



Diversidad de morfotipos de hongos ectomicorrizógenos y adaptación al hospedero en poblaciones contrastantes de *Pinus greggii* var. *australis* (Pinaceae)

Diversity of ectomycorrhizal fungal morphotypes and host-adaptation in contrasting populations of *Pinus greggii* var. *australis* (Pinaceae)

Gabriela Rodríguez-Gómez-Tagle^{1,2} , J. Jesús Vargas-Hernández^{1,2} , Javier López-Upton¹ , Jesús Pérez-Moreno¹ 

Resumen:

Antecedentes y Objetivos: La compatibilidad entre hongos micorrizógenos y árboles es consecuencia de procesos coevolutivos en respuesta a presiones de selección. Se analizó la diversidad y diferenciación de morfotipos de las comunidades de hongos ectomicorrizógenos (ECM) en poblaciones naturales de *Pinus greggii* var. *australis* en dos ambientes contrastantes (Zacualpan y Cieneguilla, México), y en combinaciones recíprocas de origen de semilla e inóculo en vivero.

Métodos: Se recolectaron muestras de suelo de dos poblaciones naturales de *P. greggii* var. *australis*. Una parte se utilizó para la obtención e identificación de morfotipos, la otra, como inóculo para el bioensayo en vivero. Se utilizó el Índice de diversidad de Shannon y el Índice de similitud de Bray-Curtis para estimar la diversidad y el grado de diferenciación en las comunidades ECM de ambas poblaciones naturales y en las plantas del bioensayo.

Resultados clave: Se encontraron 32 distintos morfotipos ECM en las poblaciones naturales, 23 en Zacualpan, 17 en Cieneguilla y ocho en ambas. La diversidad de morfotipos fue mayor en Zacualpan, con una fuerte diferenciación de la otra comunidad. Al inicio del bioensayo dominó el morfotipo *Tomentella* sp. y a los ocho meses *Rhizopogon* sp. Se identificaron los morfotipos de *Cenococcum geophilum* y *Wilcoxina* sp. La dinámica de colonización de raíces fue más rápida con el huésped u hospedero de Cieneguilla. La diversidad de morfotipos fue mayor en las asociaciones simpátricas al inicio, pero 12 meses después de la siembra fue mayor en las alopátricas.

Conclusiones: Existe una amplia diversidad y fuerte diferenciación entre los morfotipos de hongos ECM de ambas poblaciones naturales de *Pinus greggii* var. *australis*. La diversidad y diferenciación de la comunidad de morfotipos en el bioensayo se redujo con la edad de las plantas, lo que indica un efecto del ambiente de vivero sobre la homogeneización de la composición de las comunidades ectomicorrizógenas.

Palabras clave: alopatría, coevolución, hongos ectomicorrizógenos, simpatría.

Abstract:

Background and Aims: The compatibility between mycorrhizal fungi and trees is a consequence of coevolutionary processes in response to selection pressures. The diversity and differentiation of morphotypes from ectomycorrhizal fungi (ECM) communities in natural populations of *Pinus greggii* var. *australis* were analyzed in two contrasting environments (Zacualpan and Cieneguilla, Mexico), and in reciprocal combinations of seed and inoculum origin in the nursery.

Methods: Soil samples were collected from two natural populations of *P. greggii* var. *australis*. A portion of the samples was used to obtain and identify mycorrhizal morphotypes, and the other was used as inoculum for the nursery bioassay. Shannon diversity index and Bray-Curtis similarity index were used to estimate diversity and differentiation degree of ECM communities in both natural populations and in seedlings from the nursery bioassay.

Key results: Thirty-two different ECM morphotypes were found in the natural populations, 23 in Zacualpan, 17 in Cieneguilla, and eight in both of them. ECM morphotypes diversity was higher in Zacualpan, with a strong differentiation from the other community. At the beginning of the bioassay, *Tomentella* sp. was the dominant morphotype, but after eight months it was *Rhizopogon* sp. *Cenococcum geophilum* and *Wilcoxina* sp. morphotypes were also identified. Root colonization dynamics was faster with the Cieneguilla origin for either guest or host. ECM diversity was higher in the sympatric associations at the beginning, but 12 months after sowing it was higher in the allopatric ones.

Conclusions: A high diversity and strong differentiation in ECM morphotypes was found in two natural *P. greggii* var. *australis* populations. However, diversity and differentiation of the ECM community morphotypes in the bioassay decreased with age of seedlings, indicating an effect of the nursery environment in homogenizing the composition of the ECM community.

Key words: allopatry, coevolution, ectomycorrhizal fungi, sympatry.

¹Colegio de Postgraduados, km. 36.5 carretera México-Texcoco, 56230 Montecillo, Estado de México, México.

²Autores para la correspondencia: vargashj@colpos.mx, gomeztaglerg@outlook.es

Recibido: 14 de noviembre de 2022.

Revisado: 17 de febrero de 2023.

Aceptado por Victor Bandala Muñoz: 12 de diciembre de 2023.

Publicado Primero en línea: 01 de abril de 2024.

Publicado: Acta Botanica Mexicana 131 (2024).



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional).

Citar como: Rodríguez-Gómez-Tagle, G., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton y J. Pérez-Moreno. 2024. Diversidad de morfotipos de hongos ectomicorrizógenos y adaptación al hospedero en poblaciones contrastantes de *Pinus greggii* var. *australis* (Pinaceae). Acta Botanica Mexicana 131: e2151. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm131.2024.2151>

e-ISSN: 2448-7589

Introducción

La simbiosis micorrízica es una de las interacciones mutualistas, a nivel de raíz dentro del suelo, más importantes entre especies de hongos y plantas superiores (Feijen et al., 2018), y es también una asociación crucial en el funcionamiento de los árboles (Pérez-Moreno y Read, 2004; Quintero-Corrales et al., 2020). Algunas de las especies que participan en estas asociaciones son de tipo generalista, mientras que otras muestran una alta especificidad entre árbol y hongo, lo que es resultado de procesos de co-evolución y co-adaptación huésped-hospedero derivado de la selección natural en respuesta a ambientales particulares (Ángeles-Argáiz y Garibay-Orijel, 2019; Hoeksema et al., 2009, 2012). La selección natural direccional impuesta en uno de los organismos involucrados en la simbiosis ocasiona cambios o ajustes en el otro para optimizar los beneficios del ambiente en el que han coexistido. Lo anterior propicia una diferenciación con respecto a otras asociaciones similares que han evolucionado en condiciones ambientales distintas donde la selección ha generado un balance diferente en la relación huésped/hospedero de la micorriza (Smith y Read, 2008; Hoeksema et al., 2009).

En las simbiosis micorrízicas, la diferenciación de los organismos involucrados generalmente se manifiesta en forma de adaptación local, la cual ocurre cuando la aptitud media de una población es mayor en su hábitat nativo comparado con su desempeño en uno distinto (Gandon y Michalakis, 2002; Hereford, 2009; Rúa et al., 2018). Por ello, es posible que el hospedero y el huésped con el mismo origen (simpatria) tengan mayor probabilidad de éxito durante el proceso de asociación que aquellos con diferente procedencia (alopatria) (Hoeksema y Forde, 2013; Rodríguez-Gutiérrez et al., 2019). La comparación del desempeño de asociaciones simbióticas simpátricas vs. alopátricas permite evaluar el proceso de coadaptación de especies y detectar posibles efectos de adaptación local en ellas, aunque no siempre es posible observarla (Hereford, 2009). Por ejemplo, en *Pinus radiata* D. Don (Hoeksema et al., 2012) y *P. sylvestris* L. (Downie et al., 2020) se observó una diferenciación en las comunidades ectomicorrízicas de poblaciones naturales en ambos casos, pero no se detectó la presencia de adaptación local en ellas.

El estudio de los procesos de adaptación local y co-evolución del huésped y hospedero es relevante para entender y anticipar posibles cambios en la dinámica y funcionamiento de la simbiosis por efecto de otros factores, como el cambio climático (Hoeksema et al., 2012; Tedersoo et al., 2020). El calentamiento global y la fluctuación climática inciden en el hábitat de las especies leñosas y en las comunidades fúngicas asociadas a ellas, lo cual puede alterar de diferentes maneras el funcionamiento y estructura de las Comunidades de Hongos Ectomicorrizógenos (ECM) (Ding et al., 2011). Lo anterior se debe a cambios en temperatura y humedad del suelo, contenido de materia orgánica, concentración de N y P, o disponibilidad de agua (Bennett y Classen, 2020; Ding et al., 2011; Tedersoo et al., 2020).

Una especie con un amplio potencial para adaptarse a condiciones limitantes de humedad (Parraguirre-Lezama et al., 2002; López-Upton et al., 2004; Hernández-Martínez et al., 2007) como resultado de la interacción de diferentes fuerzas evolutivas (Parraguirre-Lezama et al., 2002) es *Pinus greggii* Engelm. ex Parl., especie endémica de México que entre sus poblaciones naturales ha mostrado una fuerte diferenciación genética (López-Upton y Donahue, 1995). Es posible que esta diferenciación genética entre las poblaciones haya ocasionado también, a través de procesos de adaptación del huésped, una diferenciación en las comunidades de hongos ectomicorrizógenos asociados a ellas (p. ej., Casique-Valdés et al., 2018 en *P. greggii* var. *greggii* Engelm.). Sin embargo, la mayoría de los estudios con asociaciones ectomicorrízicas en *P. greggii* (Méndez-Neri et al., 2011; Martínez-Reyes et al., 2012; Casique-Valdés et al., 2018; Salcido Ruiz et al., 2021) se han enfocado a evaluar los efectos en la planta hospedera, sin considerar el origen de la semilla ni la relación con la adaptación de la comunidad de hongos ectomicorrizógenos al hospedero. De las dos variedades conocidas de este pino, la var. *australis* Donahue & López es la más utilizada en programas de reforestación y recuperación de suelos degradados en México. Esta variedad crece en ambientes muy contrastantes de humedad, temperatura, y condiciones edáficas, por lo que se han determinado amplias diferencias de crecimiento entre sus procedencias (López-Upton et al., 2004; Hernández-Martínez et al., 2007), por lo que igualmente



podrían esperarse diferencias en sus asociaciones ectomicorrízicas.

Por lo anterior, los objetivos de este estudio fueron, con base en los morfotipos de ectomicorrizas, evaluar la diversidad y el grado de diferenciación en las ECM existentes en dos poblaciones naturales de *P. greggii* var. *australis* originarias de ambientes contrastantes; y evaluar la dinámica de colonización de raíces, diversidad, y diferenciación de las comunidades ectomicorrízicas presentes en combinaciones simpátricas y alopátricas huésped/hospedero, tomando en consideración el origen de las semillas y del inóculo en condiciones de vivero.

Materiales y Métodos

Poblaciones naturales muestreadas

Se seleccionaron dos poblaciones naturales de *Pinus greggii* var. *australis* localizadas en condiciones ambientales contrastantes de humedad y altitud (Cuadro 1). La población Zacualpan se encuentra en la localidad de Carrizal Chico, municipio Zacualpan, en el estado de Veracruz, México, cuya altitud es de 1600 m y su precipitación anual promedio de 1402 mm (Hernández-Martínez et al., 2007). La población de Cieneguilla se localiza en El Cardonal, municipio Cieneguilla, estado de Hidalgo, México; en contraste con la otra localidad, tiene una mayor altitud (2000 m), pero menor precipitación anual (539 mm) (Hernández-Martínez et al., 2007).

En cada localidad (Fig. 1) se establecieron cinco sitios de muestreo. El primer sitio se estableció de manera aleatoria en un punto cercano al centro geográfico de la población, con base en el mapa de distribución geográfica conocida de la especie (Hernández-Martínez et al., 2007). En ese sitio se identificó el árbol adulto de *P. greggii* más

cercano y a partir de ese punto se ubicaron los otros cuatro sitios de muestreo a una distancia de 20 m en cada una de las direcciones cardinales (N, S, E y O). En cada punto se eligió el árbol adulto más cercano, siguiendo las recomendaciones de Reverchon et al. (2012).

Obtención de muestras de suelo

En el árbol elegido en cada sitio se tomaron cuatro muestras de suelo, una en cada punto cardinal (N, S, E y O), y a una distancia de 2 m del tronco (Reverchon et al., 2012). Se obtuvieron 20 muestras de suelo por localidad. Estas se recolectaron en la zona de la rizósfera, en los primeros 20 cm del suelo mineral, con ayuda de un barreno de metal de 20 cm de longitud y 5 cm de diámetro, y una pala (Reverchon et al., 2012). En los mismos puntos de muestreo se tomaron, con una pala, 1.5 kg de suelo adicional por árbol para ser utilizado como fuente de inóculo ectomicorrízico para el bioensayo (Hoeksema et al., 2012). Las 20 muestras de suelo procedentes de las poblaciones naturales fueron debidamente etiquetadas con los datos de la localidad donde fueron recolectadas, las coordenadas del sitio, así como el número de muestra y árbol al que pertenecían. Posteriormente, se almacenaron herméticamente en un cuarto frío (2-4 °C) hasta su utilización para el análisis de los morfotipos en puntas de raíz micorrizadas.

Establecimiento del bioensayo en vivero

Con la finalidad de estimar la diversidad y diferenciación de las comunidades ectomicorrízicas en plantas sometidas a un ambiente diferente al nativo, se estableció un bioensayo de inoculación cruzada en el vivero del Posgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados (COLPOS), en Montecillo, Estado de México, México, en octubre de 2020.

Cuadro 1: Localización y principales condiciones ambientales de las dos poblaciones de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López, muestreadas en Zacualpan, Veracruz y Cieneguilla, Hidalgo, México. TMA: Temperatura media anual; PTA: Precipitación total anual promedio. ¹Datos tomados de Hernández-Martínez et al., 2007; ²datos obtenidos del análisis de las muestras de suelo tomadas en ambos sitios durante el estudio.

Población	Lat. (N)	Long. (O)	Altitud (m)	TMA ¹ (°C)	PTA ¹ (mm)	Condiciones del suelo ²					
						Tipo de suelo	pH	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	Fe (ppm)
Zacualpan, Ver.	20° 26'	98° 20'	1600	12.6	1402	Gleysol	5.9	0.25	2.8	235	134
Cieneguilla, Hgo.	20° 44'	99° 02'	2000	13.4	539	Luvisol	6.8	0.26	7.02	172	42.6



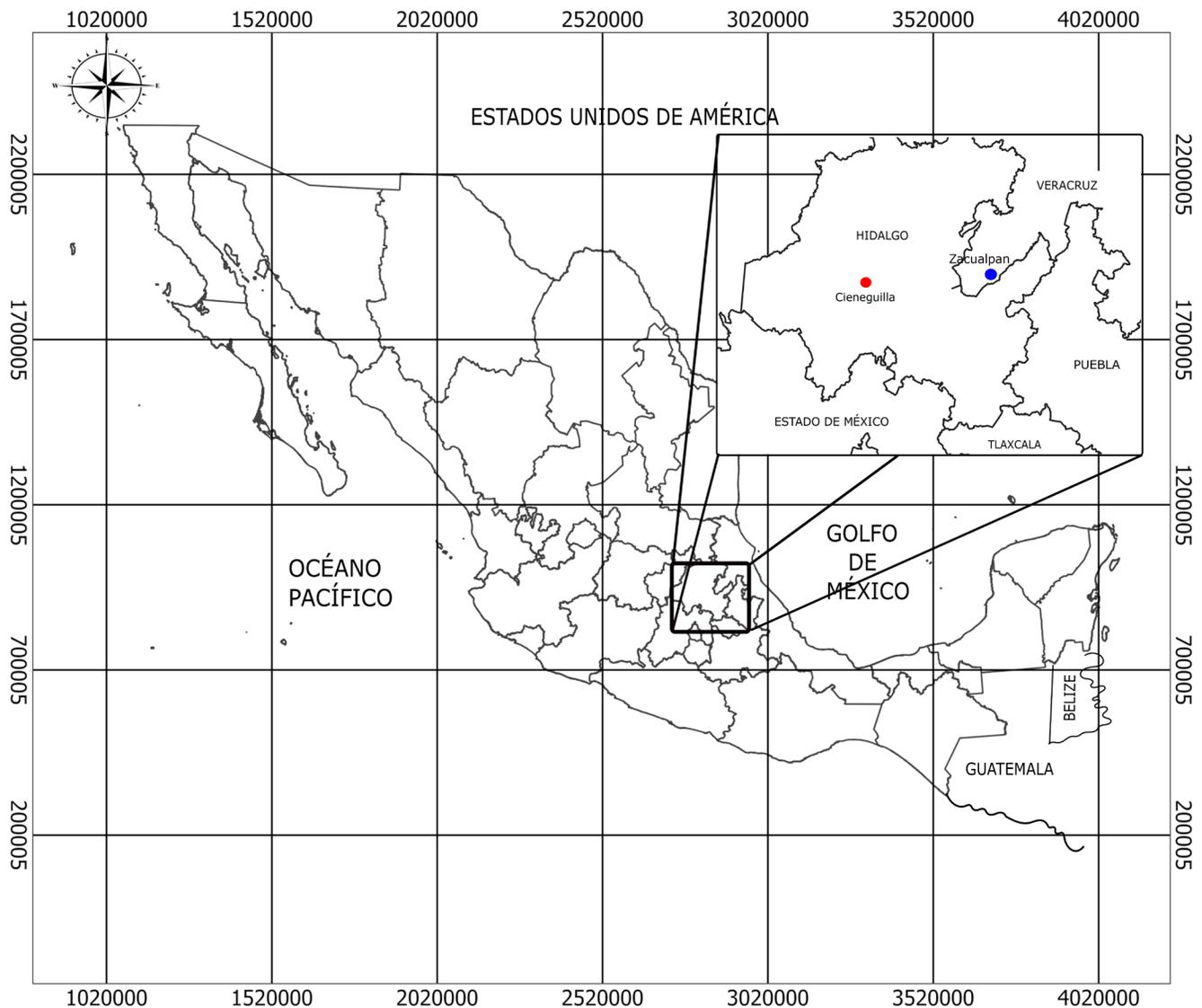


Figura 1: Ubicación geográfica de las dos poblaciones naturales de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López incluidas en el estudio.

Para el desarrollo del estudio, se realizó un diseño experimental de parcelas divididas en bloques completos al azar con cinco repeticiones y unidades experimentales (parcelas) de 12 plantas, con un arreglo factorial 2^3 (ocho tratamientos). Los factores de estudio fueron: a) “Presencia de inóculo micorrízico”, con dos niveles (con y sin inóculo); b) “Fuente de inóculo”, con dos niveles (Zacualpan y Cieneguilla); c) “Origen de semilla”, con dos niveles (Zacualpan, y Cieneguilla).

En el bioensayo se utilizó suelo natural recolectado en las poblaciones, tamizado con una malla de 1×1 cm de apertura, y sustrato formado con la mezcla de arena y corteza compostada en proporción 1:1 en volumen, esterilizado con vapor en una esterilizadora artesanal de acero inoxidable de 250 l. A este sustrato se le agregó, como fuente de inóculo, 250 ml de suelo recolectado de cada localidad por cada litro de sustrato, de acuerdo con el tratamiento correspondiente. A lo largo del estudio, el

término “origen del inóculo” se refiere a la combinación del sustrato esterilizado y la fuente de inóculo. El término ambiente “con inóculo” se refiere a la combinación de sustrato esterilizado con suelo natural sin esterilizar, mientras que el ambiente “sin inóculo” (utilizado como control o referencia para separar el efecto microbiológico del efecto del suelo mineral) hace referencia a aquel al que se le agregó la misma cantidad de sustrato después de una doble esterilización, en una olla de acero inoxidable con capacidad de 250 l, con vapor (125 °C) durante seis horas, con un periodo de reposo de 48 horas entre ambas.

Para evitar la contaminación del sustrato con las fuentes de inóculo durante el bioensayo, los cuatro “ambientes” generados por la combinación de los factores “presencia de inóculo” y “origen del inóculo” se aislaron por distancia y con una barrera física elaborada con una estructura de madera cubierta con plástico y malla tul. Dentro de cada “ambiente” se ubicaron los dos niveles de “origen de semilla” con las cinco repeticiones asignadas al azar en cada uno de los cinco bloques.

En el bioensayo se utilizaron contenedores individuales de plástico de 310 cm³ de capacidad, colocados en rejillas sobre una mesa en el vivero. Después de colocar el sustrato con su nivel de inóculo, se sembraron de tres a cuatro semillas por contenedor de la fuente de semilla correspondiente. La semilla utilizada fue obtenida de lotes conservados en el banco de germoplasma del Postgrado en Ciencias Forestales del COLPOS Montecillo y recolectados en años previos en cada localidad.

Caracterización de la comunidad micorrízica en poblaciones naturales y en bioensayo

Las muestras de suelo recolectadas de las poblaciones naturales se remojaron durante 24 h para disminuir los agregados, facilitar el tamizado (con una malla de 0.85 mm de abertura), y efectuar una recuperación eficiente de las raíces cortas. Las raíces se colocaron en cajas Petri con agua destilada y se observaron bajo microscopio estereoscópico (Olympus SZ40, Tokio, Japón) para identificar la presencia de puntas micorrizadas en el sistema radical. La metodología para el almacenamiento y conservación de las puntas micorrizadas en tubos Eppendorf en una solución alcohol-

agua en proporción 1:1, fue tomada y modificada de Agerer (1991), para fines de caracterización.

En el bioensayo se realizaron muestreos de raíces a los 4, 6, 8 y 12 meses a partir de la siembra. En cada ocasión se tomaron al azar tres plantas por unidad experimental (15 por tratamiento). En cada planta se extrajo el sistema radical del contenedor, se enjuagó para separar las partículas del sustrato adheridas y se extendió en un acetato. Las muestras se cubrieron con una toalla húmeda de papel y se almacenaron en una hielera en un cuarto frío (2-4 °C) y posteriormente se fotografiaron con una cámara digital (Iphone SE, California, EUA) a una resolución 326 ppi; se incluyó una escala de referencia. Una vez obtenida la foto, las muestras se volvieron a almacenar en cuarto frío, en un recipiente hermético de plástico, con una toalla húmeda de papel en el interior; dicha metodología es propuesta por los autores con la finalidad de conservar las raíces hasta su procesamiento.

Las raíces fueron analizadas con un microscopio estereoscópico (Olympus SZ40, Tokio, Japón) para identificar y separar las raíces colonizadas (rc) por hongos ectomicorrizógenos de las no colonizadas. Las puntas micorrizadas se cuantificaron, se separaron de la raíz y se almacenaron en tubos Eppendorf para su caracterización. Por otro lado, las imágenes obtenidas fueron analizadas con un procesador de imagen “Image-J” (Ferreira y Rasband, 2012), para cuantificar el número total de raíces cortas (trc). Con estos datos se calculó el porcentaje de raíces colonizadas utilizando la fórmula $rc (\%) = (rc/trc) \times 100$ (Rodríguez-Gutiérrez et al., 2019).

Las puntas de raíces micorrizadas (obtenidas de las muestras en las poblaciones naturales y en el bioensayo) se observaron en un microscopio estereoscópico (20×) (Leica, S8APO, Morrisville, EUA). Los morfotipos se clasificaron con base en características diagnósticas evaluadas de manera macroscópica y microscópica. En las primeras se incluyó color, ramificación, estructura externa adicional, presencia/ausencia de micelio extracelular, su color y/o textura, y partículas minerales. Los caracteres microscópicos incluyeron el tipo de hifa (evaluado a través de la extracción y montaje de micelio), la Red de Hartig en las células del córtex (en cortes transversales), y la morfología del manto (en cortes



longitudinales). Dicha caracterización morfoanatómica de morfotipos se basó en los criterios propuestos en la base de datos “Determination of Ectomicorrhizae” (DEEMY, 2022).

Dentro de los objetivos del trabajo, no se consideró la identificación molecular de los morfotipos; solo se atendió su caracterización morfoanatómica. Esta no siempre permite la identificación taxonómica, pero sí el poder distinguir diferenciación entre morfotipos en puntas ectomicorrizadas bajo el supuesto de tratarse de especies distintas.

Estimación de la diversidad y diferenciación de la comunidad ectomicorrízica

Con base en el número de morfotipos encontrados por sitio de muestreo en cada localidad, se elaboró una curva de rarefacción para conocer si el esfuerzo de muestreo fue suficiente para obtener una estimación de la riqueza estable y comparable entre localidades (Kraker-Castañeda y Cobar-Carranza, 2011). Los índices de diversidad y abundancia se estimaron a partir del conteo de los morfotipos en las muestras obtenidas de las poblaciones naturales, así como en cada una de las edades de muestreo en las plantas del bioensayo. Se determinó la diversidad α con base en el índice de diversidad de Shannon y el grado de diferenciación utilizando el índice de similitud de Bray-Curtis con el software PAST (Hammer et al., 2001). Se interpretó el grado de diferenciación entre las comunidades a partir de los valores de similitud: valores cercanos a 0 indican mayor diferenciación, mientras aquellos cercanos a 1 revelan menor diferenciación.

Análisis estadísticos

El porcentaje de plantas micorrizadas (pm) y de raíces colonizadas por planta en las diferentes edades de muestreo en el bioensayo se analizaron estadísticamente para evaluar el efecto de los factores en estudio y su interacción en la dinámica de micorrización de las plantas. En el análisis no se incluyeron las plantas del tratamiento “sin inóculo” debido a que en dicho tratamiento no se encontró una micorrización significativa (menos de 0.2% de plantas micorrizadas y 0.03% de raíces colonizadas), y solo se utilizó como “control” o medio de verificación para corroborar el funcionamiento de la inoculación. En el análisis de varianza se utilizó un modelo de medidas repetidas con el procedimiento MIXED en SAS® v. 9.0 (SAS Institute Inc., 2022) para la variable transformada

con la función ARSIN. En los casos en que se encontró un efecto significativo de un factor, se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey con un valor de $p=0.05$. Para determinar diferencias significativas en el índice de diversidad α se utilizó la prueba de t de Hutcheson (Soto-Gil et al., 2022).

Resultados

Diversidad y diferenciación de morfotipos de ECM en localidades naturales

Las curvas de rarefacción (Fig. 2) se comportaron de manera asintótica en las dos localidades, con una trayectoria más elevada en Zacualpan, pero con un fuerte traslape en sus intervalos de confianza. En total se identificaron 32 morfotipos de hongos ectomicorrízicos de ambas poblaciones naturales de *P. greggii* (Fig. S1). En Zacualpan se encontraron 23 morfotipos diferentes, mientras que en Cieneguilla fueron 17, ocho de ellos compartidos con la otra localidad.

La comunidad ECM presentó mayor diversidad en la población de Zacualpan que en Cieneguilla, con valores del índice de Shannon de 2.82 ± 0.01 y 1.71 ± 0.01 , respectivamente. Ambas localidades compartieron ocho morfotipos (25%), por lo que Zacualpan posee 15 morfotipos (46.9%) exclusivos y Cieneguilla nueve (28.1%). De acuerdo con lo anterior, el índice de similitud entre las poblaciones, estimado por el índice de Bray-Curtis, fue de 0.16, lo cual indica un amplio grado de diferenciación entre las comunidades de ECM de las dos poblaciones.

Los morfotipos encontrados mostraron diferencias en el tipo de manto (Fig. S2), el tipo de hifas (Fig. S3) y en la presencia de estructuras como micelio externo, rizomorfos y cordones miceliares. Con los cuatro morfotipos adicionales encontrados en las plantas del bioensayo, en total se registraron 36 morfotipos distintos, de los cuales solo cuatro se reconocieron taxonómicamente como *Tomentella* sp., *Rhizopogon* sp., *Cenococcum geophilum* Fr. y *Wilcoxina* sp. (Cuadro S1). El morfotipo con mayor abundancia relativa fue *Tomentella* sp. (M1), presente en más de 30% de las puntas de raíz micorrizadas, especialmente en la localidad de Cieneguilla (Fig. 3) y los de menor abundancia fueron *Wilcoxina* sp. (M31) y *Cenococcum geophilum* Fr. (M32), presentes en el 0.2% de las raíces muestreadas, de manera exclusiva en la localidad de Cieneguilla (Fig. 3).

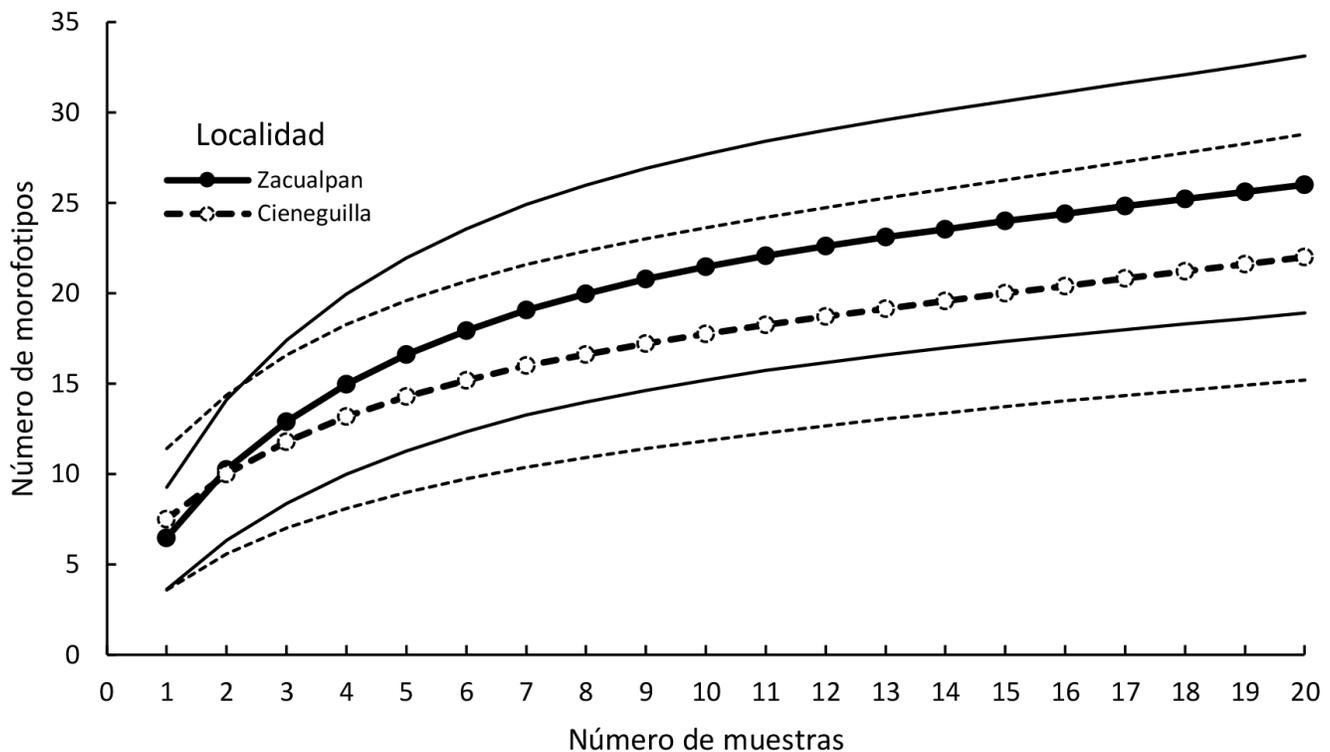


Figura 2: Curvas de rarefacción de los morfotipos recolectados en las poblaciones naturales de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López de Zacualpan, Veracruz y Cieneguilla, Hidalgo, México, con intervalos de confianza de 95% (líneas continuas para Zacualpan y líneas discontinuas para Cieneguilla).

Dinámica de micorrización y colonización de raíces en vivero

El porcentaje de plantas micorrizadas fue afectado ($p \leq 0.05$) por el origen de la semilla y del inóculo, pero no existió interacción significativa entre los dos factores. La edad de la planta también afectó el porcentaje de micorrización (Cuadro 2). Durante los primeros ocho meses, las plantas procedentes de Cieneguilla, y con inóculo de la localidad antes mencionada, mostraron un mayor porcentaje de micorrización que las plantas con inóculo de Zacualpan, aunque a los 12 meses de edad las plantas inoculadas con las dos fuentes de inóculo ECM alcanzaron 100% de plantas micorrizadas (Fig. 4A). Así mismo, las plantas de Cieneguilla presentaron mayor porcentaje de micorrización que las de Zacualpan hasta los ocho meses de edad, pero a los 12 meses se igualaron con 100% de plantas micorrizadas (Fig. 4B).

Por otro lado, se encontró un efecto significativo ($p \leq 0.05$) de la edad de la planta y de su interacción con

el origen de la comunidad ECM en el porcentaje de raíces colonizadas (Cuadro 2), lo cual implica que el origen de la comunidad ECM afectó la dinámica de colonización de las raíces durante el periodo de estudio. Sin embargo, no hubo un efecto significativo de la interacción comunidad ECM por procedencia de semilla. El inóculo procedente de Cieneguilla mostró una mayor velocidad de colonización de raíces que el de Zacualpan en los primeros ocho meses; sin embargo, a los 12 meses la velocidad de colonización del inóculo de Zacualpan superó al de Cieneguilla, con valores de 61.8% y 41.8% de raíces colonizadas, respectivamente (Fig. 5).

Diversidad y diferenciación de morfortipos en plantas del bioensayo

En las plantas del bioensayo se identificaron en total ocho morfortipos distintos, cuatro de los cuales (M1, M22, M24 y M32) estaban presentes en las comunidades ECM de las po-

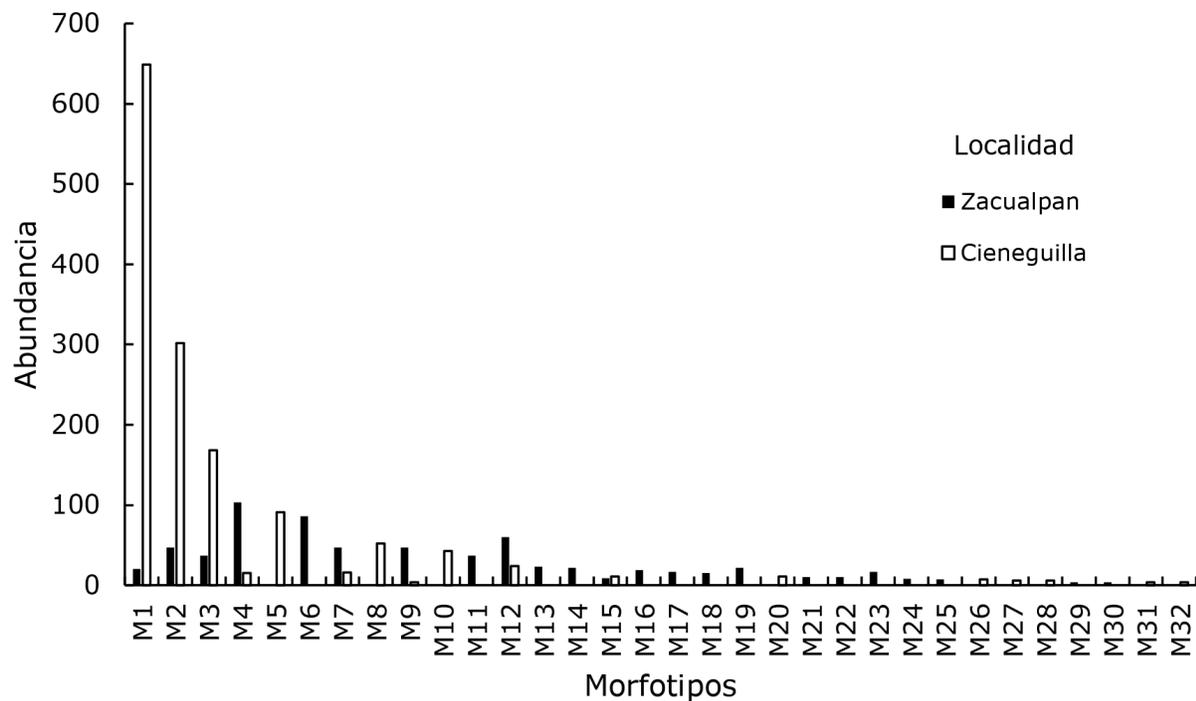


Figura 3: Abundancia de los morfotipos ectomicorrízicos (M) identificados en poblaciones naturales de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López de Zacualpan, Veracruz y Cieneguilla, Hidalgo, México.

Cuadro 2: Resultados del Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto del origen del inóculo (comunidad ectomicorrizógena (ECM)), procedencia de la semilla y edad de la planta en el porcentaje de plantas micorrizadas (pm) y raíces colonizadas (rc) de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López en el bioensayo en condiciones de vivero. GL=Grados de Libertad, Num=numerador; Den=denominador. Pr>F=Significancia estadística (valor de P).

Factor	GL Num	GL Den	Pr>F	
			pm	rc
Comunidad ECM	1	16	0.0002	0.2171
Procedencia semilla	1	16	0.0189	0.1044
ECM × Semilla	1	16	0.8347	0.8284
Edad planta	3	48	<0.0001	<0.0001
Edad × ECM	3	48	0.0020	<0.0001
Edad × Semilla	3	48	0.2973	0.4051
Edad × ECM × Semilla	3	48	0.1957	0.3350

blaciones naturales de *P. greggii* var. *australis*, mientras que los cuatro restantes fueron categorizados como nuevos, con los códigos M33-M36 (Fig. S1); el morfotipo M33 se identificó como *Rhizopogon* sp.

La presencia y abundancia de los morfotipos varió con la edad de la planta. A los cuatro y seis meses predominaron los morfotipos M32 (*Cenococcum geophilum*) y M22 en todas las combinaciones origen de inóculo-origen de semilla, pero a partir de los ocho meses fue más abundante el morfotipo M33 (*Rhizopogon* sp.) (Fig. 6). El morfotipo de *Tomentella* sp. (M1) fue más abundante en las plantas procedentes de Cieneguilla, mientras que el morfotipo M22 fue más común en las de Zacualpan, especialmente cuando se utilizó el inóculo de Cieneguilla. Los morfotipos restantes (M24, M32, M34, M35 y M36) tuvieron una frecuencia baja en todas las combinaciones origen de inóculo-origen de semilla a partir de los seis meses.

Debido a los cambios en la abundancia de morfotipos en las raíces colonizadas, la diversidad α se redujo con la edad en todos los ambientes de 0.83 a los ocho meses a 0.50 a los 12 meses (Cuadro 3). El efecto del origen del inóculo y de la semilla fue más notorio a los 12 meses, con mayor índice de diversidad asociado a la comunidad ECM de Cieneguilla (0.75 ± 0.01) que de Zacualpan (0.23 ± 0.01), al igual que en el caso del origen de la semilla (0.56 ± 0.01 vs. 0.46 ± 0.01). También se encontró un efecto significativo de la interacción sustrato-semilla (i.e., origen del inóculo por

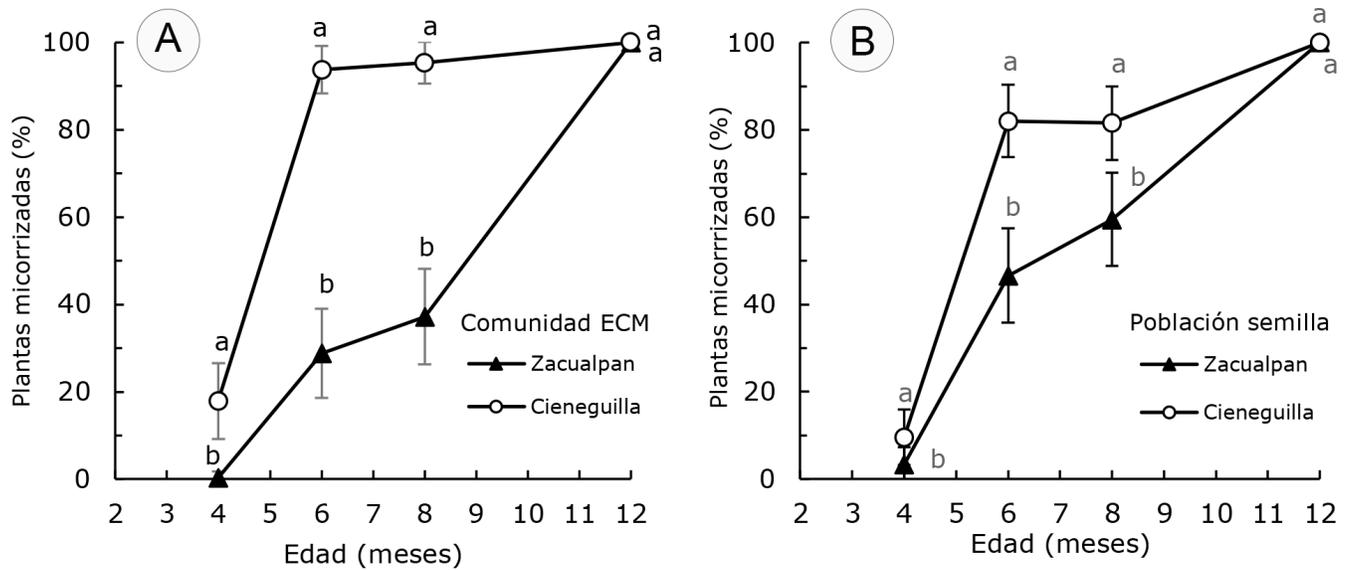


Figura 4: Dinámica del porcentaje de plantas ectomicorrizadas (ECM) de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López a diferentes edades por el efecto de (A) origen de la comunidad ECM y (B) la procedencia de la semilla. Los triángulos negros representan los valores promedios de Zacualpan y los círculos vacíos los de Cieneguilla, y las líneas verticales por encima y por debajo de cada uno de ellos corresponden al error estándar de la media; n=30 por edad en cada tratamiento. Letras distintas a una misma edad indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre orígenes de las comunidades ectomicorrízicas con base en la prueba de comparación de medias de Tukey.

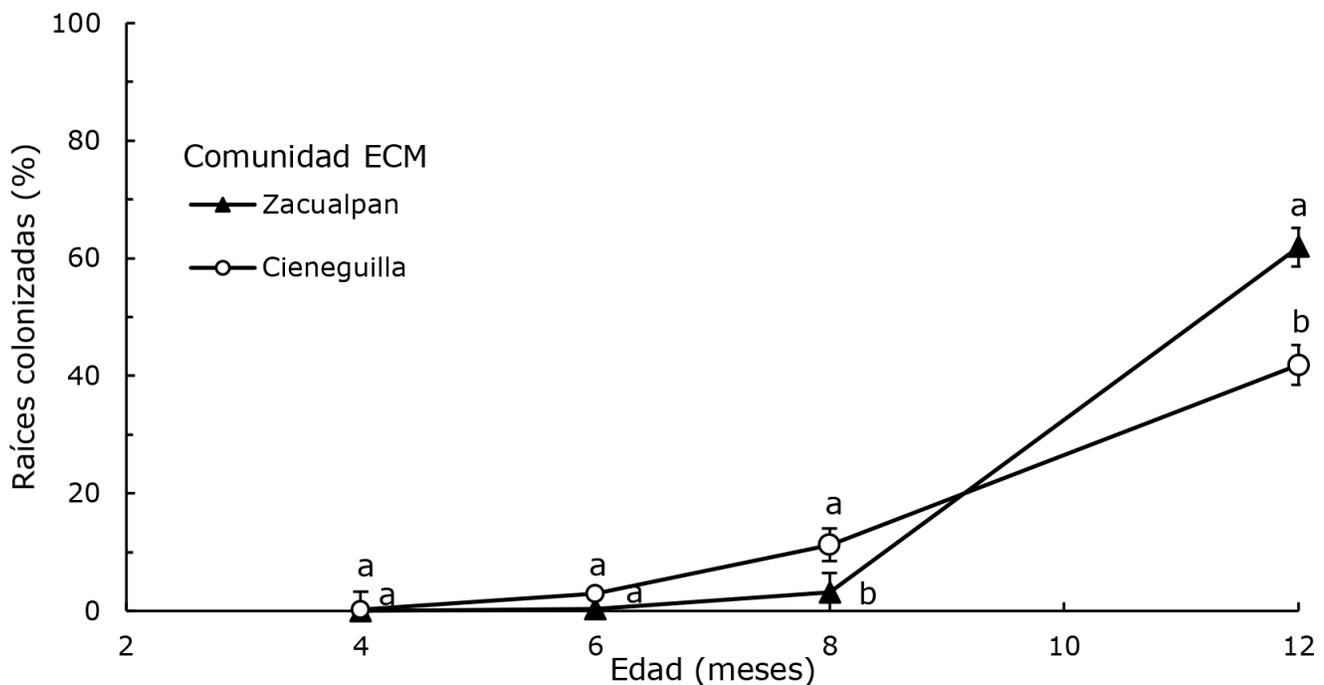


Figura 5: Porcentaje de raíces colonizadas en plantas de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López de diferentes edades crecidas en inóculos ECM con comunidades alopatricas o simpátricas recolectados en dos poblaciones naturales. Los triángulos negros representan los valores promedios de Zacualpan y los círculos vacíos los de Cieneguilla, y las líneas verticales por encima y por debajo de cada símbolo corresponden al error estándar de la media; n=30 por edad en cada tratamiento. Letras distintas a una misma edad indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre orígenes de las comunidades ectomicorrízicas con base en la prueba de comparación de medias de Tukey.



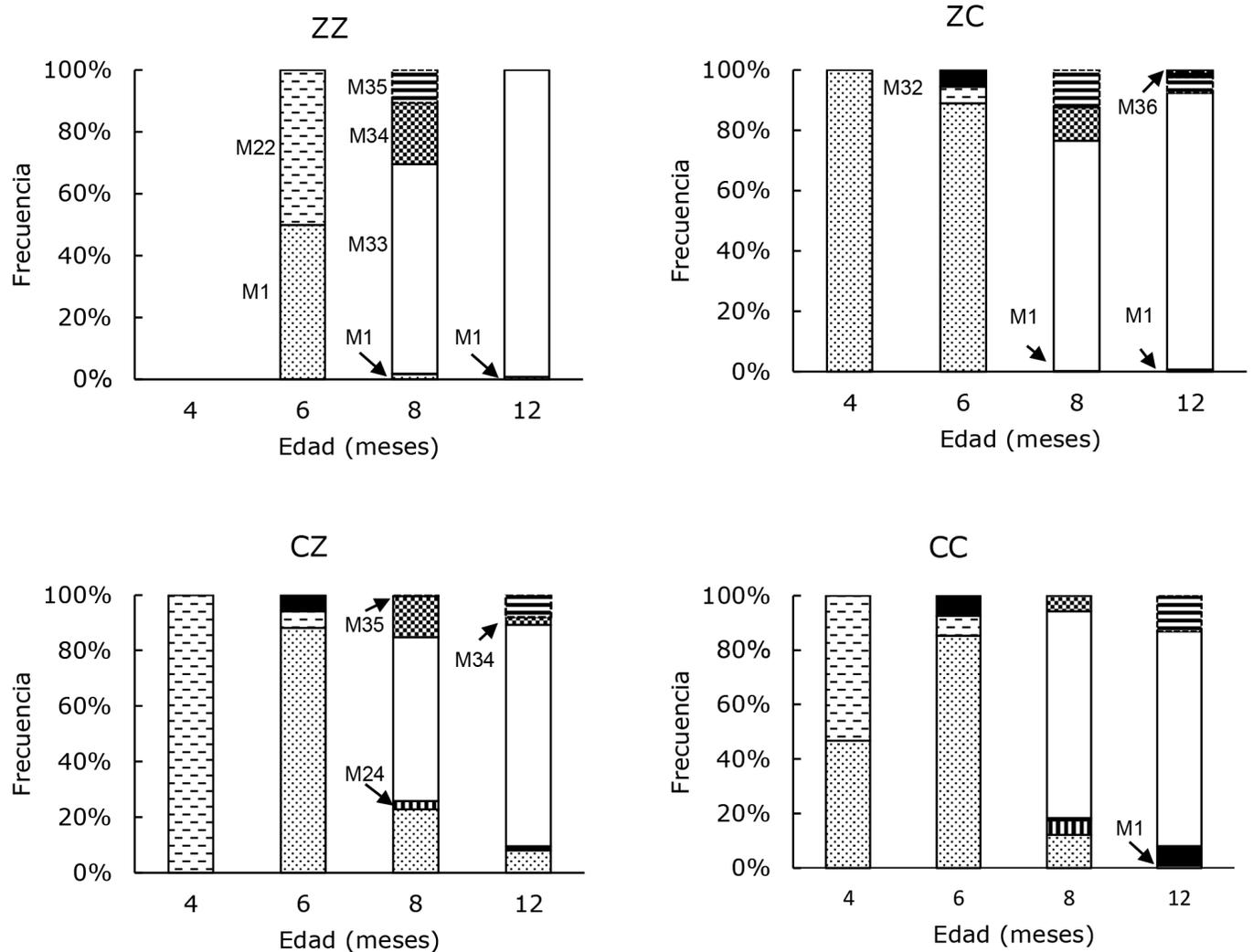


Figura 6: Dinámica de aparición de los morfotipos ECM en plantas del bioensayo de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López en asociaciones inóculo-semilla simpátricas (ZZ y CC) y alopátricas (ZC y CZ), Z: Zacualpan; C: Cieneguilla.

origen de la semilla) en la diversidad de morfotipos en las raíces colonizadas, con una mayor diversidad en las asociaciones simpátricas que en las alopátricas a los ocho meses (0.92 ± 0.01 vs. 0.72 ± 0.02), pero a la inversa a los 12 meses (0.44 ± 0.01 vs. 0.59 ± 0.01) (Cuadro 3).

La diferenciación de las comunidades ECM en las raíces colonizadas también se redujo con la edad de la planta (Cuadro 4). En relación con el origen del inóculo (comunidad ECM), el índice de similitud aumentó de 0.69 a los ocho meses a 0.83 a los 12 meses y en relación con el origen de la semilla, de 0.50 a 0.91. Algo similar ocurrió al comparar las asociaciones simpátricas y alopátricas, en donde el índice

de similitud aumentó de 0.49 a 0.94 entre los ocho y 12 meses de edad de las plantas.

Discusión

Diversidad y diferenciación de la comunidad de ECM en poblaciones naturales

El comportamiento asintótico de las curvas de rarefacción y el traslape de sus intervalos de confianza indican que el esfuerzo de muestreo fue suficiente (Ding et al., 2011; Huang et al., 2012) en las dos poblaciones y que no existen diferencias significativas entre las localidades (Reverchon et al., 2012) en el número estimado de morfotipos. El número

Cuadro 3: Índice de diversidad de Shannon de los morfotipos encontrados en las raíces colonizadas a los ocho y 12 meses de edad en plantas de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López (bioensayo en vivero) en relación con el origen del inóculo (comunidad ectomicorrizógena (ECM)), la procedencia de la semilla (origen semilla) y tipo de asociación inóculo/semilla (simpátrica - alopátrica). Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ECM, origen de semilla o tipo de asociación a una misma edad, con base en la prueba de t de Hutcheson. *Z=Zacualpan; C=Cieneguilla.

Edad (meses)	Comunidad ECM*		Origen semilla*		Tipo de asociación	
	Z	C	Z	C	Simpátrica	Alopátrica
8	0.82±0.01a	0.80±0.01a	0.88±0.02a	0.88±0.01a	0.92±0.01a	0.72±0.02b
12	0.23±0.01b	0.75±0.01a	0.46±0.01b	0.56±0.01a	0.44±0.01b	0.59±0.01a

Cuadro 4: Índices de similitud de Bray-Curtis de la comunidad ECM estimados entre los orígenes del inóculo (origen ECM), de la semilla y tipo de asociación (simpátrica (Sim) y alopátrica (Alo)) a los ocho y 12 meses de edad en las plantas de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López del bioensayo en vivero. *Z=Zacualpan; C=Cieneguilla.

Edad (meses)	Índice de similitud		
	Origen ECM*	Origen semilla*	Tipo de asociación
	Z vs. C	Z vs. C	Sim vs. Alo
8	0.69	0.50	0.49
12	0.83	0.91	0.94

de morfotipos y los índices de diversidad encontrados en estas poblaciones naturales de *Pinus greggii* var. *australis* son diferentes a los registrados en poblaciones naturales de otras especies de *Pinus* L., como *P. patula* Schiede ex Schldl. & Cham. (Baeza-Guzmán et al., 2021), *P. montezumae* Lamb. (Reverchon et al., 2012) y *P. massoniana* Antonio Turra (Huang et al., 2012), lo cual reafirma la importancia del factor “ambiente” (p. ej., las condiciones bióticas, incluyendo el hospedero, y abióticas del sitio), en la expresión y aptitud de los morfotipos de ectomicorrizas (Hoeksema et al., 2012; Craig et al., 2016; Rúa et al., 2018).

Sin embargo, se observaron diferencias significativas en el índice de diversidad de morfotipos de ECM en las dos poblaciones naturales, con una mayor diversidad en la población de Zacualpan; además, se encontró un elevado grado de diferenciación entre ellas, con 75% de morfotipos exclusivos en una u otra población, resultado posiblemente de la divergencia ambiental y aislamiento geográfico de estas poblaciones de *P. greggii* var. *australis*, como

se ha demostrado en *P. radiata* y en otras especies de coníferas (Hoeksema et al., 2012).

Las diferencias climáticas como precipitación y temperatura (Ishida et al., 2007; Craig et al., 2016; Rosinger et al., 2018), tipo y estado nutricional de suelo (Ishida et al., 2007), pH (Goldmann et al., 2015), humedad (Rosinger et al., 2018), relación carbono/nitrógeno (C/N) (Goldmann et al., 2015), calidad y profundidad de hojarasca (Ishida et al., 2007; Craig et al., 2016), y los niveles de luz ambiental (Craig et al., 2016), pueden influir en la diversidad y diferenciación de la estructura de comunidades de ECM de las poblaciones de *P. greggii*, como lo indican los resultados de estudios previos en ésta y otras especies de coníferas (Hoeksema et al., 2012; Rosinger et al., 2018; Casique-Valdés et al., 2020). En el estudio de Casique-Valdés et al. (2020), por ejemplo, se encontraron diferencias en la estructura y composición de la comunidad de ECM de *P. greggii* var. *greggii* con respecto a otros bosques de coníferas neotropicales; dichas diferencias se atribuyen a su posible adaptación a ambientes áridos. Al parecer, las condiciones de mayor precipitación, humedad y fertilidad del suelo en la localidad de Zacualpan conllevan a una mayor diversidad de morfotipos (Castaño et al., 2018), lo cual confiere ventaja en bosques maduros, donde existen condiciones competitivas (Ishida et al., 2007). Por otro lado, la menor diversidad de morfotipos en un sitio como Cieneguilla, con condiciones ambientales más restrictivas, especialmente en términos de humedad, temperatura y calidad del suelo, pudiera estar reflejando condiciones de estrés y una mayor presión de selección en la comunidad ECM, que conduce a la predominancia de un menor número de morfotipos.

Los diferentes factores y presiones de selección en las dos localidades también ayudan a explicar la diferencia-

ción encontrada en las dos comunidades de ECM naturales, mayor a la encontrada por Reverchon et al. (2012) en poblaciones naturales de *Pinus montezumae*. En este caso, la diferenciación de las comunidades ECM pudiera estar asociada a una respuesta adaptativa de las especies de hongos a las condiciones del sitio y/o características del hospedero (Ding et al., 2011; Casique-Valdés et al., 2018).

Colonización de raíces por la comunidad de ECM en plantas de vivero

La mayor velocidad de colonización de raíces y micorrización de plantas por efecto de la comunidad de ECM y procedencia de la semilla de Cieneguilla en los primeros ocho meses del bioensayo refleja diferencias adaptativas de la comunidad de ECM, asociadas con las condiciones ambientales de las localidades. Es común que en sitios con ambientes limitantes las especies desarrollen como mecanismos de supervivencia estrategias de tipo ruderal para colonizar el área (Ding et al., 2011; Lofgren et al., 2018). La mayor velocidad de colonización de la comunidad de ECM de Cieneguilla se asocia con la capacidad de invasión que poseen algunas especies para colonizar plántulas a partir de hifas (Peay et al., 2010; Ding et al., 2011). Este es uno de los aspectos relevantes del estudio, ya que a diferencia de otros ensayos con ectomicorrizas en vivero en los que se estima el porcentaje de colonización en una sola evaluación (Martínez-Reyes et al., 2012; Barroetaveña et al., 2016; Rodríguez-Gutiérrez et al., 2019), este trabajo aporta información sobre la dinámica de colonización y diferencias adaptativas de las especies presentes en diferentes comunidades ectomicorrízicas asociadas a *Pinus greggii*.

Sin embargo, la velocidad de colonización y micorrización de la comunidad de ECM de Zacualpan aumentó rápidamente después de los ocho meses. Este comportamiento se asocia con el aumento en biomasa del hospedero, lo cual le permite tener una mayor inversión de carbono para establecer simbiosis con especies fúngicas de exploración larga, que son características de sitios húmedos como Zacualpan (Castaño et al., 2018). Esas especies pueden estar presentes dentro del banco de inóculo de ECM en forma de estructuras de resistencia como esporas, micelio, o esclerocios, y no necesariamente como morfotipos.

Diversidad y diferenciación de la comunidad de ECM en plantas de vivero

Generalmente, el ambiente abiótico suele ser un factor que influye en la interacción huésped (GHu) × hospedero (GHO), situación que se manifestó en la diversidad y diferenciación de las comunidades de ECM en las poblaciones naturales muestreadas. Sin embargo, las plantas en el bioensayo fueron sometidas a las mismas condiciones ambientales; en particular de temperatura y disponibilidad de agua en el suelo. Es posible, por lo tanto, que estas condiciones ambientales similares moldearan la interacción fitobionte-micobionte (Ishida, et al., 2007) en el bioensayo, modificando el efecto del origen del huésped y hospedero en la diversidad y diferenciación de la comunidad de ECM detectada en las plantas de *Pinus greggii* en el vivero.

Durante los primeros meses del bioensayo se observaron principalmente morfotipos registrados en poblaciones naturales, lo cual se ha documentado en otros estudios (Huang et al., 2012; Reverchon et al., 2012; Baeza-Guzmán et al., 2021). Eso indica un efecto de la presencia y frecuencia de especies ectomicorrizógenas, en forma de hifas en el inóculo, que fácilmente se propagan y colonizan nuevas raíces. La alta frecuencia de *Cenococcum geophilum* (M32) y del morfotipo de una especie no identificada (M22) en todas las combinaciones inóculo-semilla refleja la naturaleza de estos morfotipos como especies de estadio temprano por su capacidad de colonizar rápidamente al hospedero (Bahram et al., 2013; Almaraz-Llamas et al., 2019). La presencia de nuevos morfotipos de estadio tardío a partir de los ocho meses, como *Rhizopogon* sp. (M33), marca una etapa de surgimiento de especies provenientes de la comunidad de propágulos resistentes (CPR) (Kjøller y Bruns, 2003). Estos morfotipos no fueron detectados en las muestras de raíces micorrizadas recolectadas en las poblaciones naturales, debido a que se encontraban formando parte del banco de inóculo como estructuras de resistencia como ha sido reportado en estudios previos (Rusca et al., 2006; Bahram et al., 2013).

La mayor abundancia de *Tomentella* sp. (M1) en plantas de Cieneguilla se relaciona con la capacidad de la especie a ser pionera o de estadio temprano, en sitios limitantes como el de esa localidad (Casique-Valdés et al.,



2018). Por otro lado, la mayor abundancia de un morfotipo de una especie no identificada (M22) en plantas de Zacualpan pudiera ser una estrategia del hospedero para establecer simbiosis micorrízica sin invertir grandes cantidades de carbono. A pesar de que se desconoce la identidad de M22, su color oscuro asociado a una elevada concentración de melanina (Almaraz-Llamas et al., 2019) se relaciona con una menor necesidad de C (Casique-Valdés et al., 2018; Castaño et al., 2018). La dinámica de reemplazo de los morfotipos de *Tomentella* sp. (M1) y de la especie no identificada (M22), presentes en los primeros meses de crecimiento, por los morfotipos de *Cenococum geophilum* (M32) y de especies no identificadas M24, M34, M35 y M36, a partir de los seis meses, es consecuencia de la etapa de sucesión de las especies fúngicas (Ishida et al., 2007; Castaño et al., 2018), posiblemente por el desarrollo de la planta (Dejene et al., 2017). Dicho proceso se ha atribuido a un cambio en la disponibilidad de N y P (Baeza-Guzmán et al., 2021) o a la modificación en la relación C/N (Castaño et al., 2018).

Los índices de diversidad en plantas de vivero de *P. greggii* var. *australis* son similares a los registrados en estudios previos en otras especies de pino, como en *P. patula* (Baeza-Guzmán et al., 2021) y *P. mugo* Turra (Huang et al., 2012). La mayor diversidad asociada al origen Cieneguilla, al comparar el origen del huésped (ECM) y del hospedero a los 12 meses, pudiera deberse a una mayor plasticidad que poseen algunas especies fúngicas y vegetales por establecerse naturalmente en sitios restrictivos (Almaraz-Llamas et al., 2019; Reyes-Matamoros y Martínez-Moreno, 2001).

A los ocho meses las asociaciones simpátricas huésped/hospedero presentaron mayor diversidad de ECM que las alopátricas, con una diferenciación moderada (índice de similitud de 0.49). Estos datos proporcionan indicios de una predisposición genética a asociarse con los huéspedes de su ambiente nativo (Huang et al., 2012), que refleja la presencia de procesos coevolutivos que pueden conducir a mecanismos de adaptación local (Rúa et al., 2018; Rodríguez-Gutiérrez et al., 2019). Sin embargo, la reducción de la diversidad y diferenciación a los 12 meses permite observar un efecto del ambiente del bioensayo en la interacción huésped/hospedero (GHue × GHo × A) en relación con el origen de ambos y su relación simpátrica o alopátrica.

Las condiciones del bioensayo permitieron observar dos etapas en la dinámica de la asociación micorrízica con cambios en la diversidad y diferenciación de las comunidades de ECM. En la primera etapa se manifestó un cierto grado de adaptación del huésped al hospedero local, con una mayor diversidad promedio (indicios de mayor afinidad) en las asociaciones simpátricas que alopátricas. En la segunda etapa, después de los ocho meses, se observó un proceso de aclimatación y homogeneización al ambiente de crecimiento en el bioensayo, que redujo la diversidad global y la diferenciación de las comunidades de ECM en las asociaciones simpátricas y alopátricas. Por lo tanto, al paso del tiempo las comunidades de ECM podrían tener la capacidad de expresarse como morfotipos, como consecuencia de modificaciones ambientales. Sin embargo, las condiciones adversas que propicia el cambio climático podrían reducir la diversidad de ECM y posiblemente especies fúngicas de importancia ecológica para los bosques podrían reducir su frecuencia e incluso desaparecer.

Conclusiones

Los resultados del estudio mostraron evidencias de adaptación de la comunidad de ECM a las poblaciones naturales de *P. greggii* var. *australis*. Las comunidades ectomicorrizas presentaron un alto grado de diferenciación entre ellas y una mayor diversidad de ECM en la localidad con condiciones ambientales más favorables de humedad, temperatura y fertilidad del suelo, lo que refleja el efecto de diferentes presiones de selección en ellas. La dinámica de colonización de raíces y micorrización de las plantas en vivero fue afectada por el origen del huésped (hongo) y del hospedero (planta), con una mayor tasa de micorrización asociada al origen con ambiente más restrictivo.

En los primeros meses se encontró una alta frecuencia de morfotipos de estadio temprano de *Tomentella* sp., *C. geophilum* y otro taxa no identificado, pero al aumentar la biomasa del hospedero aparecieron morfotipos de estadio tardío como los de *Rhizopogon* sp. Durante los primeros ocho meses de crecimiento de las plantas se presentaron evidencias de la adaptación del huésped al hospedero, con una mayor afinidad local entre ellos, reflejada en una mayor diversidad de ECM en las asociaciones simpátricas que en las alopátricas y un moderado grado de diferenciación



de la comunidad ECM en ellas. Sin embargo, con el paso del tiempo, las condiciones similares de crecimiento en el bioensayo redujeron la diversidad y diferenciación de las comunidades ECM en las plantas. A nivel ecosistema, esto indica posibilidades de ajuste ante el cambio climático, pero también la posible ausencia de especies fúngicas importantes en los ecosistemas forestales.

Contribución de autores

GRGT y JVVH concibieron el concepto, el diseño del proyecto y las preguntas de investigación. JLU y JPM enriquecieron el proyecto desde sus áreas de estudio y hubo un seguimiento continuo del trabajo. GRGT escribió el manuscrito, JVVH revisó y enriqueció el contenido. Todos los autores contribuyeron en la revisión y aprobación del manuscrito final.

Financiamiento

El trabajo experimental en campo, vivero y laboratorio se realizó con financiamiento exclusivo del Colegio de Postgraduados. Sin embargo, la primera autora recibió apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia, Humanidades y Tecnologías para el desarrollo de sus estudios de maestría en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Agradecimientos

Se agradece a Tomás Guzmán Pérez y su equipo de trabajo, por las facilidades en el acceso a la localidad Carrizal Chico en Zacualpan, Veracruz, México para la recolecta de muestras.

Literatura citada

Agerer, R. 1991. Characterization of ectomycorrhiza. *Methods in Microbiology* 23: 25-73. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70172-7](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70172-7)

Almaraz-Llamas, A., J. Pérez-Moreno, M. Torres-Aquino, M. G. Carcaño-Montiel e I. Hernández-Ríos. 2019. *Cenococcum geophilum* y su asociación con *Pinus maximartinezii* árbol nativo de México en peligro de extinción. *Scientia Fungorum* 49: 1-8. DOI: <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1222>

Ángeles-Argáiz, R. y R. Garibay-Orijel. 2019. La evolución de la simbiosis ectomicorrízica desde la perspectiva genómica. *Scientia Fungorum* 49: 1-16. DOI: <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1247>

Baeza-Guzmán, Y., J. Dorantes-López, R. Medel-Ortiz y D. Trejo-Aguilar. 2021. Morfotipos de ectomicorrizas en una cronosecuencia de rodales de *Pinus patula* Schiede ex Schldt. & Cham. en la zona este de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 12(66): 141-154. DOI: <https://doi.org/10.29298/rmcf.v12i66.819>

Bahram, M., U. Kõljalg, P. Kohout, S. Mirshahvaladi y L. Tedersoo. 2013. Ectomycorrhizal fungi of exotic pine plantations in relation to native host trees in Iran: evidence of host range expansion by local symbionts to distantly related host taxa. *Mycorrhiza* 23(1): 11-19. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-012-0445-z>

Barroetaveña, C., V. N. Bassani, J. I. Monges y M. Rajchenberg. 2016. Field performance of *Pinus ponderosa* seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi planted in steppe-grasslands of Andean Patagonia, Argentina. *Bosque (Valdivia)* 37(2): 307-316. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-92002016000200009>

Bennett, A. E. y A. T. Classen. 2020. Climate change influences mycorrhizal fungal-plant interactions, but conclusions are limited by geographical study bias. *Ecology* 101(4): 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1002/ecy.2978>

Casique-Valdés, R., R. Mendoza-Villarreal, F. Galindo-García, S. González-Morales y S. Sánchez-Peña. 2018. Improved parameters of *Pinus greggii* seedling growth and health after inoculation with ectomycorrhizal fungi. *Southern Forests* 81(1): 23-30. DOI: <https://doi.org/10.2989/20702620.2018.1474415>

Casique-Valdés, R., F. Galindo-García, L. Tedersoo, S. Anslan, E. H. Cornejo-Oviedo y S. R. Sánchez-Peña. 2020. Profiling the community structure of ectomycorrhizal fungi at endemic pine (*Pinus greggii*) stands of northeastern Mexico. *Southern Forest* 82(3): 292-302. DOI: <https://doi.org/10.2989/20702620.2020.1733761>

Castaño, C., B. D. Lindahl, J. G. Alday, A. Hagenbo, J. Martínez de Aragón, J. Parladé, J. Pera y J. A. Bonet. 2018. Soil microclimate changes affect soil fungal communities in a Mediterranean pine forest. *New Phytologist* 220(4): 1211-1221. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.15205>

Craig, A. J., S. Woods y J. D. Hoeksema. 2016. Influences of host plant identity and disturbance on spatial structure and community composition of ectomycorrhizal fungi in a northern Mississippi uplands ecosystem. *Fungal*



- Ecology 24(Part A): 7-14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.08.007>
- Dejene, T., J. A. Oria-de-Rueda y P. Martín-Pinto. 2017. Fungal diversity and succession following stand development in *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. plantations in Ethiopia. *Forest Ecology and Management* 395: 9-18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.03.032>
- DEEMY. 2022. An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. [https:// www.deemy.de](https://www.deemy.de) (consultado enero de 2021).
- Ding, Q., Y. Liang, P. Legendre, X. He, K. Pei, X. Du y K. Ma. 2011. Diversity and composition of ectomycorrhizal community on seedling roots: the role of host preference and soil origin. *Mycorrhiza* 21(8): 669-680. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-011-0374-2>
- Downie, J., J. Silvertown, S. Cavers y R. Ennos. 2020. Heritable genetic variation but no local adaptation in a pine-ectomycorrhizal interaction. *Mycorrhiza* 30(2-3): 185-195. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00941-3>
- Feijen, F. A. A., R. A Vos, J. Nuytinck y V. S. F. T Merckx. 2018. Evolutionary dynamics of mycorrhizal symbiosis in land plant diversification. *Scientific Reports* 8: 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28920-x>
- Ferreira, T. y W. Rasband. 2012. Image J: user guide. The National Institute of Mental Health. Bethesda, U.S.A. <https://imagej.net/software/imagej/>
- Gandon, S. y Y. Michalakis. 2002. Local adaptation, evolutionary potential and host-parasite coevolution: interactions between migration, mutation, population size and generation time. *Journal of Evolutionary Biology* 15(3): 451-462. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2002.00402.x>
- Goldmann, K., I. Schöning, F. Buscot y T. Wubet. 2015. Forest management type influences diversity and community composition of soil fungi across temperate forest ecosystems. *Frontiers in Microbiology* 6: 1-11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01300>
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper y P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9.
- Hereford, J. 2009. A quantitative survey of local adaptation and fitness trade-offs. *The American Naturalist* 173(5): 579-588. DOI: <https://doi.org/10.1086/597611>
- Hernández-Martínez, J., J. López-Upton, J. J. Vargas-Hernández y J. Jasso Mata. 2007. Zonas semilleras de *Pinus greggii* var. *australis* en Hidalgo, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30(3): 241-249.
- Hoeksema, J. D. y S. E. Forde. 2013. A meta-analysis of factors affecting local adaptation between interacting species. *The American Naturalist* 171(3): 275-290. DOI: <https://doi.org/10.1086/527496>
- Hoeksema, J. D., B. J. Piculell y J. N. Thompson. 2009. Within-population genetic variability in mycorrhizal interactions. *Communicative and Integrative Biology* 2(2): 110-112. DOI: <https://doi.org/10.4161/cib.7714>
- Hoeksema, J. D., J. J. Vargas-Hernández, D. L. Rogers, L. L. Mendoza y J. N. Thompson. 2012. Geographic divergence in a species-rich symbiosis: interactions between Monterey pines and ectomycorrhizal fungi. *Ecology* 93(10): 2274-2285. DOI: <https://doi.org/10.1890/11-1715.1>
- Huang, J., K. Nara, C. Lian, K. Zong, K. Peng, S. Xue y Z. Shen. 2012. Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (*Pinus massoniana* Lamb.) in Pb-Zn mine sites of central south China. *Mycorrhiza* 22(8): 589-602. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-012-0436-0>
- Ishida, T. A., K. Nara y T. Hogetsu. 2007. Host effects on ectomycorrhizal fungal communities insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. *New Phytologist* 174: 430-440. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02016.x>
- Kjøller, R. y T. D. Bruns. 2003. *Rhizopogon* spore bank communities within and among California pine forests. *Mycology* 95(4): 603-613. DOI: <https://doi.org/10.1080/15572536.2004.11833064>
- Kraker-Castañeda, C. y A. J. Cobar-Carranza. 2011. Uso de rarefacción para comparación de la riqueza de especies: el caso de las aves de sotobosque en la zona de influencia del Parque Nacional Laguna Lachúa, Guatemala. *Naturaleza y Desarrollo* 9(1): 60-70.
- Lofgren, L., N. H. Nguyen y P. G. Kennedy. 2018. Ectomycorrhizal host specificity in a changing world: can legacy effects explain anomalous current associations? *New Phytologist* 220(4): 1273-1284. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.15008>
- Lopez-Upton, J. y J. K. Donahue. 1995. Seed production of *Pinus greggii* Engelm. in natural stands in Mexico. *Tree Planters' Notes* 46(3): 86-92.



- López-Upton, J., C. Ramírez-Herrera, O. Plascencia-Escalante y J. Jasso-Mata. 2004. Variation in growth of different populations from the two varieties of *Pinus greggii*. *Agrociencia* 38(4): 457-464.
- Martínez-Reyes, M., J. Pérez-Moreno, L. Villarreal-Ruiz, R. Ferrera-Cerrato, B. Xoconostle-Cázares, J. J. Vargas-Hernández y M. Honrubia-García. 2012. Crecimiento y contenido nutrimental de *Pinus greggii* Engelm. inoculado con el hongo comestible ectomicorrízico *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Qué. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 18(2): 183-192. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2010.11.112>
- Méndez-Neri, M., J. Pérez-Moreno, R. Quintero-Lizaola, E. Hernández-Acosta y A. Lara-Herrera. 2011. Crecimiento y contenido nutrimental de *Pinus greggii* inoculado con tres hongos comestibles ectomicorrízicos. *Terra Latinoamericana* 29: 73-81.
- Parraguirre-Lezama, C., J. J. Vargas-Hernández, P. Ramírez-Vallejo, H. S. Azpíroz-Rivero y J. Jasso-Mata. 2002. Estructura de la diversidad genética en poblaciones naturales de *Pinus greggii* Engelm. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(3): 279-287.
- Peay, K. G., P. G. Kennedy y T. D. Bruns. 2010. Rethinking ectomycorrhizal succession: are root density and hyphal exploration types drivers of spatial and temporal zonation?. *Fungal Ecology* 4(3): 233-240. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2010.09.010>
- Pérez-Moreno, J. y D. J. Read. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia* 29(5): 239-247.
- Quintero-Corrales, C., R. Ángeles-Argáiz, J. P. Jaramillo-Correa, D. Piñero, R. Garibay-Orijel y A. Mastretta-Yanes. 2020. Allopatric instead of parapatric divergence in an ectomycorrhizal fungus (*Laccaria trichodermophora*) in tropical sky-islands. *Fungal Ecology* 47: 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.100966>
- Reverchon, F., M. del Pilar Ortega-Larrocea, G. Bonilla-Rosso y J. Pérez-Moreno. 2012. Structure and species composition of ectomycorrhizal fungal communities colonizing seedlings and adult trees of *Pinus montezumae* in Mexican neotropical forests. *FEMS Microbiology Ecology* 80(2): 479-487. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01314.x>
- Reyes-Matamoros, J. M. y D. Martínez-Moreno. 2001. La plasticidad de las plantas. *Elementos* 41(17): 39-43.
- Rodríguez-Gutiérrez, I., D. Ramírez-Martínez, R. Garibay-Orijel, V. Jacob-Cervantes, J. Pérez-Moreno, M. Del Pilar Ortega-Larrocea y E. Arellano-Torres. 2019. Sympatric species develop more efficient ectomycorrhizae in the *Pinus-Laccaria* symbiosis. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 90: 1-12. DOI: <https://doi.org/10.22201/IB.20078706E.2019.90.2868>
- Rosinger, C., H. Sandén, B. Matthews, M. Mayer y D. L. Godbold. 2018. Patterns in ectomycorrhizal diversity, community composition, and exploration types in European beech, pine, and spruce forests. *Forests* 9(8): 1-16. DOI: <https://doi.org/10.3390/f9080445>
- Rúa, M. A., L. J. Lamit, C. Gehring, P. M. Antunes, J. D. Hoeksema, C. Zabinski, J. Karst, C. Burns y M. J. Woods. 2018. Accounting for local adaptation in ectomycorrhizas: a call to track geographical origin of plants, fungi, and soils in experiments. *Mycorrhiza* 28: 187-195. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0811-y>
- Rusca, T. A., P. G. Kennedy y T. D. Bruns. 2006. The effect of different pine hosts on the sampling of *Rhizopogon* spore banks in five Eastern Sierra Nevada forests. *New Phytologist* 170(3): 551-560. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01689.x>
- Salcido Ruiz, S., J. Á. Prieto-Ruiz, J. L. García-Rodríguez, E. Santana-Aispuro y J. A. Chávez-Simental. 2021. *Pinus greggii* Engelm.: Respuesta a la inoculación micorrízica controlada y a la fertilización en vivero. *Agrociencia* 55(3): 273-290.
- SAS Institute Inc. 2022. The SAS System 9.0. SAS Institute, Cary, NC, USA. https://www.sas.com/es_mx/learn/academic-programs/software.html (consultado julio, 2021).
- Smith, S. E. y D. J. Read. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. Londres, UK. 192 pp.
- Soto-Gil, A. L., A. Velázquez-Martínez, J. Pérez-Moreno, A. M. Fierros-González y M. Martínez-Reyes. 2022. Morfotipos ectomicorrízicos en retención estructural variable de *Pinus patula* Schltdl et Cham. *Madera y Bosques* 28(2): 1-14. DOI: <https://doi.org/10.21829/myb.2022.2822388>
- Tedersoo, L., M. Bahram y M. Zobel. 2020. How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science* 367(6480): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aba1223>



Cuadro S1: Caracterización morfo-anatómica de los morfotipos identificados en poblaciones naturales de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López y plantas del bioensayo en vivero. El símbolo * indica los morfotipos encontrados exclusivamente en las plantas del bioensayo en vivero, la letra “A”= Ausente, “P”=presente, “Nd”=no detectada, y “No”=no observada. Los ejemplares se encuentran resguardados en el acervo micológico del Laboratorio de Micología, en el Centro de Investigación en Recursos Bióticos (CIRB) de la Facultad de Ciencias, perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx). Para solicitar acceso al acervo, comunicarse con la Dra. Cristina Burrola Aguilar al correo: cba@uaemex.mx o con la M. en C.F. Gabriela Rodríguez Gómez Tagle: gomeztaglerg@outlook.es

Morfotipo	Color	Ramificación	Forma de la punta	Estructura externa adicional	Micelio externo			Partículas minerales	Tipo de hifas	Manto	Red de Hartig (capas)	Clave
					Presencia/Ausencia	Color	Textura					
<i>Tomentella</i> sp. (M1)	Negro	Dicotómica	Recta cilíndrica	Nd	P	Blanco	Lanosa	No	Con fíbula	Pseudoparenquimatoso (tipo M)	2	AMCIRB_ ECM_0050
M2	Negro	Dicotómica	Recta inflada	Nd	P	Amarillo	Lanosa	P	Con fíbula	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	3	AMCIRB_ ECM_0051
M3	Parduzco	Monopodial pinnada	Sinuosa cilíndrica	Nd	A	-	-	No	Con fíbula	Plectenquimatoso	2	AMCIRB_ ECM_0051
M4	Parduzco	Dicotómica	Recta inflada	Nd	P	Café oscuro	Granulosa	P	Con fíbula	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	1	AMCIRB_ ECM_0053
M5	Café	Dicotómica	Recta inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo L)	2 a 3	AMCIRB_ ECM_0054
M6	Grisáceo	Dicotómica	Recta inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	P	Con fíbula	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	2	AMCIRB_ ECM_0055
M7	Café oscuro	Pinnada	Recta inflada	Cordón miceliar	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	2	AMCIRB_ ECM_0056
M8	Negro	Dicotómica	Doblada inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	P	Septada	Plectenquimatoso (tipo A)	3	AMCIRB_ ECM_0057
M9	Negro	Pinnada	Sinuosa inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	P	Con fíbula	Pseudoparenquimatoso (Tipo E)	1	AMCIRB_ ECM_0058
M10	Negro	Dicotómica	Doblada inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo M)	2	AMCIRB_ ECM_0059
M11	Café oscuro	Pinnada	Doblada inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Fíbula	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	2	AMCIRB_ ECM_0060
M12	Grisáceo	Dicotómica	Sinuosa inflada	Nd	P	Blanco	Granulosa	P	Con fíbula	Pseudoplectenquimatoso (tipo M)	2	AMCIRB_ ECM_0061
M13	Café	Pinnada irregular	Sinuosa recta	Nd	P	Blanco	Liso	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo Q)	2 a 3	AMCIRB_ ECM_0062
M14	Café	Dicotómica	Sinuosa inflada	Nd	P	Blanco	Algodonosa	No	Con fíbula	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	2 a 3	AMCIRB_ ECM_0063
M15	Café oscuro	Dicotómica	Recta cilíndrica	Nd	A	-	-	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo M)	2 a 3	AMCIRB_ ECM_0064
M16	Café oscuro	Pinnada	Recta inflada	Nd	A	-	-	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo D)	2 a 3	AMCIRB_ ECM_0065

Cuadro S1: Continuación.

Morfortipo	Color	Ramificación	Forma de la punta	Estructura externa adicional	Micelio externo			Partículas minerales	Tipo de hifas	Manto	Red de Hartig (capas)	Clave
					Presencia/Ausencia	Color	Textura					
M17	Parduzco	Dicotómica	Doblada inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo M)	2	AMCIRB_ECM_0066
M18	Anaranjado	Dicotómica	Doblada inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Plectenquimatoso (tipo R)	3	AMCIRB_ECM_0067
M19	Café oscuro	Dicotómica	Doblada inflada	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo M)	2 a 3	AMCIRB_ECM_0068
M20	Negro	Dicotómica	Sinuosa cilíndrica	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoplectenquimatoso (tipo H)	2 a 3	AMCIRB_ECM_0069
M21	Café oscuro	Pinnada irregular	Sinuosa cilíndrica	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoplectenquimatoso (tipo H)	2	AMCIRB_ECM_0070
M22	Negro	Dicotómica	Doblada cilíndrica	Nd	P	Blanco	Algodonosa	No	Septada	Plectenquimatoso (tipo B)	2	AMCIRB_ECM_0071
M23	Violeta	Dicotómica	Recta cilíndrica	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoplectenquimatoso (tipo H)	1 a 2	AMCIRB_ECM_0072
M24	Verduzco	Dicotómica	Doblada	Nd	P	Blanco	Granulosa	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo E)	2 a 3	AMCIRB_ECM_0073
M25	Café oscuro	Monopodial	Recta cilíndrica	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Con fíbula	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	2 a 3	AMCIRB_ECM_0074
M26	Anaranjado	Dicotómica	Doblada cilíndrica	Nd	P	Blanco	Fibrosa	P	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	2	AMCIRB_ECM_0075
M27	Café oscuro	Monopodial	Recta cilíndrica	Nd	P	Blanco	Lisa	Si	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo H)	2	AMCIRB_ECM_0076
M28	Café oscuro	Pinnada monopodial	Doblada cilíndrica	Nd	A	-	-	No	Septada	Pseudoparenquimatoso	2	AMCIRB_ECM_0077
M29	Café oscuro	Pinnada monopodial	Doblada inflada	Nd	P	Blanco	Lanosa	No	Septada	Pseudoparenquimatoso	2	AMCIRB_ECM_0078
M30	Café	Pinnada irregular	Tortuosa cilíndrica	Nd	P	Blanco	Lisa	No	Septada	Pseudoparenquimatoso	2	AMCIRB_ECM_0079
<i>Wilcoxina</i> sp. (M31)	Café oscuro	Pinnada	Recta cilíndrica	Nd	A	-	-	No	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo M)	2	AMCIRB_ECM_0080
<i>Cenococcum geophilum</i> Fr. (M32)	Negro	Dicotómica	Recta cilíndrica	Rizomorfo	-	Blanco	Granulosa	No	Septada	Plectenquimatoso (tipo G)	2	AMCIRB_ECM_0081



Cuadro S1: Continuación.

Morfotipo	Color	Ramificación	Forma de la punta	Estructura externa adicional	Micelio externo			Partículas minerales	Tipo de hifas	Manto	Red de Hartig (capas)	Clave
					Presencia/Ausencia	Color	Textura					
* <i>Rhizopogon</i> sp. (M33)	Café oscuro	Dicotómica	Doblada inflada	Cordón miceliar	P	Blanco-púrpura	Granulosa	P	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo M)	3	AMCIRB_ECM_0082
*M34	Anaranjado	Dicotómica	Doblada inflada	Nd	P	Blanco	Lanosa	No	Septada	Plectenquimatoso (tipo B)	2-3	AMCIRB_ECM_0083
*M35	Azulado	Coraloide	Doblada inflada	Cordón miceliar	P	Blanco	Fibrosa	P	Septada	Pseudoparenquimatoso (tipo M)	2	AMCIRB_ECM_0084
*M36	Café oscuro	Coraloide	Doblada inflada	Cordón miceliar	P	Blanco	Lanosa	P	Septada	Plectenquimatoso (tipo B)	2-3	AMCIRB_ECM_0085





Figura S1: Morfotipos encontrados en las dos poblaciones naturales de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue & López y en plantas del bioensayo in vivo.

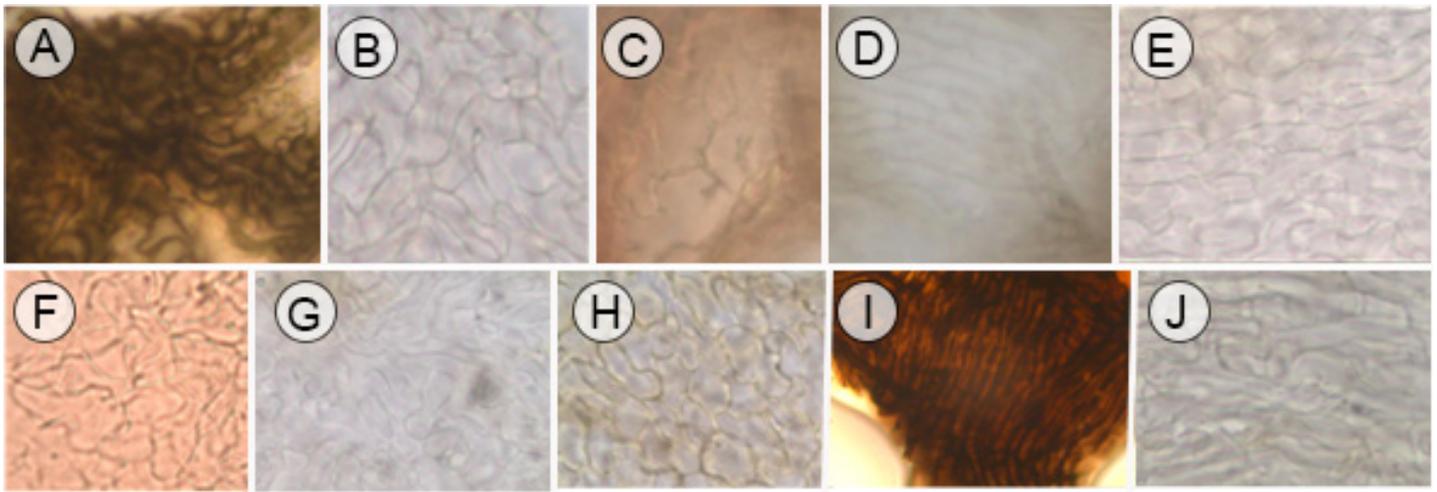


Figura S2: Tipos de manto externo identificados en los morfotipos encontrados en la investigación. A. manto pseudoparenquimatoso tipo M de M1-*Tomentella* sp.; B. plectenquimatoso tipo H de M2; C. Pseudoparenquimatoso tipo L de M5; D. Pseudoparenquimatoso tipo E de M9; E. Pseudoparenquimatoso tipo de M10; F. Pseudoparenquimatoso tipo Q de M13; G. Pseudoparenquimatoso tipo D de M16; H. Pseudoparenquimatoso tipo R de M18; I. Plectenquimatoso tipo G de M32-*Cenococcum geophilum* Fr.; J. Pseudoparenquimatoso tipo B de M33.

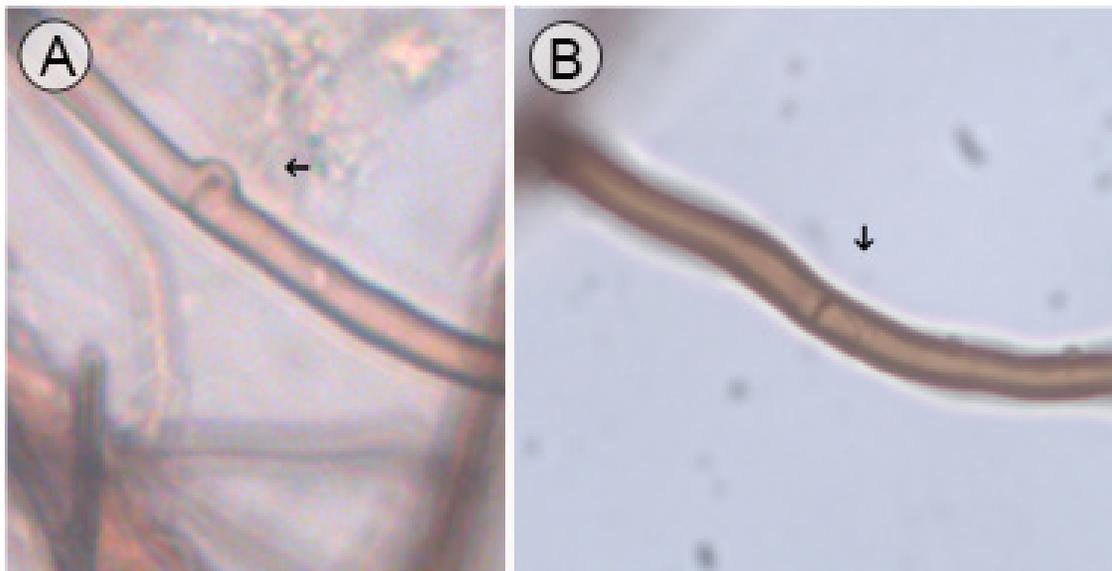


Figura S3: Tipo de hifas identificadas en los morfotipos encontrados. A. hifa con fíbula identificada en M1-*Tomentella* sp.; B. hifa con septo identificada en M32-*Cenococcum geophilum* Fr.