

CULTIVO *IN VITRO* Y TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE UN HONGO DEL GÉNERO *Myriostoma*

IN VITRO CULTURE AND PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL SCREENING OF A FUNGUS OF THE *Myriostoma* GENUS

¹Yesenia Aragón-López^{ORCID}, ¹Alma Dolores Pérez-Santiago^{ORCID}, ²Ricardo Valenzuela-Garza^{ORCID}, ¹Marco Antonio Sánchez-Medina^{ORCID}, ¹Iván Antonio García-Montalvo^{ORCID}

¹Tecnológico Nacional de México, Campus Oaxaca (ITO). Avenida Ing. Víctor Bravo Ahuja No. 125 Esquina Calzada Tecnológico, C.P. 68030, Oaxaca de Juárez, Oaxaca. ²Instituto Politécnico Nacional (IPN), Departamento de Botánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Wilfrido Massieu 399, Col. Nueva Industrial Vallejo, C.P. 07738 Alcaldía Gustavo A. Madero, Ciudad de México, México. ³Autor de correspondencia: (aperez_santiago@hotmail.com).

RESUMEN

El trabajo de investigación fue realizado en la comunidad de Yaxe, Ocotlán de Morelos, Oaxaca, comunidad que cuenta con una gran biodiversidad de especies, entre las que destacan los hongos silvestres. El objetivo de este trabajo fue analizar un hongo del género *Myriostoma* sp. que pertenece a los hongos gasteroides, y cuyo uso potencial es como cicatrizante. Esta especie presenta un endoperidio globoso que tiene numerosos orificios por los que ocurre la dispersión de las esporas. En el paraje “Lachigocha”, zona con clima cálido semiseco, se colectaron los cuerpos fructíferos de *Myriostoma* sp., las muestras obtenidas se lavaron con hipoclorito de sodio al 0.6 % y posteriormente con agua destilada estéril. Fragmentos de los carpóforos se colocaron para su crecimiento en los diferentes medios de cultivo selectivos para hongos: agar extracto de malta (*AEM*), agar dextrosa sabouraud (*ADS*), agar suero de naranja (*ASN*), agar dextrosa y papa (*ADP*). A partir de los cultivos en medios sólidos se evaluó la presencia de lectinas y la identificación de metabolitos con pruebas colorimétricas. El hongo presentó abundante crecimiento de micelio de color blanco en los diferentes medios de cultivo, siendo en agar suero de naranja donde el crecimiento fue más uniforme. Se detectó la presencia de lectinas y de alcaloides. Este reporte

constituye el primer registro de *Myriostoma* sp. en la zona.

Palabras clave: hongos gasteroides, lectinas, metabolitos.

ABSTRACT

The research work was carried out in the community of Yaxe, Ocotlán de Morelos, Oaxaca, a community that has a great biodiversity of species, among which wild mushrooms stand out. The objective of this work was to analyze a fungus of the genus *Myriostoma* sp. which belongs to gasteroid fungi, and whose potential use is as a healing agent. This species has a globose endoperidium that has numerous holes through which spores disperse. In the “Lachigocha” area, an area with a warm semi-dry climate, the fruiting bodies of *Myriostoma* sp. were collected, the samples obtained were washed with 5 % sodium hypochlorite and subsequently with sterile distilled water. Fragments of the carpophores were placed for growth in different selective culture media for fungi: malt extract agar (*AEM*), sabouraud dextrose agar (*ADS*), orange serum agar (*ASN*), and potato dextrose agar (*ADP*). From the cultures in solid media, the presence of lectins and the identification of metabolites were evaluated with colorimetric tests. The fungus presented abundant growth of white mycelium in the different culture media, with orange serum agar

where the growth was more uniform. The presence of lectins and alkaloids was detected. This report constitutes the first record of *Myriostoma* sp. in the zone.

Index words: gasteroid mushrooms, lectins, metabolites.

INTRODUCCIÓN

El estado de Oaxaca comprende diferentes climas dando lugar a una gran biodiversidad de especies; sin embargo, existen zonas del territorio como la comunidad de Yaxe, perteneciente al distrito de Ocotlán de Morelos, en el estado de Oaxaca, donde no se tienen registros de los recursos forestales no maderables. Esta comunidad tiene una extensión de 5908 ha, posee bosque de encino con clima templado subhúmedo y seco cálido semiseco (INEGI, 2010), que alberga gran biodiversidad con especies de hongos silvestres, siendo gasteroides la mayoría de los hongos encontrados en nuestra primera revisión.

Dada la importancia y el interés actual de los hongos silvestres como alimentos nutraceuticos y de potencial biotecnológico, se ha tratado de establecer condiciones para su cultivo y propagación. Bo, Velázquez y Kuhar (2021) mencionan que existen hongos silvestres que liberan esporas a través de una polvera, es decir, no la liberan a través del himenio; Kuhar, Castiglia y Papinutti (2013) indican que la liberación de las esporas puede ser de dos formas, la primera es al secarse el cuerpo fructífero, la gleba se abre y libera las esporas, o bien, que la gleba se convierta en un líquido pegajoso el cual es utilizado por algunos insectos como alimento, llevándose las esporas adheridas a su cuerpo esparciéndose en el camino; este mecanismo se observa en especies de los géneros *Myriostoma*, *Calvatia*, *Geastraceae*, *Lycoperdon*, *Tulostomatales*, *Sphaerobolus*, *Geastrum*. Marco, Suárez y Robledo (2018), mencionan que, géneros como *Bovista cunninghamii*, *Calvatia cyathiformis*, *Calvatia fragilis*, *Disciseda candida*, *Mycenastrum corium*, *Scleroderma bovista*, así como *Myriostoma*

coliforme, presentan algunas propiedades medicinales, como favorecedores del proceso de cicatrización. Esta propiedad se puede deber a la presencia de lectinas o metabolitos secundarios, los que tienen una participación activa en las propiedades antioxidantes, antivirales, antitumorales, antibacterianas, entre otras.

Algunas de estas especies fúngicas tienen relación con el ambiente ya que favorecen la formación de micorrizas, esta simbiosis entre el árbol y la especie fúngica ayuda a establecer condiciones óptimas entre ambos para mejorar el crecimiento, como es el caso de *Pisolithus tinctorius* (Gomes et al., 2013; Martin y Pais, 2004; Pera, Parladé y Alvarez, 1994), esta especie en particular además de ser comestible en etapa joven y de un sabor muy intenso que se puede usar para condimentar guisos, es utilizada como pigmento y posee propiedades antialérgicas (Jiménez-Nieva, Sánchez-González y Caetano-Sánchez, 2022).

Tanto *Calvatia* como *Pisolithus* en etapa joven pueden incluirse en el patrón alimentario humano, ya que son consumidos con frecuencia cuando aún no liberan esporas, regularmente son colectados durante la temporada de lluvias, cuando desarrollan los cuerpos fructíferos. Algunas especies de *Lycoperdon*, como *L. perlatum* tienen propiedades medicinales, terapéuticas y antimicrobianas, y producen β -glucanos (Díaz-Talamantes et al., 2021; Akpi et al., 2017).

Hedavoo (2020) y Díaz-Talamantes et al. (2017) mencionan que especies como *Calvatia cyathiformis* y *Calvatia fragilis* son consumidas ampliamente en países como la India; Jiménez-Nieva, Sánchez-González y Caetano-Sánchez (2022) en su investigación registraron que *Bovista aestivalis*, *Phallus impudicus* tienen sabor similar al rábano, poseen compuestos antirreumáticos y tienen efecto contra la epilepsia; *Rhizopogon luteolus* y *Rhizopogon roseolus* poseen propiedades antibacterianas (Jiménez-Nieva,

Sánchez-González y Caetano-Sánchez, 2022; Sevindik y Bal, 2022).

Cortés-Pérez et al. (2022) demostraron que las especies del género *Scleroderma* como *S. texense* tienen uso culinario en la Sierra Norte de Oaxaca. Jiménez-Nieva et al. (2022) registraron que *Astraeus hygrometricus* no posee interés culinario, sin embargo, es utilizado en medicina alternativa como cicatrizante en casos de quemaduras. La forma de dispersión de las esporas que tienen todas estas especies fúngicas a través de la gleba permite que su distribución en el ambiente sea más amplia, contribuyendo al ecosistema produciendo una gran cantidad de cuerpos fructíferos jóvenes que son usados como alimento; así mismo facilita la reproducción del micelio en medios de cultivo *in vitro* por medio de las esporas, las cuales son conservadas en condiciones óptimas.

Dado el impacto económico, cultural, biotecnológico y alimenticio que presentan estas especies, es importante establecer condiciones de cultivo *in vitro* para reproducirlas en forma de micelio como es el caso de *Lycoperdon perlatum* y *Pisolithus tinctorius* y así obtener los beneficios de sus propiedades medicinales y en la formación de micorrizas (Akpi, Odoh et al, 2017; Pera, Parladé y Alvarez, 1994). Por lo que el objetivo del presente trabajo fue el cultivo *in vitro* e identificación de metabolitos bioactivos del hongo *Myriostoma* sp., especie que cuenta con pocos estudios en su aislamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La comunidad de Yaxe pertenece al municipio de Ocotlán de Morelos, Oaxaca, se localiza entre 16°39' y 16°46' LN, 96°24' y 96°30' LO y altitud entre 1 400 y 2 500 m (INEGI, 2010).

Cultivo *in vitro* en medio sólido

Muestras del hongo se colectaron durante el mes de septiembre 2021 en una zona semiseca del paraje conocido como Lachigocha en la comunidad de Yaxe, que se colocaron en bolsas de

papel, se llevaron a laboratorio en donde se conservaron en congelación a -20 °C. Para la propagación *in vitro* el aislamiento se realizó en una campana de flujo laminar, donde el cuerpo fructífero del hongo se cortó en secciones de aproximadamente 1 cm² con un bisturí, lavando una parte con hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.6 % y lo restante con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 3 %, las fracciones se enjuagaron con agua esterilizada y se colocaron para su crecimiento en medios agar extracto de malta. Del crecimiento activo de una placa, se realizó la inoculación en los siguientes medios con discos de agar de 5 mm de medio sólido en el centro de la placa: agar extracto de malta (*AEM*), agar dextrosa Sabouraud (*ADS*), agar suero de naranja (*ASN*), agar dextrosa y papa (*ADP*) manteniendo en incubación a temperatura de 25 °C.

Ensayo de actividad hemaglutinante (*AH*)

La prueba se realizó en una placa de micro titulación de fondo cóncavo, se colocaron 50 µL de *PBS* (buffer de fosfato salino) en cada pozo de la placa, posteriormente se añadieron 50 µL de la muestra (obtenida del medio de cultivo) efectuando diluciones dobles seriadas con un volumen final de 50 µL. Se adicionó a cada pozo 25 µL de eritrocitos humanos al 3%. Como control, en los primeros pozos se colocó *PBS* y suspensión al 3 % de eritrocitos humanos del grupo O Rh⁺. Las lecturas se realizaron después de una hora de reposo a temperatura ambiente. Los resultados se registraron como positivo (pozos con hemaglutinación) y negativo (no presenta hemaglutinación). La mayoría de las lectinas aglutinan eritrocitos de todos los grupos sanguíneos, las que son específicas aglutinan eritrocitos humanos preferentemente de un determinado grupo sanguíneo.

Tamizaje fitoquímico

Para la identificación de metabolitos en el extracto del hongo, el micelio del hongo se maceró en *PBS* (buffer de fosfato salino) en una relación 1:2 y se incubó durante 24 h con agitación constante, posteriormente se centrifugó para recuperar el sobrenadante. Se utilizaron agentes cromógenos

para las pruebas colorimétricas en la identificación de metabolitos, considerando como prueba positiva las siguientes coloraciones: alcaloides (precipitado café-naranja), flavonoides (xantonas y flavonas, amarillo-rojo; flavonoides, café-naranja; antocianinas, azul; chalconas; púrpura rojizo), saponinas (si la altura de la espuma es > 0.5 cm por 30 minutos), taninos (ácido gálico azul-negro; catequina, verde; compuesto fenólicos; azul), cumarinas (azul-violeta), quinonas (rojo-violeta), glucósidos cardiotónicos (rojo oscuro) (Casamtjana, 2018; Oliveros et al., 2018; Koneman et al., 2014).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción

Esta especie silvestre fue encontrada en el paraje conocido como “Lachigocha” (Figura I) en donde predominan arbustos, cactus y magueyes, es una zona con clima seco cálido semiseco; la ubicación del hongo fue: Latitud: 33.7058147; Longitud: -111.01865184, Yaxe, Ocotlán de Morelos Oaxaca. En la zona se encontraron otras especies fúngicas como *Arachnion album*. *Myriostoma* sp. está formado por un cuerpo fructífero con una capa externa que se abre formando una estrella de color marrón parduzco (Figura 1a,b,d), endoperidio con numerosos estomas o bocas circulares por donde expulsa las esporas (Figura 1d).

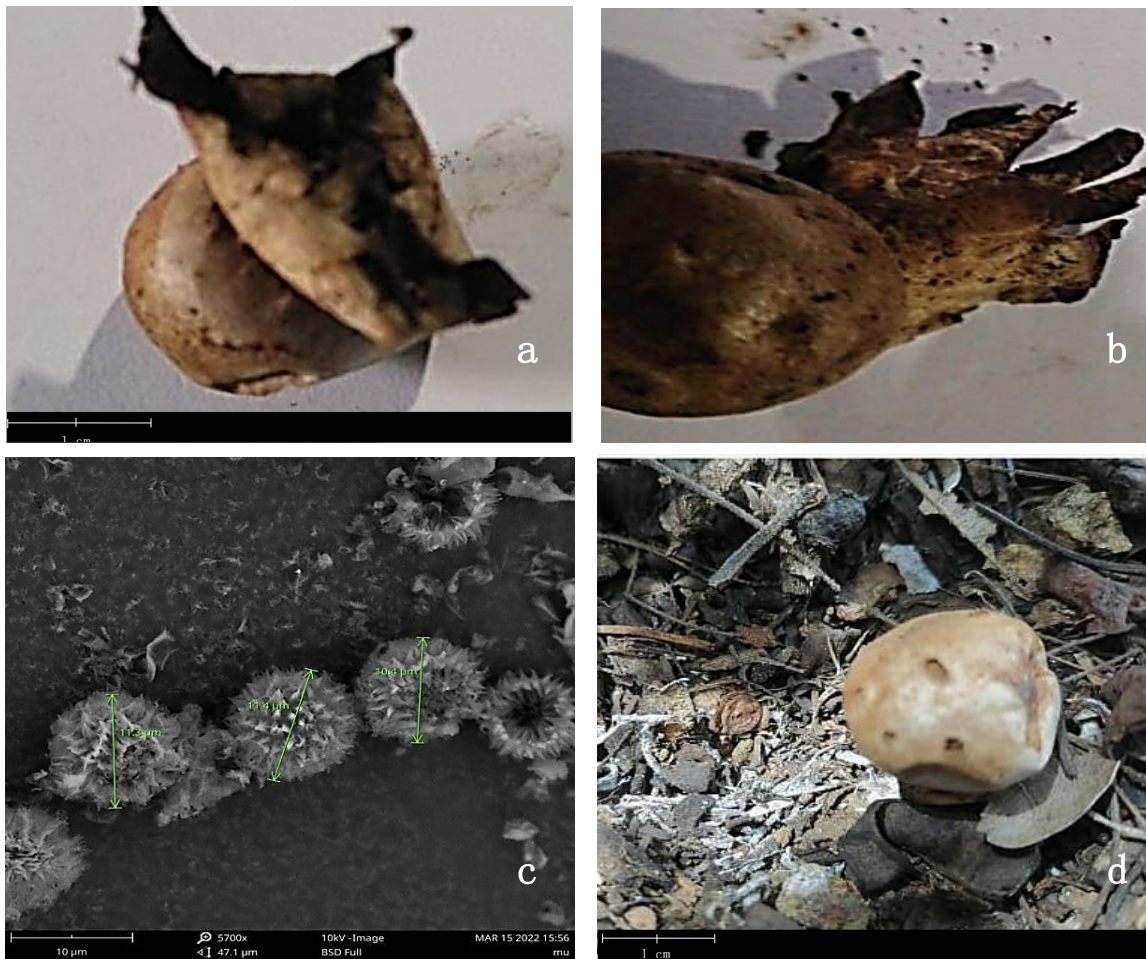


Figura I. Morfología de estructuras de *Myriostoma* sp. a: basidioma b: vista lateral del basidioma, centrándose en el pedicelo. c: basidiosporas diámetro 11.03 μm (SEM, 5700x), d: basidioma *Myriostoma*.

Las esporas son globosas, marcadamente verrugosas de diámetro 11.03 μm (Figura 1c). Este género se reportó por primera vez en São Paulo, SP, Brasil, en el 2020, en Bolivia en el año 2019, y en 2021 en Italia (Perini et al., 2021; Trierveiler-Pereira y Gugliotta, 2020; Maillard y Rocabado, 2019). Hernández (1974) realizó los primeros registros de este género en los estados de Guerrero e Hidalgo, los cuales cuentan con una biodiversidad fúngica muy extensa.

En la comunidad de Yaxe, actualmente solo se consumen las especies de hongos silvestres *Agaricus campestris* y *Marasmius oreades*, los cuales son consumidos principalmente en mole amarillo, empanadas y asados. No se cuenta con un registro de las especies fúngicas silvestres por lo que la presencia de este hongo es el primer registro en la zona.

Cultivo *in vitro*

El cultivo fue realizado con un disco de agar de 5 mm sobre el medio de cultivo correspondiente. El hongo presentó un crecimiento considerable en los cuatro medios de cultivo con presencia de un micelio de color blanco, y desarrollo abundante, de forma circular, consistencia suave. En los medios de cultivo ASN y ADS se presentó un crecimiento más rápido, sin embargo, en el medio de cultivo ASN se obtuvo un crecimiento más uniforme, el

crecimiento en estas placas corresponde a un periodo de dos semanas (Figura 2).

Actividad hemaglutinante (HA)

Las lectinas de origen fúngico se han aislado del micelio obtenido en medios de cultivo *in vitro*, esporas y cuerpos fructíferos. En este caso, una vez obtenido el micelio en los diferentes medios de cultivo, este fue retirado para realizar la búsqueda de lectinas por hemaglutinación. Se observó que en el medio de agar suero de naranja se presenta actividad de lectina de cinco pozos (Figura 3).

A través de los años se han analizado diferentes especies de hongos en la búsqueda de lectinas debido a sus propiedades biológicas, sin embargo la obtención de hongos silvestres ha sido una limitante debido a que solo se producen en ciertas épocas del año, es por ello que se ha optado por el cultivo *in vitro* de estas especies, ya que son una fuente de nuevas lectinas debido a sus potenciales usos médicos y biotecnológicos, así como a sus propiedades antitumorales, antibacterianas y anti proliferativas. Actualmente se han extraído lectinas a partir del micelio de hongos silvestres que han sido reconocidos por sus usos medicinales, en el caso de *Ganoderma applanatum*, sus lectinas tienen afinidad a azúcares como arabinosa, glucosa, manosa, galactosa, maltosa, fructosa, N-acetil-D-glucosamina, y en *Trametes versicolor* las lectinas se reportan con afinidad hacia galactosa (Davitashvili et al., 2008; Mikiashvili et al., 2006).



Figura 2. Crecimiento micelial de *Myriostoma* en medios de cultivo en agar. a (ADP), b (ASN), c (AEM), d (ADS). Se observa abundante micelio blanco en todos los medios, principalmente en la foto b.

Tamizaje fitoquímico

Se ha realizado identificación de metabolitos en carpóforos de especies de hongos silvestres, así como en medios de cultivo *in vitro*, el realizar el cultivo en medios sólidos o líquidos asegura un mayor control de la cantidad de biomasa producida en un determinado tiempo, a su vez el utilizar cultivos de fermentación ayuda a tener control de pH, cantidad de biomasa y facilita su accesibilidad ya que los hongos silvestres solo se producen por temporada. En la búsqueda de metabolitos bioactivos en cultivos de *Myriostoma* sp. se encontró la presencia de alcaloides, los cuales constituyen un amplio grupo de compuestos como

quinolina, isoquinolina, indol, tropano, quinolizidina, piperidina, purina, pirrolizideno; algunos de los cuales exhiben actividad biológica, y otros son muy tóxicos. Se ha reportado que algunos alcaloides funcionan como relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos o analgésicos (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009).

Obtener cultivos *in vitro*, en medios líquidos, y establecer las condiciones óptimas para el crecimiento de *Myriostoma* sp. (temperatura, cantidad de medio, pH) nos permitirá tener un mayor control y rendimiento para la extracción de los metabolitos.

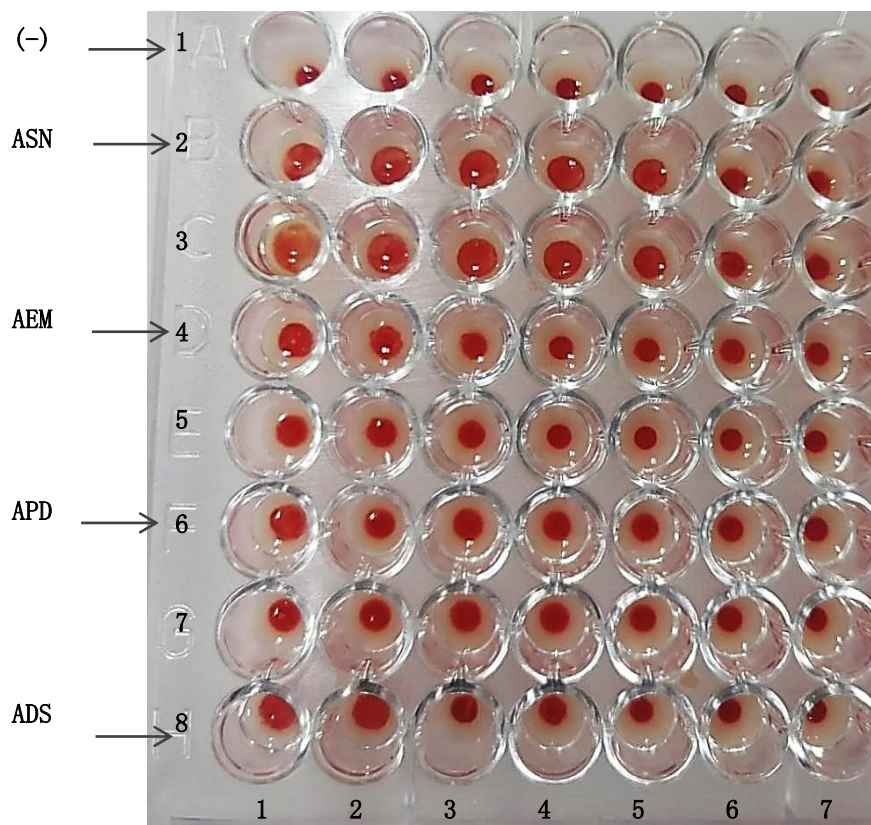


Figura 3. Actividad de lectina de *Myriostoma* sp. en diferentes medios de cultivo. Placa de micro titulación correspondiente a la actividad de lectina presentada por *Myriostoma* sp. en cultivos de dos semanas. (-). Control negativo. Fila 1. Contiene 50 μ L de PBS y 25 μ L de eritrocitos. **ASN.** Filas 2 y 3. Contienen 50 μ L de cultivo en ASN con eritrocitos, se observan 6 pozos de actividad. **AEM.** Filas 4 y 5. Contienen cultivo en AEM con eritrocitos, se observan dos pozos de actividad. **APD.** Filas 6 y 7. Contienen cultivo en ADP con eritrocitos, se observa un pozo de actividad. **ADS.** Fila 8. Contiene cultivo en ADS con eritrocitos, se observa un pozo de actividad. Se emplearon eritrocitos humanos tipo O+ al 3% en todos los casos.

CONCLUSIONES

Myriostoma sp. es un hongo con un cuerpo fructífero pequeño, que libera esporas a través de la gleba, y que fue posible cultivar en medio sólido obteniendo el micelio a partir de las esporas. Al realizar las pruebas de identificación de metabolitos, *Myriostoma* sp., presentó actividad de lectina y se identificó la presencia de un grupo de metabolitos secundarios, como alcaloides, los cuales podrían conferir propiedades medicinales cicatrizantes a este hongo, Es necesario realizar pruebas piloto en medios de cultivo líquido y evaluar condiciones óptimas para la extracción de metabolitos con propiedades bioactivas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la comunidad de Yaxe, Ocotlán de Morelos, Oaxaca, por su apoyo brindado en los permisos de recolección de especies silvestres de hongos.

REFERENCIAS

- Akpi, U.K., Odoh, C.K., Ideh, E.E. & Adobu, U. S. (2017). Antimicrobial activity of *Lycoperdon perlatum* whole fruit body on common pathogenic bacteria and fungi. *Africa Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 18(2), 79-85. DOI: <https://doi.org/10.4314/AJCEM.V18I2.4>
- Ávalos- García, A & Pérez-Urria Carril E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2(3), 119-145.
- Bo, C., Velázquez, M. S. & Kuhar, J.F. (2021). Los hongos gasteroides. *Boletín Biológica*, 45, 31-33.
- Casamtjana, N. (2018). *Glucósidos cardiotónicos*. Centro de Información del Medicamento. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Barcelona. Vol. 16, Nº. 4 (ABR). pp. 90-92
- Cortés-Pérez, A., Pérez-Pacheco, C.K., Yescas-Arreola, E. & Ramírez-Cruz, V. (2022). Primer registro de *Scleroderma texense* (Boletales, Sclerodermatinae) como una especie comestible en la Sierra Sur de Oaxaca, México. *Scientia Fungorum*, 52, e1386. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.52.1386>
- Davitashvili, E.; Kapanadze, E., Kachlishvili, E., Khardziani, T. & Elisashvili, V. (2008). Evaluation of higher basidiomycetes mushroom lectin activity in submerged and solid-state fermentation of agro-industrial residues. *Int. J. Med. Mushrooms*, 10, 171–179. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v10.i2.80>
- Díaz-Talamantes, C., Burrola-Aguilar C., Aguilar-Miguel, X. & Mata G. (2017). Crecimiento miceliar *in vitro* de hongos comestibles silvestres de alta montaña en el centro de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 23(3), 369-383. 2017. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2016.12.067>
- Díaz-Talamantes, C., Burrola-Aguilar, C., Estrada-Zúñiga, M.E. & Zepeda-Gómez, C. (2021). Obtención de β -glucanos de esporomas silvestres y micelio *in vitro* de *Lycoperdon perlatum*. *Scientia Fungorum*, 52. e1409. DOI: <https://doi.org/10.33885/sf.2021.52.1409>
- Gomes, F., Machado H., San Martin E., Portugal A. & Canhoto J.M (2013). Mycorrhizal synthesis between *Pisolithus arhizus* and adult clones of *Arbutus unedo* *in vitro* and *in nursery*. *Journal of Forestry Research*, 24, 659–670. <https://doi.org/10.1007/s11676-013-0364-7>
- Hedavoo, G.B. (2020). Especies de Calvatia: Bolas de hojaldre comestibles silvestres de la región de Amravati (MS)". *Plantae Scientia*, 3(4), 30-34. DOI: <https://doi.org/10.32439/ps.v3i4.30-34>
- Hernández, R. (1974). Nuevas localidades del género *Myriostoma* en México. *Scientia Fungorum*, 8, 71-72. <https://doi.org/10.33885/sf.1974.2.434>
- Instituto Nacional de Estadística Geografía (INEGI). (2010). *Compendio de información geográfica municipal de los*

- Estados Unidos Mexicanos Yaxe, Oaxaca. Clave geoestadística 20561 https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/20/2056
- Jiménez-Nieva, F.J., Sánchez-González, F. de A. & Caetano-Sánchez C. (2022). Hongos. *Ecología y biodiversidad en ecosistemas litorales de Huelva*. En: Biología de Huelva: naturaleza, biodiversidad, bioindicadores y biomarcadores. Huelva: Universidad de Huelva, pp. 145-186.
- Koneman, W.M, Allen, S.D, Janda W.M., Schreckenber, P.C. & Winn, W.C. (2004). *Diagnóstico microbiológico*. Editorial Panamericana, Buenos Aires, pp. 565-620.
- Kuhar, J.F; Castiglia, V. C., Papinutti & V. L. (2013). Reino Fungi: morfologías y estructuras de los hongos. PAO. *Revista Boletín Biológica*, 28, 11-18.
- La Chiusa L. (2019). *El gran libro de las setas de España y Europa*. Parkstone Internacional.
- Maillard, O. & Rocabado, D. (2019). *Nuevos registros de hongos gasteroides (Agaricomycetes, Basidiomycota) para Bolivia*. Bol. Soc. Micol. Madrid, 43 p.
- Marco, F., Suárez, M.E. & Robledo, G. (2018). Hongos útiles y tóxicos según los Yuyeros de La Paz y Loma Bola (Valle de Traslasierra, Córdoba, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 53(2), 319-38. DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v53.n2.20588>.
- Martins, A., & Pais, M.S. (2004). *Nutrição mineral em plantas micorrizadas e não micorrizadas de Castanea sativa Mill com o fungo Pisolithus tinctorius: I. Teores de N, P e K ao longo de 90 dias de micorrização in vitro*. In I Congresso Ibérico de Ciência do Solo. Bragança.
- Mikiashvili, N.A., Elisashvili, V., Wasser, S.P. & Nevo, E. (2006). Comparative study of lectin activity of higher basidiomycetes. *Int. J. Med. Mushrooms*, 1, 31-38. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v8.i1.30>
- Oliveros-Bastidas, A., Cordero, I., Paredes, D., Buendía, D., & Macías-Domínguez, F.A. (2018). Extracción y cuantificación de cumarinas mediante HPLC-UV en extractos hidroetanolicos de semillas de *Dipteryx odorata*. *Revista Latinoamericana de Química*, 39(1,2), 17-31.
- Pera, J., Parladé J., & Alvarez I.F. (1994). Eficacia del tipo de inóculo de *Pisolithus tinctorius* en la formación de micorrizas en *Pinus pinaster* y *Pseudotsuga menziesii*. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales*, 3(1), 19-29. <https://doi.org/10.5424/517>
- Perini, C., Salerni E., Cantini, D, Antonini, D, Antonini, M., Bistocchi, G & Angelini, P. (2021). New insights confirming the presence of *Myriostoma coliforme* in Italy". *Czech Mycology*, 73(2), 203-214. <http://dx.doi.org/10.33585/cmy.73208>
- Sevindik, M. & Bal. C. (2022). Chemical Characterization, Antibacterial, Antifungal, Antioxidant and Oxidant Activities of Wild Mushrooms *Rhizopogon luteolus* and *Rhizopogon roseolus*. *Biology Bulletin*, 49(Suppl 1), S101-S108. <http://dx.doi.org/10.1134/S1062359022130180>
- Trierveiler-Pereira, L. & Gugliotta, A. D.M. (2020). Registro do gênero *Myriostoma* (Geastraceae, Basidiomycota) no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP, Brasil. *Hoehnea*, 47, e512019. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-51/2019>