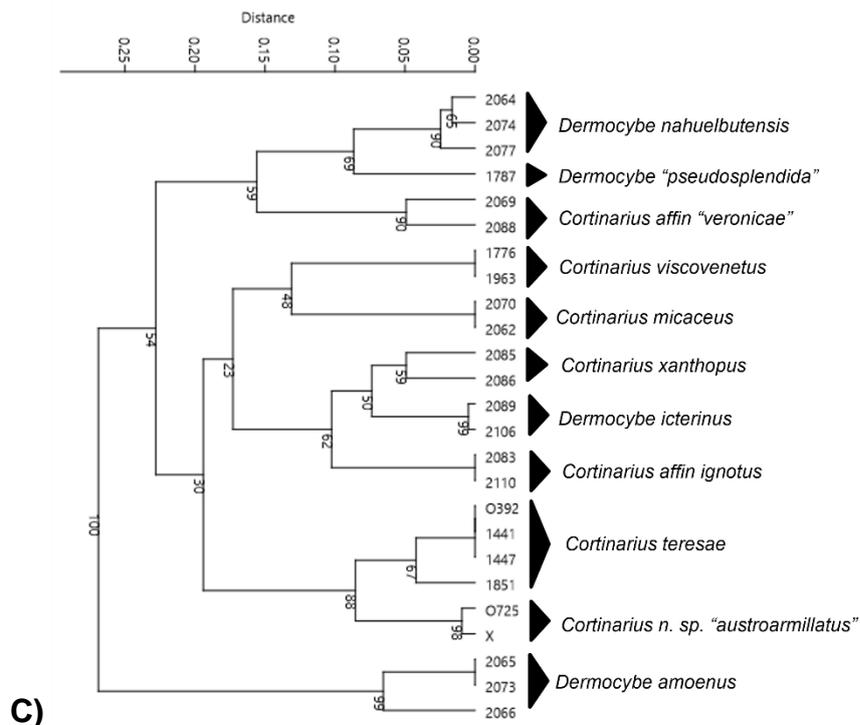


Figura 11.2 Continuación. Análisis de clúster (UPGMA) a través del coeficiente de similitud de Gower para la luz UV 366 nm y el coeficiente de Dice para la luz UV 254 nm basado en los datos de pigmentos registrados en 27 colecciones. C) Luz UV 366 nm y D) Luz UV 254 nm. Los números bajo los nodos indican el valor de Bootstrap de 1000 réplicas.

## DISCUSIÓN

La diversidad relativamente alta de taxones de *Cortinarius* y específicamente de *Dermocybe* en la cordillera de Nahuelbuta coincide con estudios anteriores de Valenzuela *et al.* (1998), en un estudio realizado en la Cordillera Pelada de la X Región de Chile, donde las especies de *Cortinarius* presentaron un mayor número de especies asociadas a *N. dombeyi* y *N. obliqua*.

Numerosos estudios han demostrado evidencia quimiotaxonómica para los hongos de género *Cortinarius* y en específico del subgrupo *Dermocybe*, premisa que se cumplió en nuestro estudio, donde los taxones de *Dermocybe* se distinguieron claramente de las especies de *Cortinarius* examinados por presentar una gama diversa de derivados de antraquinonas visibles en los ensayos de TLC.

Estudios anteriores han encontrado pruebas quimiotaxonómicas entre especies del subgrupo *Dermocybe*. Por ejemplo, Moser & Keller (1988), demostraron que especies que contenían el mismo pigmento, indican una afinidad que coincide con la evidencia morfológica. Caracteres similares en el color y la forma del cuerpo del basidioma y en la forma y ornamentación de las esporas confirman una estrecha relación. Además, afirmaron el uso de los pigmentos del tipo antraquinona como un criterio quimiotaxonómico útil para la identificación y separación de los taxones de grupos afines. Así es como especies pueden considerarse cercanas basándose solamente en la morfología y el perfil pigmentario.

Según estudios hechos por Jones R. H & Tom W. May (2008) en Australia, confirmaron el uso de la cromatografía en capa fina (TLC) para diferenciar según sus patrones de pigmentos a los cuerpos fructíferos de *Cortinarius austrocinnabarinus* R.H. Jones & T.W. May, de *C. cinnabarinus* Fr. y *C. cramesinus* (E. Horak) G. Garnier. En este estudio, los resultados de la TLC se correlacionaron con las diferencias en los caracteres macro y micromorfológicos.

Los análisis morfológicos y fenotípicos sobre 17 especies de *Cortinarius* de Australia, a través de los pigmentos en TLC hechos por los autores Stefani *et al.* (2014) a través de un análisis de clúster, demostró que todas las especies estudiadas, con excepción una colección (df096) de la especie *C. basirubescens* Cleland & J.R. Harris formaron grupos coherentes. Pero, estudios filogenéticos moleculares rescataron 35 especies, demostrando ser una herramienta taxonómica más rigurosa, ya que los estudios fenotípicos subestimaron la riqueza de especies a la mitad.

Con respecto a estudios hechos en especies de Chile y Argentina, análisis químicos reportados por Gruber (1975) y Keller *et al.* (1988) revelaron que la endocrocina y dermoluteína son los principales pigmentos del tipo antraquinona en *D. amoena* y *D. icterina*. Luego, estudios realizados por Laub *et al.* (2020), para *D. icterina*, determinaron que la emodina, physcion, endocrocina y dermoluteína estaban presentes en la especie a través de la cromatografía en capa fina de alto rendimiento (HPTLC).

Estudios posteriores hechos por Greff *et al.* (2017) sobre *D. nahuelbutensis*, aportaron que, además de otros compuestos nuevos como 7,7'-emodinphyscion, esta especie nativa contenían los mismos pigmentos vistos en *D. amoena* y *D. icterina*, lo que explicaría la similitud morfológica y química que obtuvieron estas tres especies. Esto coincide con la premisa de que los colores similares de los pigmentos pueden deberse a la presencia del mismo metabolito o de metabolitos similares en grupos de especies emparentadas.

Por otro lado, las especies pertenecientes a *Cortinarius* s. str., al no poseer pigmentos del tipo antraquinona, el protocolo TLC y posteriormente el análisis de similitud, no permitió caracterizar y diferenciarlas quimiotaquímicamente en su totalidad.

El uso de la TLC permite también, visualizar de forma clara nuevos pigmentos previamente no descritos, e identificar compuestos basándonos en las reacciones de las bandas ante la luz y al amonio (NH<sub>4</sub>).

Estudios preliminares realizados en el Departamento de Química Bioorgánica en el Instituto de Leibniz (datos sin publicar), muestran que la banda compartida por las colecciones de *D. pseudosplendida* nom. prov. y *D. aff. veronicae* en las posiciones [14-16] de color rojizo en luz blanca, tornándose violeta en reacción con NH<sub>4</sub>, y no mostrando fluorescencia en UV 366 nm, marcaría una nueva antraquinona dimérica, cuya estructura precisa se está estudiando actualmente.

Los resultados de los análisis de similitud a través del método de clustering UPGMA demostraron que, tal como habíamos propuesto para las especies nativas de *Dermocybe*, cada especie tuvo una combinación única de posición de las bandas, color e intensidad del color de las bandas, donde cada colección se agrupó en un mismo "clúster", diferenciando a las especies entre sí y nos permitió esclarecer relaciones entre especies antes no resueltas. Este método de agrupamiento nos permitió estandarizar los resultados de las bandas producidas por la TLC, dándonos datos más certeros y objetivos.

En el caso de la colección nombrada provisoriamente *D. pseudosplendida* nom. prov., se mostró una alta similaridad en su patrón de pigmentos con la especie *D. aff. veronicae*, a pesar de que, en el caso de la luz blanca, esta relación no quedaba tan clara al tener bajos valores de soporte de BS y fue necesario corroborar con la reacción con NH<sub>4</sub> y a luz UV. Los análisis morfotaxonómicos y filogenéticos posteriores (datos sin publicar) corroboraron que corresponden a la misma especie. Por otro lado, en el caso de la especie *D. amoena*, nuestros resultados apuntan a la posibilidad de la existencia de subtipos dentro de la especie, al presentar dos patrones diferentes en la TLC, donde las colecciones CONC-F 2065 y CONC-F 2073 compartirían un patrón distinto de la colección CONC-F 2066.

Un caso interesante se dio con las especies *D. austroarmillatus* nom. prov. y *D. teresae*, en donde estudios filogenéticos preliminares realizados en la Universidad de Innsbruck, Austria a través del proyecto POSADEC (datos no publicados), indicarían que ambos taxones serían conespecíficos. Sin embargo, nuestros estudios en TLC muestran claramente una diferencia entre ambas, lo cual también fue dilucidado en los análisis de similitud, aparte de grandes diferencias en su fenotipo.

Esto demuestra como los métodos quimiotaxonómicos nos podrían indicar relaciones entre especies que se escapan de los métodos filogenéticos y viceversa.

## CONCLUSIÓN

Hasta la fecha, todos los estudios relacionados a la quimiotaxonomía de *Cortinarius* y en específico de *Dermocybe* basados en el método TLC, han demostrado su gran potencial como herramienta taxonómica, siendo de gran ayuda para delimitar taxones en este género altamente diverso. El presente trabajo enriquece la información que entregan los cromatogramas en TLC para especies nativas de Chile y Argentina, varias de ellas escasamente conocidas hasta la fecha.

Los análisis demuestran claramente que para las especies existe un patrón distintivo de pigmentos derivados de antraquinonas que permite separarlas con este método relativamente simple y rápido y de esta manera aportar al diagnóstico taxonómico-sistemático de cada taxón. El hecho que los perfiles quimiotaxonómicos obtenidos para las especies examinadas confirman el diagnóstico morfológico o molecular en algunos casos, pero contradiciéndolo en otros, demuestra la importancia de una taxonomía inclusiva y de la ponderación cuidadosa de cada atributo.

## REFERENCIAS

- ARCHARD, M., GILL, M. & R. J. STRAUCH. 1985. New anthraquinones from the genus *Cortinarius*. *Phytochemistry*, 24: 2755–2758.
- ARNOLD, N., H. BESL, A. BRESINSKY & H. KEMMER. 1987. Remarks on the chemotaxonomy of the genus *Dermocybe* (Agaricales) and on its distribution in Bavaria (West Germany). *Zeitschrift für Mykologie*, 53: 187–194.
- BENOIT, I. 1989. Red list of Chilean terrestrial flora. CONAF, Santiago.
- BÖDEKER, I. T. M., K. E. CLEMMENSEN, W. DE BOER, F. MARTIN, Å. OLSON & B. D. LINDAHL. 2014. Ectomycorrhizal *Cortinarius* species participate in enzymatic oxidation of humus in northern forest ecosystems. *New Phytologist*, 203(1), 245–256.
- CHAMBERS, S. M., N. A. SAWYER & J. W. G. CAIRNEY. 1999. Molecular identification of co-occurring *Cortinarius* and *Dermocybe* species from southeastern Australian sclerophyll forests. *Mycorrhiza*, 9(2): 85–90.
- CLEMMENSEN K. E., R. D. FINLAY, A. DAHLBERG, J. STENLID, D. A. WARDLE & B. D. LINDHAL. 2015. Carbon sequestration is related to mycorrhizal fungal community shifts during long-term succession in boreal forests. *New Phytol*, 205: 1525-1536.
- DONOSO, C., M. GONZÁLEZ, M. CORTÉS, C. GONZÁLEZ, P. DONOSO. & M. HERNÁNDEZ. 2008. Poblaciones de araucaria enana (*Araucaria araucana*) en la cordillera de Nahuelbuta, Chile. *Bosque (Valdivia)*, 29(2): 170-175.
- EDENHARDER, R., C. SPETH, M. DECKER, H. KOLODZIEJ, O. KAYSER & K. L. PLATT. 1995. Inhibition of mutagenesis of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) by coumarins and furanocoumarins, chromanones and furanochromanones. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 345(1-2): 57–71.
- FOUILLAUD, M., M. VENKATACHALAM, E. GIRARD-VALENCIENNES, Y. CARO & L. DUFOSSÉ. 2016. Anthraquinones and Derivatives from Marine-Derived Fungi: Structural Diversity and Selected Biological Activities. *Marine Drugs*, 14(4): 64.
- GARNICA, S., M. WEIß & F. OBERWINKLER. 2002. New *Cortinarius* species from *Nothofagus* forests in South Chile. *Mycologia*, 94(1): 136-145.

- GARNICA, S., M. WEIß & F. OBERWINKLER. 2003. Morphological and molecular phylogenetic studies in South American *Cortinarius* species. *Mycol. Res.* 107: 1143–1156.
- GARNICA, S., M. WEIß, B. OERTEL & F. OBERWINKLER. 2005. A framework for a phylogenetic classification in the genus *Cortinarius* (Basidiomycota, Agaricales) derived from morphological and molecular data. *Can. J. Botany* 83: 1457–1477.
- GARRIDO, N. 1988. Agaricales s.l. y sus micorrizas en los bosques de *Nothofagus* en Chile central. *Bibliotheca Mycologica* 120, J. Cramer, Berlin, Stuttgart, ISBN 3-443-59021-7.
- GESSLER, N. N., A. S. EGOROVA & T. A. BELOZERSKAYA. 2013. Fungal anthraquinones. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 49(2): 85-99.
- GILL., M. 2003. "Pigments of fungi (Macromycetes)," *Natural Product Reports*, vol. 20, no. 6, pp. 615–639, 2003.
- GILL., M. & W. STEGLICH. 1987. "Pigments of fungi (Macromycetes)," *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe*, vol. 51, pp. 1–317.
- GREFF, A., A. PORZEL, J. SCHMIDT, G. PALFNER & N. ARNOLD. 2017. Pigment pattern of the chilean mushroom *Dermocybe nahuelbutensis* (Garrido & E. Horak 1988). *Records of Natural Products*, 11(6): 547-551.
- GRUBER, I. 1975. Papierchromatographische Pigmentanalyse von südamerikanischen Dermocyben und Cortinarien. -In: Moser, M. & Horak, E. 1975. *Cortinarius* FR. und nahe verwandte Gattungen in Südamerika. - Beihefte zur Nova Hedwigia 52: 524-540.
- HØILAND, K. 1984. *Cortinarius* subgenus *Dermocybe*. *Opera Botanica* 79: 7-773.
- HORAK, E. & MOSER M. 1965. Fungi Austroamerici XII. Studien zur Gattung *Thaxterogaster* Sing. *Nova Hedwigia* 10:211–241.
- HORAK, E. 1980. Fungi, Basidiomycetes Agaricales y Gasteromycetes secotioides. *Flora Criptogámica de Tierra del Fuego*, 11(6): 1–528.
- JONES, R. H. & M. TOM. 2008. Pigment chemistry and morphology support recognition of *Cortinarius austrocinnabarinus* sp. nov. (Fungi: Cortinariaceae) from Australia. *Muelleria*. 26: 77-87.
- KELLER, G. 1982 Pigmentation Untersuchungen bei europäischen Arten aus der Gattung *Dermocybe* (Fr.) Wu"nsche. *Sydowia* 35: 110–126.

- KELLER G. & J. F. AMMIRATI. 1983. Chemotaxonomic significance of anthraquinone derivatives in North American species of *Dermocybe*, sect. *Sanguineae*, *Mycotaxon* 18: 357-377.
- KELLER, G., M. MOSER, E. HORAK & W. STEGLICH. 1988. Chemotaxonomic investigations of species of *Dermocybe* (Fr.) Wu"nsche (Agaricales) from New Zealand, Papua, New Guinea and Argentina. *Sydowia* 40: 168–187.
- KELLER G. & J. F. AMMIRATI. 1995. Chemotaxonomic studies on the pigmentation of North American species of *Dermocybe* (Fr.) Wu"nsche, section *Dermocybe* and related species, *Beih. Sydowia*, 10: 127-136
- KIDD, C. B. M., CADDY, B., ROBERTSON, J., TEBBETT, I. R., & WATLING, R. 1985. Thin-layer chromatography as an aid for identification of *Dermocybe* species of *Cortinarius*. *Transactions of the British Mycological Society*, 85(2): 213–221.
- KUO, Y.C., H. C. MENG & W. J. TSAI. 2001. Regulation of Cell Proliferation, Inflammatory Cytokine Production and Calcium Mobilization in Primary Human T Lymphocytes by Emodin from *Polygonum hypoleucum* Ohwi. *Inflammation Research*, 50: 73-82.
- KOYAMA, J., I. MORITA, K. TAGAHARA, M. OGATA, T. MUKAINAKA, H. TOKUDA & H. NISHINO. 2001. Inhibitory effects of anthraquinones and bianthraquinones on Epstein-Barr virus activation. *Cancer letters*, 170(1): 15–18.
- LAM, Y. T. H., G. PALFNER, C. LIMA, A. PORZEL, W. BRANDT, A. FROLOV, H. SULTANI, K. FRANKE, C. WAGNER, K. MERZWEILER, L. WESSJOHANN & N. ARNOLD. 2019. Nor-guanacastepene pigments from the Chilean mushroom *Cortinarius pyromyxa*. *Phytochemistry*, 165: 112048.
- LAUB, A., SENDATZKI, A.-K., PALFNER, G., WESSJOHANN, L. A., SCHMIDT, J. & ARNOLD, N. 2020. HPTLC-DESI-HRMS-Based Profiling of Anthraquinones in Complex Mixtures—A Proof-of-Concept Study Using Crude Extracts of Chilean Mushrooms. *Foods*, 9(2), 156.
- LAZO, W. 2001. *Hongos de Chile. Atlas Micológico*. Ediciones de Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile. 231 pp.
- LEE, H. Z., S. L. HSU, M. C. LIU & C. H. WU. 2001. Effects and mechanisms of aloe-emodin on cell death in human lung squamous cell carcinoma. *European Journal of Pharmacology*, 431: 287-295.

- LIIMATAINEN, K., KIM, J.T., POKORNY, L, KIRK, M. P., DENTINGER, B & NISKANEN, T. 2022. Taming the beast: a revised classification of Cortinariaceae based on genomic data. *Fungal Diversity* 112: 89–170.
- MALIK, E. M. & C. E. MÜLLER. 2016. Anthraquinones As Pharmacological Tools and Drugs. *Medicinal Research Reviews*, 36(4): 705–748.
- MANOJLOVIC, N. T., S. SOLUJIC, S. SUKDOLAK & M. MILOSEV. 2005. Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*. *Fitoterapia*, 76: 244-246.
- MOSER, M. & E. HORAK. 1975. *Cortinarius* Fr. und nahe verwandte Gattungen in Südamerika. Beihefte zur Nova Hedwigia 52: 1–628. J. Cramer, Berlin & Stuttgart.
- MUELLER, S. O., M. SCHMITT, W. DEKANT, H. STOPPER, J. SCHLATTER, P. SCHREIER & W. K. LUTZ. 1999. Occurrence of emodin, chrysophanol and physcion in vegetables, herbs and liquors. Genotoxicity and anti-genotoxicity of the anthraquinones and of the whole plants. *Food and chemical toxicology*, 37(5): 481-491.
- NADAL, S. R., E. E. CALORE, C. R. MANZIONE, F. R. PUGA & N. M. PEREZ. 2003. Effects of long-term administration of *Senna occidentalis* seeds in the large bowel of rats. *Pathology - Research and Practice*, 199: 733-737.
- NARSING RAO, M. P., M. XIAO & W. J. LI. 2017. Fungal and Bacterial Pigments: Secondary Metabolites with Wide Applications. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1113 pp.
- ORTIZ, J.C. & H. IBARRA-VIDAL. 2003. Anfíbios y reptiles de la cordillera de Nahuelbuta, Chile. En: C. Smith-Ramirez, J.J. Armesto & C. Valdovinos (eds.). *Historia, biodiversidad y ecología de los bosques costeros de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago, pp. 427-440.
- PAGANO, M. C. & DHAR, P. P. 2015. Fungal pigments. *Fungal Biomolecules*, 173–181.
- PALFNER, G. 2001. Taxonomische studien an ektomykorrhizen aus den *Nothofagus*-Wäldern Mittelsüdchiles. *Bibliotheca Mycologica* 190, J. Cramer, Berlin, Stuttgart, Alemania
- PALFNER, G., M. A. CASANOVA KATNY & D. J. READ. 2005. The ectomycorrhizal community in a chronosequence of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) in North England. *Mycorrhiza* 15(8): 571-579.

- PEINTNER, U., J. M. MONCALVO. & R. VILGALYS. 2004. Toward a better understanding of the infrageneric relationships in *Cortinarius* (Agaricales, Basidiomycota). *Mycologia*, 96(5): 1042–1058.
- PLISCOFF, P. 2003. Priorización de áreas para fortalecer la conservación de la flora arbórea nativa en la zona mediterránea de Chile. Tesis Magíster en Ecología y Biología evolutiva. Facultad de Ciencias Universidad de Chile, Santiago, Chile. 102 pp.
- RÄISÄNEN, R. 2009. Anthraquinones from the fungus *Dermocybe sanguinea* as textile dyes. Volumen 10 de Department of Home Economics and Craft Science : Research Report, 107 pp.
- RÄISÄNEN, R. 2019. Fungal colorants in applications—focus on *Cortinarius* species. *Coloration Technology*, 135(1): 22-31.
- RÄISÄNEN, R., H. BJÖRK & H. HYNINEN. 2000. Two-dimensional TLC separation and mass spectrometric identification of anthraquinones isolated from the fungus *Dermocybe sanguinea*. *Z. Naturforsch*, 55: 195–202.
- SALGADO SALOMÓN, M. E., P. DRESCH, E. HORAK, F. GALLEGUILLOS, C. BARROETAVERÑA. & U. PEINTNER. 2018. The enigmatic *Cortinarius magellanicus* complex occurring in Nothofagaceae forests of the Southern Hemisphere. *Fungal biology*, 122(11): 1077–1097.
- SARRICOLEA, P., HERRERA-OSSANDON, M. & ÓLIVER MESEGUER-RUIZ, O. 2017. Climatic regionalisation of continental Chile, *Journal of Maps*, 13:2, 66-73.
- SIEWERT, B., ĆURAK, G., HAMMERLE, F., HUYMANN, L., FIALA, J. & PEINTNER, U. 2022. The photosensitizer emodin is concentrated in the gills of the fungus *Cortinarius rubrophyllus*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 228, 112390.
- SINGER, R. 1960. Three new species of Secotiaceae from Patagonia. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 1(3): 385–391.
- SINGER, R. & SMITH AH. 1963. A revision of the genus *Thaxterogaster* Singer. *Madroño* 17: 22–26.
- SINGER, R. & M. MOSER. 1965. Forest mycology and forest communities in South America. *Mycopath et Mycol Appl* 26, (2–3): 129-191.
- SMITH S., E. & D. J. READ. 2010. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press; London, UK, 803 pp.

- SOOP K., B. DIMA, J.A. COOPER, D. PARK & B. OERTEL. 2019. A phylogenetic approach to a global supraspecific taxonomy of *Cortinarius* (Agaricales) with an emphasis on the southern mycota. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 42:261.
- SPEGAZZINI C. 1887a. Fungi patagonici. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba, República Argentina* 11: 5-67.
- SPEGAZZINI C. 1887b. Fungi fuegiani. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba, República Argentina* 11:135-308.
- STEFANI, F. O. P., R. H. JONES, & T. W. MAY. 2014. Concordance of seven gene genealogies compared to phenotypic data reveals multiple cryptic species in Australian dermocyboid *Cortinarius* (Agaricales). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 71: 249–260.
- TRUONG, C., L. A. GABBARINI, A. CORRALES, A. B. MUJIC, J. M. ESCOBAR, A. MORETTO. & M. E. SMITH. 2019. Ectomycorrhizal fungi and soil enzymes exhibit contrasting patterns along elevation gradients in southern Patagonia. *New Phytol*, 222: 1936–1950.
- VALENZUELA, E. 1993. Estudio sistemático, corológico y ecológico de los Agaricales sensu lato de los bosques autóctonos de la región de los lagos en Chile. Tesis doctoral, Universidad de Alcalá de Henares, España. 374 pp.
- VALENZUELA, E., & G. MORENO. 1997. Sporal ornamentation (MEB) and taxonomy of some strains of *Cortinarius* (Agaricales, Basidiomycetes) in native forests of tenth region-Chile. *Boletín Micológico (Chile)*. Vol 2: 107-118.
- VALENZUELA, E., G. MORENO., S. GARNICA. & C. RAMÍREZ. 1998. Micosociología en bosques nativos de *Nothofagus* y plantaciones de *Pinus radiata* en la X Región de Chile: diversidad y rol ecológico. *Revista Chilena de Historia Natural* 71: 133–146.
- VELÍŠEK, J. & K. CEJPEK. 2011. Pigments of higher fungi – a review. *Czech J. Food Sci.*, 29: 87–102.
- VILLAGRÁN, C., C. LE-QUESNE, J. C. ARAVENA, H. JIMÉNEZ & F. HINOJOSA. 1998. El rol de los cambios de clima del Cuaternario en la distribución actual de la vegetación de Chile central-sur. *Bamberger Geographische Schriften* 15: 227–242.
- ZE-HONG, W. U., L. I. U. DONG, X. U. YING, C. H. E. N. JIAN-LIANG. & L. I. N. WEN-HAN. 2018. Antioxidant xanthenes and anthraquinones isolated from a marine-

derived fungus *Aspergillus versicolor*. Chinese journal of natural medicines, 16(3): 219-224.

ZHOU Y., Z. & J.-K. LIU. 2010. "Pigments of fungi (macromycetes)," Natural Product Reports, vol. 27, no. 11, pp. 1531–1570.