

## Two new records of edible *Cantharellus* at Pico de Orizaba National Park, Veracruz, Mexico

### Dos nuevos registros de *Cantharellus* comestibles en el Parque Nacional Pico de Orizaba, Veracruz, México

Edgar J. Hernández-Marañón<sup>1</sup>; Antonio Andrade-Torres<sup>2</sup>; Jie Chen<sup>3</sup>; Jesús Pérez-Moreno<sup>4</sup>; Rosalía Núñez-Pastrana<sup>1</sup>; Régulo C. Llarena-Hernández<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Josefa Ortiz de Domínguez S/N, Peñuela. C. P. 94945. Amatlán de los Reyes, Veracruz, México.

<sup>2</sup>Universidad Veracruzana, Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA), Cuerpo Académico-173 Ecología y Manejo de la Biodiversidad. Col. Emiliano Zapata. C. P. 91090. Xalapa, Veracruz, México.

<sup>3</sup>Universidad Politécnica de Huatusco, Unidad Académica de Biotecnología y Agroindustrial. Calle 22 Sur, Reserva Territorial. C. P. 94116. Huatusco, Veracruz, México.

<sup>4</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. km 36.5 carretera México- Texcoco. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

\*Corresponding author: rllarena@uv.mx; tel.: +52271 135 3115.

#### Abstract

**Introduction.** We found two new records of *Cantharellus* species during surveys in the pine forests of Pico de Orizaba National Park. These wild fungi have consumption, economic and sociocultural value in the Mountain Region, Veracruz, Mexico.

**Objective.** To identify and morphologically characterize the ectomycorrhizal *Cantharellus* species collected at Pico de Orizaba National Park.

**Materials and methods.** Fungi collection took place from June to November using systematic sampling for four years (2019–2022) in *Pinus hartwegii*, *P. montezumae*, and *P. pseudostrobus* forests in the municipality of Calchualco, Veracruz. Specimens were morphologically characterized and molecularly identified using concatenated sequences of transcription elongation factor 1-alpha (*tef1*-α) and the internal transcribed spacer region (ITS3C and ITS4).

**Results and discussion.** Phylogenetic analyses based on molecular data from the main clades of *Cantharellus* (125 sequences) confirmed the new records of *Cantharellus roseocanus* (GenBank access: OQ875962 [ITS2] and OQ876856 [tef1]) and *Cantharellus flavus* (GenBank access: OQ875963 [ITS2] and OQ876857 [tef1]). The morphological differences between *C. roseocanus* and *C. flavus* are notable: *C. roseocanus* is characterized by its convex cap and thin gills, while *C. flavus* has a flatter, more robust cap; additionally, differences in aroma and flavor are relevant to their culinary use.

**Conclusions.** The new records of *C. flavus* and *C. roseocanus* in the temperate forests of Pico de Orizaba National Park contribute to the taxonomic understanding of the genus *Cantharellus*, which still lacks complete elucidation.

**Keywords:** phylogenetic analysis; pine forest; *Cantharellus flavus*; *Cantharellus roseocanus*; ectomycorrhizal fungi.

#### Resumen

**Introducción.** Durante recorridos en bosques de pino del Parque Nacional Pico de Orizaba se encontraron dos nuevos registros de especies de *Cantharellus*. Estos hongos silvestres poseen valor de consumo, económico y sociocultural en la Región de las Montañas, Veracruz, México.

**Objetivo.** Identificar y caracterizar morfológicamente las especies del género ectomicorrícico *Cantharellus* recolectadas en el Parque Nacional Pico de Orizaba.

**Materiales y métodos.** La recolecta de hongos se hizo entre los meses de junio a noviembre mediante un muestreo sistemático durante cuatro años (2019-2022) en bosques de *Pinus hartwegii*, *P. montezumae* y *P. pseudostrobus* del municipio de Calchualco, Veracruz. Los ejemplares se caracterizaron morfológicamente y se identificaron molecularmente mediante secuencias concatenadas del factor de elongación de transcripción 1-alpha (*tef1*-α), así como la región interna de transcripción (ITS3C y ITS4).

**Resultados y discusión.** Los análisis filogenéticos basados en datos moleculares de los principales clados de *Cantharellus* (125 secuencias) confirmaron los nuevos registros de las especies *Cantharellus roseocanus* (acceso GenBank: OQ875962 [ITS2] y OQ876856 [tef1]) y *Cantharellus flavus* (acceso GenBank: OQ875963 [ITS2] y OQ876857 [tef1]). Las diferencias morfológicas entre *C. roseocanus* y *C. flavus* son notables: *C. roseocanus* se caracteriza por su sombrero convexo y láminas delgadas, mientras que *C. flavus* presenta un sombrero más plano y robusto; además, las diferencias en aroma y sabor también son relevantes en su uso culinario.

**Conclusiones.** Los nuevos registros de *C. flavus* y *C. roseocanus* en los bosques templados del Parque Nacional Pico de Orizaba contribuyen al conocimiento taxonómico del género *Cantharellus*, que aún carece de la dilucidación completa.

**Palabras clave:** análisis filogenético; bosque de pino; *Cantharellus flavus*; *Cantharellus roseocanus*; hongos ectomicorrícicos.

## Introduction

*Cantharellus* shows high diversity of species and ectomycorrhizal associations with several plant families, including Myrtaceae, Pinaceae, and Fagaceae (Corrales et al., 2018). Edible fungi are a non-timber forest product with high gastronomic and socioeconomic value, making them a functional food source with significant potential for sustainable use (Pérez-Moreno et al., 2021).

Despite many species records, comprehensive analyses are needed to understand the complexity associated with *Cantharellus* (Wang et al., 2023). One of the main challenges in defining species lies in the similarity of morphological traits, making molecular markers essential for identification (Buyck et al., 2014). Morphological identification alone can be deficient for fungi with similar external features, complicating the establishment of accurate phylogenetic relationships and the differentiation of closely related taxa. Additionally, few microscopic characteristics have been considered within *Cantharellus*, with the hyphae of the cuticle, and the size and shape of basidiospores being the most taxonomically relevant traits for subgenera and species (Buyck et al., 2014). In this regard, Lücking et al. (2020) emphasize that «the use of molecular data has transformed our understanding of fungal diversity, revealing cryptic species that cannot be distinguished morphologically». In recent years, taxonomic research on *Cantharellus* and the order Cantharellales, known as the “World Phylogenetics of Cantharellales,” has allowed for clearer clade integration and the description of numerous new species in South Korea (Park et al., 2022). In Europe and Asia, phylogenetic analyses with multiple molecular markers have been conducted to elucidate and delimit species and new records (Olariaga et al., 2017; Zhang et al., 2022). Currently, around 300 species of the genus *Cantharellus* are known worldwide (Cao et al., 2021).

In Mexico, during explorations over the past four years in the pine forests of Pico de Orizaba National Park, Veracruz, specimens of *Cantharellus* were found that had been reported by Guzmán (1984) as *C. odoratus*; however, morphological evidence indicates that these are two new species records. Additionally, in this Mountain Region, *C. violaceovinosus*, *C. veraecrusis*, and *C. tabarnensis* have been found (Herrera et al., 2018; Montoya et al., 2021). These fungi differ in color according to their developmental stage and morphotype, with yellowish and brown caps and a hymenophore that is paler than those observed in the ‘new records’. Although new species of *Cantharellus* have been described in the region in recent years, it is believed that there may still be more yet to be discovered (Herrera et al., 2018; Montoya et al., 2021).

## Introducción

El género *Cantharellus* posee riqueza de especies y asociación ectomicorrícica con varias familias que incluyen Myrtaceae, Pinaceae y Fagaceae (Corrales et al., 2018). Los hongos comestibles son un producto forestal no maderable que poseen alto valor gastronómico y socioeconómico, por lo cual son considerados una fuente de alimento funcional con potencial alto de aprovechamiento sostenible (Pérez-Moreno et al., 2021).

A pesar de los numerosos registros de especies, se necesitan análisis exhaustivos para comprender la complejidad asociada al género *Cantharellus* (Wang et al., 2023). Uno de los principales obstáculos en la definición de especies radica en la similitud de rasgos morfológicos, por lo que el uso de marcadores moleculares ha facilitado la identificación (Buyck et al., 2014). La identificación morfológica puede ser insuficiente en hongos con similitud externa, lo que dificulta el establecimiento de relaciones filogenéticas precisas y la diferenciación de taxones cercanos. Además, se han considerado pocas características microscópicas en el género *Cantharellus*, siendo las hifas del pileipellis, el tamaño y la forma de las basidiosporas las más relevantes desde el punto de vista taxonómico para subgéneros y especies (Buyck et al., 2014). Al respecto, Lücking et al. (2020) subrayan que «el uso de datos moleculares ha transformado la comprensión de la diversidad fúngica, revelando especies crípticas que no pueden distinguirse morfológicamente». En los últimos años se ha realizado investigación taxonómica sobre el género *Cantharellus* y el orden Cantharellales, conocida como “World phylogenetics Cantharellales”, lo que ha permitido la integración de clados de manera más clara y la descripción de múltiples especies nuevas en Corea del Sur (Park et al., 2022). En Europa y Asia se han realizado análisis filogenéticos con varios marcadores moleculares para dilucidar y delimitar especies y registros nuevos (Olariaga et al., 2017; Zhang et al., 2022). Actualmente, en el mundo se conocen alrededor de 300 especies del género *Cantharellus* (Cao et al., 2021).

En México, durante las exploraciones de los últimos cuatro años en los bosques de pino del Parque Nacional Pico de Orizaba, Veracruz, se encontraron ejemplares de *Cantharellus* que habían sido reportados por Guzmán (1984) como *C. odoratus*; sin embargo, la evidencia morfológica indica que se tratan de dos nuevos registros de especies. Asimismo, en esta Región de las Montañas se han encontrado las especies *C. violaceovinosus*, *C. veraecrusis* y *C. tabarnensis* (Herrera et al., 2018; Montoya et al., 2021). Estos hongos difieren en su coloración de acuerdo con la etapa de desarrollo y morfotipo, y presentan píleos amarillentos y marrones e himenóforo de color más tenue que los observados en los ‘nuevos registros’. Aunque en años recientes se

Edible fungi are valued and sold in several markets in the Mountain Region of central Veracruz; therefore, identifying wild fungi that grow in this region is important for revaluing the potential of this food and establishing strategies for its sustainable use and conservation. Consequently, the aim of this study was to identify the *Cantharellus* specimens collected in Pico de Orizaba National Park, specifically in the municipality of Calcahualco, Veracruz, both morphologically and molecularly, to understand the distribution of species within the genus.

## Materials and Methods

### Sampling and morphological study

The *Cantharellus* basidiomata were collected between July and November for four consecutive years (2019–2022) in the forests of Pico de Orizaba National Park, specifically in the municipality of Calcahualco (3050–3750 m) in the Mountain Region of Veracruz, Mexico. In these forests, *Pinus hartwegii* Lindl. dominates, although *P. montezumae* Lamb. and *P. pseudostrobus* Lindl. are also present. The species *P. hartwegii* is primarily found at altitudes between 3000 and 4000 m and is known for its tolerance to low temperatures (ranging from -10 °C to 18 °C) in mountainous areas with annual precipitation between 600 and 800 mm (Pérez-Suárez et al., 2022). The presence of *P. montezumae* is generally recorded at lower altitudes than *P. hartwegii*, while *P. pseudostrobus* is found in a similar altitudinal range, thus influencing the diversity of fungi involved (Gallardo-Salazar et al., 2023).

The morphoanatomical characteristics of fresh samples were described based on Largent (1973). The color notations indicated in the descriptions were defined according to Kornerup and Wanscher (1967) and the Munsell color chart (Munsell Color Company Inc., 1994).

Collected materials were dried in a drying oven at 35 °C for incorporation into a mycological collection. For the morphological review, temporary sections were prepared with 3 % KOH and stained with Congo red. A total of 35 basidiospores were measured for each sample (five specimens); their shape was interpreted using the Q statistic according to Bas (1969).

### DNA extraction, PCR and sequencing

DNA was isolated from fresh material following the conditions of the protocol recommended by the manufacturer of the “Plant/Fungi DNA Isolation Kit” (Norgen Biotek Corp., Canada). The transcription elongation factor 1-alpha (*tef1-α*) region was amplified

han descrito especies nuevas de *Cantharellus* en dicha región, se cree que aún podrían existir más (Herrera et al., 2018; Montoya et al., 2021).

Los hongos comestibles son apreciados y comercializados en varios mercados de la Región de las Montañas en el centro de Veracruz; por tanto, la identificación de hongos silvestres que crecen en esta región es importante para la revalorización del potencial de este alimento y el establecimiento de estrategias de aprovechamiento y conservación. Por consiguiente, el objetivo de este estudio fue identificar morfológica y molecularmente los ejemplares *Cantharellus* recolectados en el Parque Nacional Pico de Orizaba, específicamente en el municipio de Calcahualco, Veracruz, con el fin de comprender la distribución de especies del género.

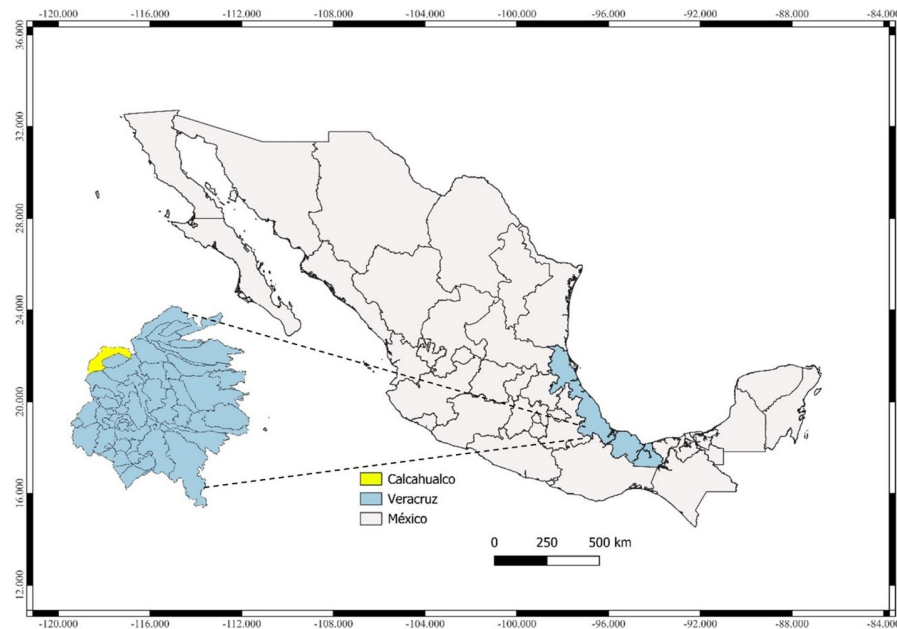
## Materiales y métodos

### Muestreo y estudio morfológico

Los basidiomas de *Cantharellus* sp. se recolectaron entre julio y noviembre durante cuatro años consecutivos (2019-2022) en bosques del Parque Nacional Pico de Orizaba, específicamente en el municipio de Calcahualco (3050-3750 m) en la Región de las Montañas del estado de Veracruz, México. En estos bosques domina *Pinus hartwegii* Lindl., aunque también se encuentran *P. montezumae* Lamb. y *P. pseudostrobus* Lindl. La especie *P. hartwegii* se encuentra principalmente en altitudes de 3000 a 4000 m y es conocida por su tolerancia a las temperaturas bajas (entre -10 °C y 18 °C) de las zonas montañosas con precipitaciones anuales entre 600 y 800 mm (Pérez-Suárez et al., 2022). La presencia de *P. montezumae* se registra generalmente en altitudes más bajas que las de *P. hartwegii*, mientras que *P. pseudostrobus* se puede encontrar en un rango altitudinal similar, influenciando así la diversidad de hongos presentes (Gallardo-Salazar et al., 2023).

Las características morfoanatómicas de las muestras frescas se describieron con base en Largent (1973). Las notaciones de color indicadas en las descripciones se definieron de acuerdo con Kornerup y Wanscher (1967) y la tabla de colores de Munsell (Munsell Color Company Inc., 1994).

Los materiales recolectados se secaron en estufa de secado a 35 °C para su incorporación en una colección micológica. Para la revisión morfológica se prepararon secciones temporales con KOH al 3 % y se tiñeron con rojo congo. Se midieron 35 basidiosporas por cada muestra (cinco ejemplares); la forma de estas se interpretó mediante el estadístico Q de acuerdo con Bas (1969).



**Figure 1. Location of the study area in Calchahuaco, a municipality that is part of the Pico de Orizaba National Park in the state of Veracruz, Mexico.**

**Figura 1. Ubicación de la zona de estudio en Calchahuaco, municipio que forma parte del Parque Nacional Pico de Orizaba en el estado de Veracruz, México.**

using the primers *tef1F* and *tef1R* (Olariaga et al., 2017) according to the protocols of O'Donnell et al. (2011).

The 5.8S-ITS2-LSU regions were amplified together using the primers ITS3C-ITS4 (Olariaga et al., 2015). The PCR amplification conditions followed those described by Olariaga et al. (2015) for the 5.8S-ITS2 regions, with the number of cycles increased to 40 for problematic samples.

PCR amplification products were purified and sequenced by Macrogen® in South Korea. Sequences were assembled and edited using AliView (Larsson, 2014) and deposited in the GenBank database.

### Phylogenetic analysis

In this study, four *tef1- $\alpha$*  and ITS sequences were determined, and 125 sequences from *Cantharellus* species from all the main clades of the genus (after Buyck et al., 2014) were used, along with the highest similarity scores from the BLAST results downloaded from GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), to construct two datasets (Table 1). One dataset consisted of *tef1- $\alpha$*  sequences, and the second dataset was composed of combined *tef1- $\alpha$*  + ITS sequences. *Craterellus tubaeformis* was included as the outgroup.

Sequences were aligned using Muscle (Edgar, 2004) with inconsistencies corrected manually. The phylogeny of each dataset was constructed under

### Extracción de ADN, PCR y secuenciación

El ADN se aisló del material fresco bajo las condiciones del protocolo recomendado por el fabricante de “Plant/Fungi DNA Isolation Kit” (Norgen Biotek Corp., Canadá). La región del factor de elongación de la transcripción 1- $\alpha$  (*tef1- $\alpha$* ) se amplificó utilizando los cebadores *tef1F* y *tef1R* (Olariaga et al., 2017) mediante los protocolos de O'Donnell et al. (2011).

Las regiones 5.8S-ITS2-LSU se amplificaron conjuntamente utilizando los cebadores ITS3C-ITS4 (Olariaga et al., 2015). Las condiciones de amplificación por PCR fueron las descritas por Olariaga et al. (2015) para las regiones 5.8S-ITS2; el número de ciclos aumentó a 40 en muestras problemáticas.

Los productos amplificados por PCR fueron purificados y secuenciados por la empresa Macrogen® en Corea del Sur. Las secuencias fueron ensambladas y editadas utilizando AliView (Larsson, 2014) y se depositaron en la base de datos GenBank.

### Análisis filogenético

En este estudio se obtuvieron cuatro secuencias de *tef1- $\alpha$*  e ITS y se utilizaron 125 secuencias de especies de *Cantharellus* de todos los clados principales del género (después de Buyck et al., 2014) y con las puntuaciones de similitud más altas de los resultados de BLAST que se descargaron de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)



**Table 1.** ITS and *tef1*- $\alpha$  sequences of 125 *Cantharellus* species (from GenBank) with the highest similarity to the sequences of the collected samples (indicated with an asterisk) from Pico de Orizaba National Park. ET: epitype, HT: holotype, IT: isotype, NT: neotype, PT: paratype.

**Cuadro 1.** Secuencias de ITS y de *tef1*- $\alpha$  de 125 especies de *Cantharellus* (obtenidas del Gen Bank) de mayor similitud con las secuencias de las muestras recolectadas (indicadas con asterisco) en el Parque Nacional Pico de Orizaba. ET: epítipo, HT: holotipo, IT: isotipo, NT: neotipo, PT: paratipo.

Taxon/ Taxón	Record number/ Número de registro	Country/ País	GenBank Access number/ GenBank número de acceso	
			ITS2	<i>tef1</i>
<i>C. afrociarius</i> HT	496BB 96.235	Zambia	—	JX192993
<i>C. albidolutescens</i> HT	457BB 08.070	Madagascar	—	JX192982
<i>C. alborufescens</i> HT	MPU027371	Morocco/Marruecos	KX828764	—
<i>C. alborufescens</i> (1)	JLS880 (AH)	Spain/España	KR677493	KX828816
<i>C. alborufescens</i> (2)	1108BB 12.075	Italy/Italia	KX907209	KX907243
<i>C. alborufescens</i> (3)	1109BB 12.076	Italy/Italia	—	KX907244
<i>C. alborufescens</i> (4)	1006EC 09.91	Italy/Italia	—	KX907242
<i>C. alborufescens</i> (5)	AH44783	France/Francia	KR677492	KX828817
<i>C. alborufescens</i> (6)	BIO-Fungi 11687	Spain/España	KX828765	KX828818
<i>C. alborufescens</i> (7)	BB.12.088	Italy/Italia	—	KX907245
<i>C. alborufescens</i> (8)	BIO-Fungi 12025	Spain/España	KR67749	—
<i>C. alborufescens</i> (9)	BIO-Fungi 11691	Spain/España	KX828766	—
<i>C. altipes</i> (1)	337BB 07.115	USA/EE. UU.	JN944018	—
<i>C. altipes</i> (2) PT	344BB 07162	USA/EE. UU.	—	GQ914945
<i>C. amethysteus</i> NT	AH44796	Spain/España	KR677512	KX828819
<i>C. amethysteus</i> (1)	994Estades 10.454	France/Francia	KX907205	KX907237
<i>C. amethysteus</i> (2)	349BB 07.284	Slovakia/Eslovaquia	JN944020	GQ914953
<i>C. amethysteus</i> (3)	352BB 07.309	Slovakia/Eslovaquia	—	GQ914954
<i>C. amethysteus</i> (4)	993Estades 10.453	France/Francia	—	KX907236
<i>C. amethysteus</i> (5)	1003EC 09.29	Italy/Italia	—	KX907241
<i>C. californicus</i> HT	OSC 122878	USA/EE. UU.	KX828768	KX828820
<i>C. cibarius</i> ET	BIO-Fungi 10986	Sweden/Suecia	KR677501	KX828823
<i>C. cibarius</i> (1)	AH44780	Spain/España	KR677508	KX828821
<i>C. cibarius</i> (2)	BIO-Fungi 10780	France/Francia	KR677503	KX828822
<i>C. cibarius</i> (3)	AH44778	Spain/España	KX828769	KX828824
<i>C. cibarius</i> (4)	BIO-Fungi 12684	Switzerland	KR677505	KX828825
<i>C. cibarius</i> (5)	479GE 07.025	France/Francia	KX907204	GQ914949
<i>C. cibarius</i> (6)	351BB 07.300	Slovakia/Eslovaquia	—	GQ914950
<i>C. cibarius</i> (7)	BIO-Fungi 10477	Spain/España	KX828770	—
<i>C. cibarius</i> (8)	BIO-Fungi 12701	Spain/España	KR677504	—
<i>C. cibarius</i> var. <i>atlanticus</i> HT	PC0142164	France/Francia	KX828771	—
<i>C. cibarius</i> var. <i>bicolor</i> NT	BIO-Fungi 11230	Spain/España	KX853517	—
<i>C. cibarius</i> var. <i>flavipes</i> IT	9312B2 (Mornand herbarium)	France/Francia	KX828772	—
<i>C. cinnabarinus</i> NT	312BB 07.001	USA/EE. UU.	—	GQ914985
<i>C. decolorans</i> ET	469BB 08.278 (PC)	Madagascar	KX907203	GQ914968
<i>C. ferruginascens</i> HT	E00204187	United Kingdom/Reino Unido	KX828773	—
<i>C. ferruginascens</i> (1)	K(M)180009	United Kingdom/Reino Unido	KX828774	—

**Table 1. ITS and tef1- $\alpha$  sequences of 125 *Cantharellus* species (from GenBank) with the highest similarity to the sequences of the collected samples (indicated with an asterisk) from Pico de Orizaba National Park. ET: epitype, HT: holotype, IT: isotype, NT: neotype, PT: paratype. (cont.)**

**Cuadro 1. Secuencias de ITS y de tef1- $\alpha$  de 125 especies de *Cantharellus* (obtenidas del Gen Bank) de mayor similitud con las secuencias de las muestras recolectadas (indicadas con asterisco) en el Parque Nacional Pico de Orizaba. ET: epítipo, HT: holotipo, IT: isotipo, NT: neotipo, PT: paratipo. (cont.)**

Taxon / Taxón	Record number / Número de registro	Country / País	GenBank Access number / GenBank número de acceso	
			ITS2	tef1
<i>C. ferruginascens</i> (3)	AH44794	Spain/España	KR67785	KX828827
<i>C. ferruginascens</i> (4)	AH44795	Spain/España	KX828775	KX828828
<i>C. ferruginascens</i> (5)	BIO-Fungi 11700	Spain/España	KR677486	KX828829
<i>C. ferruginascens</i> (6)	347/BB 07.221	Slovakia/Eslovaquia	—	KX907235
<i>C. cibarius</i> var. <i>flavipes</i> IT	9312B2 (Mornand herbarium)	France/Francia	KX828772	—
<i>C. cinnabarinus</i> NT	312/BB 07.001	USA/EE. UU.	—	GQ914985
<i>C. decolorans</i> ET	469/BB 08.278 (PC)	Madagascar	KX907203	GQ914968
<i>C. ferruginascens</i> HT	E00204187	United Kingdom/Reino Unido	KX828773	—
<i>C. ferruginascens</i> (1)	K(M)180009	United Kingdom/Reino Unido	KX828774	—
<i>C. ferruginascens</i> (2)	AH44782	France/Francia	KR677488	KX828826
<i>C. ferruginascens</i> (3)	AH44794	Spain/España	KR67785	KX828827
<i>C. ferruginascens</i> (4)	AH44795	Spain/España	KX828775	KX828828
<i>C. ferruginascens</i> (5)	BIO-Fungi 11700	Spain/España	KR677486	KX828829
<i>C. ferruginascens</i> (6)	347/BB 07.221	Slovakia/Eslovaquia	—	KX907235
<i>C. cibarius</i> var. <i>flavipes</i> IT	9312B2 (Mornand herbarium)	France/Francia	KX828772	—
<i>C. cinnabarinus</i> NT	312/BB 07.001	USA/EE. UU.	—	GQ914985
<i>C. decolorans</i> ET	469/BB 08.278(PC)	Madagascar	KX907203	GQ914968
<i>C. ferruginascens</i> HT	E00204187	United Kingdom/Reino Unido	KX828773	—
<i>C. ferruginascens</i> (1)	K(M)180009	United Kingdom/Reino Unido	KX828774	—
<i>C. ferruginascens</i> (2)	AH44782	France/Francia	KR677488	KX828826
<i>C. ferruginascens</i> (3)	AH44794	Spain/España	KR67785	KX828827
<i>C. ferruginascens</i> (4)	AH44795	Spain/España	KX828775	KX828828
<i>C. ferruginascens</i> (5)	BIO-Fungi 11700	Spain/España	KR677486	KX828829
<i>C. ferruginascens</i> (6)	347/BB 07.221	Slovakia/Eslovaquia	—	KX907235
<i>C. ferruginascens</i> (7)	348/BB 07.283	Slovakia/Eslovaquia	—	GQ914952
<i>C. ferruginascens</i> (8)	BIO-Fungi 12651	Spain/España	KR677487	—
<i>C. ferruginascens</i> (9)	AH44226	Spain/España	KX828776	—
<i>C. flavus</i>	C067_CH5	USA/EE. UU.	JX030467	JX030416
<b>*C. flavus</b>	EJHM20220923	Mexico/México	OQ875963	OQ876857
<i>C. flavus</i> (1)	1077/JJ	USA/EE. UU.	—	KX857028
<i>C. flavus</i> (2)	C067	USA/EE. UU.	—	JX030416
<i>C. flavus</i> (3)	RAS464	USA/EE. UU.	—	OM751857
<i>C. flavus</i> (4)	RAS473	USA/EE. UU.	—	OM751858
<i>C. formosus</i>	SAR220712 (DAOM)	Canada/Canadá	KR677515	KX828830
<i>C. friesii</i> (1)	1004/EC 09.43	Italy/Italia	—	KX857016
<i>C. friesii</i> (2)	AH44798	Spain/España	KR677484	KX828831
<i>C. friesii</i> (3)	1001/EC 09.16	Italy/Italia	KX907208	—

**Table 1.** ITS and tef1- $\alpha$  sequences of 125 *Cantharellus* species (from GenBank) with the highest similarity to the sequences of the collected samples (indicated with an asterisk) from Pico de Orizaba National Park. ET: epitype, HT: holotype, IT: isotype, NT: neotype, PT: paratype. (cont.)

**Cuadro 1.** Secuencias de ITS y de tef1- $\alpha$  de 125 especies de *Cantharellus* (obtenidas del Gen Bank) de mayor similitud con las secuencias de las muestras recolectadas (indicadas con asterisco) en el Parque Nacional Pico de Orizaba. ET: epítipo, HT: holotipo, IT: isotipo, NT: neotipo, PT: paratipo. (cont.)

Taxon / Taxón	Record number / Número de registro	Country / País	GenBank Access number / GenBank número de acceso	
			ITS2	tef1
<i>C. gallaecicus</i> PT	LOU-Fungi 18012	Spain/España	KR677482	—
<i>C. henrici</i> HT	PC0142165	France/Francia	KX828777	—
<i>C. ilicis</i> HT	BIO-Fungi 11689	Spain/España	KX828778	KX828832
<i>C. lateritius</i> ET	320BB 07.025	USA/EE. UU.	—	GQ914959
<i>C. lateritius</i> (1)	332BB 07.062	USA/EE. UU.	KX896767	—
<i>C. lewisii</i> HT	314BB 07.003	USA/EE. UU.	JN944021	GQ914962
<i>C. lewisii</i>	301BB 02.197	USA/EE. UU.	—	GQ914961
<i>C. lilacinopruinatus</i> HT	PC0734066	France/Francia	KX828779	—
<i>C. lilacinopruinatus</i> PT	PC0734067	France/Francia	KX828767	—
<i>C. lourizanianus</i> HT	LOU-Fungi 19494	Spain/España	KX828780	—
<i>C. minor</i> (1)	313BB 07.002	USA/EE. UU.	—	JX192978
<i>C. minor</i> (2)	329BB 07.057	USA/EE. UU.	—	JX192979
<i>C. nigrescens</i>	66BB 06.176	Madagascar	—	JX192967
<i>C. pallens</i> HT	PRM655551	Spain/España	KX853516	—
<i>C. pallens</i> (1)	AH44799	Spain/España	KR677499	KX828833
<i>C. pallens</i> (2)	AH39124	Morocco/Marruecos	KX828781	KX828834
<i>C. pallens</i> (3)	996BB 09.409	Italy/Italia	KX929162	KX857014
<i>C. pallens</i> (4)	1110BB 12.077	Italy/Italia	KX907210	KX857035
<i>C. pallens</i> (5)	997BB 09.418	Italy/Italia	KX907206	KX907238
<i>C. pallens</i> (6)	998BB 09.430	Italy/Italia	KX907207	KX907239
<i>C. pallens</i> (7)	999BB 09.441	Italy/Italia	—	KX907240
<i>C. pallens</i> (8)	AH44784	Spain/España	KR677498	KX828835
<i>C. pallens</i> (9)	1115BB 12.082	Italy/Italia	KX907211	KX857036
<i>C. pallens</i> (10)	BIO-Fungi 10988	Sweden/Suecia	KR677495	—
<i>C. parviluteus</i> IT	PC0084799	Spain/España	KX828782	—
<i>C. phasmatis</i>	C057	USA/EE. UU.	JX030464	JX030417
<i>C. platyphyllus</i> ET	262BB 98.126	Tanzania	—	JX192975
<i>C. quercophilus</i> HT	455BB 07.097	USA/EE. UU.	—	JX192981
<i>C. romagnesianus</i> HT	PC0085043	France/Francia	KX828783	—
<i>C. romagnesianus</i> (1)	AH44218	Spain/España	KX828784	KX828836
<i>C. romagnesianus</i> (2)	PC0142170	France/Francia	KX828785	—
<i>C. romagnesianus</i> (5)	BIO-Fungi 9933	Spain/España	KR677480	—
<i>C. romagnesianus</i> (6)	AH44788	Spain/España	KR677481	—
<i>C. romagnesianus</i> var. <i>parvisporus</i> HT	LOU-Fungi 19504	Spain/España	KX828786	—
<i>C. roseofagetorum</i> HT	AH44789	Georgia	KX828789	KX828839
<i>C. roseocanus</i> HT	DAOM220723	Canada/Canadá	KX828787	KX828837

**Table 1.** ITS and *tef1- $\alpha$*  sequences of 125 *Cantharellus* species (from GenBank) with the highest similarity to the sequences of the collected samples (indicated with an asterisk) from Pico de Orizaba National Park. ET: epitype, HT: holotype, IT: isotype, NT: neotype, PT: paratype. (cont.)

**Cuadro 1.** Secuencias de ITS y de *tef1- $\alpha$*  de 125 especies de *Cantharellus* (obtenidas del Gen Bank) de mayor similitud con las secuencias de las muestras recolectadas (indicadas con asterisco) en el Parque Nacional Pico de Orizaba. ET: epítipo, HT: holotipo, IT: isotipo, NT: neotipo, PT: paratipo. (cont.)

Taxon/ Taxón	Record number/ Número de registro	Country/ País	GenBank Access number/ GenBank número de acceso	
			ITS2	<i>tef1</i>
<i>C. roseocanus</i> (2)	CC29	USA/EE. UU.	MK680154	JX030415
<i>C. roseocanus</i> (3)	JR7	USA/EE. UU.	OR039432	KP639228
<b>*<i>C. roseocanus</i></b>	EJHM20220923	Mexico/México	OQ875962	OQ876856
<i>C. roseofagetorum</i>	AH44786	Georgia	KX828790	KX828840
<i>C. rufipes</i> ET	BIO-Fungi 12921	Spain/España	KR677513	
<i>C. subalbidus</i>	OSC81782	USA/EE. UU.	KX828791	KX828841
<i>C. tabernensis</i> (1)	333BB 07064	USA/EE. UU.	JN944012	GQ914975
<i>C. tabernensis</i> (2)	323BB 07040	USA/EE. UU.	JN944013	GQ914977
<i>C. tenuithrix</i> HT	343BB 07.125	USA/EE. UU.	JN944017	–
<i>C. tenuithrix</i> (1)	322BB 07.035	USA/EE. UU.	–	GQ914946
<i>C. texensis</i> HT	317BB 07.018	USA/EE. UU.	–	GQ914988
<i>C. tomentosus</i> HT	500BB 98.060	Tanzania	–	JX192995
<i>C. umbrinus</i> HT	PC0142168	France/Francia	KX828792	–
<i>Craterellus tubaeformis</i>	350BB 07.293	Slovakia/Eslovaquia	–	GQ914989

maximum likelihood methods. The congruence of the data sets was assessed by comparing compatible nodes in the phylogenies of each gene (Mason-Gamer & Kellogg, 1996).

Sequences were subjected to a maximum likelihood bootstrap analysis using the IQ-TREE on XSEDE tool (Trifinopoulos et al., 2016). Phylogenies from the maximum likelihood analyses were generated using IQ-Tree and visualized with FigTree v1.3.1. (Rambaut, 2009).

In the molecular phylogenies inferred (from ITS and *tef1- $\alpha$*  sequence datasets), support values considered were  $\geq 70$  bootstrap (BS) and  $\geq 0.90$  posterior probability (BPP), and these values were indicated as BS/BPP on the branches of the tree (Figure 2).

## Results

Based on the distinctive morphological features and color variation observed in the *Cantharellus* specimens analyzed, together with their position in the phylogeny generated (Figure 2), it is confirmed that these represent two new records of *Cantharellus* in temperate forests of Pico de Orizaba National Park, Veracruz, Mexico.

para construir dos conjuntos de datos (Cuadro 1). Un conjunto de datos consistió en secuencias de *tef1- $\alpha$*  y el segundo estuvo conformado por secuencias combinadas de *tef1- $\alpha$*  + ITS. *Craterellus tubaeformis* se incluyó como grupo externo.

Las secuencias se alinearon utilizando Muscle (Edgar, 2004) con inconsistencias corregidas manualmente. La filogenia de cada conjunto de datos se construyó bajo métodos de máxima verosimilitud. La congruencia de los conjuntos de datos se evaluó comparando los nodos compatibles en las filogenias de cada gen (Mason-Gamer & Kellogg, 1996).

Las secuencias se sometieron a un análisis *bootstrap* de máxima verosimilitud, empleando la herramienta IQ-TREE on XSEDE (Trifinopoulos et al., 2016). Las filogenias obtenidas de los análisis de máxima verosimilitud se generaron utilizando IQ-Tree y se visualizaron con FigTree v1.3.1 (Rambaut, 2009).

En las filogenias moleculares inferidas (a partir de los conjuntos de datos de secuencias ITS y *tef1- $\alpha$* ), los valores de soporte que se consideraron fueron  $\geq 70$  de *bootstrap* (BS) y  $\geq 0.90$  de probabilidad posterior (BPP) y se indicaron como BS/BPP en las ramas del árbol (Figura 2).



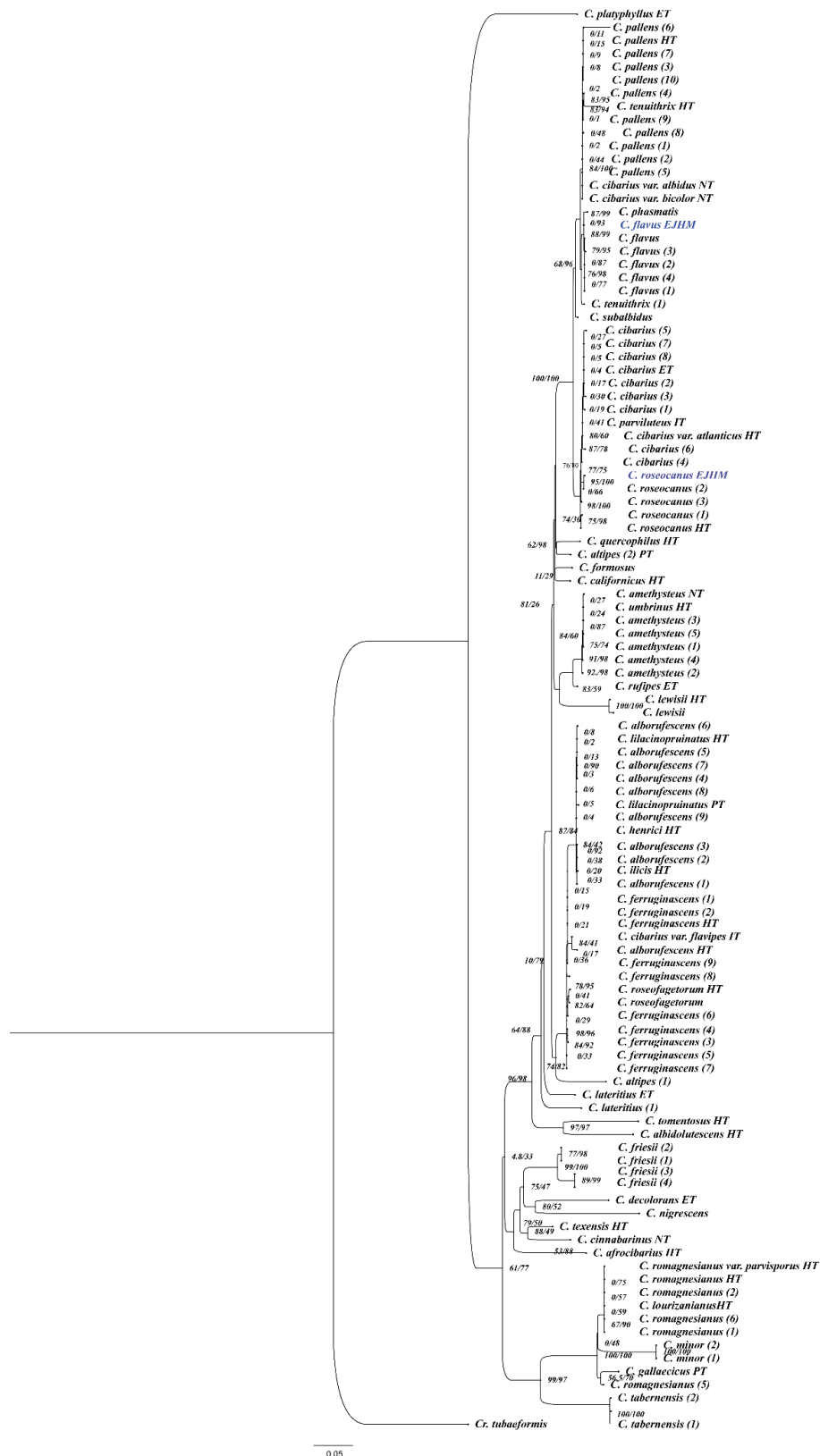


Figure 2. Molecular phylogenetic analysis by maximum likelihood of ITS + *tef1-α* sequence data set of *Cantharellus* species. Posterior probabilities (BPP) and Bootstrap values (BS) are indicated in the tree branches as BS/BPP. ET: epitype, HT: holotype, IT: isotype, NT: neotype, PT: paratype.

Figura 2. Análisis filogenético molecular por máxima verosimilitud del conjunto de datos de secuencias ITS + *tef1-α* de especies de *Cantharellus*. Las probabilidades posteriores (BPP) y los valores *Bootstrap* (BS) se indican en las ramas del árbol como BS/BPP. ET: epítipo, HT: holotipo, IT: isotipo, NT: neotipo, PT: paratipo.

### New record of *Cantharellus roseocanus* in Mexico

*Cantharellus roseocanus* (Redhead, Norvell & Danell) Redhead, Norvell & Moncalvo;  
*Index Fungorum* 5: 1 (2012)

The cap measures 2.5 to 10 cm in diameter, flat-convex when young, often with a margin curled to flat or slightly depressed with an undulating and irregular edge; sticky when wet; pale yellow to egg yolk yellow or orange, often fading to nearly whitish when exposed to sunlight (Figure 3). When young, the cap color ranges from pale to dark pink, especially in areas near the margin. This color does not change significantly with damage, showing only a faint and gradual brownish hue. The flesh is whitish, with a solid and unchanging consistency after cutting.

The cuticle has elements 5 to 10  $\mu\text{m}$  in diameter, hyaline, cylindrical, septate and thin walled; terminal cells are cylindrical with rounded or occasionally subclavate apices (Figure 4).

### Resultados

Con base en los rasgos morfológicos distintivos y la variación de color observada en los ejemplares de *Cantharellus* analizados, junto con su posición en la filogenia generada (Figura 2), se confirma que estos representan dos nuevos registros del género *Cantharellus* en los bosques templados del Parque Nacional Pico de Orizaba, Veracruz, México.

### Nuevo registro de *Cantharellus roseocanus* en México

*Cantharellus roseocanus* (Redhead, Norvell & Danell) Redhead, Norvell & Moncalvo;  
*Index Fungorum* 5: 1 (2012)

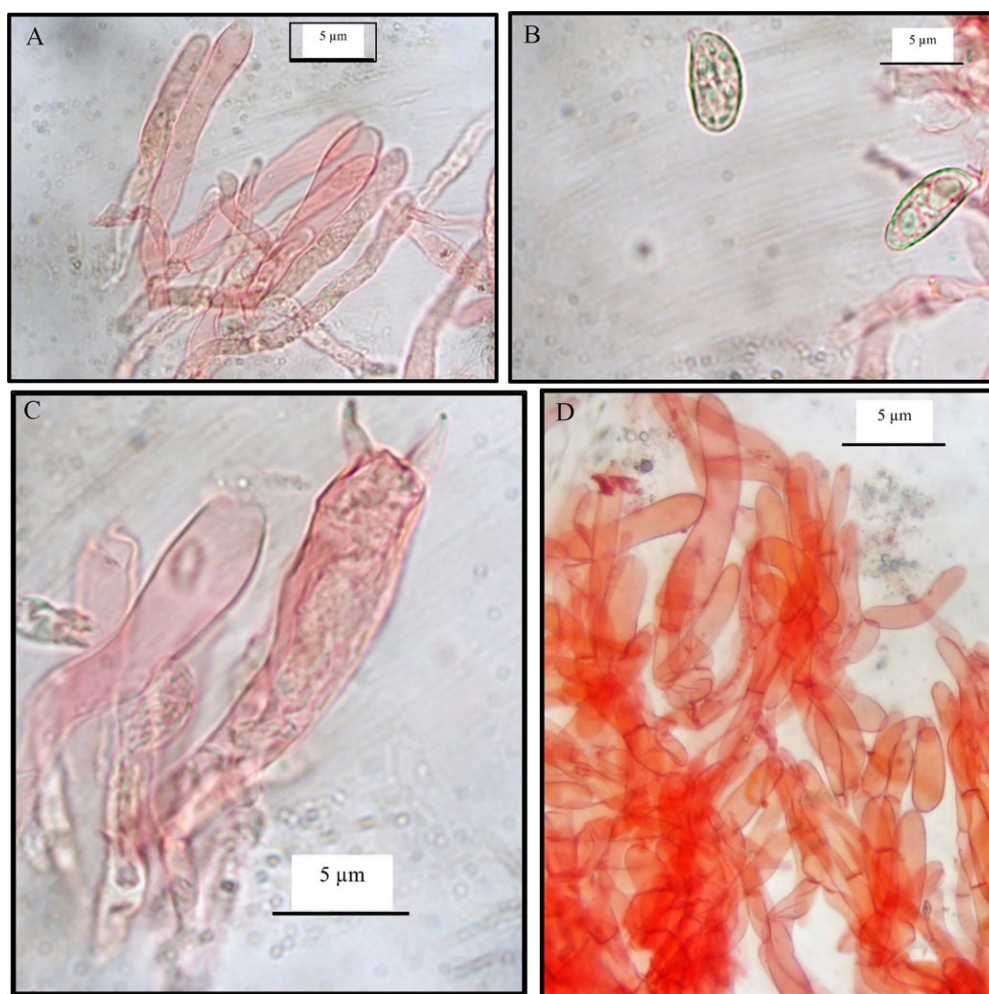
El píleo mide 2.5 a 10 cm de diámetro, más o menos plano convexo cuando es joven, a menudo con margen enrollado a plano o ligeramente deprimido con margen ondulado e irregular; pegajoso cuando está mojado; amarillo pálido a amarillo yema de huevo o naranja, a menudo se desvanece a casi blanquecino cuando se



Figure 3. *Cantharellus roseocanus* basidiomata collected in the Pico de Orizaba National Park, Veracruz.

Figura 3. Basidiomas de *Cantharellus roseocanus* recolectados en el Parque Nacional Pico de Orizaba, Veracruz.





**Figure 4.** *Cantharellus roseocanus*. A) Terminal elements of the cuticle. B) Basidiospores. C) Basidium. D) Terminal elements of the cuticle.

**Figura 4.** *Cantharellus roseocanus*. A) Elementos terminales del pileipellis. B) Basidiosporas. C) Basidio. D) Elementos terminales del pileipellis.

The hymenophore shows developed veins that often show a reticulate pattern, extending through the stipe. These veins are bright orange and, in general, contrast markedly with the surface of the cap. No evident changes when damaged, but bruising can cause fungi to gradually take a brownish tone.

Basidiospores measure 7-10 x 4-5 µm, are ellipsoid, smooth, inamyloid, and weakly ochraceous in KOH; contents are granular. Basidia measure 60 to 95 µm in length and 7 to 10 µm in width, with three to four sterigmata (Figure 4). Cystidia are absent.

The stem measures 2-5 cm in length and 1-2 cm in thickness (Figure 3); it is variable in shape, though commonly fleshy, smooth, dry, with coloration similar to that of the cap or hymenium; it shows no significant changes from damage or bruising, gradually taking a brownish tone.

expone a la luz solar (Figura 3). En estado joven, el color del píleo varía de rosa pálido a oscuro, especialmente en las áreas cercanas al margen. Este color no cambia significativamente con el maltrato o las magulladuras que solo muestran un tono pardo tenue y gradual. El contexto es blanquecino, de consistencia sólida e inmutable tras ser cortado.

El pileipellis cuenta con elementos de 5 a 10 µm de diámetro, hialinos, cilíndricos, septados y de pared delgada; las células terminales son cilíndricas con ápices, redondeados u ocasionalmente subclavadas (Figura 4).

El himenóforo muestra venas desarrolladas que a menudo presentan patrón reticulado, extendiéndose por el estípite. Estas venas son de color naranja intenso y brillante, en general, contrastan notablemente con la superficie del píleo. No experimenta cambios evidentes

The habitat of *C. roseocanus* is gregarious, sparse in the study area, in temperate forest soil of *Pinus hartwegii*. The species fruits from August to September. Fungi have a mildly distinctive or slightly spicy taste, with a fragrant and sweet aroma, similar to that of peaches.

The specimens were collected along the Nueva Vaquería-El Llano road at an elevation of 3677 m in the municipality of Calchahualco, Veracruz, Mexico. The dates and unique identification codes assigned to each specimen are as follows: September 10, 2019 (Hernández-Marañón 100919), September 12, 2020 (Hernández-Marañón 120920), September 25, 2021 (Hernández-Marañón 250921), and September 29, 2022 (Hernández-Marañón 290922). The numerical codes represent unique collection identifiers for each sample and do not correspond to a simple numerical sequence.

#### New record of *Cantharellus flavus* in Mexico

*Cantharellus flavus* M. J. Foltz & T. J. Volk; *Mycology* 105 (2): 456 (2013)

The cap reaches a diameter of 6 to 9 cm, and has an egg yolk yellow color that intensifies, especially with exposure to light or overtime (Figure 5). In its immature stage, the cap is flat-convex, evolving as it matures from flat to slightly undulated and from depressed to broad infundibuliform. The margin of the cup is typically incurved, with shapes ranging from regular to irregular, generally not turning outward at maturity, though it may occasionally exhibit lobes or sinuosities on one side. The cap texture is vibrant yellow with a spongy, watery consistency.

The hymenophore gills are decurrent, egg yolk yellow in color, often bifurcated and anastomosed. They do not display visible discoloration upon bruising; in dried specimens, bruising turns a yellowish-brown ochre color.

The basidiospores, with a yellow spore deposit, measure (7.5)8-10(11) x 3(4)4.5-6 mm, are subglobose to obovate when young, and become oblong at maturity (n = 30). The basidia measure 75-80 μm x 7-10 μm, with three to four often undulated sterigmata. Cystidia are absent.

The cuticle contains elements 5 to 8 mm in size, sometimes with thickened walls; clamp connections are present in all tissues. The fungus has a peach-like aroma and a slightly spicy taste. KOH intensifies the color of all tissues.

The stem is yellow and solid when young, sometimes showing white and mottled patches at maturity, with dimensions of 3-8 cm in length and 0.5-2 cm thick (Figure 5).

al ser maltratado, pero las magulladuras pueden adquirir lentamente un tono parduzco.

Las basidiosporas miden de 7-10 x 4-5 μm, son elipsoides, lisas, inamiloides, débilmente ocráceas en KOH; el contenido es granuloso. Los basidios miden 60 a 95 μm de largo, 7 a 10 μm ancho, con tres a cuatro esterigmas (Figura 4). Los cistidios son ausentes.

El estípite mide 2-5 cm de longitud y 1-2 cm de grosor (Figura 3); es variable en forma, aunque comúnmente carnoso, glabro, seco, con coloración similar al píleo o al himenóforo; sin alteraciones ante el maltrato o magulladuras que adquieren gradualmente tonalidades parduzcas.

El hábitat de *C. roseocanus* es gregario, escaso en área de estudio, en suelo de bosque templado de *P. hartwegii*. La especie fructifica de agosto a septiembre. El hongo tiene sabor poco distintivo o ligeramente picante, con aroma fragante y dulce, similar al de los duraznos.

Los especímenes se recolectaron en el camino Nueva Vaquería-El Llano, a 3677 m de elevación en el municipio de Calchahualco, Veracruz, México. Las fechas y códigos de identificación únicos asignados a cada espécimen son los siguientes: 10 de septiembre de 2019 (Hernández-Marañón 100919), 12 de septiembre de 2020 (Hernández-Marañón 120920), 25 de septiembre de 2021 (Hernández-Marañón 250921) y 29 de septiembre de 2022 (Hernández-Marañón 290922). Los códigos numéricos indican claves únicas de colección para cada muestra y no corresponden a una secuencia numérica simple.

#### Nuevo registro de *Cantharellus flavus* en México

*Cantharellus flavus* M. J. Foltz & T. J. Volk; *Mycologia* 105 (2): 456 (2013)

El píleo alcanza un diámetro de 6 a 9 cm, es de color amarillo yema de huevo que se intensifica especialmente con la exposición a la luz o el transcurso del tiempo (Figura 5). En la etapa inmadura, el píleo adopta una forma plano-convexa que evoluciona a medida que madura, pasando de plano a ligeramente ondulado y desde deprimido hasta ampliamente infundibuliforme. El margen del píleo suele estar incurvado, con formas regulares a irregulares, generalmente sin volverse hacia afuera en la madurez, aunque ocasionalmente puede presentar lóbulos o sinuosidades en un lado. La textura del píleo es de color amarillento intenso con textura esponjosa y acuosa.

Las laminillas del himenóforo son decurrentes, de color amarillo huevo, frecuentemente bifurcadas y anastomosadas. No muestran decoloraciones fácilmente visibles cuando se magullan; en especímenes secos, las



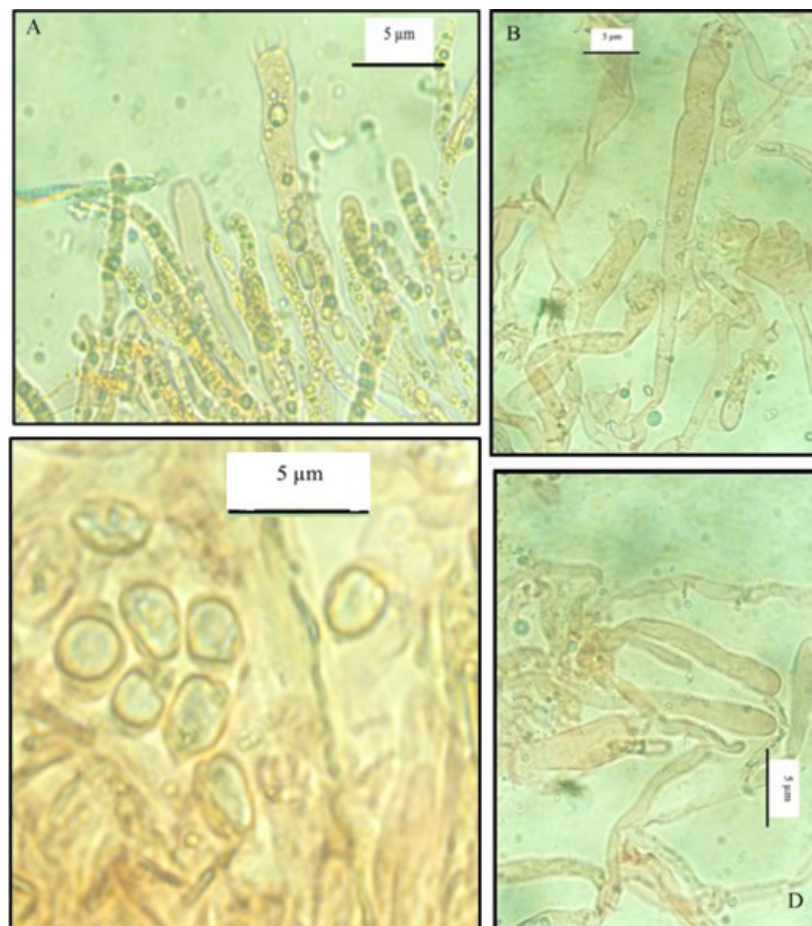


Figure 5. *Cantharellus flavus*. A) Basidium with three sterigmata, terminal elements of the cuticle. B) Basidium. C) Basidiospores. D) Terminal elements of the pileipellis.

Figura 5. *Cantharellus flavus*. A) Basidio con tres esterigmas, elementos terminales del pileipellis. B) Basidio. C) Basidiosporas. D) Elementos terminales del pileipellis.

Gregarious fructification of these fungi is uncommon and is observed on the ground of temperate forests where species such as *P. montezumae* and *P. pseudostrobis* grow. Gregarious fruiting typically occurs in August and September.

Specimens were collected on the Nueva Vaquería-El Llano road (3677 m) municipality of Calchualco, Veracruz, Mexico, on the following dates: 10 September 2019 (Hernández-Marañón 100919), 12 September 2020 (Hernández-Marañón 120920), 25 September 2021 (Hernández-Marañón 250921) and 29 September 2022 (Hernández-Marañón 290922). Numerical codes indicate unique collection keys for each sample and do not correspond to a simple numerical sequence.

## Discussion

The genus *Cantharellus* has been studied using molecular markers such as ITS, *tef1*, *nLSU*, *rbp2*, and *mlsSSU* (Wang et al., 2023) to advance taxonomy and facilitate the description of new species. In Mexico, there are still

magulladuras se tornan de un color amarillo parduzco ocráceo.

Las basidiosporas con depósito de esporas amarillo, (7.5)8-10(11) 3 (4)4.5-6  $\mu\text{m}$ , subglobosas a obovadas cuando son jóvenes y se vuelven oblongas con la madurez (n 530). Los basidios miden 75-80  $\mu\text{m}$  x 7-10  $\mu\text{m}$  con tres a cuatro esterigmas a menudo ondulados. Los cistidios son ausentes.

El pileipellis cuenta con elementos de 5 a 8 mm, a veces con paredes engrosadas; pinzas encontradas en todos los tejidos; aroma a durazno; sabor ligeramente picante. El KOH intensifica el color de todos los tejidos.

El estípite es amarillo y sólido en su estado juvenil, a veces presentando parches blancos y moteados en edad madura, con dimensiones de 3-8 cm de longitud y 0.5-2 cm de grosor (Figura 5).

La fructificación gregaria de este hongo es poco común y se observa en el suelo de los bosques templados donde



Figure 6. Basidiomata of *Cantharellus flavus* collected at Pico de Orizaba National Park, Veracruz.

Figura 6. Basidiomas de *Cantharellus flavus* recolectados en el Parque Nacional Pico de Orizaba, Veracruz.

records and species that require more in-depth analysis, as this genus exhibits morphological characteristics that, although similar, do not correspond to homologous species.

The diversity of *Cantharellus* species is considerably lower in Europe compared to North America, where 22 species are recognized, excluding those that need to be transferred to *Craterellus* or newly described species in the process of classification (Buyck et al., 2014). These observations are supported by the study of Olariaga et al. (2017), which details the species present in Europe. A similar process would be necessary in Mexico or the North American region to determine the richness of *Cantharellus* and to address the knowledge gap in our country.

The species reported in this study as new records were first identified in the United States and Canada and validated through widely used genetic markers such as ITS and *tef1*, which provide adequate support for validating new records in Mexico. However, in Mexico,

crecen especies como *P. montezumae* y *P. pseudostrobus*. La fructificación gregaria ocurre típicamente en agosto y septiembre.

Los especímenes se recolectaron en el camino Nueva Vaquería-El Llano (3677 m) municipio de Calchualco, Veracruz, México, en las siguientes fechas: 10 de septiembre de 2019 (Hernández-Marañón 100919), 12 de septiembre de 2020 (Hernández-Marañón 120920), 25 de septiembre de 2021 (Hernández-Marañón 250921) y 29 de septiembre de 2022 (Hernández-Marañón 290922). Los códigos numéricos indican claves únicas de colección para cada muestra y no corresponden a una secuencia numérica simple.

### Discusión

El género *Cantharellus* se ha estudiado utilizando marcadores moleculares como ITS, *tef1*, *nLSU*, *rbp2* y *mlsSSU* (Wang et al., 2023) con el propósito de avanzar en la taxonomía y facilitar la descripción de nuevas especies. En México, aún persisten registros y especies



many species are still reported as *C. cibarius* due to morphological homogenization within the genus, despite this species being primarily restricted to the European continent (Foltz et al., 2013; Thorn et al., 2017).

The samples collected and identified as *Cantharellus roseocanus* and *Cantharellus flavus* come from areas with low levels of forest management and affected by deforestation. These ecosystems host significant ectomycorrhizal fungal diversity associated with various hosts, highlighting their vulnerability to deforestation and the resulting loss of forest and mycological diversity. These records contribute to the taxonomic knowledge of the genus *Cantharellus*, which still lacks complete elucidation. This finding marks only the beginning of a continuous process, given the genus's widespread distribution in our country, suggesting an extensive mycological richness yet to be discovered. In this regard, further taxonomic analysis of more specimens will be crucial to positioning Mexico among the leaders in edible species (China, the global leader, with 46 species; Zhang et al., 2022) and for revaluing the mycological potential of the Veracruz Mountain Region, based on the number of *Cantharellus* species. Additionally, it is important to note that the species recorded in this study have high local consumption value and are sold in local markets during the rainy season from August to November, with prices ranging from 400 to 600 MXN·kg<sup>-1</sup> in the Coscomatepec market in Veracruz, depending on the quality of basidiomata.

## Conclusions

Based on morphological features together with their position in the generated phylogeny, the analyzed specimens were identified as *Cantharellus roseocanus* and *Cantharellus flavus* and represent two new records of the genus in the temperate forests of Pico de Orizaba National Park, Veracruz, Mexico. These records contribute to the taxonomic knowledge of *Cantharellus*, which still lacks complete elucidation. The taxonomic analysis of more specimens will be crucial for positioning Mexico as a leader in edible species and for the revaluation of the mycological potential of the Veracruz Mountains Region, where they are considered a non-timber forest resource of high sociocultural and economic value for the communities

## Acknowledgments

The authors thank the community of Nueva Vaqueria, Calcahualco, Veracruz for all the facilities provided.

*End of English version*

que requieren un análisis más profundo, ya que este género muestra características morfológicas que, aunque son similares, no corresponden a especies homólogas.

La diversidad de especies de *Cantharellus* es considerablemente menor en Europa en comparación con Norteamérica donde se reconocen 22 especies, excluyendo aquellas que deben ser transferidas a *Craterellus* o las nuevas especies en proceso de descripción (Buyck et al., 2014). Estas observaciones están respaldadas por el estudio de Olariaga et al. (2017), quienes detallan las especies presentes en Europa. Tal proceso también sería necesario en México o en la región de Norteamérica para determinar la riqueza del género *Cantharellus* y dimensionar el vacío en nuestro país.

Las especies reportadas en este estudio como nuevos registros fueron identificadas por vez primera en Estados Unidos y Canadá, y validadas mediante marcadores genéticos utilizados ampliamente como ITS y *tef1*, los cuales proporcionan un respaldo adecuado para la validación de nuevos registros en México. No obstante, en el país, muchas especies se siguen informando como *C. cibarius*, debido a la homogeneización morfológica del género, a pesar de que este se restringe principalmente al continente europeo (Foltz et al., 2013; Thorn et al., 2017).

Las muestras recolectadas e identificadas como *Cantharellus roseocanus* y *Cantharellus flavus* provienen de áreas con bajo nivel de manejo forestal y perturbadas por la deforestación. Estos ecosistemas albergan diversidad significativa de hongos ectomicorrícicos, asociados a varios hospederos, lo que resalta su vulnerabilidad ante la deforestación y la consiguiente pérdida de diversidad forestal y micológica. Dichos registros contribuyen al conocimiento taxonómico del género *Cantharellus*, que aún carece de la dilucidación completa. Tal hallazgo es solo el inicio de un proceso continuo, dada la distribución amplia del género en nuestro país, lo que sugiere la existencia de cuantiosa riqueza micológica aún por descubrir. En este sentido, el análisis taxonómico de más ejemplares será crucial para posicionar a México entre los líderes en especies comestibles (China, líder mundial con 46 especies; Zhang et al., 2022) y para la revalorización del potencial micológico de la Región de las Montañas de Veracruz, en función del número de especies de *Cantharellus*. Por otra parte, es importante resaltar que las especies registradas en este estudio poseen valor alto de consumo local y son sujeto de comercialización en mercados locales durante la estación lluviosa de agosto a noviembre, las cuales alcanzan precios de 400 a 600 MXN·kg<sup>-1</sup> en el mercado de Coscomatepec, Veracruz, dependiendo de la calidad de los basidiomas.

## References / Referencias

- Bas, C. (1969). Morphology and subdivision of *Amanita* and a monograph of its section *Lepidella*. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 5(4), 285–573. <https://repository.naturalis.nl/pub/531781>
- Buyck, B., Kauff, F., Eyssartier, G., Couloux, A., & Hofstetter, V. (2014). A multilocus phylogeny for worldwide *Cantharellus* (Cantharellales, Agaricomycetidae). *Fungal Diversity*, 64(1), 101–121. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0272-3>
- Cao, T., Hu, Y. P., Yu, J. R., Wei, T. Z., & Yuan, H. S. (2021). A phylogenetic overview of the *Hydnaceae* (Cantharellales, Basidiomycota) with new taxa from China. *Studies in Mycology*, 99(1), 100121. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100121>
- Corrales, A., Henkel, T. W., & Smith, M. E. (2018). Ectomycorrhizal associations in the tropics – biogeography, diversity patterns and ecosystem roles. *New Phytologist*, 220(4), 1076–1091. <https://doi.org/10.1111/nph.15151>
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Foltz, M. J., Pérez, K. E., & Volk, T. J. (2013). Molecular phylogeny and Morphology reveal three new species of *Cantharellus* within 20 m of one another in western Wisconsin, USA. *Mycologia*, 105(2), 447–461. <https://doi.org/10.3852/12-181>
- Gallardo-Salazar, J. L., Lindig-Cisneros, R. A., Lopez-Toledo, L., Endara-Agramont, A. R., Blanco-García, A., & Sáenz-Romero, C. (2023). Analysis of the vigor of *Pinus hartwegii* Lindl. along an altitudinal gradient using UAV multispectral images: Evidence of forest decline possibly associated with climatic change. *Forests*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/f14061176>
- Guzmán, G., & Sampieri, A. (1984). Nuevos datos sobre el hongo comestible *Cantharellus odoratus* en México. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología*, 19, 201–205. <https://doi.org/10.33885/sf.1984.2.601>
- Herrera, M., Bandala, V. M., & Montoya, L. (2018). *Cantharellus violaceovinosus*, a new species from tropical *Quercus* forests in eastern Mexico. *MycKeys*, 32, 91–109. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.32.22838>
- Kornerup, A., & Wanscher, J. H. (1967). *Methuen handbook of colour* (2<sup>nd</sup> ed.). Methuen, London.
- Largent, D. (1973). *How to identify mushrooms to genus (Macroscopic features, vol. 1)*. Mad River Press, Eureka.
- Larsson, A. (2014). AliView: A fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30(22), 3276–3278. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>
- Lücking, R., Aime, M. C., Robbertse, B., Miller, A. N., Aoki, T., Cardinali, G., Crous, P. W., Druzhinina, I. S., Geiser, D. M., Johnston, P. R., Kirk, P. M., Langer, E. W., May, T. W., Meyer, W., Rossman, A. Y., Stadler, M., Thines, M., Vagvolgyi, C., Wingfield, M. J., & Xu, J. (2020). Fungal taxonomy and sequence-based nomenclature. *Nature Microbiology*, 5(7), 876–883. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0733-5>
- Mason-Gamer, R. J., & Kellogg, E. A. (1996). Testing for phylogenetic conflict among molecular data sets in the tribe Triticeae (Gramineae). *Systematic Biology*, 45(4), 524–545. <https://doi.org/10.1093/sysbio/45.4.524>

## Conclusiones

Con base en los rasgos morfológicos junto con su posición en la filogenia generada, los ejemplares analizados se identificaron como *Cantharellus roseocanus* y *Cantharellus flavus* y representan dos nuevos registros del género en los bosques templados del Parque Nacional Pico de Orizaba, Veracruz, México. Estos registros contribuyen al conocimiento taxonómico del género *Cantharellus*, que aún carece de la dilucidación completa. El análisis taxonómico de más ejemplares será crucial para posicionar a México como líder en especies comestibles y para la revalorización del potencial micológico de la Región de las Montañas de Veracruz, donde son consideradas un recurso forestal no maderable de alto valor sociocultural y económico para las comunidades.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la comunidad de Nueva Vaquería, Calchahualco, Veracruz por todas las facilidades prestadas.

## Fin de la versión en español

- Montoya, L., Herrera, M., Bandala, V. M., & Ramos, A. (2021). Two new species and a new record of yellow *Cantharellus* from tropical *Quercus* forests in eastern Mexico with the proposal of a new name for the replacement of *Craterellus confluens*. *MycKeys*, 80, 91–114. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.80.61443>
- Munsell Color Company Inc. (1994). *Munsell soil color charts*. Gretag Macbeth.
- O'Donnell, K., Rooney, A. P., Mills, G. L., Kuo, M., Weber, N. S., & Rehner, S. A. (2011). Phylogeny and historical biogeography of true morels (*Morchella*) reveals an early Cretaceous origin and high continental endemism and provincialism in the Holarctic. *Fungal Genetics and Biology*, 48(3), 252–265. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.09.006>
- Olariaga, I., Buyck, B., Esteve-Ravento's, F., Hofstetter, V., Manjo'n, J. L., Moreno, G., & Salcedo, I. (2015). Assessing the taxonomic identity of white and orange specimens of *Cantharellus*: occasional color variants or independent species? *Cryptogamie, Mycologie*, 36(3), 287–300. <https://sciencepress.mnhn.fr/sites/default/files/articles/pdf/cryptogamie-mycologie2015v36f3a4.pdf>
- Olariaga, I., Moreno, G., Manjón, J. L., Salcedo, I., Hofstetter, V., Rodríguez, D., & Buyck, B. (2017). *Cantharellus* (Cantharellales, Basidiomycota) revisited in Europe through a multigene phylogeny. *Fungal Diversity*, 83(1), 263–292. <https://doi.org/10.1007/s13225-016-0376-7>
- Park, Y. J., Choi, J. H., & Kim, S. (2022). New species of *Cantharellus* from South Korea. *MycKeys*, 76, 31–47. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.76.58179>
- Pérez-Moreno, J., Mortimer, P. E., Xu, J., Karunarathna, S. C., & Li, H. (2021). Global perspectives on the ecological, cultural and



- socioeconomic relevance of wild edible fungi. *Studies in Fungi*, 6(1), 408–424. <https://doi.org/10.5943/sif/6/1/31>
- Pérez-Suárez, M., Ramírez-Albores, J. E., Vargas-Hernández, J. J., & Alfaro-Ramírez, F. U. (2022). A review of the knowledge of Hartweg's Pine (*Pinus hartwegii* Lindl.): Current situation and the need for improved future projections. *Trees*, 36, 25–37. <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02221-9>
- Rambaut, A. (2009). *FigTree v1.3.1. A graphical viewer of phylogenetic trees*. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Thorn, R. G., Kim, J. I., Lebeuf, R., & Voitk, A. (2017). The golden chanterelles of Newfoundland and Labrador: A new species, a new record for North America, and a lost species rediscovered. *Botany*, 95(6), 547–560. <https://doi.org/10.1139/cjb-2016-0213>
- Trifinopoulos, J., Nguyen, L.-T., Von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research*, 44(W1), W232–W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>
- Wang, X. H., Hofstetter, V., Cao, S. Q., Liu, P. G., & Buyck, B. (2023). Finding correct names for economically important chanterelles (*Cantharellus*, Hydnaceae, Cantharellales) in southwestern China: a plea for third party annotation of sequences in GenBank. *Mycosphere*, 14(1), 153–194. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/14/1/3>
- Zhang, M., Wang, C. Q., Gan, M. S., Li, Y., Shao, S. C., Qin, W. Q., Deng, W. Q., & Li, T. H. (2022). Diversity of *Cantharellus* (Cantharellales, Basidiomycota) in China with description of some new species and new records. *Journal of Fungi*, 8(5), 483. <https://doi.org/10.3390/jof8050483>