



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



Facultad de Biología

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS ÁREA TEMÁTICA: ECOLOGÍA Y CONSERVACIÓN

**Hongos asociados a raíces de *Oncidium reichenheimii* (Linden et Rchb.f.)
Garay et Stacy, en el predio de Tenderio, municipio de Tingambato,
Michoacán, en condiciones climáticas contrastantes.**

Tesis que presenta

Biól. Jorge de Jesús Arriaga Cardona

Como requisito para obtener el grado de

Maestro en Ciencias Biológicas

DIRECTORA DE TESIS: **D.C. Irene Ávila Díaz**

CO-DIRECTORA DE TESIS: **M.C. Rosa Elia Magaña Lemus**

Morelia, Michoacán, enero de 2026



Declaración de originalidad

El presente documento es producto del trabajo original de investigación de Biól. Jorge de Jesús Arriaga Cardona, estudiante del Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas y respetando siempre los más altos estándares éticos solicitados por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Todos los datos de la investigación reportada en el presente documento de tesis (excepto los indicados explícitamente en el texto), fueron obtenidos por el Biól. Jorge de Jesús Arriaga Cardona durante el periodo que fue estudiante de la Maestría en Ciencias Biológicas, bajo la Dirección de la Dra. Irene Ávila Díaz y la Co-Dirección de la M.C. Rosa Elia Magaña Lemus.

Morelia, Mich., a diciembre de 2025

Estudiante: Biól. Jorge de Jesús Arriaga Cardona firma 

Directora: Dra. Irene Ávila Díaz firma 

Co-Directora: M.C. Rosa Elia Magaña Lemus firma 

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, UMSNH

Agradecimientos

Agradezco profundamente al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo brindado a través de la beca que me permitió desarrollar este proyecto, así como a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) y a su Facultad de Biología, donde recibí la formación académica que sustenta este trabajo.

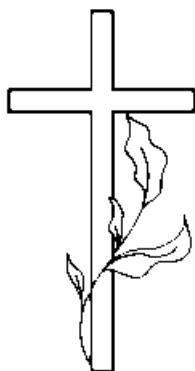
A la Dra. Irene Ávila Díaz, directora de esta tesis, y a la M.C. Rosa Elia Magaña Lemus, co-directora, por confiar en mí, por compartir su experiencia y por guiarme con paciencia y compromiso a lo largo del desarrollo del proyecto.

Mi más sincero agradecimiento al M.C. Luis María Suárez Rodríguez, cuyo apoyo fue fundamental para la realización del segundo capítulo de este trabajo. Su acompañamiento, generosidad y enseñanzas marcaron una diferencia significativa en este proyecto científico y en mi formación académica y personal.

Agradezco también a la Dra. Ana Tztzqui Chávez Bárcenas y al Dr. Leonel López Toledo por su valioso apoyo como parte del comité sinodal y por sus observaciones que enriquecieron este trabajo.

A mis compañeros del Laboratorio de Biología de la Conservación Vegetal, especialmente a la M.C. Marisol Sales, por su invaluable apoyo en campo y en cada etapa de este camino. Asimismo, al Laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas, del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, donde fui recibido con generosidad durante buena parte del proceso. En particular, gracias a la Lic. En Biotecnología Mitcy Hernández por compartir sus conocimientos en biología molecular y biotecnología con tanta disposición.

Finalmente, agradezco con el corazón a mis padres, José Jesús Arriaga Saldaña y Lourdes Cardona López. Gracias por enseñarme con el ejemplo el valor del esfuerzo, la perseverancia y la honestidad. Esta tesis es también suya, porque sin su apoyo constante —material, emocional y espiritual— este camino habría sido mucho más difícil. Este logro representa no sólo una meta académica, sino el fruto de muchos años de sacrificios compartidos y sueños contruidos en familia. A ustedes, todo mi amor y gratitud eterna.



*A la memoria de mi querido tío
Juan Carlos López González.*

*quien partió demasiado pronto,
pero cuya presencia sigue viva en mi corazón
y en cada paso que doy.*

Gracias por tu cariño, por las palabras sabias y por las risas compartidas.

*Esta tesis la dedico también a ti,
porque, aunque no estés físicamente,
tu amor y tu ejemplo me acompañan siempre.*

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. <u>RESUMEN GENERAL</u>	1
II. <u>GENERAL SUMMARY</u>	2
III. <u>INTRODUCCIÓN GENERAL</u>	3
IV. <u>MARCO TEÓRICO GENERAL</u>	6
V. <u>PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</u>	9
VI. <u>HIPÓTESIS</u>	9
VII. <u>OBJETIVOS</u>	9
VII.1. <u>Objetivo General</u>	9
VII.2. <u>Objetivos Específicos</u>	9
VIII. <u>DESCRIPCIÓN DE <i>Oncidium reichenheimii</i></u>	10
VIII.1. <u>Clasificación Taxonómica</u>	10
VIII.2. <u>Descripción Botánica y Distribución</u>	10
IX. <u>ÁREA DE ESTUDIO</u>	12
X. <u>CAPÍTULO 1: Variaciones estacionales en la micorrización de <i>Oncidium reichenheimii</i> (Orchidaceae): adaptación simbiótica a condiciones contrastantes en Michoacán, México</u>	14
<u>Resumen</u>	15
<u>Abstract</u>	16
<u>Introducción</u>	17
<u>Materiales y métodos</u>	20
<u>Descripción climática</u>	20
<u>Sistema de estudio</u>	20
<u>Colecta de material biológico</u>	21
<u>Porcentaje de micorrización</u>	22
<u>Análisis estadísticos</u>	23
<u>Resultados</u>	23
<u>Descripción climática</u>	23
<u>Porcentaje de micorrización</u>	24
<u>Observaciones de campo</u>	26
<u>Discusión</u>	26
<u>Agradecimientos</u>	30
<u>Referencias</u>	31

XI. CAPÍTULO 2: Caracterización molecular de los hongos asociados a raíces de <i>O. reichenheimii</i> en las diferentes categorías de desarrollo y condiciones climáticas contrastantes	41
<u>Resumen</u>	41
<u>Abstract</u>	42
<u>Introducción</u>	43
<u>Marco Teórico</u>	45
<u>Hongos micorrízicos de orquídeas</u>	45
<u>Identificación de hongos endófitos de plantas</u>	48
<u>Región espaciadora interna transcrita (ITS) del ADN</u>	50
<u>Metodología</u>	52
<u>Colecta de muestras</u>	52
<u>Extracción de pelotones provenientes de raíces de <i>Oncidium reichenheimii</i> y aislamiento de hongos asociados</u>	53
<u>Caracterización molecular</u>	54
<u>-Extracción de ácidos nucleicos (ADN)</u>	54
<u>-Caracterización molecular de genes ITS de hongos aislados</u>	55
<u>Análisis de datos</u>	56
<u>Resultados</u>	58
<u>Aislamiento de los hongos asociados</u>	58
<u>Caracterización molecular</u>	64
<u>Extracción de ADNr</u>	64
<u>Identificación de hongos asociados</u>	67
<u>Discusión</u>	76
<u>Aislamiento de hongos asociados</u>	76
<u>Caracterización molecular</u>	78
<u><i>Penicillium</i> spp. (M1/OTU1, M18/OTU8, MP/OTU9)</u>	78
<u><i>Leptobacillium</i> spp. (M1T/OTU2, MB/OTU10)</u>	80
<u><i>Neopestalotiopsis</i> sp. (M5/OTU4)</u>	80
<u><i>Fusarium</i> sp. (M9/OTU5)</u>	81

<u><i>Umbelopsis brunnea</i> (M12/OTU6)</u>	83
<u><i>Amorosiaceae</i> (M17/OTU7)</u>	84
<u>Perspectivas</u>	85
<u>Referencias</u>	88
XII. <u>DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS GENERALES</u>	102
XIII. <u>REFERENCIAS GENERALES</u>	106
ANEXO. <u>Lista de códigos de acceso de GenBank de genes ITS para las especies utilizadas para la creación de árboles filogenéticos</u>	113

ÍNDICE DE FIGURAS

MARCO TEÓRICO GENERAL

Figura 1.	<u>Morfología de <i>O. reichenheimii</i></u>	11
Figura 2.	<u>Polígono del “Área Voluntaria para la Conservación Tenderio”</u>	13
CAPÍTULO 1. Variaciones estacionales en la micorrización de <i>Oncidium reichenheimii</i> (Orchidaceae): adaptación simbiótica a condiciones contrastantes en Michoacán, México		
Figura 1.	<u><i>O. reichenheimii</i> in situ</u>	35
Figura 2.	<u>Temperatura promedio mensual de la estación biológica más cercana a Tingambato</u>	36
Figura 3.	<u>Precipitación media (mm) mensual de la estación meteorológica más cercana a Tingambato, Michoacán</u>	36
Figura 4.	<u>Tipos de pelotones</u>	37
Figura 5.	<u>Porcentaje promedio de micorrización de raíces de <i>O. reichenheimii</i></u>	37
Figura 6.	<u>Tipos de pelotones teñidos con azul de tripano</u>	38
Figura 7.	<u>Micorrización de <i>O. reichenheimii</i></u>	38
Figura 8.	<u>Distribución espacial de la micorrización en las raíces de <i>O. reichenheimii</i></u>	39
Figura 9.	<u>Porcentaje promedio de cortes sin tejido cortical o tejido cortical oxidado en <i>O. reichenheimii</i> por zona</u>	39
Figura 10.	<u>Porcentaje promedio de cortes de raíces observadas sin presencia de células en el tejido del córtex, en las épocas estudiadas</u>	40

CAPÍTULO 2. Caracterización molecular de los hongos micorrízicos de raíces de *O. reichenheimii* en las diferentes categorías de desarrollo y condiciones climáticas contrastantes

Figura 1	<u>Representación de las regiones ITS1 e ITS2 y las regiones conservadas 18S, 5.8S y 28S del ADNr</u>	51
Figura 2	<u>Diagrama del protocolo de PCR empleado para la amplificación de los genes ITS de los hongos aislados de raíces de <i>O. reichenheimii</i></u>	56
Figura 3	<u>Morfotipos fúngicos observados en raíces de <i>O. reichenheimii</i></u>	60
Figura 4	<u>Frecuencia relativa de morfotipos de hongos observados en las diferentes épocas</u>	61
Figura 5	<u>Frecuencia porcentual de morfotipos presentes en las diferentes épocas</u>	63
Figura 6	<u>Frecuencia porcentual de morfotipos presentes en los tipos de raíz (aérea y de sustrato)</u>	64
Figura 7	<u>Electroforesis en gel de Agarosa TBE 0.5X al 1.2% teñido con bromuro de etidio de productos de PCR de ácidos nucleicos (ADN) de hongos aislados de raíces de <i>O. reichenheimii</i></u>	66
Figura 8	<u>Árbol filogenético generado con las secuencias de ADNr-ITS de los OTUS 1, 8 y 9, correspondientes a los morfotipos M1, M18 y MP</u>	67
Figura 9	<u>Árbol filogenético generado con las secuencias de ADNr-ITS de los OTUS 2 y 20, correspondientes a los morfotipos M1T y MB</u>	69
Figura 10	<u>Árbol filogenético generado con la secuencia de ADNr-ITS del OTU4</u>	70
Figura 11	<u>Árbol filogenético generado con la secuencia de ADNr-ITS del OTU5, correspondiente al morfotipo M9</u>	71
Figura 12	<u>Árbol filogenético generado con la secuencia de ADNr-ITS del OTU6, correspondiente al morfotipo M12</u>	72
Figura 13	<u>Árbol filogenético generado con la secuencia de ADNr-ITS del OTU7, correspondiente al morfotipo M17</u>	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<u>Número de acceso de GenBank de los taxa utilizados para enraizar los árboles filogenéticos.</u>	57
	<u>Hongos aislados de raíces aéreas y de sustrato de individuos juveniles y adultos de <i>O. reichenheimii</i> en las diferentes épocas de colecta</u>	59
Tabla 3	<u>Riqueza de morfotipos por cada época</u>	61
Tabla 4	<u>Riqueza de los morfotipos observados por categoría de edad y tipo de raíz</u>	62
Tabla 5	<u>Rendimiento de las extracciones de ADN de hongos aislados de raíces de <i>O. reichenheimii</i></u>	65
Tabla 6	<u>Presencia de morfotipos identificados molecularmente en función de la época, etapa de desarrollo y tipo de raíz de <i>O. reichenheimii</i></u>	75

I. RESUMEN GENERAL

La familia Orchidaceae se distingue por su elevada diversidad, con más de 31 000 especies que dependen de asociaciones micorrízicas para su germinación y desarrollo. *Oncidium reichenheimii*, una orquídea epífita endémica de México, se encuentra amenazada por la sobreexplotación y la degradación del hábitat, lo que hace necesario comprender la dinámica de sus interacciones simbióticas. Este estudio evaluó los patrones de micorrización en raíces de *O. reichenheimii* bajo condiciones climáticas contrastantes, diferentes estados de desarrollo y tipos de raíz, así como la caracterización molecular de los hongos asociados.

Se realizó en el predio de Tenderio, Tingambato, Michoacán, en bosques de pino-encino a 1980 msnm. Entre 2022 y 2024 se recolectaron raíces aéreas y en contacto con el sustrato de individuos juveniles y adultos durante las épocas seca y húmeda. El grado de micorrización y el estado de los pelotones se evaluaron mediante tinción con azul de tripano, mientras que los hongos asociados se aislaron e identificaron mediante la secuenciación de la región ITS.

Los resultados mostraron variación estacional. En la época seca se registró un mayor porcentaje de células micorrizadas y un predominio de pelotones digeridos, lo que sugiere un aprovechamiento activo de los hongos como fuente de nutrientes bajo estrés hídrico. En contraste, durante la época húmeda predominó la presencia de pelotones intactos, indicativa de colonización reciente. Se identificaron nueve morfotipos fúngicos, destacando *Penicillium* spp., presente en todas las condiciones evaluadas, así como *Fusarium* sp., *Umbelopsis brunnea* y un miembro no descrito de la familia Amorosiaceae. La riqueza y abundancia fúngica fue mayor en la época seca, con un recambio del 87% entre estaciones.

Estos hallazgos evidencian una alta plasticidad simbiótica de *O. reichenheimii*, pero también revelan su vulnerabilidad ante sequías extremas, resaltando la importancia de considerar la micorrización y el microbioma fúngico en estrategias de conservación y restauración.

Palabras clave: Micorrización, orquídea epífita, diversidad fúngica, plasticidad simbiótica, caracterización molecular.

II. GENERAL SUMMARY

The Orchidaceae family is distinguished by its high diversity, comprising more than 31,000 species that depend on mycorrhizal associations for germination and development. *Oncidium reichenheimii*, an epiphytic orchid endemic to Mexico, is threatened by overexploitation and habitat degradation, highlighting the need to understand the dynamics of its symbiotic interactions. This study evaluated mycorrhization patterns in roots of *O. reichenheimii* under contrasting climatic conditions, across different developmental stages and root types, as well as the molecular characterization of associated fungi.

The study was conducted at the Tenderio site in Tingambato, Michoacán, within pine–oak forests at an elevation of 1,980 m a.s.l. Between 2022 and 2024, aerial and substrate-contacting roots from juvenile and adult individuals were collected during the dry and wet seasons. The degree of mycorrhization and the condition of pelotons were assessed using trypan blue staining, while associated fungi were isolated and identified through sequencing of the ITS region.

The results revealed clear seasonal variation. During the dry season, a higher percentage of mycorrhized cells and a predominance of digested pelotons were observed, suggesting active utilization of fungi as a nutrient source under water stress. In contrast, during the wet season, intact pelotons predominated, indicating recent fungal colonization. Nine fungal morphotypes were identified, with *Penicillium* spp. present under all evaluated conditions, as well as *Fusarium* sp., *Umbelopsis brunnea*, and an undescribed member of the family Amorosiaceae. Fungal richness and abundance were higher during the dry season, with an 87% turnover of morphotypes between seasons.

These findings demonstrate a high degree of symbiotic plasticity in *O. reichenheimii*, while also revealing its vulnerability to extreme drought, underscoring the importance of incorporating mycorrhization and the fungal microbiome into conservation and restoration strategies.

Keywords: Mycorrhization; epiphytic orchids; fungal diversity; symbiotic plasticity; molecular characterization.

III. INTRODUCCIÓN GENERAL

La familia Orchidaceae es una de las familias de plantas vasculares más diversas del mundo, dicha familia alberga aproximadamente 31 000 especies (Catalogue of life, 2025-1), que se encuentran distribuidas en casi todo el mundo. La mayor diversidad de especies de orquídeas se encuentra en el Ecuador y las regiones tropicales y subtropicales del planeta, donde frecuentemente son epífitas. México cuenta con aproximadamente 1260 especies registradas, de las cuales el 60% se reportan como especies epífitas, distribuidas en 170 géneros (García-González *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2019; Pérez-Decélis *et al.*, 2016). De esta gran diversidad, 190 especies se encuentran incluidas en alguna categoría de riesgo dentro de la Norma Oficial Mexicana de Especies de Flora y Fauna Amenazadas NOM-059-ECOL-2010 (Secretaría de Gobernación, 2019).

Las orquídeas son plantas que presentan distintos hábitos de vida, ya que existen especies terrestres, epífitas y rupícolas, presentando adaptaciones ecofisiológicas como la gran capacidad de absorción de agua de sus raíces, captando nutrientes desde la primera corriente de agua con minerales que fluye por las superficies como troncos y rocas. Estas raíces son capaces de realizar fotosíntesis, incluso, se han reportado géneros completos con especies que no poseen hojas y que en su lugar utilizan la clorofila de las partes superiores de sus raíces ligeramente aplanadas, para realizar la fotosíntesis (Roberts y Dixon, 2008).

De las características distintivas de los miembros de la familia Orchidaceae, no se podría considerar ninguno como el determinante que describa a toda la familia (presencia de velamen, un pétalo modificado, o labelo, opuesto a los estambres fértiles, gran cantidad de semillas, resupinación en sus flores, complejas relaciones ecológicas, etc), sin embargo, la fusión de sus estambres y pistilo en una sola estructura conocida como columna o ginostemio podría ser, por encima de todas, la característica que define a la familia, pese a ser una característica que se puede encontrar también en miembros de Hypoxidaceae y Stylidiaceae la que mejor describa o pueda clasificar a esta familia (Roberts y Dixon, 2008).

Una característica importante a resaltar de las orquídeas es su relación con hongos micorrízicos, los cuales a diferencia de otras especies son esenciales para su germinación y desarrollo debido a las pocas reservas nutritivas de sus semillas.

Esta simbiosis, denominada micorriza, permite a las orquídeas obtener nutrientes vitales de los hongos, una relación crucial para su supervivencia en la naturaleza. La especificidad de estos hongos y la micorrización son factores clave para la conservación de las orquídeas, especialmente en ecosistemas diversos como los tropicales (Martos *et al.*, 2012; McCormick y Jacquemyn, 2014).

Los hongos involucrados en la germinación y la etapa de desarrollo de la plántula pueden, a veces, incluso permanecer hasta la adultez de las plantas, sin embargo, los hongos que promueven la germinación tienden a ser intercambiados por otras especies mientras estas se desarrollan, maduran y se establecen (Favre-Godal *et al.*, 2020). Se habla entonces de la posibilidad de un recambio de taxa de hongos asociados. Estudios previos han mostrado que los hongos dominantes en la germinación pueden ser sustituidos en etapas posteriores por otras especies, lo que evidencia un recambio de la comunidad fúngica mediado por las necesidades fisiológicas de la orquídea (Zahn *et al.*, 2022). Del mismo modo, los patrones de micorrización pueden variar de individuos juveniles a individuos en etapa reproductiva como respuesta a las diferentes necesidades nutricionales que cada etapa de desarrollo requiere (Fernández *et al.*, 2023).

En orquídeas epífitas, los principales hongos micorrízicos aislados han sido especies del género *Tulasnella* y *Ceratobasidium* (Alomía *et al.*, 2022; Beltrán-Nambo *et al.*, 2018; Bhuiyan *et al.*, 2021; García *et al.*, 2024; Rammitsu *et al.*, 2023; Riofrío *et al.*, 2013; Silva-Freitas *et al.*, 2020; Tsutsumi *et al.*, 2022), del mismo modo, han sido aislados hongos de Ascomycota, como *Xylaria* (Romero-Salazar *et al.*, 2022), *Fusarium oxysporum* (Jiang *et al.*, 2019) y especies de Hypocreales y Pleosporales (Tsutsumi *et al.*, 2022).

En este sentido, debemos considerar que, estudiar la composición y función de las comunidades micorrízicas en diferentes fases ontogénicas y escenarios climáticos es importante para diseñar estrategias de propagación simbiótica y conservación de especies amenazadas, tomando en cuenta además el papel potencial micorrízico que hongos no tradicionales puedan tener.

Oncidium reichenheimii (Linden & Rchb. f.) Garay & Stacy, es una orquídea epífita endémica de los bosques de México (Estrada-Sánchez *et al.*, 2019) y con alto potencial ornamental por la belleza y fragancia de sus flores. Esta característica la

ha enfrentado a sufrir la extracción de sus poblaciones silvestres. Como modelo biológico se han reportado un total de 88 individuos presentes en la población del predio Tenderio, perteneciente a la Comunidad Indígena de Santiago Tingambato, Michoacán (Herrera-Villanueva *et al.*, 2019), cantidad que se ha visto drásticamente reducida en años recientes, ya que, al iniciar este proyecto en septiembre de 2022, se observaron no más de 40 individuos en campo. En esfuerzos por trabajar en su conservación, se ha realizado la propagación *in vitro* de semillas de *O. reichenheimii* probando diferentes medios de cultivo, y así ofrecer una alternativa que contribuya a reducir la presión que se ejerce sobre esta población (Arriaga-Cardona, 2019).

En un nuevo aproximamiento para continuar con esta acción, se sabe que no se han realizado trabajos previos hasta el momento sobre la asociación micorrízica de esta especie, motivo por el que se plantea en el presente trabajo una investigación al respecto.

Esta tesis está organizada en dos capítulos abordando puntos clave para describir algunas características de la comunidad fúngica asociada a las raíces individuos silvestres de *O. reichenheimii*.

En el capítulo 1, se aborda la evaluación del estado de micorrización de *O. reichenheimii* en diferentes etapas de desarrollo en condiciones climáticas contrastantes y en dos tipos de raíces (aéreas y asociadas al sustrato), evaluando el porcentaje de micorrización, así como el estado de degradación de los pelotones, los resultados obtenidos sugieren que la micorrización en esta especie responde de manera diferenciada a las condiciones climáticas ya que se observó una mayor micorrización en las épocas de menor precipitación (secas), con predominancia de pelotones degradados, por su lado, durante las épocas de mayor humedad (húmedas), pese a que la micorrización fue menor, la gran mayoría de los pelotones presentes se encontraron sin degradar.

En el capítulo 2, se incluye la clasificación por morfotipos y la determinación molecular de los hongos aislados de pelotones de raíces de *O. reichenheimii* mediante la secuenciación de genes ITS e identificación por medio de análisis filogenéticos, en los diferentes estados de desarrollo, tipo de raíz y condiciones climáticas contrastantes; se observó mayor diversidad de hongos asociados

durante las épocas secas, respecto a las épocas húmedas. Siete de los morfotipos aislados fueron asignados a nivel taxonómico de género, uno hasta nivel específico y uno de ellos solamente a nivel de familia. *Penicillium* sp.1 fue la cepa más común en todos los estados de desarrollo, tipos de raíz y condiciones climáticas. Se determinó el mantenimiento de pocos taxa asociados y el recambio de hongos entre las diferentes categorías consideradas. Los resultados indican que *O. reichenheimii* mantiene asociaciones fúngicas moderadamente específicas, pero con alta plasticidad, influida por factores climáticos y del estado de desarrollo de las plantas. Se observaron hongos con potencial funcional relevante (*Penicillium*, *Fusarium*, *Umbelopsis*, *Leptobacillium*), algunos de los cuales podrían actuar como promotores del crecimiento vegetal. La identificación de morfotipos únicos o poco reportados sugiere la necesidad de continuar su caracterización funcional y determinación taxonómica específica.

Con los resultados obtenidos se considera que las investigaciones sobre la composición micorrízica en condiciones climáticas contrastantes, así como la identificación de los taxa de hongos asociados, pueden contribuir a plantear estrategias de conservación efectivas comenzando con estudios de germinación, desarrollo *in vitro* y aclimatación asistidas por los hongos previamente aislados e identificados, una vez que se compruebe su potencial simbiótico, y tras emplear estrategias como la reintroducción de plantas, poder reducir la presión sobre las poblaciones silvestres ayudando a frenar su extinción local.

IV. MARCO TEÓRICO GENERAL

Históricamente, las orquídeas han generado un interés particular en las sociedades humanas, por su belleza se les ha brindado un valor ornamental y comercial sumamente importante generando un mercado de plantas y flores que produce grandes ganancias económicas a nivel mundial. Algunos de los géneros de orquídeas mayormente comercializados son de origen asiático como *Cymbidium*, *Dendrobium* y *Phalaenopsis*, y algunos otros con menor producción de origen americano como *Cattleya*, *Laelia* y *Oncidium*, por mencionar algunos. Aunado a esto, a diversas especies de la familia se les ha dado gran importancia en rituales culturales en algunas comunidades indígenas y se han utilizado como plantas

medicinales, es así como este interés ha provocado la extracción desmedida de los individuos de su hábitat natural, lo que genera fuertes presiones sobre las poblaciones silvestres, poniendo en riesgo de extinción a las diferentes especies (Almanza-Álvarez *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2019).

De manera general, son varias las causas que limitan la distribución y permanencia a largo plazo de las diferentes especies de orquídeas, factores como el cambio climático, el cambio de uso de suelo, la destrucción del hábitat, la extracción excesiva de los individuos silvestres, entre otros, afectan de manera directa o indirecta a estas plantas, a la vez que se ve comprometida la supervivencia y disponibilidad de otros organismos con los que presentan relaciones estrechas como son los polinizadores, los árboles en los que se establecen o forófitos y los hongos asociados, entre ellos, los hongos micorrízicos, teniendo como resultado que la supervivencia de las orquídeas dentro de sus hábitats naturales se vea comprometida (Martos *et al.*, 2012; McCormick y Jacquemyn, 2014).

Dichas relaciones que presentan los individuos de la familia Orchidaceae, es una de las características más importantes de esta familia, ya que, estas asociaciones suelen ser muy estrechas. Por ejemplo, la asociación que las especies presentan con algunos grupos de hongos, los cuales pueden ser endófitos (Selosse y Martos, 2014) que aparentemente no provocan algún daño a las plantas, del mismo modo, las orquídeas se relacionan con hongos que se comportan como patógenos de sí mismas o de otras especies de orquídeas (Jiang *et al.*, 2019; Tsutsumi *et al.*, 2022).

Particularmente, las orquídeas forman asociaciones con otros grupos de hongos que generan una estrecha relación con estas plantas, la cual es llamada “micorriza” y a los hongos que participan en dicha asociación, se les conoce como “micorrízicos”. Las hifas de estos hongos penetran las células corticales de las raíces ingresando a través de los pelos radicales o directamente a través de la epidermis formando así estructuras de hifas enrolladas sobre sí mismas, llamadas “pelotones”, con la posibilidad de colonizar toda la célula vegetal, misma que puede digerirlos y retener sus nutrientes. Particularmente, las semillas de las orquídeas son muy pequeñas, contienen pocas reservas de nutrientes y dependen completamente de la asociación micorrízica para su germinación, establecimiento y desarrollo primario (Pérez-Decéls *et al.*, 2016), no obstante, los hongos micorrízicos son capaces de penetrar y colonizar las raíces de orquídeas en todas

las etapas del ciclo de vida de estas plantas (Fochi *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2019; Selosse *et al.*, 2022).

Las relaciones micorrízicas establecidas entre hongos y orquídeas son particularmente interesantes, se ha visto que es una relación beneficiosa y obligatoria para la germinación y desarrollo de estas plantas aparentemente sin recompensa para los hongos micorrízicos, se espera entonces que esta relación resulte en una asimetría de restricción biológica (Fochi *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2019; McCormick y Jacquemyn, 2014).

Las orquídeas son altamente dependientes de las micorrizas como proveedores de nutrientes. Los hongos micorrízicos tienen la capacidad de absorber nutrientes del suelo u otros sustratos y transferir una parte de ellos a dichas plantas, facilitando la absorción de nutrientes del sustrato para un mejor aprovechamiento (Nurfadilah *et al.*, 2016).

Se ha observado una sucesión de la comunidad fúngica basada en la fenología del hospedador, desde etapas juveniles hasta etapas reproductivas, lo que implica que la comunidad fúngica cambia según la fase de desarrollo de la orquídea hospedadora (Fernández *et al.*, 2023; Rasmussen y Whigham, 2002).

Comprender la especificidad micorrízica es sumamente importante con fines de conservación, pues se ha visto que es un aspecto común en varias especies de orquídeas (Dearnaley *et al.*, 2017). A pesar de la gran cantidad de semillas que producen las orquídeas y el alto potencial de dispersión, su germinación y establecimiento pueden verse limitados por la disponibilidad de hongos micorrízicos en el ambiente, entre otros factores. Analizar la influencia de las restricciones ecológicas en la asociación micorrízica de las orquídeas es especialmente relevante en el contexto tropical donde los taxa de las orquídeas son muy diversos y se adaptan a nichos ecológicos que pueden diferir considerablemente entre sí. Cuando varias especies de orquídeas conviven en un sitio, la competencia por los recursos a escala local, posiblemente mediada por la disponibilidad o competencia entre diferentes hongos, podría afectar la abundancia y distribución espacial de las orquídeas en su hábitat natural (Jiang *et al.*, 2019; Martos *et al.*, 2012; McCormick y Jacquemyn, 2014).

V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿De qué manera las condiciones climáticas influyen en la estructura y diversidad de las comunidades micorrízicas asociadas a las raíces de *Oncidium reichenheimii* en dos etapas de desarrollo?

VI. HIPÓTESIS

Las raíces de individuos de *Oncidium reichenheimii* en diferentes categorías de desarrollo presentan una comunidad micorrízica diversa asociada a condiciones climáticas contrastantes.

VII. OBJETIVOS

VII.1. Objetivo General

Estudiar el estado de micorrización e identificar la comunidad fúngica asociada a las raíces de individuos en diferentes categorías de desarrollo de *Oncidium reichenheimii* en condiciones climáticas contrastantes.

VII.2. Objetivos Específicos

1. Evaluar el estado de micorrización de *O. reichenheimii* en diferentes tipos de raíz y etapas de desarrollo, en condiciones climáticas contrastantes.
2. Caracterizar molecularmente los hongos asociados a raíces de *O. reichenheimii* en diferentes tipos de raíz y etapas de desarrollo, en condiciones climáticas contrastantes.

VIII. DESCRIPCIÓN DE *Oncidium reichenheimii*

VIII.1. Clasificación Taxonómica

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Clase: Liliopsida Batsch.

Orden: Asparagales Link.

Familia: Orchidaceae Juss.

Género: *Oncidium* Sw.

Especie: *Oncidium reichenheimii* (Linden & Rchb.f.) Garay & Stacy

(Catalogue of life, 2025-2)

VIII.2. Descripción Botánica y Distribución

Oncidium reichenheimii (Linden & Rchb.f.) Garay & Stacy es una planta epífita que puede alcanzar una altura de hasta 1 metro. Posee pseudobulbos ovalados que miden aproximadamente 7-11 cm de longitud y 3.5-4 cm de ancho. Sus hojas son elípticas y lanceoladas, llegando a medir hasta 40 cm de largo (Figura 1.1 y 1.2). Las flores se presentan en abundantes panículas, en varas florales que alcanzan hasta 60 cm de longitud. Los pétalos y sépalos son oblanceolados, con una longitud de 2-4 cm y un ancho de 5-8 cm, mostrando colores que varían desde verde hasta rojo, con grandes manchas y bandas más oscuras. La base de la columna es de color blanco, mientras que el labelo muestra un blanco en la base y ápice, y el resto de color violeta. El labelo es notablemente más corto que los sépalos, midiendo alrededor de 1.7-2.5 cm de largo. La flor tiene una forma natural tubular-funeliforme, con los lados curvados (Figura 1.3). La cápsula es elipsoide-oblonga, con una longitud de 7 cm y un espesor de 1.5 cm (McVaugh, 1985).

Se trata de una especie de orquídea endémica de México que se encuentra generalmente en bosques de pino-encino, ubicados a una altitud entre 1200 y 1900 metros sobre el nivel del mar. Sus poblaciones naturales han sido observadas en

diversos bosques de los estados de Chiapas, Estado de México, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos y Oaxaca. (Beutelspacher, 2008; Solano *et al.*, 2013; Domínguez, 2015; Rojas-Zenteno *et al.*, 2016).



Figura 1. Morfología de *O. reichenheimii*. **a)** Pseudobulbos, hojas y vara floral. (Bateman, 1864); **b)** *O. reichenheimii* *in situ*, pseudobulbos y hojas; **c)** Flor de *O. reichenheimii* (Fotos: J.J.A.C).

IX. ÁREA DE ESTUDIO

El predio Tenderio es un Área Natural Voluntaria para la Conservación que se localiza al norte en el municipio Santiago Tingambato en el estado de Michoacán, en las coordenadas 19°30' de latitud norte y 101°51' de longitud oeste, con una superficie aproximada de 360 Has (Secretaría del Medio Ambiente, 2022), a una altura promedio de 1980 msnm (Domínguez, 2015) (Figura 2.1).

El municipio de Santiago Tingambato (colinda al norte con los municipios de Nahuatzen y Erongarícuaro; al este con los municipios de Erongarícuaro, Pátzcuaro y Salvador Escalante; al sur con los municipios de Salvador Escalante y Ziracuaretiro; al oeste con los municipios de, Ziracuaretiro, Uruapan y Nahuatzen. El clima de Tingambato es templado subhúmedo con lluvias en verano, de mayor humedad (73.10%), semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano (20.61%) y templado húmedo con abundantes lluvias en verano (6.29%), con un rango de temperatura de 12 – 22°C y un rango de precipitación de 1100 – 1600 mm. Como parte de la Fisiografía del municipio, este se localiza dentro de la subprovincia Neovolcánica Tarasca (92.01%) y Escarpa Limítrofe del Sur (7.99%), dentro de la provincia Eje Neovolcánico, y considerando la Hidrografía, el municipio se localiza en la región hidrológica Balsas (75.56%) y Lerma-Santiago (24.44%), en la cuenca Región Tepalcatepec-Infiernillo (75.56%) y Lago de Pátzcuaro-Cuitzeo y Lago de Yuriria (24.44%) dentro de la subcuenca Región La Parota (72.49%), Lago de Cuitzeo (24.44%) y Paracho-Nahuatzen (3.07%). El tipo de uso de suelo en el municipio se divide en agrícola (39.86%), urbano (3.97%) y vegetación natural de bosques (55.61%) y pastizal (0.55%) (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2010).



Secretaría del
Medio Ambiente
GOBIERNO DE MICHOACÁN



SISTEMA ESTATAL DE ÁREAS
PARA LA CONSERVACIÓN
DEL PATRIMONIO NATURAL
DE MICHOACÁN

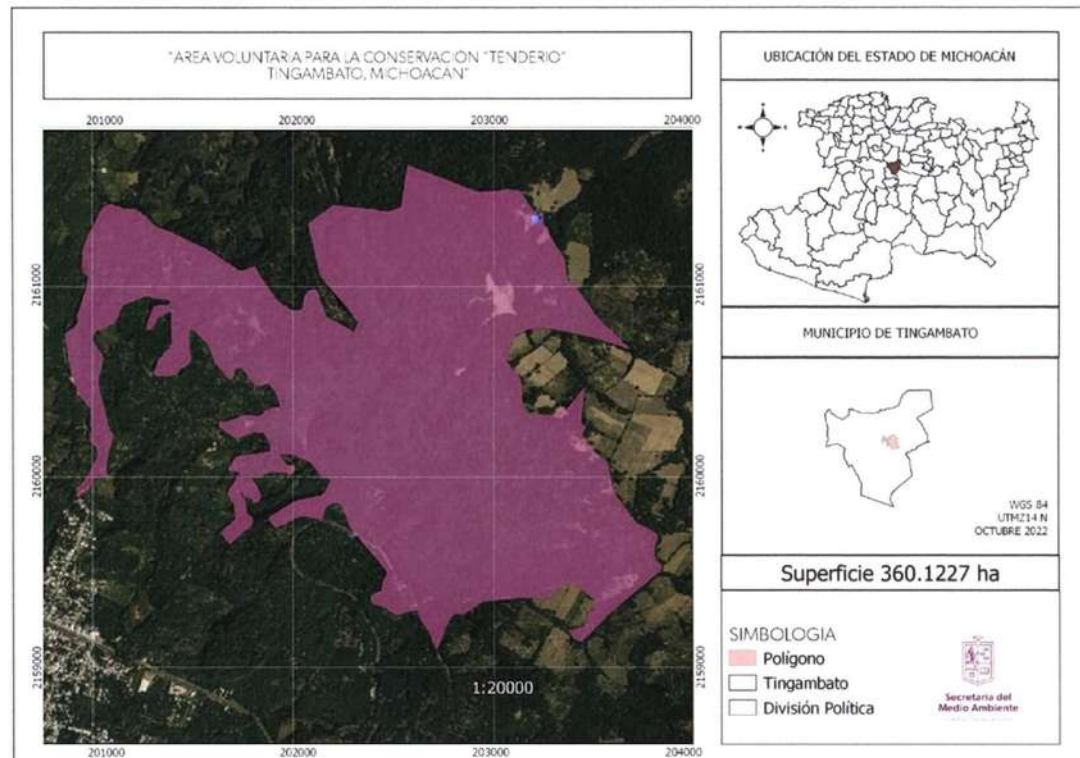


Figura 2. Polígono del “Área Voluntaria para la Conservación Tenderio”, Tingambato, Michoacán (mod. de Secretaría del Medio Ambiente, 2022).

X. CAPÍTULO 1

Variaciones estacionales en la micorrización de *Oncidium reichenheimii* (Orchidaceae): adaptación simbiótica a condiciones contrastantes en Michoacán, México

Seasonal variations in the mycorrhization of *Oncidium reichenheimii*
(Orchidaceae): symbiotic adaptation to contrasting conditions in Michoacan,
Mexico

En revisión por Revista Mexicana de Biodiversidad.

Arriaga-Cardona et al. Variaciones en la micorrización de *O. reichenheimii*.

**Variaciones estacionales en la micorrización de *Oncidium reichenheimii*
(Orchidaceae): adaptación simbiótica a condiciones contrastantes en Michoacán,
México**

**Seasonal variations in the mycorrhization of *Oncidium reichenheimii* (Orchidaceae):
symbiotic adaptation to contrasting conditions in Michoacan, Mexico**

Jorge de Jesús Arriaga-Cardona^a, Irene Ávila-Díaz^{a*}, Rosa Elia Magaña-Lemus^b

^aFacultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edificio “R”,
Ciudad Universitaria, Fransco J. Mújica S/N, Col. Felicitas del Río, 58030, Morelia,
Michoacán, México, 1215879b@umich.mx, irene.avila@umich.mx*

^bInstituto de Investigaciones Sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San
Nicolás de Hidalgo, Avenida Juanito Itzícuaró S/N, Col San Juacito Itzícuaró, 58330,
Morelia, Michoacán, México, 0212484e@umich.mx

*Autor para correspondencia

Resumen:

La micorrización es esencial para la supervivencia y desarrollo de las orquídeas, particularmente durante la germinación y primeras etapas de crecimiento. Esta asociación con hongos micorrízicos facilita la captación de nutrientes en las raíces. La dinámica de esta interacción puede variar según las condiciones climáticas y el estado de desarrollo de la planta. El objetivo de este trabajo fue caracterizar los patrones de micorrización en raíces de individuos en diferentes categorías de desarrollo de *Oncidium reichenheimii* en condiciones climáticas contrastantes. Se colectaron raíces de diferentes individuos de *O. reichenheimii* en el predio de Tenderio, Tingambato, Michoacán, durante las épocas húmeda y seca. Las raíces se analizaron mediante tinción y observaciones al microscopio para cuantificar los pelotones. Durante la época húmeda, se observó mayor presencia de pelotones intactos

(1.52%) en comparación con la época seca (0.1%), donde predominaron los pelotones digeridos (1.64%). Esto sugiere que *O. reichenheimii* optimiza su asociación micorrízica en respuesta a la disponibilidad de agua y nutrientes, adaptándose a las condiciones estacionales. Este conocimiento destaca la importancia de considerar las variaciones estacionales y las etapas de desarrollo de las orquídeas para diseñar estrategias efectivas de conservación y manejo de especies vulnerables en ecosistemas cambiantes.

Palabras clave:

Época húmeda, época seca, endemismo mexicano, micorriza orquideoide, orquídea epífita.

Abstract:

Mycorrhization is essential for the survival and development of orchids, particularly during germination and early growth stages. This association with mycorrhizal fungi facilitates nutrient uptake in the roots. This interaction dynamics varies depending on climatic conditions and the plant's developmental stage. The objective was to characterize the mycorrhization patterns in the roots of individuals at different developmental stages of *Oncidium reichenheimii* under contrasting climatic conditions. Roots were collected by individuals of *O. reichenheimii* in Tenderio site, Tingambato, Michoacan, during the wet and dry seasons. These were analyzed by staining and microscope observations to quantify pelotons. During the wet season, a higher presence of intact pelotons (1.52%) was observed compared to the dry season (0.1%), where digested pelotons predominated (1.64%). This suggests that *O. reichenheimii* optimizes its mycorrhizal association in response to water and nutrient availability, adapting to seasonal conditions. This knowledge highlights the importance of considering seasonal variations and orchid developmental stages to design effective conservation and management strategies for vulnerable species in changing ecosystems.

Keywords:

Wet season, dry season, Mexican endemism, orchid mycorrhiza, epiphytic orchid.

Introducción

La micorrización es un proceso por el cual diferentes hongos son capaces de crear una relación simbiótica con diversas especies de plantas, por lo general, cuando la relación se establece, tanto la planta como el hongo involucrado obtienen nutrientes del otro organismo que les ayudan a su supervivencia y desarrollo. Esta relación se lleva a cabo en los órganos radicales de las plantas, lo que permite el transporte de los nutrientes de manera más eficiente (Honrubia, 2009; Strullu-Derrien et al., 2017).

La micorrización es un proceso esencial para la supervivencia y desarrollo de las orquídeas, especialmente durante las etapas iniciales de germinación y desarrollo (Arditti et al., 1979, Arditti y Ghani, 2000). Esta asociación con hongos micorrízicos proporciona a las orquídeas los nutrientes necesarios, especialmente carbono y nitrógeno, a través de estructuras especializadas llamadas pelotones, que se forman dentro de las células del tejido cortical de la raíz (Smith y Read, 2008). Esta relación no solo favorece la nutrición de las plantas, sino que también puede variar significativamente con las condiciones climáticas y el estado de desarrollo de las orquídeas (Dearnaley et al., 2017; Lespiaucq et al., 2021; Rasmussen y Whingham, 2002).

La micorrización en individuos de diferentes categorías de desarrollo ha sido reportada ampliamente en la literatura, resaltando la presencia de hongos micorrízicos tanto en etapas primarias de establecimiento como en individuos adultos. Por ejemplo, Fernández et al., (2023) estudiaron la asociación micorrízica en individuos adultos y juveniles de cuatro especies de orquídeas epífitas (*Dichaea eburnea*, *Epidendrum odontochilum*, *Masdevallia nidifica* y *Oncidium klotzschianum*); Lespiaucq et al. (2021) realizaron una revisión evaluando 73 registros de 59 poblaciones correspondientes a 25 especies en 13 estudios.

Comparando dos o tres etapas de desarrollo encontraron micorrización activa entre dichas etapas. Observando también hongos asociados con la transición de etapas de jóvenes a adultas.

Los patrones de micorrización han sido relativamente poco estudiados en diferentes condiciones climáticas. La humedad parece ser un factor importante en el desarrollo de esta asociación, puesto que se ha observado que es durante la época húmeda que se presenta una mayor colonización por parte de los hongos micorrízicos en las raíces de orquídeas (Dearnaley et al., 2017).

Los patrones de micorrización de cinco especies de orquídeas terrestres (*Tripularia discolor*, *Goodyera pubescens*, *Galearis spectabilis*, *Corallorhiza odontorhiza* y *Liparis lilifolia*) fueron estudiadas, identificando diferencias entre especies a través de las estaciones, al mismo tiempo se cuantificó la presencia de pelotones vivos y muertos y se concluyó que las condiciones climáticas permiten a las orquídeas realizar fotosíntesis durante todo el año, incluido el invierno, por lo que la actividad micotrófica no parece estar restringida por su estrategia fototrófica. La colonización micorrízica varía según la edad de las raíces y partes del rizoma, con raíces jóvenes mostrando colonizaciones activas y las más antiguas acumulando pelotones muertos. La colonización se muestra de manera continua en los tejidos de las orquídeas, fluctuando temporalmente, probablemente en respuesta a condiciones climáticas y tensiones ambientales más que a patrones estacionales o estrategias fototróficas específicas. Las orquídeas presentaron variaciones en sus patrones de micorrización respecto a las diferentes condiciones presentes en las cuatro estaciones del año (Rasmussen y Whingham, 2002).

De manera general, son varias las causas que limitan la distribución y permanencia a largo plazo de las diferentes especies de orquídeas, factores como el cambio climático, el cambio de uso de suelo, la destrucción del hábitat, la extracción excesiva de los individuos

silvestres, entre otros, afectan de manera directa o indirecta a estas plantas, a la vez que se ve comprometida la supervivencia y disponibilidad de otros organismos con los que presentan relaciones estrechas como son los polinizadores, los árboles en los que se establecen o forófitos y los hongos asociados, entre ellos, los hongos micorrízicos, teniendo como resultado que la supervivencia de las orquídeas dentro de sus hábitats naturales se vea comprometida (Martos et al., 2012; McCormick y Jacquemyn, 2014).

Estos hallazgos subrayan la complejidad de la relación simbiótica entre las orquídeas y los hongos micorrízicos, destacando la importancia de considerar las variaciones estacionales y las etapas de desarrollo de las plantas al estudiar la interacción micorrízica. El entendimiento de estos mecanismos no solo contribuye al conocimiento fundamental de la ecología de las orquídeas, sino que también puede guiar estrategias de conservación y manejo de las especies vulnerables en entornos cambiantes y bajo presiones que afectan su estabilidad ecológica.

El Área Voluntaria para la Conservación “Tenderio” perteneciente a la Comunidad Indígena Santiago Tingambato constituye un sitio destinado a la conservación de ecosistemas forestales y su biodiversidad asociada. Dentro de sus 360 hectáreas se localiza una población remanente de *Oncidium reichenheimii*, especie cuya abundancia ha disminuido notablemente en los últimos años. Mientras que Herrera-Villanueva et al. (2019) reportaron la presencia de 88 individuos, en recorridos recientes realizados como parte del presente estudio se observaron alrededor de 40 individuos, sin evidencia de reclutamiento. Esta disminución resalta la necesidad de generar conocimiento científico que contribuya a la comprensión de los factores ecológicos que afectan a la especie con el fin de diseñar estrategias adecuadas para su conservación.

El objetivo de este trabajo fue: caracterizar los patrones de micorrización en raíces de individuos en diferentes categorías de desarrollo de *O. reichenheimii* en condiciones

climáticas contrastantes, incluyendo los patrones de micorrización entre las raíces aéreas y las raíces de sustrato, así como la preferencia de la micorrización a lo largo de la raíz (parte base, media y apical).

Materiales y métodos

Descripción climática. Se recabaron los datos de temperatura y precipitación media de la estación meteorológica más cercana al sitio de estudio (Zamora, Michoacán) en la web Meteostat (<https://meteostat.net/>) del ciclo climatológico anual previo, para determinar las épocas de colecta (época húmeda y época seca).

Se descargaron y procesaron los datos de temperatura (media, mínima y máxima) y precipitación media diarios para identificar los cambios generales en las condiciones climáticas de los ciclos climatológicos de las épocas de colecta.

Sistema de estudio. *Oncidium reichenheimii* (Linden & Rchb.f.) Garay & Stacy es una planta epífita que puede alcanzar una altura de hasta 1 metro. Posee pseudobulbos ovalados que miden aproximadamente 7-11 cm de longitud y 3.5-4 cm de ancho. Sus hojas son elípticas y lanceoladas, llegando a medir hasta 40 cm de largo. Las flores se presentan en varas florales que alcanzan hasta 60 cm de longitud. Los pétalos y sépalos con longitud de 2-4 cm y ancho de 5-8 cm, mostrando colores que varían desde verde hasta rojo, con grandes manchas y bandas más oscuras. La base de la columna es de color blanco, mientras que el labelo muestra un blanco en la base y apical, y el resto de color violeta. El labelo es notablemente más corto que los sépalos, midiendo alrededor de 1.7-2.5 cm de largo (Figura 1) (McVaugh, 1985).

Se trata de una especie de orquídea endémica de México que se encuentra generalmente en bosques de pino-encino, ubicados a una altitud entre 1200 y 1900 metros sobre el nivel del mar. Sus poblaciones naturales han sido observadas en diversos bosques de los estados de Chiapas, Estado de México, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos y

Oaxaca (Beutelspacher, 2008; Domínguez, 2015; Rojas-Zenteno et al., 2016; Solano et al., 2013).

Colecta del material biológico. Dentro del Área Voluntaria para la Conservación “Tenderio”, de la Comunidad Indígena de Santiago Tingambato, Michoacán, se colectaron raíces *in situ* de los individuos silvestres de *O. reichenheimii* localizados, se identificaron solamente dos etapas de desarrollo, juveniles (sin evidencia de vara floral) y adultos (con evidencia de vara floral), no se localizaron individuos en etapa de plántula o protocormo.

Los árboles forofitos y orquídeas de donde se colectaron las raíces fueron marcados con listón y etiqueta de aluminio, respectivamente, para recolectas en los mismos individuos.

En la primera colecta se localizaron, etiquetaron y colectaron raíces aéreas y de sustrato de 14 individuos, tres de ellos en estado de desarrollo adulto, con evidencia de una o más varas florares previas; los 11 restantes se encontraban en estado juvenil, sin evidencia de varas florales al momento de la colecta.

Durante la segunda colecta, de los 14 individuos marcados solo se pudieron colectar 13 debido a la extracción furtiva de uno de los juveniles previamente etiquetados. Se obtuvieron raíces aéreas y de sustrato de 8 individuos más, cinco de ellos en estado adulto y tres juveniles. Sumando así un total de 21 individuos.

La colecta de raíces se realizó en época húmeda y época seca adaptando la metodología de Zettler et al. (2017) para su posterior caracterización. El corte de las raíces se realizó con tijeras estériles, desde la base de la raíz, procurando colectar un mínimo de una raíz aérea y una raíz adherida al sustrato, por cada individuo marcado. Se colocó cada una de las raíces de manera individual en un tubo de ensayo con tapa de rosca previamente esterilizado, que contenía un trozo de algodón húmedo con agua destilada. Los tubos con raíces se rotularon identificando la planta de la que provenían y se colocaron en una hielera a una temperatura de 15-25°C para su traslado al Laboratorio de Biología de Conservación

Vegetal de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Se almacenaron en refrigeración a 4°C por un máximo de 24 hrs hasta su procesamiento para la medición del porcentaje de micorrización. Las colectas se realizaron en época húmeda durante los meses de septiembre de 2022 y 2023 (H1 y H2) y en época seca durante los meses de mayo de 2023 y 2024 (S1 y S2).

Porcentaje de micorrización. Para determinar el porcentaje de micorrización las raíces se lavaron con agua destilada con el fin de retirar restos de sustrato, se midió la longitud de cada raíz y posteriormente se realizaron cortes transversales de aproximadamente 1 mm de grosor cada 5 mm a partir de la base de la raíz. El porcentaje de micorrización se determinó dividiendo el total de células con pelotones entre el total de células del córtex de cada uno de los cortes micorrizados, el resultado se dividió entre el total de cortes y se multiplicó por 100 (modificado de Beltrán-Nambo, 2010).

$$\% \text{ de micorrización} = \frac{\frac{\text{Células con pelotones}}{\text{células del córtex}}}{\text{Total de cortes}} \times 100$$

Se observó cada corte en microscopio óptico ZEISS® modelo PrimoStar con objetivo 40X contando la cantidad de células con presencia de pelotones, los pelotones variaron en su tamaño, empaquetamiento y disposición de su masa hifal (Hadley y Williamson, 1970; Kaur, 2020), por lo que se consideraron tres categorías: pelotones intactos (con presencia de hifas claramente distinguibles, abarcando casi la totalidad de la célula), pelotones en proceso de digestión (con presencia de hifas digeridas y algunas hifas intactas, en una masa semicompacta de tamaño intermedio) y pelotones digeridos (hifas digeridas en forma de una masa compacta y pequeña) (Beltrán-Nambo, 2010), así como el número total de células corticales. Se realizó una segunda colecta por época (S2 y H2) realizando el mismo procedimiento de colecta y observación descrito anteriormente. En esta ocasión, se realizó la tinción de las raíces enteras con azul de tripano para observación de los diferentes tipos de pelotones con mayor claridad (Ávila-Díaz, 2007).

Se registró la preferencia de la micorrización a lo largo de la raíz. Ésta se determinó dividiendo la totalidad de cortes obtenidos entre tres, estableciendo las siguientes categorías: base (cortes de la parte más cercana al rizoma), media (cortes de la zona intermedia) y apical (cortes de la zona apical), y se calculó el porcentaje promedio de cortes micorrizados por cada zona (modificado de Matsuda et al., 2009).

Análisis estadísticos. Los datos se analizaron con el programa estadístico JMP® versión 11. A. Se realizaron pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis con un valor de alfa de 0.05 para determinar diferencias significativas ($p \leq 0.05$), se realizó la prueba de pares de Mann-Whitney para localizar qué grupos de datos son los que presentan dichas diferencias.

Resultados

Descripción climática. Se obtuvieron datos de temperatura máxima, mínima y promedio, y precipitación media diaria del 01 de enero de 2021 al 31 de agosto de 2022 en la web <https://meteostat.net/es/>, de acuerdo con los valores de temperatura promedio y precipitación media diaria promedio mensuales, se catalogaron dos épocas:

Época Húmeda: junio 20.4°C, 5.5 mm; julio 19.9°C, 4.8 mm; agosto 19.6°C, 4.3 mm; septiembre 19.1°C, 3.8 mm; octubre 19.2°C, 1.9 mm; noviembre 17.2°C, 0 mm.

Época Seca: diciembre 16.5°C, 0.18 mm; enero 16.6°C, 0.03 mm; febrero 17.6°C, 0.4 mm; marzo 19.8°C, 0.01 mm; abril 22.8°C, 0.03 mm; mayo 24.2°C, 0.4 mm.

Debido a las características de precipitación y temperatura promedio, se realizaron las colectas de raíces de *O. reichenheimii* durante los meses de septiembre de 2022 (H1) y septiembre de 2023 (H2); y los meses de mayo de 2023 (S1) y mayo de 2024 (S2).

Los cambios generales en las condiciones climáticas, de los promedios mensuales de la temperatura y el promedio mensual de la precipitación media diaria se muestran en la Figura 2 y la Figura 3, respectivamente. Se observa un aumento de la temperatura promedio mensual tanto entre épocas húmedas como en épocas secas, siendo que en H1 la temperatura

promedio del mes de colecta fue de 19.27°C y aumentó a 27.75°C en H2 (Figura 2), con disminución de la precipitación media de 4.8 mm a 2.78 mm (Figura 3). A su vez, durante las épocas secas se observa el mismo patrón con un aumento de temperatura de 22.88°C en S1 a 26.58°C en S2 (Figura 2) y un descenso de la precipitación de 0.38 mm a 0.07 mm (Figura 3).

Porcentaje de micorrización. En cuanto a las categorías de edad, la micorrización y los tipos de pelotones encontrados en las raíces de individuos juveniles no presentaron diferencias significativas respecto a las de los individuos adultos (Figura 4). Este patrón se observó en las colectas correspondientes a H1, S1 y H2; solo en S2 se encontraron diferencias significativas ($H_{(1)}=4.8228$, $p=0.0280$) con mayor cantidad de pelotones digeridos en individuos juveniles. Al comparar los porcentajes de micorrización entre H1 y S1, se observan diferencias significativas en la micorrización total ($H_{(1)}=7.8859$, $p=0.0050$), siendo mayor en S1 (4.39%) que en H1 (2.27%). En H1 se observa significativamente ($H_{(1)}=33.4528$, $p<0.0001$) mayor presencia de pelotones intactos mientras que en S1 se registraron diferencias significativas con mayor presencia de pelotones en proceso de digestión ($H_{(1)}=20.7684$, $p<0.0001$) y digeridos ($H_{(1)}=26.2601$, $p<0.0001$) (Figura 5).

Tras la observación de patrones de micorrización mediante tinción con azul de tripano, en H2 y S2 se obtuvieron significativamente ($H_{(1)}=7.6891$, $p=0.0056$) mayor cantidad de pelotones intactos en H2 respecto a S2 (Figura 6). Los porcentajes de micorrización general, pelotones en proceso de digestión y pelotones digeridos no presentan diferencias significativas entre las épocas, sin embargo, se observa una tendencia a que la micorrización sea mayor durante S2 (Figura 7).

Respecto a los tipos de raíces, en ninguna de las épocas y categorías de desarrollo se presentaron diferencias significativas en los patrones de micorrización entre raíces aéreas y de sustrato.

En relación con la distribución de la micorrización en las diferentes zonas de las raíces (base, media y apical), esta fue variable en cada una de las épocas revisadas:

En H1 se encontraron diferencias significativas ($H_{(2)}=25.1404$, $p<0.0001$) con mayor micorrización en los cortes de la zona apical (11.36%) respecto a las zonas media (4.25%) y base (2.09%), en contraste, en H2 se observan diferencias significativas ($H_{(2)}=9.0483$, $p=0.018$), siendo los cortes con mayor micorrización promedio aquellos de la zona base (30.68%) y media (32.88%) respecto a la zona apical (19.66%).

En S1 no se observan diferencias significativas entre la micorrización por zonas: base (53.3%), media (52.3%) y apical (39.9%); al igual que en S2: base (53%), media (45.6%) y apical (37.8%), sin embargo, se observó la tendencia a ser menor en zona apical, como lo observado en H2.

Por lo anterior, se compararon los porcentajes de micorrización obtenidos de los cuatro muestreos considerando solamente la distribución de la micorrización por zonas para determinar la distribución general de la micorrización en las raíces de *O. reichenheimii*, el análisis arrojó diferencias significativas ($H_{(2)}=6.6164$, $p=0.0366$) con mayor micorrización, en la zona base y la media de las raíces (20.04% y 20.07% respectivamente) respecto a la zona apical (15.18%) (Figura 8).

Durante las observaciones de los cortes de raíces en las épocas S1, H2 y S2 se registraron cortes que no contenían células en el tejido cortical y cortes cuyo tejido se encontró oxidado, por lo tanto, no arrojaron información respecto a la micorrización. Se analizó el porcentaje promedio de los cortes sin presencia de células corticales y células oxidadas, comparando los cuatro muestreos considerando solamente su distribución, tomando en cuenta las mismas zonas antes referidas. Se registraron diferencias significativas ($H_{(2)}=10.9944$, $p=0.0041$) identificando mayor predominancia de los mismos en la zona

apical (15.29%) y la menor predominancia en las zonas base (5.34%) y media (4.64%) (Figura 8).

Considerando la presencia de cortes que no presentaron células en el tejido cortical, se realizaron las pruebas estadísticas para determinar la existencia de una relación de pérdida parcial de este tejido con respecto a las condiciones climáticas. Estas pruebas arrojaron diferencias significativas ($H_{(3)}=35.8169$, $p<0.0001$), siendo la época S2 la que presenta mayor pérdida de células corticales (Figura 9).

Observaciones en campo. Durante las diversas vistas y colectas en campo, nos pudimos percatar de la baja existencia de raíces en buen estado y aún más la baja predominancia de brotes nuevos. A su vez, solamente se identificó la floración de dos individuos adultos de los que se colectaron raíces en S1, mismos que perdieron la totalidad de sus flores a las pocas semanas de su observación.

Discusión

Se observó un aumento general de la temperatura máxima, mínima y promedio mensuales tanto entre épocas húmedas como entre épocas secas, al pasar del muestreo 1 al 2 (Figura 2) con disminución importante de la precipitación media en ambos casos (Figura 3).

El presente trabajo indica que no existe variación en la micorrización entre individuos juveniles e individuos adultos, resultados similares fueron obtenidos por Ordoñez et al. (2014), quienes al estudiar los patrones de micorrización entre adultos y juveniles de *Masdevallia coccinea* no encontraron diferencias significativas entre las categorías de desarrollo analizadas. Así mismo, Jiménez-Peña et al. (2018) reportaron que la orquídea epífita *Laelia autumnalis* presenta micorrización en su etapa adulta. Nuestros resultados también son similares a los reportados por Sathiyadash et al. (2012) quienes encontraron altos niveles de micorrización (del 34% en *Luisia zeylanica* al 79% *Acampe praemorsa*) en

22 especies epífitas, resaltando la importancia de la asociación en orquídeas con esta forma de vida. Los ambientes epífitos son considerados de bajos nutrientes, por lo que las orquídeas necesitan adaptar sus estrategias para optimizar la nutrición (Osorio-Gil et al., 2008), como es el caso de *O. reichenheimii* al no presentar variación en la micorrización entre categorías de desarrollo, sugiriendo la dependencia de la micorrización para la nutrición en todas las etapas de su ciclo de vida, adaptándose a la escasez de nutrientes que el ambiente epífita representa.

Oncidium reichenheimii presenta variación en los porcentajes de células micorrizadas entre las épocas consideradas, ya que, de manera general, se observa mayor micorrización en las épocas secas, sin embargo, se trata de pelotones en proceso de digestión y digeridos, lo que sugiere el aprovechamiento de las estructuras fúngicas como fuente de nutrientes y agua en la época de menor humedad disponible en el ambiente. A su vez, durante las épocas húmedas, se observó una mayor cantidad de pelotones intactos sugiriendo una colonización reciente, estos resultados son consistentes con los reportados en la literatura para *Tripularia discolor*, *Goodyera pubescens*, *Galearis spectabilis*, *Corallorhiza odontorhiza* y *Liparis lilifolia*, que presentaron variaciones en la micorrización y tipos de pelotones asociados a las condiciones climáticas y tensiones ambientales presentes en las diferentes estaciones del año fluctuando temporalmente (Rasmussen y Whingham, 2002); *Rynchostilis retusa* y *Vanda tessellata* presentaron diferencias en la micorrización, siendo esta significativamente mayor durante la época húmeda y menor en época seca (Sayem et al., 2024); *Epidendrum stamfordianum*, *Stelis quadrifida* y *Erycina crista-galli* con mayor presencia de pelotones “frescos” durante la época húmeda, mismos que solamente fueron encontrados en *Erycina crista-galli* durante la época seca y en muy baja cantidad (Bertolini et al., 2014).

De manera general, los patrones observados indican que *O. reichenheimii* responde de forma diferencial a las condiciones climáticas, ajustando la distribución de los recursos conforme a sus necesidades nutricionales y las demandas ambientales.

Los resultados obtenidos de valores de micorrización y tipos de pelotones predominantes en cada época sugieren que las plantas que se encuentran en condiciones menos favorables durante la época seca, tienden a modificar los patrones de micorrización pues es en época seca que se observa una mayor micorrización general de las raíces, sin embargo, la mayoría de los pelotones presentes en esta época se encuentran digeridos o en proceso de digestión, lo que sugiere un mayor aprovechamiento de los hongos por parte de las plantas, estos resultados difieren con lo propuesto por Dearnaley et al. en 2017, quienes mencionan que la época húmeda favorece la colonización por parte de los hongos, pero, todo apunta que en *O. reichenheimii* se están presentando diferentes variables ambientales que modifican los patrones generales de micorrización en las orquídeas.

Por su parte, los tipos de pelotones prevalentes en cada época son consistentes con lo reportado en la literatura, pues se observa mayor prevalencia de pelotones intactos en la época húmeda y pelotones digeridos y en proceso de digestión durante la época seca (Figura 5 y Figura 7), lo cual podría reforzar lo propuesto anteriormente. Por otro lado, se considera importante continuar con estudios a largo plazo de las modificaciones de los patrones de micorrización a través del tiempo y en condiciones climáticas contrastantes, en el contexto actual de cambio climático.

Las raíces colectadas para la realización de este estudio, tanto aéreas como de sustrato, no presentaron diferencias entre la micorrización, tipo de pelotones presentes o distribución de la micorrización entre ellas, sin embargo, las raíces reportadas aquí como aéreas no fueron exentas de estar en contacto con el sustrato o con otros tejidos de la planta en algún punto de la zona basal o media, por lo mismo, estas raíces deberían ser

reconsideradas como semi aéreas. Estos resultados podrían ser similares a los reportados para otras especies epífitas en la literatura: *Laelia furfuracea* (García-Sánchez et al., 2024), *L. autumnalis* (Jiménez-Peña et al., 2018), *Rodriguezia granadensis* (Romero-Salazar et al., 2022) y 22 especies epífitas (Sathiyadash et al., 2012), donde mencionan que las raíces aéreas estaban libres de micorrización cuando no se encontraban en contacto con el sustrato, o se encontraban parcialmente micorrizadas en la zona basal cuando el contacto con el sustrato fue esporádico. En *O. reichenheimii* no se observaron raíces completamente aéreas, lo que puede sugerir una fuerte dependencia de esta especie a la micorrización para su supervivencia.

Estos descubrimientos resaltan la complejidad de la relación simbiótica entre las orquídeas y los hongos micorrízicos, enfatizando la importancia de tener en cuenta las variaciones estacionales y las etapas de desarrollo de las plantas al investigar la micorrización.

En cuanto al aumento de la pérdida de tejido entre épocas, nuestros resultados aparentan tener una relación con los niveles de temperatura y precipitación registrados en las épocas de colecta, siendo S2 la época que presenta mayor porcentaje promedio de cortes sin células en el tejido cortical (Figura 9) y los mayores niveles de temperatura ambiental promedio (Figura 2), seguido de la época H2. Los resultados obtenidos en este estudio, donde se presenta una mayor micorrización de las zonas basal y media no pueden ser concluyentes debido a la falta de información de la zona apical con el paso del tiempo, ya que en H1 estos resultados fueron totalmente opuestos, pues la zona mayormente micorrizada fue la apical sin mostrar pérdida u oxidación del tejido cortical en ningún corte observado. En la literatura se ha reportado mayor presencia de la micorrización de las raíces en las zonas más cercanas a la base, como es el caso de *L. autumnalis* (Jiménez-Peña et al., 2018) en la zona basal y,

de manera similar *Rodriguezia granadensis* mostró mayor micorrización en las zonas basal (70%), seguida de la media (60%) y al final la apical (35%) (Romero-Salazar et al., 2022).

Se recomienda estudiar con mayor profundidad las condiciones que pudieran estar ocasionando las respuestas observadas en campo como son la pérdida de varas florales, ausencia de eventos reproductivos en individuos adultos, abundancia de raíces senescentes, poca aparición de brotes nuevos y pérdida y oxidación del tejido cortical; así como continuar con estudios sobre la micorrización a través de las diferentes etapas de desarrollo de *O. reichenheimii* para entender mejor la biología y la ecología en todos los niveles de la relación micorrízica, y así mismo poder establecer estrategias y acciones concretas que permitan la conservación de esta especie y el ecosistema en el que se desarrolla.

Comprender estos mecanismos no solo amplía el conocimiento básico sobre la ecología de las orquídeas, sino que también puede orientar estrategias para la conservación y gestión de especies vulnerables en entornos que están en constante cambio.

Agradecimientos

A la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH por el apoyo económico brindado a través del proyecto “Asociación micorrízica y cultivo *in vitro* de orquídeas epífitas en riesgo, del Predio de Tenderio, de la Comunidad Indígena de Santiago Tingambato, Michoacán, México”, cuya responsable es la D. en C. Irene Ávila Díaz. A CONAHCYT por el apoyo a través del Programa de Becas para Estudios de Posgrado brindada a Jorge de Jesús Arriaga Cardona, CVU 1278467. A la M. en C. Marysol Sales Figueroa por su invaluable apoyo en campo, cuya guía y conocimiento del mismo facilitó la colecta del material biológico.

Referencias

- Arditti, J. y Ghani, A.K.A. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*, 145, 367-421.
- Arditti, J., Michaud, J.D. y Healey, P.L. (1979). Morphometry of orchid seeds. I. *Paphiopedilum* and native California and related species of *Cypripedium*. *American Journal of Botany*, 66(10), 1128-1137.
- Ávila-Díaz, I. (2007). Biología de poblaciones de *Laelia speciosa* (HBK) Schltr. (Orchidaceae) para su manejo y conservación (Tesis doctoral). Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- Beltrán-Nambo, M. de los A. (2010). Aislamiento y caracterización de hongos micorrízicos asociados a orquídeas terrestres del género *Bletia* (Orchidaceae) en la Reserva Natural Barranca de Cupatitzio, del Mpio. de Uruapan, Michoacán. (Tesis de maestría). Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia.
- Bertolini, V., Cruz-Blasi J., Damony, A. y Valle-Mora, J. (2014). Seasonality and mycorrhizal colonization in three species of epiphytic orchids in southeast Mexico. *Acta Botanica Brasilica*, 28(4), 512-518.
- Beutelspacher, B. C. R. (2008). Catálogo de las orquídeas de Chiapas. *Lacandonia*, 2, 24-115.
- Dearnaley, J., Perotto S. y Selosse, M.A. (2017). Structure and development of orchid mycorrhizas. En F. Martin (Ed.). *Molecular Mycorrhizal Symbiosis* (pp. 63-86). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Domínguez, G. I. (2015). *Listado y caracterización ecológica de las orquídeas epífitas del Predio de Tenderio, de la comunidad indígena de Santiago Tingambato, Michoacán, México* (Tesis de licenciatura). Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia.

Fernández, M., Kaur, J. y Sharma, J. (2023). Co-occurring epiphytic orchids have specialized mycorrhizal fungal niches that are also linked to ontogeny. *Mycorrhiza*, 33, 87-105.

García-Sánchez, C., Pérez-Moreno, J., Almaraz-Suárez, J.J., Delgadillo-Martínez, J. y Cetina-Alcalá, V.M. (2024). Distribución de la colonización micorrízica en las raíces de la orquídea Neotropical *Laelia furfuracea* Lindl. *Caldasia*, 46(2), 339-349.

Hadley, G. y Williamson, B. (1971). Analysis of the post-infection growth stimulus in orchid mycorrhiza. *New Phytologist*, 70, 445-455.

Herrera-Villanueva, P., Ávila-Díaz, I., López-Toledo, A.L, Cabreara-Martínez, L. y Villanueva, C.L. (2019). Ecological characterization of *Oncidium reichenheimii* with regard to its conservation. *Proceedings 22th World Orchid Conference*. Ecuador. 576-587.

Honrubia, M. (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66(1), 133-144.

Jiménez-Peña, N., Sandoval-Villa, M., Volke-Haller, V.H., Pedraza-Santos, M.E. y Fernández-Herrera, E. (2018). Colonización micorrízica de *Laelia autumnalis* (La Llave & Lex.) Lindl.). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5(15), 547-553.

Kaur, S. (2020). Mycorrhiza in orchids. En J.M. Merilón, H. Kodja (Eds). *Orchids phytochemistry, biology and horticulture* (pp 1-14). Suiza: Springer Nature Switzerland AG.

Lamprecht, C. s.f. Meteostat. En <https://meteostat.net/>. Acceso el 01 de septiembre de 2022.

Lespiaucq, A.V., Jacquemyn, H., Rasmussen, H.N. y Méndez, M. (2021). Temporal turnover in mycorrhizal interactions: a proof of concept with orchids. *New Phytologist*, 230, 1690-1699.

Martos, F., Munoz, F., Pailler, T., Kottke, I., Gonneau, C. y Selosse, M.A. (2012). The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids. *Molecular Ecology*, 21, 5098-5109.

- Matsuda, Y., Amiya, A. e Ito, S. (2009). Colonization patterns of micorrhizal fungi associated with two rare orchids *Cephalanthera falcata* y *C. erecta*. *Ecological Research*, 24,1023-1031.
- McCormick, M. K. y Jacquemyn, H. (2014). What constrains the distribution of orchid populations?. *New Phytologist*, 202, 392-400.
- McVaugh, R. (1985). *Flora Novo-Galiciana: a descriptive account of the vascular plants of western Mexico. Vol. 16 Orchidaceae*. Ann Arbor, Michigan: The University of Michigan Press.
- Ordoñez, N.F., Otero-Ospina, J.T. y Díaz, A.L. (2014). Interacciones micorrízicas de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl. *Orquideología*, 2, 123-135.
- Osorio-Gil, E.M., Forero-Montaña, J. y Tupac-Otero, J. (2008). Variation in mycorrhizal infection of the epiphytic orchid *Sinopsis utriculariodes* (Orchidaceae) on different substrata. *Caribbean Journal of Science*, 44, 130-132.
- Rasmussen, H.N. y Whigham, D.F. (2002). Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy. *New Phytologist*, 154, 797-807.
- Rojas-Zenteno, E.C., Orozco-Villa, M., Romero-Rangel, S. y Montoya-Ayala, R. (2016). Vegetación y flora del municipio de Temascaltepec, Estado de México, México. *Polibotánica*, 42, 43.89.
- Romero-Salazar, N.C., Galvis-Gratz, J.M. y Moreno-López, J.P. (2022). Hongos formadores de micorrizas aislados a partir de la orquídea *Rodriguezia granadensis* (LINDL.) RCHB.F. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 25, e2086.
- Sathiyadash, K., Muthukumar, T., Uma, E. y Pandey, R.R. (2012). Mycorrhizal association and morphology in orchids. *Journal of Plant Interactions*. 7(3), 238-247.
- Sayem, M.A., Miah, M.S. y Hossain M.M. (2024) Isolation and identification of endophytic fungi from the roots of two epiphytic orchids: *Rynchosstylis retusa* (L.) Bl. and *Vanda*

tessellata (L.) Bl. University of Chittagong, recuperado el 01 de marzo de 2024 de:
<https://www.researchsquare.com/article/rs-4463026/v1>

Smith, S.E. y Read, D.J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. 3a ed. Cambridge, UK: Academic Press.

Strullu-Derrien, C., Kenrick, P. y Selosse, M.A. (2017). Origins of the mycorrhizal symbioses. En F. Martin (Ed.). *Molecular Mycorrhizal Symbiosis* (pp. 03-20). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Zettler, L. W., Rajaovelona, L., Yokaya, K., Kendon, J. P., Stice, A. L., Wood, A. E. y Sarasan, V. (2017). Techniques for the collection, transportation and isolation of orchids endophytes from afar: a case study from Madagascar. *Botanical Studies*. 58:54.



Figura 1. *O. reichenheimii* in situ: a) Pseudobulbos, hojas y raíces de adulto en forofito; b) Flor de *O. reichenheimii*. c) Colecta de raíces de plantas juveniles y adultas.

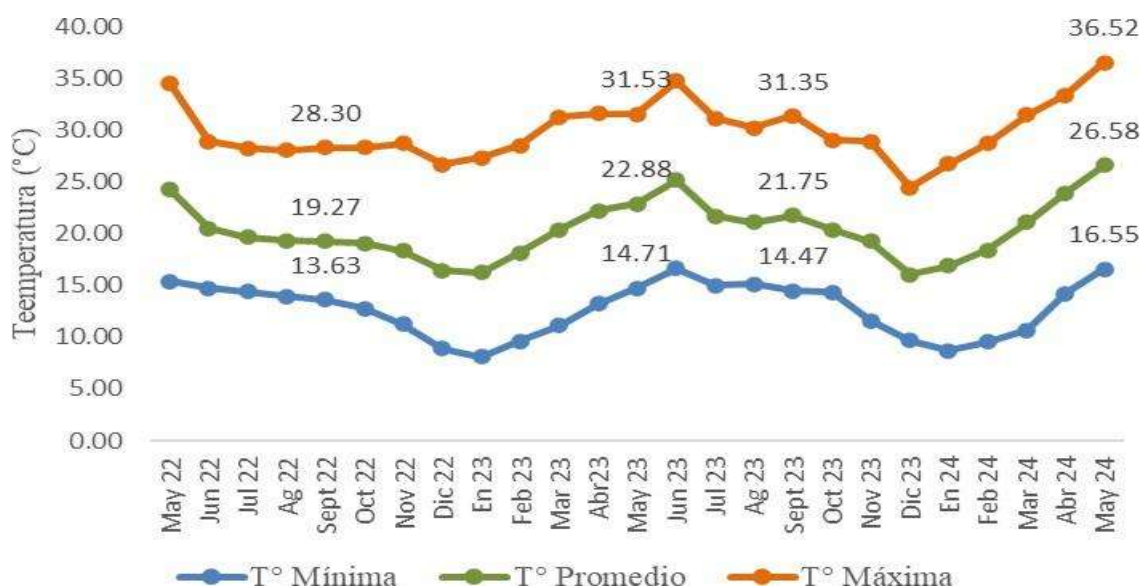


Figura 2. Temperatura promedio mensual de la estación meteorológica más cercana a Tingambato, Michoacán. Se destacan los valores de temperatura mínima, temperatura promedio y temperatura máxima registrados para los meses de colecta.

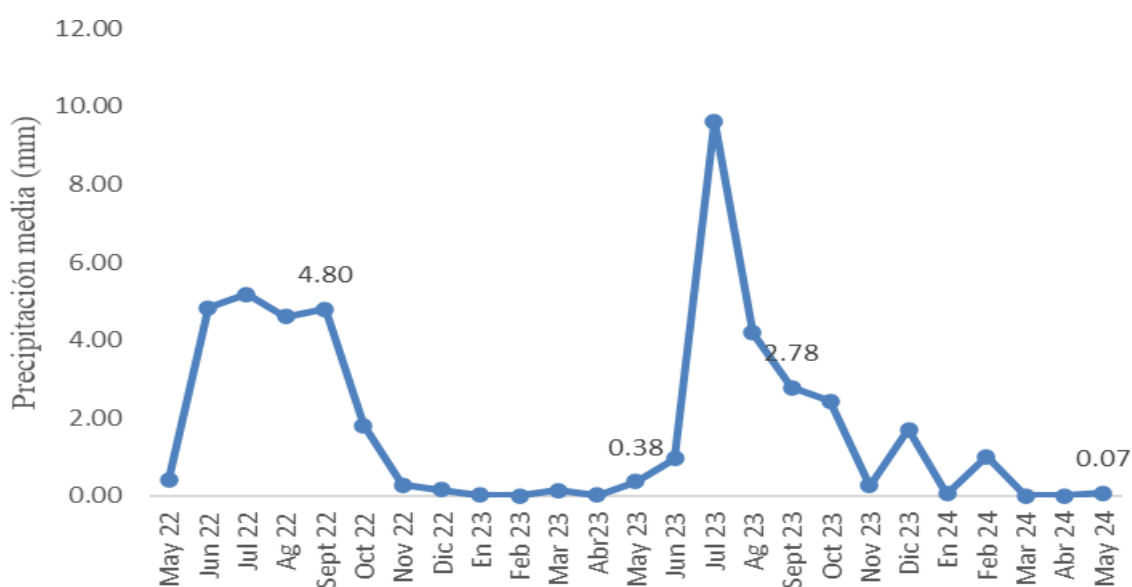


Figura 3. Precipitación media (mm) mensual de la estación meteorológica más cercana a Tingambato, Michoacán. Se utilizaron los valores de precipitación diaria para obtener el valor de precipitación media mensual. Se destacan los valores registrados para los meses de colecta.

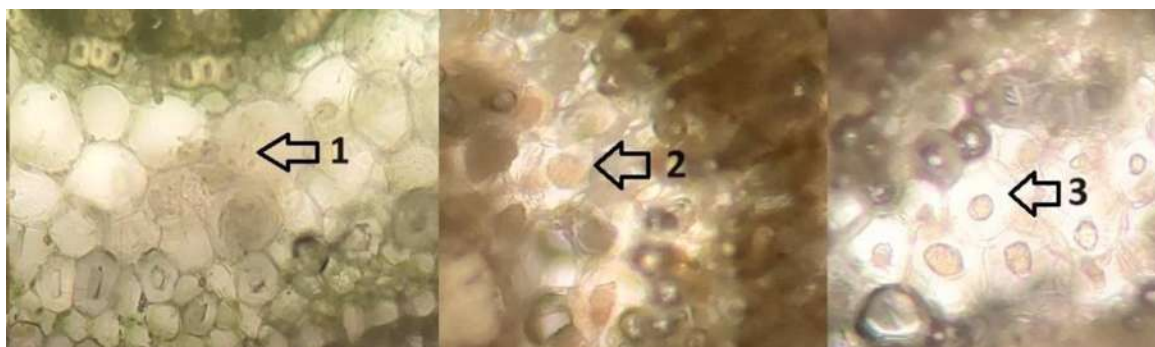


Figura 4. Tipos de pelotones. 1) Pelotones intactos; 2) Pelotones en proceso de digestión; 3) Pelotones digeridos.

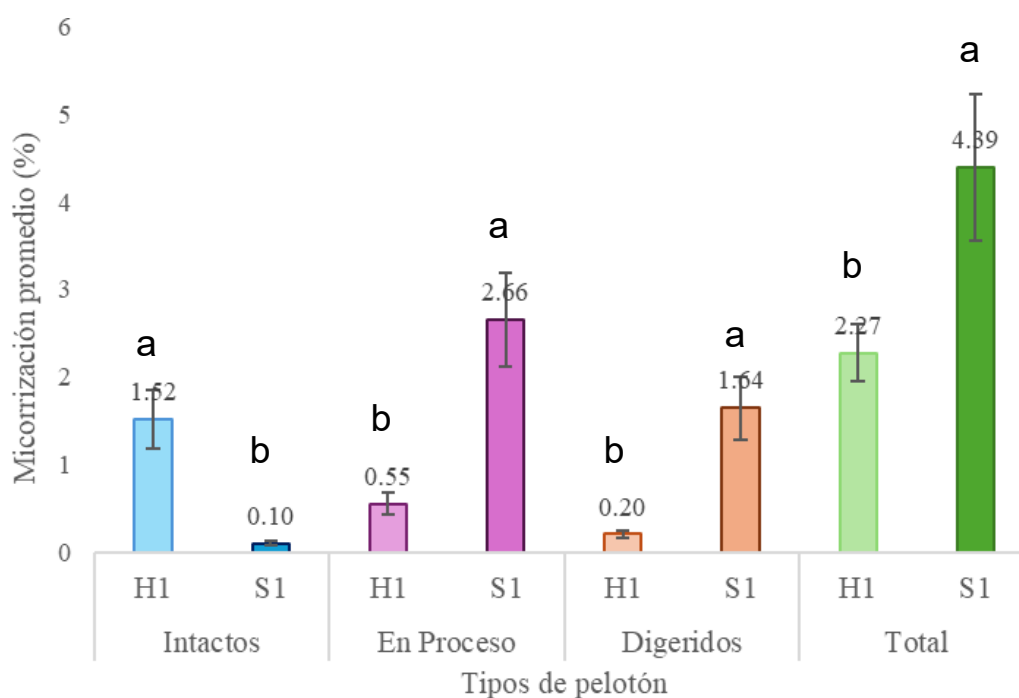


Figura 5. Porcentaje promedio de micorrización de raíces de *O. reichenheimii*, los tipos de pelotones observados (intactos, en proceso de digestión y digeridos) entre época húmeda 1 (H1) y época seca 1 (S1). Se indican las barras de error estándar.

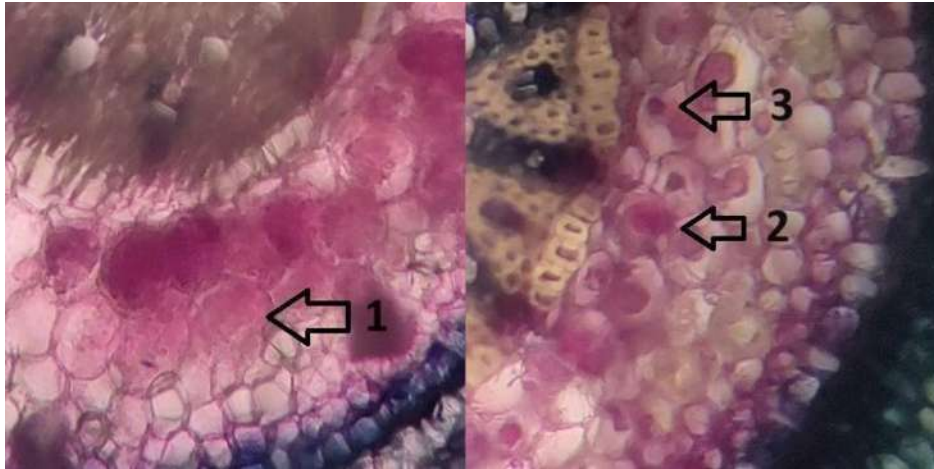


Figura 6. Tipos de pelotones teñidos con azul de tripano. **1)** Pelotones intactos; **2)** Pelotones en proceso de digestión; **3)** Pelotones digeridos.

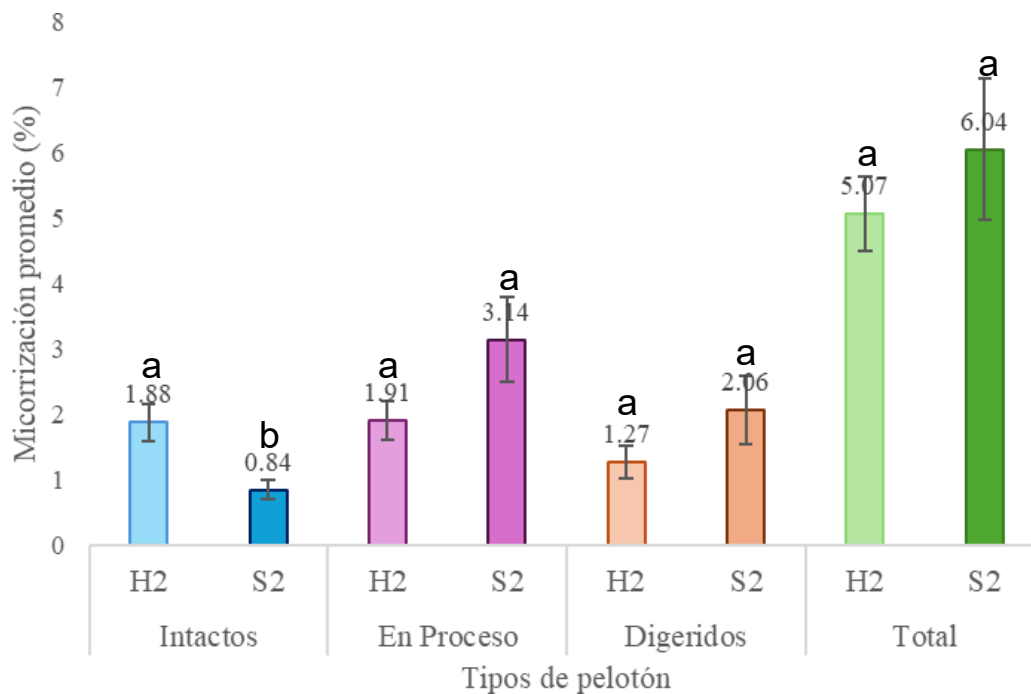


Figura 7. Micorrización de *O. reichenheimii*. Porcentaje promedio de micorrización total de los tipos de pelotones observados (intactos, en proceso de digestión y digeridos) entre las estaciones H2 (gris claro) y S2 (negro). Se indican las barras de error estándar.

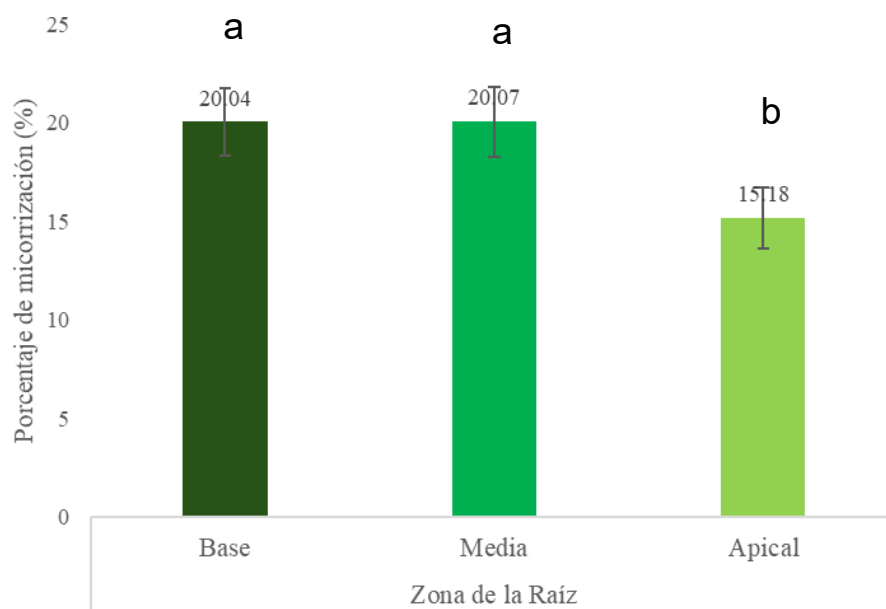


Figura 8. Distribución espacial de la micorrización en las raíces de *O. reichenheimii*. Se muestra el porcentaje promedio de cortes micorrizados por zona de la raíz.

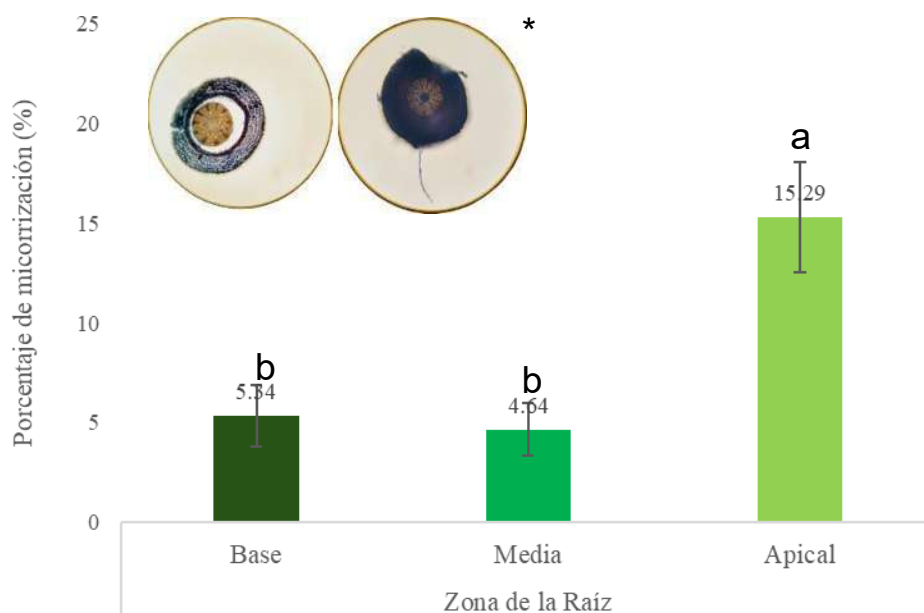


Figura 9. Porcentaje promedio de cortes sin tejido cortical o tejido cortical oxidado en *O. reichenheimii* por zona. *Se muestran ejemplos de los cortes mencionados.

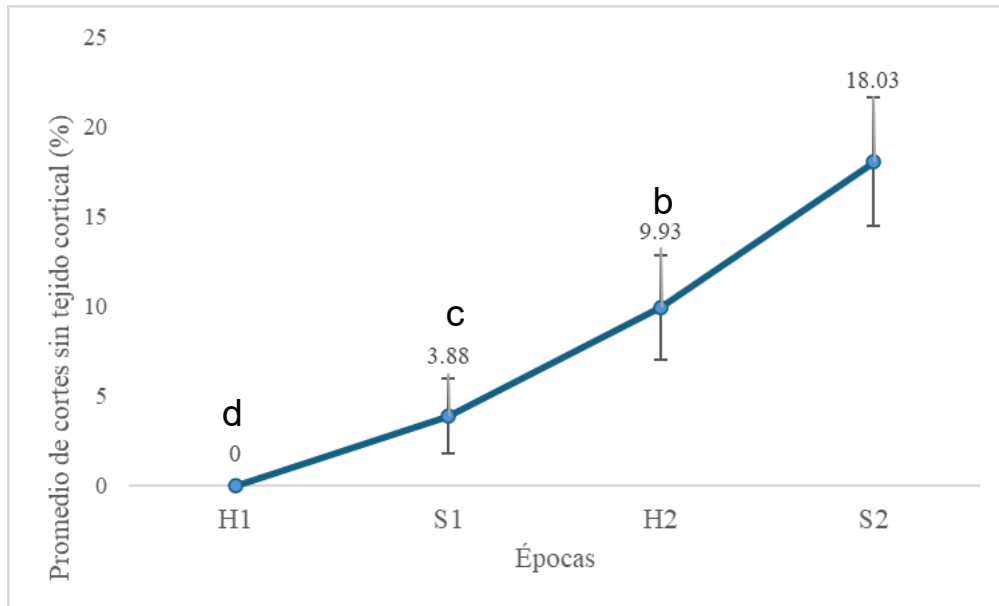


Figura 10. Porcentaje promedio de cortes de raíces observadas sin presencia de células en el tejido del córtex, en las épocas estudiadas.

XI. CAPÍTULO 2

Caracterización molecular de los hongos asociados a raíces de *O. reichenheimii* en las diferentes categorías de desarrollo y condiciones climáticas contrastantes

Resumen

La identificación de los hongos asociados es ampliamente realizada mediante regiones ITS, destacadas por su alta variabilidad y capacidad para diferenciar especies. La diversidad y composición de hongos asociados varía según las condiciones ambientales y el estadio de desarrollo de la orquídea, reflejando una relación simbiótica adaptativa. El objetivo de este capítulo fue identificar molecularmente los hongos aislados asociados a raíces de *Oncidium reichenheimii* de diferentes tipos de raíz y estados de desarrollo, en condiciones climáticas contrastantes, extrayendo el ADN de los aislados fúngicos obtenidos, por el método de fenol-cloroformo y se realizó la amplificación y secuenciación de la región espaciadora interna transcrita ITS1-5.8S-ITS2. La identificación se realizó con el uso de filogenias por el método de máxima verosimilitud. Se aislaron 29 morfotipos fúngicos obtenidos de pelotones extraídos de raíces de *O. reichenheimii*, tanto aéreas como relacionadas al sustrato de individuos juveniles y adultos en épocas secas y épocas húmedas. Encontramos mayor riqueza en época seca 1 (S1) y menor en época húmeda 2 (H2), con un recambio del 87% de los morfotipos encontrados en S1. El análisis molecular por secuenciación e identificación de las regiones ITS1-5.8S-ITS2 permitió la identificación de 9 morfotipos: tres del género *Penicillium*, dos *Leptobacillium*, y uno de *Neopestalotiopsis*, *Fusarium* y un miembro de la familia Amorosiaceae. Solamente *Umbelopsis brunnea* se pudo identificar hasta especie. Se evidenció una comunidad micorrízica parcialmente específica, con hongos persistentes, como *Penicillium* sp. 1 (M1) presente en todas las épocas, estados de desarrollo y tipo de raíz, y otros más restringidos, ya sea a ciertas condiciones ambientales, un tipo específico de raíz o a uno solo de los estados de

desarrollo. Los resultados indican una relación simbiótica dinámica y adaptativa influida por factores climáticos y ontogénicos. Resaltando la importancia de las asociaciones fúngicas en las orquídeas, no solo para entender estas dinámicas, sino también para su conservación y propagación. Conocer la identidad y ecología de los hongos asociados es importante para comprender cómo estas interacciones permiten a las orquídeas adaptarse a entornos cambiantes y extremos.

Abstract

The identification of associated fungi is widely carried out using ITS regions, highlighted for their high variability and ability to differentiate species. The diversity and composition of associated fungi vary according to environmental conditions and the developmental stage of the orchid, reflecting an adaptive symbiotic relationship. The objective of this chapter was to molecularly identify the fungal isolates associated with the roots of *Oncidium reichenheimii* from different root types and developmental stages, under contrasting climatic conditions. DNA was extracted from the fungal isolates obtained using the phenol-chloroform method, and the ITS1-5.8S-ITS2 internal transcribed spacer region was amplified and sequenced. Identification was performed through phylogenetic analyses using the maximum likelihood method. A total of 29 fungal morphotypes were isolated from pelotons extracted from the roots of *O. reichenheimii*, both aerial and substrate-related, from juvenile and adult individuals during dry and wet seasons. We found higher richness in the dry season 1 (S1) and lower in the wet season 2 (H2), with an 87% turnover of morphotypes. Molecular analysis through sequencing and identification of the ITS1-5.8S-ITS2 regions allowed the identification of nine morphotypes: three belonging to the genus *Penicillium*, two *Leptobacillium*, and one each of *Neopestalotiopsis*, *Fusarium*, and a member of the family *Amorosiaceae*. Only *Umbelopsis brunnea* was identified to species level. A partially specific mycorrhizal community was evidenced, with persistent fungi such as *Penicillium* sp. 1 (M1), present across all seasons, developmental stages, and root types, while others were more restricted to certain environmental conditions, a specific root type, or a

single developmental stage. The results indicate a dynamic and adaptive symbiotic relationship influenced by climatic and ontogenetic factors, highlighting the importance of fungal associations in orchids, not only for their conservation and propagation but also for understanding these dynamics. Knowing the identity and ecology of associated fungi is essential to understand how these interactions enable orchids to adapt to changing and extreme environments.

Introducción

Los hongos asociados a orquídeas desempeñan un papel crucial en su ecología; estos organismos pueden actuar como saprótrofos, micorrízicos, endófitos, patógenos o parásitos (Fochi *et al.*, 2017; Martos *et al.*, 2012; McCormick y Jacquemynt, 2014; Tsutsumi *et al.*, 2022), influyendo significativamente en la salud y desarrollo de las plantas hospedadoras (Rajeevan *et al.*, 2024). La identificación precisa de estos hongos es fundamental para comprender sus interacciones simbióticas con las orquídeas y su respuesta a diferentes condiciones ambientales (Ko Ko *et al.*, 2011).

Con el fin de avanzar en este conocimiento, la biología molecular ha proporcionado herramientas clave para la identificación de hongos micorrízicos de orquídeas, siendo las regiones ITS (Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal las más empleadas. Estas regiones poseen fragmentos altamente conservados y zonas de elevada variabilidad, lo que permite distinguir entre diferentes niveles taxonómicos e, incluso, llegar a la identificación a nivel de especie (Maldonado-Bonilla *et al.*, 2024). Debido a estas características, los ITS se consideran marcadores genéticos robustos lo que los hace útiles para diferenciar especies cercanas, identificar especies crípticas y realizar estudios de barcoding (Baldwin *et al.*, 1995; Boyer *et al.*, 2001; Martínez-Hernández *et al.*, 2023; Rivers *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2012) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y su posterior secuenciación.

Diversos estudios han identificado hongos asociados a orquídeas mediante la secuenciación de las regiones ITS, entre ellos los realizados en *Dichaea andina* (Alomía et al., 2022); con *Laelia speciosa* (Ávila-Díaz et al., 2013); *L. speciosa*, *L. autumnalis*, *Prosthechea citrina* y *P. squalida* (Beltrán-Nambo et al., 2018); *Rhynchostylis retusa* (Bhuiyan et al., 2021); *Dendrobium burnea*, *Epidendrum odontochilum*, *Masdevallia nidifica* y *Oncidium klotzschianum* (Fernández et al., 2023); *Paphiopedilum spicerianum* (Han et al., 2016); *Pseudorchis albida* (Kohout et al., 2013); *Vanda falcata* (Rammitu et al., 2023); *E. rhopalostele* (Riofrío et al., 2013); y *R. retusa* y *V. tessellata* (Sayem et al., 2024), por mencionar algunos. Las secuencias obtenidas en este tipo de investigaciones pueden compartirse y contrastarse en plataformas en línea, como el NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

En este estudio se aislaron hongos putativos micorrízicos a partir de pelotones de raíces de *Oncidium reichenheimii*, los cuales fueron diferenciados de acuerdo con las características macroscópicas de los cultivos. Posteriormente, se emplearon marcadores tipo ITS para su identificación.

Asimismo, este trabajo se enfocó en analizar los patrones de recambio de hongos asociados a raíces entre diferentes categorías de edad de las plantas y bajo diversas condiciones climáticas. Este fenómeno ha sido documentado en distintas especies de orquídeas epífitas, como *Tripularia discolor*, *Goodyera pubescens*, *Galearis spectabilis*, *Corallorhiza odontorhiza* y *Liparis lilifolia* (Rasmussen y Whingham, 2002); *Epidendrum stamfordianum*, *Stelis quadrifida* y *Erycina cristagalli* (Bertolini et al., 2014); *Anacamptis morio* (Ercole et al., 2015); *Bletilla striata* y *B. ochraceae* (Zeng et al., 2021); así como *R. retusa* y *V. tessellata* (Sayem et al., 2024), especies en las que se han observado diferencias en los patrones de micorrización y en la cantidad y diversidad de hongos asociados en función de las condiciones climáticas y las etapas de desarrollo.

Este enfoque resulta crucial para comprender cómo las orquídeas ajustan sus asociaciones simbióticas de acuerdo con sus necesidades fisiológicas y las variaciones ambientales, lo que puede tener implicaciones significativas en la conservación de poblaciones naturales. La investigación sobre hongos micorrízicos

de orquídeas, mediante herramientas moleculares, no solo contribuye a una comprensión más profunda de las interacciones planta-hongo a nivel molecular, sino que también proporciona información crítica para el manejo y conservación de especies amenazadas como *O. reichenheimii*. Identificar los hongos asociados en diferentes etapas de desarrollo y bajo distintas condiciones climáticas permite diseñar estrategias de conservación más efectivas que promuevan la salud y supervivencia de esta especie en su hábitat natural.

Marco Teórico

Hongos micorrízicos de orquídeas

La mayoría de los hongos encontrados en las asociaciones micorrízicas de las orquídeas son pertenecientes al género *Rhizoctonia*, el cual se trata de una agrupación polifilética de hongos con características similares pertenecientes a la división Basidiomycota (Smith y Read, 2008) de las familias Ceratobasidiaceae, Tulasnellaceae y Serendipitaceae. Estos hongos pueden ser saprótrofos, ectomicorrízicos, patógenos o parásitos de otras plantas (Fochi *et al.*, 2017; Martos *et al.*, 2012; McCormick y Jacquemyn, 2014; Tsutsumi *et al.*, 2022).

Los hongos del grupo polifilético *Rhizoctonia* se caracterizan por hifas con ramificación en ángulo recto, constricción en el punto de ramificación y septos cercanos al origen de la rama; además, suelen presentar células moniloides y raramente se observan sus etapas sexuales. Pueden ser uninucleados, binucleados (los más comunes en micorrizas de orquídeas) o multinucleados, y se organizan en grupos de anastomosis (AG), las hifas de dos aislados que pertenecen al mismo AG pueden fusionarse y unir su contenido citoplasmático; *R. solani* tiene 13 AG, 21 en los binucleados y uno en los uninucleados. Algunas especies son patógenas de numerosos cultivos, mientras que su clasificación y relaciones filogenéticas se han esclarecido mediante caracteres morfológicos y análisis de secuencias del espaciador interno transcrito ribosomal (ITS), cuyas regiones ITS-1 e ITS-2 son

ampliamente utilizadas para la identificación y diferenciación de especies debido a su variabilidad evolutiva (Otero *et al.*, 2002).

Son varios los estudios que se han encargado de la extracción, aislamiento e identificación de hongos micorrízicos provenientes de raíces de orquídeas, principalmente terrestres y en tiempos recientes de orquídeas epífitas, en sus diferentes estadios de desarrollo. Algunos de los hongos *Rhizoctonia* identificados en orquídeas adultas han sido *Epulorhiza repens*, un telomorfo (estado reproductivo sexual) de *Tulasnella deliquescens*, provenientes de raíces de orquídeas rupícolas en estado silvestre, en la comunidad de Nova Lima, Brasil (Eustáquio-Nogueira *et al.*, 2013); así como *Tulasnella* y *Ceratobasidium* encontrados frecuentemente en aislados de raíces de *Pseudorchis albida* (Kohout *et al.*, 2013).

Se han logrado aislar hongos micorrízicos asociados a la orquídea terrestre *Cremata appendiculata*, originaria del sur de Asia, de diferentes muestras de protocormos, raíces de plántulas y raíces de plántulas adultas, obteniendo un 75.7% de los aislados de protocormos pertenecientes a la familia Psathyrellaceae, relacionados al género *Coprinellus* y menor abundancia de hongos de las familias Ceratobasidiaceae (0.69%) y Sebacinaceae (0.9%), familias típicas de las asociaciones micorrízicas en orquídeas (*Rhizoctonia*). Sin embargo, la dominancia se invertía en aquellos aislados de plántulas e individuos adultos, indicando un recambio de la comunidad fúngica en el desarrollo de estadios mayores, lo que indicaría un recambio mediado por las necesidades fisiológicas de la orquídea durante su desarrollo (Zahn *et al.*, 2002).

Por su parte, algunos hongos de la división Ascomycota han sido aislados de raíces de orquídeas, tal es el caso de *Fusarium oxysporum* proveniente de raíces de *Blettia striata* (Jiang *et al.*, 2019), así como hongos de los géneros *Hypocreales* y *Pleosporales* de raíces de *Liparis krameri*, géneros de hongos que generalmente incluyen algunos patógenos agresivos, ocasionales o contaminantes, aun así, el género que más se identificó en la mayoría de los aislados fue *Tulasnella*, mismo

que se reconoce como parte del grupo polifilético *Rhizoctonia* (Tsutsumi *et al.*, 2022).

En cuanto a especies de orquídeas de hábito epífita, se han identificado hongos del complejo *Rhizoctonia* altamente representado en *Rodriguezia granadensis* (Romero-Salazar *et al.*, 2022) y en menor cantidad el género *Xylaria* (Ascomycetes). En otros estudios se han identificado otros hongos del complejo *Rhizoctonia* como diversas especies del género *Tulasnella* altamente frecuentes en raíces de *Encyclia tampensis* (García *et al.*, 2024), *Cattleya jongheana*, *C. cinnabarina*, *C. caulescens* y *Zygopetallum maxillarae* (Silva-Freitas *et al.*, 2020), *Epidendrum rhopalostele* (Riofrío *et al.*, 2013), *Laelia autumnalis*, *L. speciosa* y *Prosthechea squalida* (Beltrán-Nambo *et al.*, 2018); *Ceratobasidium* en *Dichaea andina* (Alomía *et al.*, 2022) y *Rhynchostylis retusa* (Bhuiyan *et al.*, 2021). En la orquídea *Vanda falcata* se observó mayor predominancia de un hongo del género *Tulasnella* y hongos de Ceratobasidiaceae durante la etapa de germinación y establecimiento primario (Rammitsu *et al.*, 2023).

Las orquídeas muestran una dinámica rápida de reemplazo de hongos micorrízicos (Selosse *et al.*, 2022), lo que en estudios antes mencionados se observa con un recambio de los hongos que promueven la germinación y los hongos asociados en etapas ontogénicas mayores. Estos patrones de recambio de hongos micorrízicos no se han descrito como respuesta a cambios en las condiciones climáticas, sin embargo, se ha observado que las orquídeas pueden modificar sus patrones de colonización de acuerdo con sus necesidades fisiológicas y ante las presiones ambientales (Rasmussen y Whigham, 2002) con el fin de mantener su sobrevivencia, por lo que, el estudio de las comunidades micorrízicas y el rol ecológico que están llevando a cabo en los diferentes estados de desarrollo de las plantas y bajo diversas condiciones climáticas es un punto de partida importante que podría llevarnos a establecer estrategias de propagación simbiótica diseñadas bajo los diferentes escenarios que promuevan la conservación y mantenimiento de las poblaciones naturales de orquídeas amenazadas.

Por otro lado, considerando la plasticidad de este tipo de relaciones, es necesario prestar más atención en los hongos micorrízicos no *Rhizoctonia* e identificar su relación con las orquídeas asociadas, para determinar su papel micorrízico y no como contaminación de laboratorio, puesto que, se han encontrado formando pelotones (Selosse *et al.*, 2022), y de este modo, estudiar de manera particular las relaciones establecidas entre las diferentes especies de orquídeas y sus hongos micorrízicos asociados.

Identificación de hongos endófitos de plantas

La identificación y caracterización de hongos resulta esencial para comprender su biología y ecología. Reconocer con precisión las especies permite esclarecer sus relaciones evolutivas y su interacción con otros organismos, así como el papel que desempeñan en los ecosistemas, ya sea en procesos de descomposición de materia orgánica o en la formación de micorrizas que favorecen la absorción de nutrientes en las plantas (Ko Ko *et al.*, 2011).

Entre la diversidad de grupos fúngicos, los endófitos constituyen un conjunto heterogéneo de especies que establecen asociaciones con una gran variedad de plantas en distintos ecosistemas. Su identificación tradicional se ha basado en la observación de rasgos morfológicos tras el aislamiento y cultivo, aunque este enfoque presenta limitaciones. Las comunidades obtenidas dependen de las condiciones de esterilización y cultivo, lo que dificulta la esporulación y, por ende, la caracterización de numerosos aislados. En consecuencia, es necesario recurrir a estrategias complementarias, como el uso de diferentes medios de cultivo o de tejidos estériles de las plantas hospedadoras, para favorecer la expresión de estructuras diagnósticas (Sun y Guo, 2012).

La implementación de herramientas moleculares ha transformado el estudio de los hongos, al permitir la extracción y secuenciación de ADN, técnicas como la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han ayudado bastante para que este salto sea posible. Este enfoque, basado en la comparación de secuencias con bases de datos disponibles, ha demostrado ser más confiable

que los métodos tradicionales, ya que proporciona identificaciones más precisas y supera en algunos casos las limitaciones del cultivo tradicional (Ko Ko *et al.*, 2011).

Una ventaja adicional es que las técnicas moleculares posibilitan la detección de hongos directamente en los tejidos vegetales. Sobre todo, al poder identificar organismos en cualquier etapa de desarrollo o fragmentos, donde los caracteres morfológicos no son evidentes (Behrens-Chapuis *et al.*, 2021; Hering *et al.*, 2018; Fomina *et al.*, 2020), cuando se trata de mezclas de especies o adulteraciones en productos biológicos, minimizando errores humanos o interpretaciones subjetivas (Ali *et al.*, 2014) algo difícil con métodos morfológicos (Hyder *et al.*, 2024; Fomina *et al.*, 2020). Esto resulta fundamental, ya que muchos hongos asociados a plantas no crecen en medios artificiales o lo hacen de manera muy lenta. Para resolverlo, se han implementado métodos que incluyen la extracción de ADN total (planta-hongo), la amplificación de marcadores genéticos con regiones altamente conservadas como ITS, 28S o 18S mediante cebadores específicos, la separación de productos de PCR mediante gel de gradiente desnaturante (DGGE), la clonación en plásmidos, la transformación en *Escherichia coli*, el cribado de clones por técnicas de huella genética (PCR-RFLP), y la posterior secuenciación y análisis filogenético de los fragmentos representativos a través de matrices de distancias (Sun y Guo, 2012).

Dentro de estos marcadores, la región ITS del ADN ribosomal ha demostrado ser la más eficiente, alcanzando una tasa de éxito del 72% en la identificación de hongos, lo que la convierte en el candidato más sólido como código de barras genético para este grupo (Sun y Guo, 2012). En el caso particular de las orquídeas, el aislamiento y caracterización de hongos micorrízicos resulta especialmente relevante, pues en las raíces pueden coexistir endófitos e incluso patógenos que no participan en la simbiosis. Por ello, la amplificación de las regiones ITS mediante PCR ha sido ampliamente empleada en estudios recientes sobre micorrizas de orquídeas (Alomía *et al.*, 2022; Ávila-Díaz *et al.*, 2013; Beltrán-Nambo *et al.*, 2018; Bhuiyan *et al.*, 2021; Fernández *et al.*, 2023; Han *et al.*, 2016; Jacquemyn *et al.*,

2017; Kohout *et al.*, 2013; Rammitsu *et al.*, 2023; Riofrío *et al.*, 2013; Otero *et al.*, 2002; Sayem *et al.*, 2024).

Región espaciadora interna transcrita (ITS) del ADN

Los códigos de barras genéticos son secuencias cortas y estandarizadas de ADN que facilitan la identificación de especies conocidas y el descubrimiento de nuevas especies. Mientras que en muchos animales y otros eucariontes el gen mitocondrial CO1 es fácil de secuenciar y proporciona mucha información, las plantas terrestres enfrentan dificultades específicas para seleccionar un código de barras genético. Esto se debe a la baja tasa de sustitución y la frecuencia de reorganizaciones en el genoma mitocondrial de las plantas y entonces se utilizan códigos de barras del genoma de cloroplastos (Gernandt *et al.*, 2011).

En el caso de los hongos, el código de barras genético corresponde a la región espaciadora interna transcrita, ITS por sus siglas en inglés (Internal Transcribed Spacer) (Maldonado-Bonilla *et al.*, 2024) que son regiones del ADN ribosomal nuclear (ARNr) que se encuentran entre los genes que codifican las subunidades ribosomales 18S, 5.8S y 28S de organismos eucariontes. Estas regiones son utilizadas frecuentemente debido a su combinación de áreas conservadas y áreas altamente variables, las regiones ITS son útiles para diseñar cebadores o primers de PCR que pueden amplificar dichas regiones e identificar una amplia gama de especies fúngicas. Estas regiones contienen múltiples copias parálogas en cada organismo, lo que facilita su búsqueda y combinan áreas de ADN conservadas con áreas altamente variables, las cuales al ser similares entre diferentes organismos, permiten comparar y analizar grandes grupos taxonómicos, siendo útiles para estudios filogenéticos a niveles altos (género, familia, orden) Su estabilidad y baja variabilidad intraespecífica aseguran que la secuenciación sea más sencilla y reproducible, reduciendo errores de interpretación (Yao *et al.*, 2010; Mir *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2015).

El ADN ribosómico contiene información para el ARNr y se transcribe, pero no se traduce. El ADNr está organizado en repeticiones tándem y consiste en tres subunidades separadas por dos espaciadores internos (ITS1 e ITS2) con altas tasas de sustitución, que actúan como amortiguadores de mutaciones en las regiones ribosomales conservadas (18S, 5.8S y 28S), resultando en un alto polimorfismo (Figura 1). Las regiones conservadas del ADNr, debido a su baja tasa de sustitución, son útiles para determinar relaciones filogenéticas de taxa con divergencias muy antiguas. Las regiones de los espaciadores internos transcritos (ITS1 e ITS2) y la región 5.8S se utilizan para esclarecer relaciones entre taxa a niveles inter e intragenéricos, aprovechando el alto número de copias que poseen, por su parte, las regiones 18S y 28S se pueden implementar en la comparación de grupos taxonómicos a nivel de familias y géneros por su baja tasa de sustitución (Rincón-Hernández, 2009).

Es así como cada especie de hongo tiene una región ITS específica, cuya similitud aumenta entre hongos más cercanos evolutivamente. Las secuencias ITS son más similares entre especies del mismo género que entre géneros distintos, y más similares entre géneros de la misma familia que entre familias diferentes. La diferencia en las secuencias ITS refleja el tiempo de divergencia desde su ancestro común (Maldonado-Bonilla *et al.*, 2024).

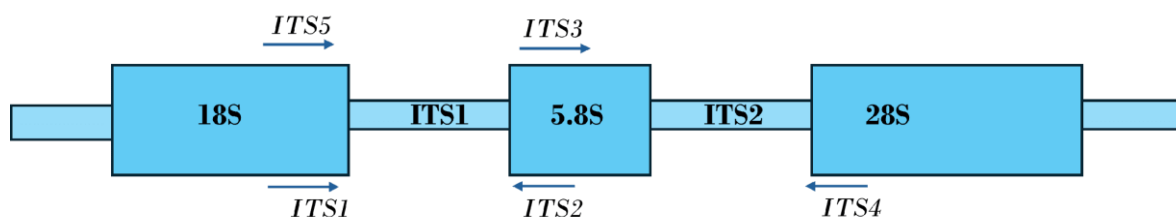


Figura 1. Representación de las regiones ITS1 e ITS2 y las regiones conservadas 18S, 5.8S y 28S del ADNr. Las flechas indican los oligonucleótidos ITS1, ITS2, ITS3, ITS4 e ITS5 generalmente empleados como cebadores o primers para la amplificación de las regiones del ADNr por PCR.

Conociéndose las regiones conservadas de las secuencias de ADN_r, son flanqueadas las zonas ITS por medio de los cebadores u oligonucleótidos para ser sometidas a la amplificación por reacción en cadena de polimerasa (PCR), misma que permite el aislamiento y amplificación (White *et al.*, 1990), el ADN amplificado por PCR se puede secuenciar y así conocer la naturaleza química exacta de la secuencia.

Para la correcta identificación de las cepas de hongos, la secuenciación es un paso importante. Las secuencias obtenidas a través de diversos estudios científicos se comparten con la comunidad científica a través de plataformas disponibles en internet. Lo que permite su utilización para la comparación rápida y confiable con aquellas secuencias nuevas por descubrir, de modo que, si existe una coincidencia en la base de datos, es posible obtener una identificación precisa utilizando algoritmos computacionales, como el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), del GeneBank del NCBI o el Barcode of Life Data System (Maldonado-Bonilla *et al.*, 2024), entre otros.

Al conocer las especies presentes en un ecosistema, se pueden implementar medidas para proteger las especies raras o en peligro de extinción y mantener el equilibrio ecológico. La identificación de los hongos micorrízicos provenientes de raíces de *O. reichenheimii* nos permitirá conocer cuáles son aquellos organismos con los que la planta se relaciona y si es que existe alguna especificidad dentro de la relación.

Metodología

Colecta de muestras

Se colectó una raíz aérea y una raíz de sustrato de individuos adultos y juveniles que se encontraron en el predio de Tenderio de la Comunidad Indígena Santiago Tingambato, Michoacán, en época húmeda (H1, septiembre 2022; H2, septiembre 2023) y en época seca (S1, mayo 2023; S2, mayo 2024).

En H1 de registraron y colectaron raíces de 14 individuos, tres de ellos en estadio de desarrollo adulto, con evidencia de una o más varas florares previas y uno de ellos en floración; los 11 restantes se encontraban en estado juvenil. Durante la colecta de la época Seca I, de los 14 individuos colectados solo se pudieron colectar 13 debido a la extracción furtiva de uno de los juveniles previamente etiquetados, se obtuvieron raíces aéreas y de sustrato de 8 individuos más, cinco de ellos en estadio adulto y tres juveniles. Sumando así un total de 21 individuos. Sin embargo, en los muestreos posteriores, hubo algunos individuos que no presentaron raíces aéreas y otros cuyas raíces no fueron aptas para la extracción de pelones.

Las raíces fueron trasladadas al Laboratorio de Biología de la Conservación Vegetal en el Jardín Botánico de la Facultad de Biología de la UMSNH, dentro de tubos de ensayo con tapa de rosca, previamente esterilizados, que contenían una mota de algodón y agua destilada. Estos se trasladaron desde Tenderio en una hielera (5°C – 25°C) y colocados en refrigeración (4°C) para su conservación por 24 hrs y posterior extracción en campana de flujo laminar por el método de un solo pelotón, durante los 3 días posteriores a su colecta (Arriaga-Cardona *et al.*, datos no publicados).

Extracción de pelotones provenientes de raíces de *Oncidium reichenheimii* y aislamiento de hongos asociados

En campana de flujo laminar, cada raíz se colocó en un tubo Eppendorf de 2 ml y se enjuagó con una mezcla desinfectante de cloro comercial y 2 gotas de Tween 80 por cada 500 ml de cloro, durante 10 minutos en agitación constante. Se decantó la mezcla desinfectante y se realizaron 3 enjuagues con agua destilada estéril a cada una de las raíces, posteriormente, estas se sumergieron durante 10 minutos en una solución de antibióticos (eritromicina 0.03% y gentamicina 0.01%). Una vez transcurrido este tiempo, se decantó la solución de antibióticos y se enjuagaron de nuevo a cuenta en 3 ocasiones con agua destilada estéril.

Posteriormente a la desinfección, con apoyo de un mechero Bunsen para mantener un área estéril y apoyo de un microscopio estereoscopio marca VELAB Microscopes, modelo VE-S1, se realizaron los cortes de las raíces y el aislamiento de tres pelotones por cada raíz, tanto aérea como de sustrato, cada segmento de raíz fue colocado en una caja Petri con 2ml de agua destilada estéril, y se realizaron cortes del córtex con bisturí y agujas estériles para dispersar los pelotones, enseguida estos se tomaron con una pipeta Pasteur estéril y se colocaron en cajas de Petri con medio PDA (Papa-Dextrosa-Agar) para su crecimiento, procurando extraer únicamente un pelotón para cada caja de Petri, obteniendo así un mínimo de tres extracciones por raíz (Modificado de Ortega-Larrocea, 2008; Beltrán-Nambo, 2010).

Los hongos obtenidos de los pelotones extraídos y desarrollados en medio PDA fueron subcultivados de nuevo dentro cajas de Petri con medio PDA y mantenidos en hieleras térmicas a temperatura ambiente.

Caracterización molecular

La determinación molecular de los hongos micorrízicos de *O. reichenheimii* se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH, con apoyo del M.C. Luis María Suárez Rodríguez.

Extracción de ácidos nucleicos (ADN)

Para la extracción del material genético, el micelio de los hongos aislados se creció en cajas de Petri con medio PDA sobre una membrana de tela de organza sintética estéril hasta su completa colonización, el material orgánico se raspó y pulverizó con la ayuda de nitrógeno líquido en un mortero con pistilo estéril; la lisis celular se inició con 100mg de tejido molido y la incorporación de 600µl de buffer de lisis DNALin (Lin *et al.*, 2001) (100mM Tris-HCl, pH 8.0; SDS 2%, NaCl 500 mM; EDTA 50mM pH 8.0; PVP 10%) adicionado con 5µl de 2-β-Mercaptoetanol, se incubó a 65°C por 15min en Thermomixer Eppendorf AG modelo 5382000015 a 650rpm. La solución se centrifugó a 12,000rpm por 10min. Para aislar el sobrenadante (fase acuosa) se

agregó 2µl de RNAsa (10mg/µl) y se incubó a 37°C por 10min en Thermoblock DLAB modelo HB60-S, terminado este tiempo, se agregó 600µl de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (50:49:1) y se agitó en vórtex manual hasta obtener una mezcla lechosa, que, luego se centrifugó a 12,000rpm durante 10min, recuperando el sobrenadante (fase acuosa) con cuidado de no tomar la fase orgánica. Posteriormente, el sobrenadante se transfirió a un tubo limpio.

El ADN se precipitó con un volumen de isopropanol frío y las muestras se incubaron durante 1hr a -20°C. Transcurrido este tiempo, se centrifugaron las muestras a 12,000rpm durante 3min, se desechó el sobrenadante y se dejó secar la pastilla a temperatura ambiente por 10 minutos. Finalmente, el ADN fue resuspendido en un volumen de 30µl de agua grado biología molecular estéril. El material genético se cuantificó por espectrofotometría a 260 y 280nm en NanoDrop 2000c ThermoScientific para determinar calidad y cantidad del ADN obtenido. Los productos de ADN se visualizaron en geles de agarosa TBE 0.5X al 1.2% teñidos con Bromuro de Etidio.

Caracterización molecular de genes ITS de hongos aislados

El material genético aislado se utilizó para la amplificación de los genes ITS por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en termociclador Applied Biosystems Veriti 96-Well.

Para amplificar las regiones espaciadoras transcritas internas 1 y 2 se utilizan los oligonucleótidos ITS-1FW (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS-4RV (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). La mezcla de reacción contuvo lo siguiente: Buffer Taq 10X; MgCl₂ 50mM, 10mM de mezcla de dNTP's, 10µM de cada oligonucleótido, 1U de Taq DNA polimerasa recombinante (Invitrogen, EE. UU.) y 100ng de ADN por reacción, ajustando el volumen final a 10 µL con agua grado biología molecular estéril. Las condiciones de amplificación fueron: un ciclo de desnaturalización inicial de 94°C-10min, 30 ciclos (desnaturalización 94°C-1min: alineamiento 56°C-45s: extensión 72°C-1 min), y un ciclo de extensión final de 72°C-7 min manteniendo la reacción a 4°C hasta retirarlo (Figura 2) (mod. de White *et al.*, 1990).

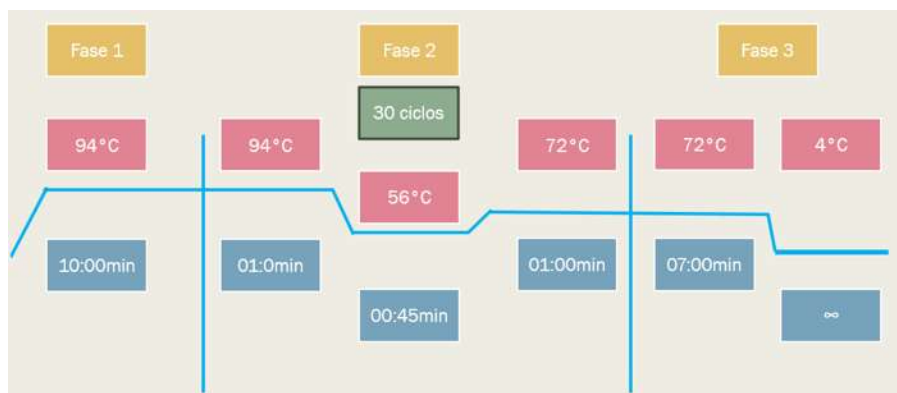


Figura 2. Diagrama de condiciones de amplificación por PCR empleado para la amplificación de los genes ITS de los hongos aislados de raíces de *O. reichenheimii*.

Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa TBE 0.5X al 1.2% teñidos con Bromuro de Etidio, en un fotodocumentador con luz UV donde se registraron las evidencias con fotografía digital. Los productos de la PCR fueron escindidos del gen, purificados y resuspendidos con ayuda del kit Zymoclean Gel DNA recovery kit (Zymo research, Cat. D4001, USA) y enviados para su secuenciación a Psomagen: Multiomics Services and Data Analysis Macrogen (Boston, Massachusetts, Estados Unidos).

Análisis de datos

Para analizar la distribución de los morfotipos, se consideró la frecuencia y riqueza de estos por cada categoría considerada.

Cada secuencia obtenida en Psomagen se denominó como OTU (Unidad Taxonómica Operacional, por sus siglas en inglés) y un número consecutivo: OTU1, OTU2, OTU3...

Para la identificación de las secuencias de la región ITS, cada una de las secuencias obtenidas (OTU) se compararon con la base de datos del GenBank (NCBI) con la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Sayers *et al.*, 2025) y se escogieron aquellas con mayor porcentaje de homología y cobertura en la base de datos para ITS/ADNr eligiendo la opción ITS from fungi type and reference (base de datos curada), y, base de datos estándar (general) en casos donde los datos de la base curada no fueran suficientemente específicos.

Las secuencias seleccionadas en BLAST se alinearon con las secuencias obtenidas en el programa estadístico MEGA12 v12.0.11 (Tamura *et al.*, 2011), los archivos de secuencias alineadas se realinearon en el servidor web MAFFT versión 7 (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html>) (Kato *et al.*, 2002).

Los alineamientos obtenidos se utilizaron para seleccionar el mejor modelo de sustitución molecular utilizando el enfoque de máxima verosimilitud, de manera automática en el programa estadístico MEGA12 v 12.0.11 (Tamura *et al.*, 2011).

Para la realización de los árboles filogenéticos por máxima verosimilitud se utilizaron los modelos de sustitución molecular obtenidos en la prueba de búsqueda, con un Bootstrap de 500 repeticiones para sustentar la topología. Para enraizar los árboles, se escogieron como grupos externos secuencias de especies de hongos con base en la literatura consultada para cada grupo de hongos identificado (Tabla 1).

Tabla 1. Número de acceso de GenBank de los taxa utilizados para enraizar los árboles filogenéticos.

OTU	Grupo externo	Número de acceso de GenBank	Fuente
1, 8 y 10	<i>Aspergillus oerlinghausensis</i>	KT359601	Houbraken <i>et al.</i> , 2020
	<i>A. feliz</i>	MN431358	
2 y 10	<i>Beauveria caledonica</i>	NR077147	D'Alessandre <i>et al.</i> , 2013
	<i>B. majiagensis</i>	NR158356	
	<i>B. malawensis</i>	NR136979	
4	<i>Pseudopezalotiopsis thailandica</i>	NR164472	Maharachchikumbura <i>et al.</i> , 2014
	<i>P. theae</i>	NR111716	Hsu <i>et al.</i> , 2024; Maharachchikumbura <i>et al.</i> , 2014

	<i>P. cocos</i>	NR145246	Maharachchikumbura <i>et al.</i> , 2014
	<i>P. novae-hollandiae</i>	NR147557	
	<i>P. arceuthobii</i>	NR147561	
5	<i>Ilyonectria destructans</i>	MH496589	Lizcano-Salas <i>et al.</i> , 2024
	<i>Rugonectria rugulosa</i>	MG991753	
6	<i>Mortierella minutissima</i>	EU484297	Wang <i>et al.</i> , 2022
	<i>M. minutissima</i> var. <i>dubia</i>	JX976122	
7	<i>Umbelopsis brunnea</i>	NR191114	Spatafora <i>et al.</i> , 2016

Los árboles obtenidos fueron editados a través del servidor web IQTREE (<http://www.iqtree.org/>) (Minh *et al.*, 2020).

Resultados

Aislamiento de los hongos asociados

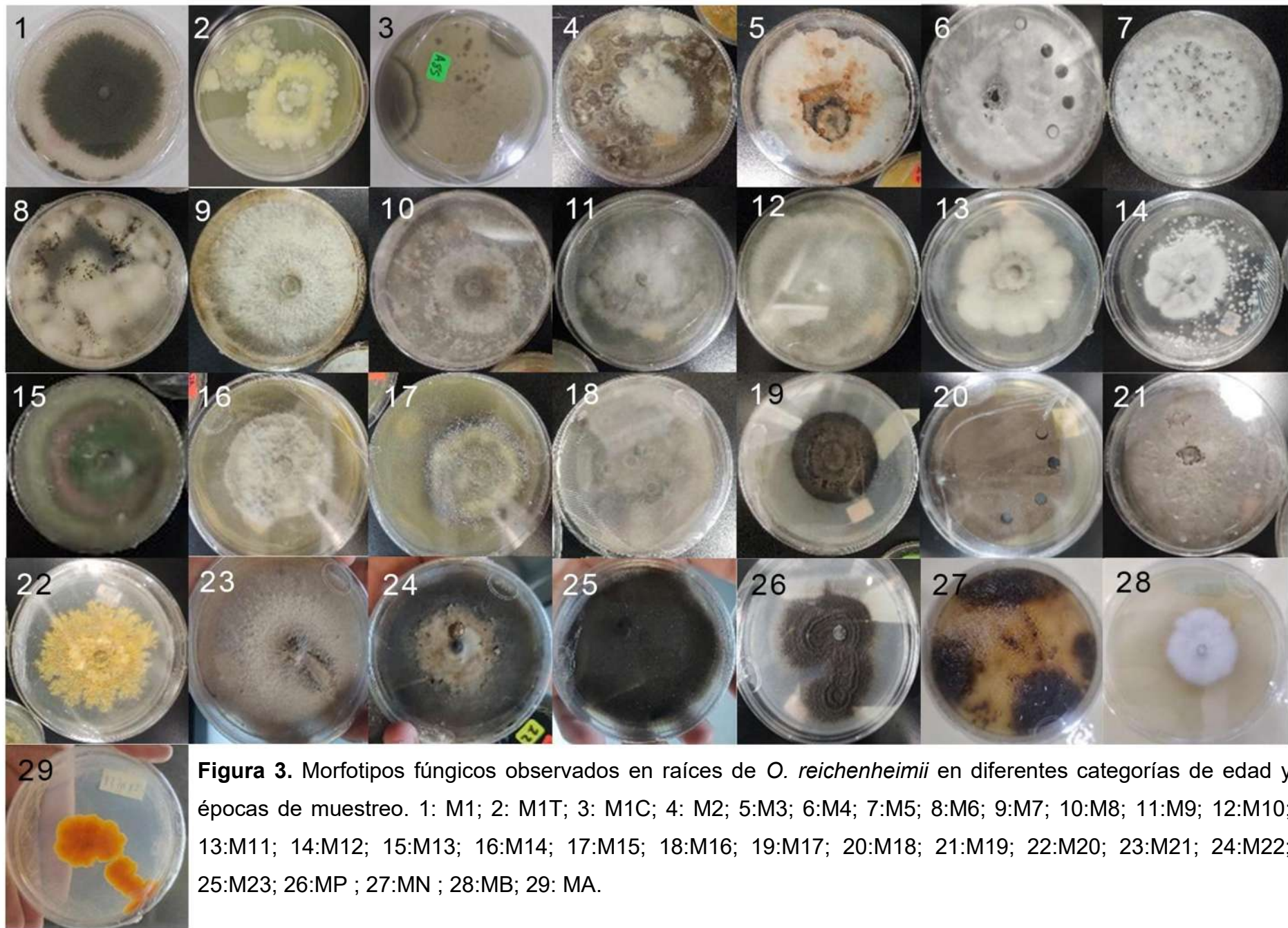
Se lograron aislar hongos de pelotones de las raíces de *O. reichenheimii*, tanto aéreas como aquellas que estaban sobre el sustrato, en épocas húmedas como en secas (Tabla 2). Los totales de individuos representan la cantidad de plantas cuyos pelotones aislados generaron uno o más cultivos fúngicos (en verde), y el total de aislados indica el gran total de cultivos fúngicos aislados por época (en rojo). Debido a que la extracción fue de mínimo seis pelotones por individuo, tres de raíces aéreas y tres de raíces de sustrato, en el total se logra observar la cantidad de aislados fúngicos obtenidos en cada categoría, no representan la suma de los individuos, sino el total de aislados fúngicos, ya que un solo individuo pudo tener hasta seis hongos aislados, tres por cada tipo de raíz.

Tabla 2. Hongos aislados de raíces aéreas y de sustrato de individuos juveniles y adultos de *O. reichenheimii* en las diferentes épocas de colecta. En **verde** es el total de individuos y en **rojo** el total de aislados fúngicos.

HONGOS AISLADOS DE PELOTONES								
Tipo de raíz	H1: ADULTOS		S1: ADULTOS		H2: ADULTOS		S2: ADULTOS	
	Indivi- duos	Aisla- dos	Indivi- duos	Aisla- dos	Indivi- duos	Aisla- dos	Indivi- duos	Aisla- dos
Aérea	1	3	7	22	4	12	6	19
Sustrato	2	6	7	19	4	11	7	21
	H1: JUVENILES		S1: JUVENILES		H2: JUVENILES		S2: JUVENILES	
Aérea	7	18	10	24	3	6	8	30
Sustrato	5	14	9	19	6	18	9	26
TOTAL	10	41	20	84	10	47	16	96

*NOTA: Los totales no son sumas de las categorías anteriores, ya que se pudieron aislar hongos de hasta tres pelotones de una sola raíz aérea y una sola raíz de sustrato, ambas de un solo individuo juvenil o adulto.

Los aislados fúngicos se clasificaron en 29 morfotipos de hongos con base en sus características macroscópicas: tipo de micelio, crecimiento, coloración, oxidación del medio de cultivo y presencia de secreciones (Figura 3).



La Riqueza de los morfotipos varió entre las diferentes condiciones climáticas siendo mayor en S1 y menor en H2 (Tabla 3).

Tabla 3. Riqueza de morfotipos por cada época.

Época	Riqueza de morfotipos
H1	8
S1	24
H2	3
S2	6

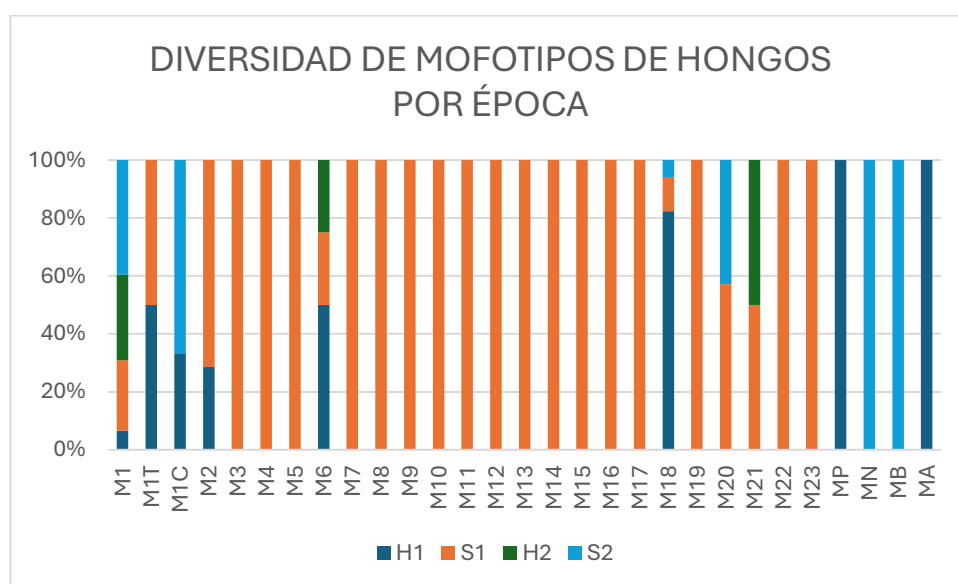


Figura 4. Frecuencia porcentual de morfotipos presentes en las diferentes épocas. En el eje Y se muestra la frecuencia porcentual de morfotipos y en el eje X se observan los tipos de morfotipos. Los colores en las barras representan las estaciones donde se presenta dicho morfotipo y su largo el porcentaje de aparición de este.

Se observó una mayor frecuencia del Morfotipo 1, estando presente en todas las épocas observadas y siendo el más abundante en cada una de ellas (excepto en H1 donde fue más abundante el Morfotipo 18) (Figura 4).

A su vez, considerando las categorías de desarrollo (adultos y juveniles) y tipos de raíz (aérea y de sustrato) presentan valores de diversidad y riqueza de morfotipos bajos y muy parecidos entre sí (Tabla 4).

Tabla 4. Riqueza de los morfotipos observados por categoría de edad y tipo de raíz

		Riqueza de Morfotipos
Categoría de edad	<i>Adulto</i>	20
	<i>Juvenil</i>	18
Tipo de Raíz	<i>Aérea</i>	21
	<i>Sustrato</i>	18

Entre categorías de edad (Figura 5), se identificó la prevalencia de los morfotipos M1, M1T, M1C, M2, M17, M18, M19, M20 y MN en ambas categorías y se observa que M5, M6, M7, M21, M22, M23, MP, MB y MA se encuentran únicamente presentes en juveniles y M3, M4, M8, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15 y M16 únicamente en adultos. Sin embargo, M3, M4, M5, M7, M8, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15, M16, M19, M21, M22, M23 y MA estuvieron presentes únicamente en un individuo, principalmente de época S1.

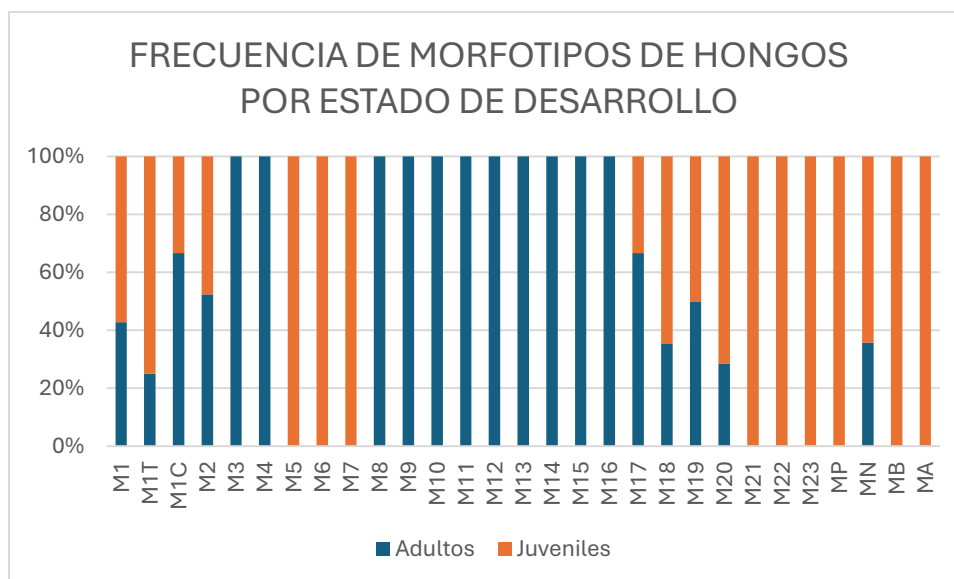


Figura 5. Frecuencia porcentual de morfotipos presentes en los diferentes estadios de desarrollo. En el eje Y se muestra la frecuencia porcentual de morfotipos y en el eje X se observan los diferentes morfotipos. Los colores en las barras representan las categorías de edad donde se presenta dicho morfotipo y su largo el porcentaje de aparición del mismo.

Respecto a los tipos de raíz, solamente 11 de los 29 morfotipos se distribuyen en ambos tipos de raíz (aéreas y de sustrato) (Figura 6), siendo estos M1, M1T, M2, M6, M8, M18, M19, M20, MP, MN y MB. Las raíces aéreas mostraron exclusividad de 11 morfotipos (M3, M4, M7, M10, M11, M12, M14, M15, M17, M22 y MA), y las de sustrato de 8 morfotipos diferentes (M1C, M5, M9, M13, M16, M19, M21 y M23).

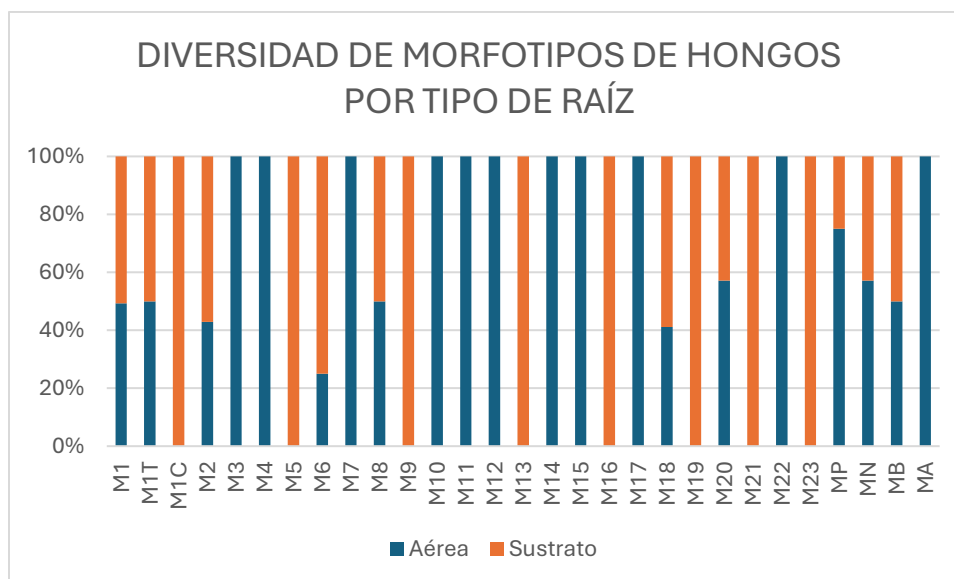


Figura 6. Frecuencia porcentual de morfotipos presentes en los tipos de raíz (aérea y de sustrato). En el eje Y se muestra la frecuencia porcentual de morfotipos y en el eje X se observan los tipos de morfotipos. Los colores en las barras representan el tipo de raíz donde se presenta dicho morfotipo y su largo el porcentaje de aparición del mismo.

Caracterización molecular

Extracción de ADN

Una vez determinados los morfotipos presentes en las diferentes épocas, se extrajo el ADN de la gran mayoría de ellos, obteniendo así muestras de ADN con una relación A260/280 óptima (Tabla 5) que oscila entre 1.52 y 1.93 mismos que fueron utilizados para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Tabla 5. Rendimiento de las extracciones de ADN de hongos aislados de raíces de *O. reichenheimii*. Los valores entre 1.52 y 1.93 de la relación A260/280 indican ADN íntegro y de buena calidad para su amplificación por PCR.

Muestra	Rendimiento de ADN (ng/μl)	A260 (Abs)	A280 (Abs)	Relación A260/280
M1	2617.00	52.33	30.28	1.73
M1T	2762.90	55.26	29.02	1.90
M2	1270.00	25.40	19.97	1.60
M3	2554.00	51.09	33.46	1.53
M5	4257.70	85.16	49.75	1.71
M6	2900.00	63.52	47.89	1.33
M7	1503.00	30.06	18.57	1.62
M8	778.40	15.57	9.63	1.62
M9	2541.10	50.82	26.42	1.92
M13	2690.20	53.80	28.13	1.91
M14	2808.00	56.16	31.87	1.76
M15	1032.50	20.65	13.52	1.53
M16	1707.30	34.15	20.81	1.64
M17	2950.40	59.01	32.96	1.79
M19	905.00	18.10	11.17	1.62
M20	1501.30	30.03	19.71	1.52
M21	757.10	15.14	9.50	1.59
M22	1808.20	36.17	21.58	1.68

M23	1259.20	25.18	16.44	1.53
MP	2683.00	53.66	27.75	1.93

Se realizaron las amplificaciones de las regiones ITS mediadas por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador Applied Biosystems Veriti 96-Well y logrando amplificar los morfotipos M1, M1T, M2; M5, M9, M12, M17, M19, MP y MB. La visualización de los productos de PCR se realizó por electroforesis en geles de agarosa TBE 0.5X al 1.2% teñidos con bromuro de etidio y registrados fotográficamente en un fotodocumentador con luz UV (Figura 7).

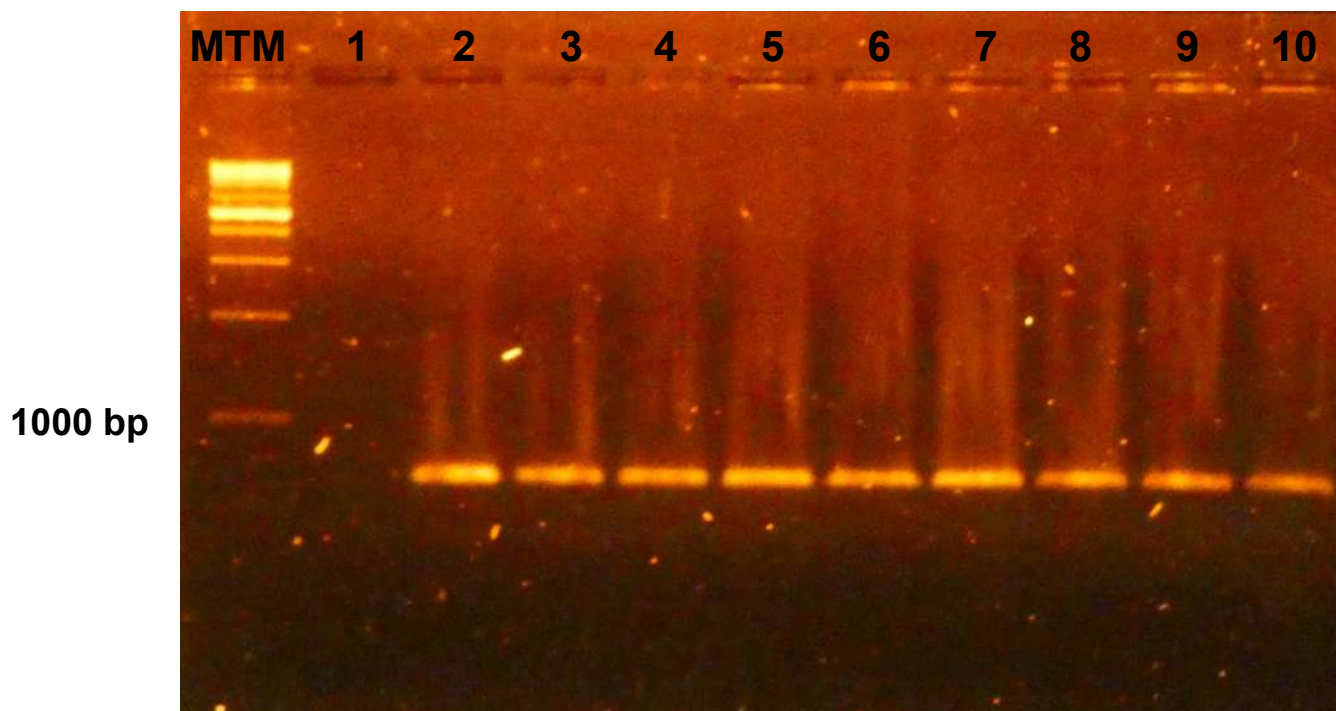


Figura 7. Gel de agarosa TBE 0.5X al 1.2% teñido con bromuro de etidio con productos de amplificación de las regiones ITS de hongos aislados de raíces de *O. reichenheimii*. **Carril MTM:** Marcador de tamaño molecular 1kb (Vivantis VC 1kb DNA Ladder); **Carril 1:** Control negativo; **Carriles 2 al 10:** Amplicones de ADN_r-ITS de los morfotipos M1, M1T, M5, M9, M12, M17, M18, MP y MB respectivamente.

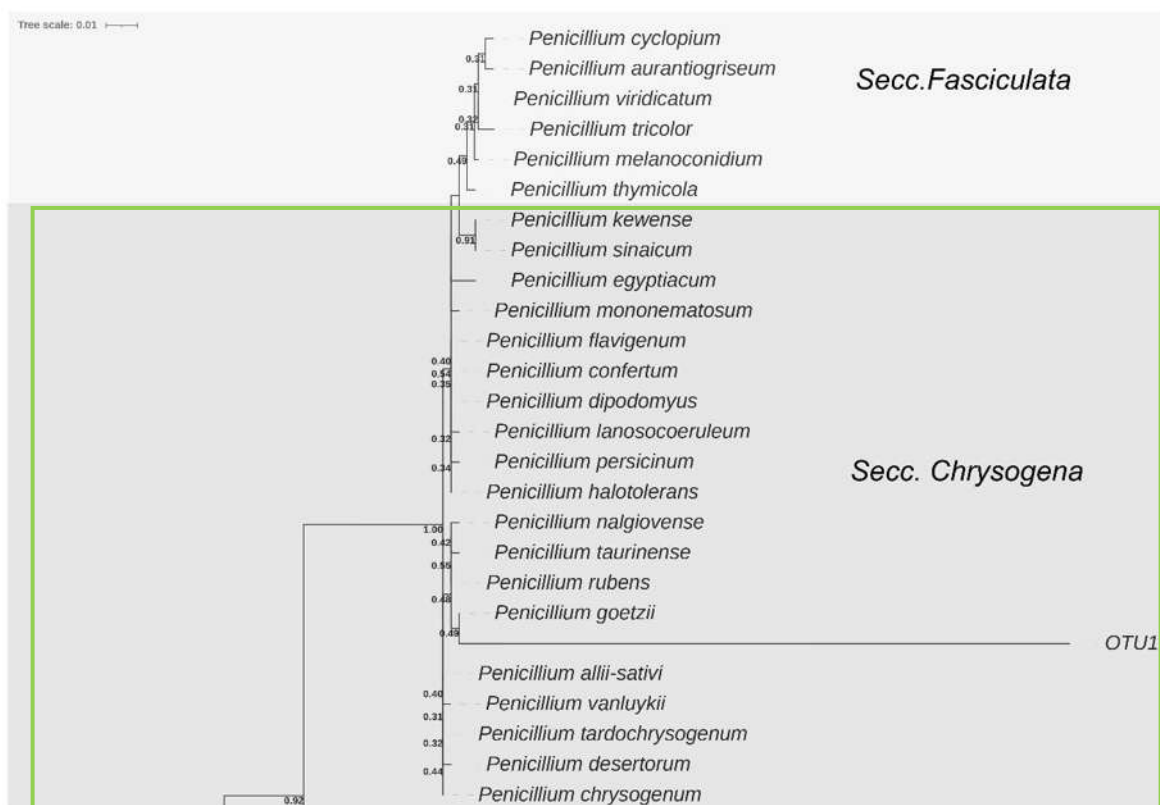
Identificación de hongos asociados

Los productos de PCR se secuenciaron (Sanger *et al.*, 1977) y las secuencias obtenidas fueron renombradas como:

M1=OTU1; M1T=OTU2; M2=OTU3; M5=OTU4; M9=OTU5; M12=OTU6; M17=OTU7; M18=OTU8; MP=OTU9 y MB=OTU10.

Los OTU1, OTU8 y OTU10 fueron identificados como hongos del género *Penicillium* (Figura 8). El árbol filogenético se construyó utilizando el modelo de sustitución recomendado Jukes-Cantor (JC) con correcciones para heterogeneidad de tasas (G) y sitios invariantes (I). El árbol filogenético se enraizó con *Aspergillus felis* y *A. oerlinghausensis* (Houbraken *et al.*, 2020). De acuerdo con la posición de los OTUs analizados, se observa que estos pertenecen a tres diferentes secciones del género *Penicillium*.

OTU1 se encuentra dentro de la sección *Chrysogena*, OTU8 a la sección *Citrina* y OTU9 a la sección *Exilicaulis* dentro de la serie *Restricta* (Houbraken *et al.*, 2020).



Continúa
en la
siguiente
página.



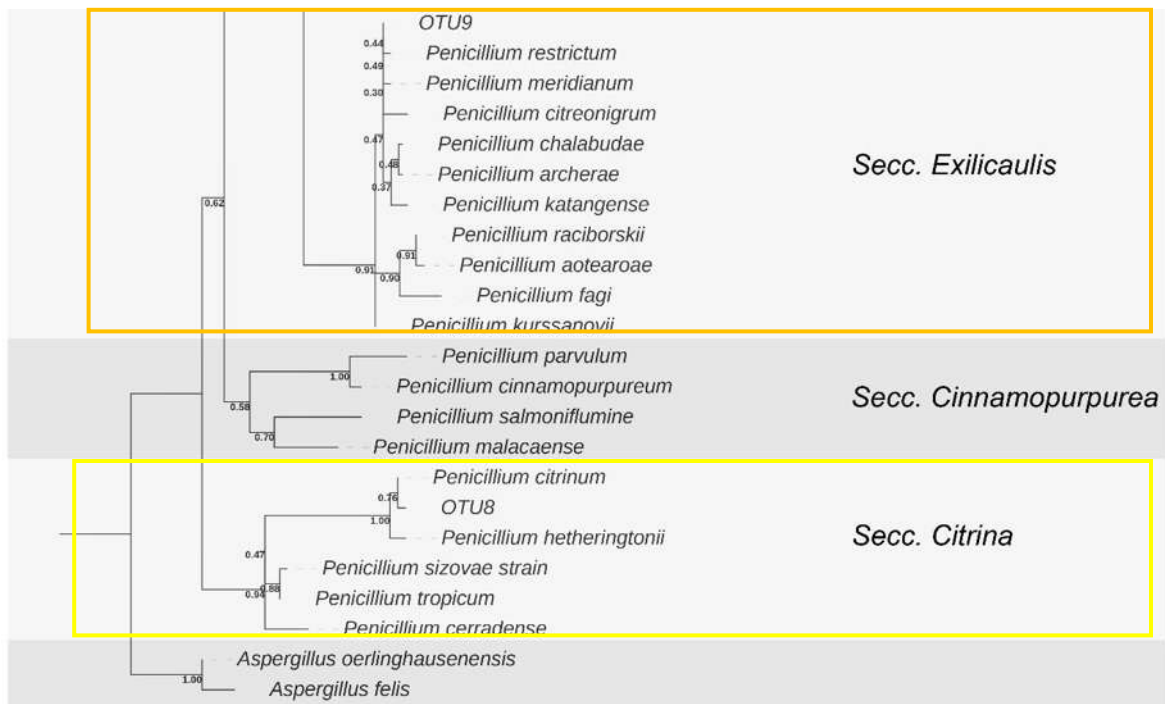


Figura 8. Árbol filogenético generado con las secuencias de ADNr-ITS de los OTUS 1, 8 y 9, correspondientes a los morfotipos M1, M18 y MP, utilizando el modelo de sustitución JC+G+I. En verde se observa que el OTU1 es afín a la sección *Chrysogena*, en amarillo que el OTU8 es parte de la sección *Citrina* y en anaranjado que el OTU9 corresponde a la sección *Exilicaulis* (Houbraken *et al.*, 2020). La escala fue de 0.01 sustituciones por sitio.

El OTU2, correspondiente al morfotipo M1T y el OTU10 correspondiente al morfotipo MB fueron identificados dentro del género *Leptobacillium* (Figura 9). El árbol filogenético se construyó utilizando el modelo de sustitución recomendado Kimura de dos parámetros (K2) con correcciones para heterogeneidad de tasas (G) y sitios invariantes (I). Para enraizar el árbol se utilizaron secuencias de *Beauveria caledonica*, *B. majiagensis* y *B. malawensis* (D'Alessandre *et al.*, 2013; Liu-Xu *et al.*, 2025).

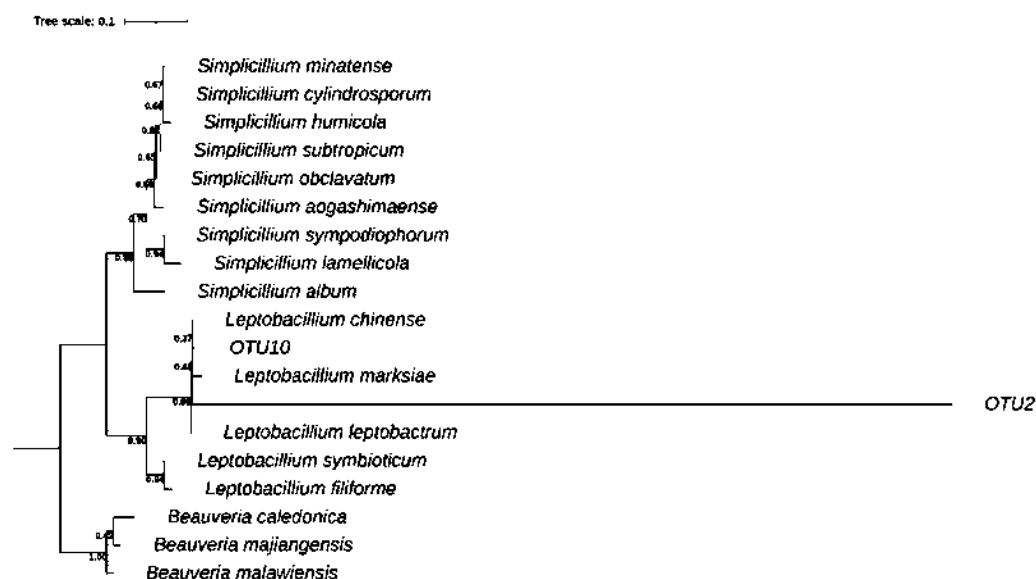


Figura 9. Árbol filogenético generado con las secuencias de ADNr-ITS de los OTUS 2 y 20, correspondientes a los morfotipos M1T y MB, utilizando el modelo de sustitución K2+G+I. La escala fue de 0.1 sustituciones por sitio.

El OTU4, correspondiente al morfotipo M5, fue identificado dentro del género *Neopestalotiopsis* (Figura 10). El árbol filogenético se construyó utilizando el modelo Tamura 1992 (T92) con sitios invariantes (I). Se utilizaron las secuencias de *Pseudopestalotiopsis arceuthobii*, *P. cocos*, *P. novae-hollandiae* y *P. thailandica* y *P. theae* para enraizarlo (Hsu et al., 2024; Maharachchikumbura et al., 2014).

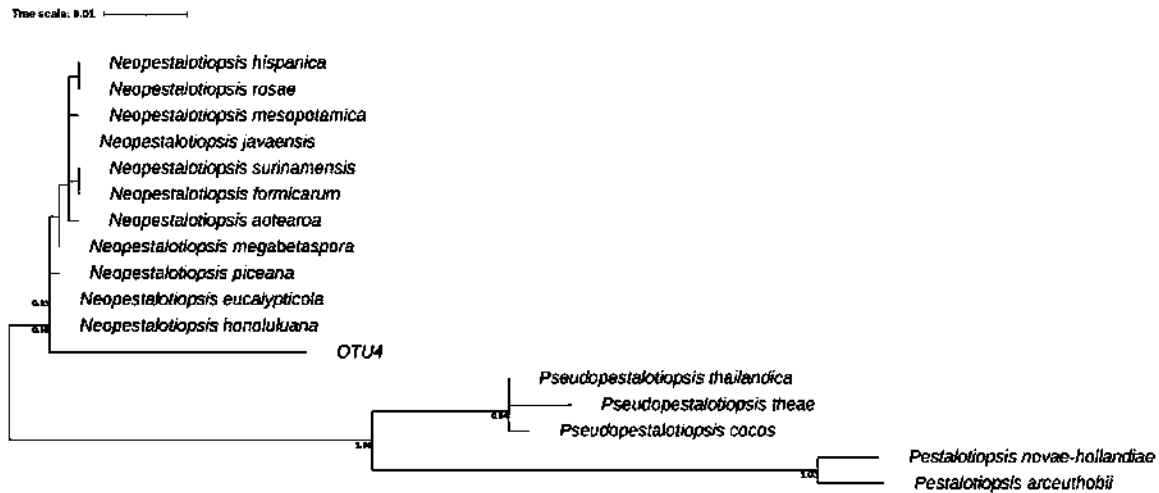


Figura 10. Árbol filogenético generado con la secuencia de ADNr-ITS del OTU4, correspondiente al morfotipo M5 utilizando el modelo de sustitución T92+I. La escala fue de 0.01 sustituciones por sitio.

El OTU5, correspondiente al morfotipo M9 fue identificado dentro del género *Fusarium* (Figura 11), para su construcción se utilizó el modelo de sustitución recomendado Kimura de dos parámetros (K2) con correcciones para heterogeneidad de tasas (G) sitios invariantes (I). Las secuencias de *Ilyonectria destructans* y *Rugonectria rugulosa* fueron empleadas para enraizarlo (Lizcano-Salas *et al.*, 2024).

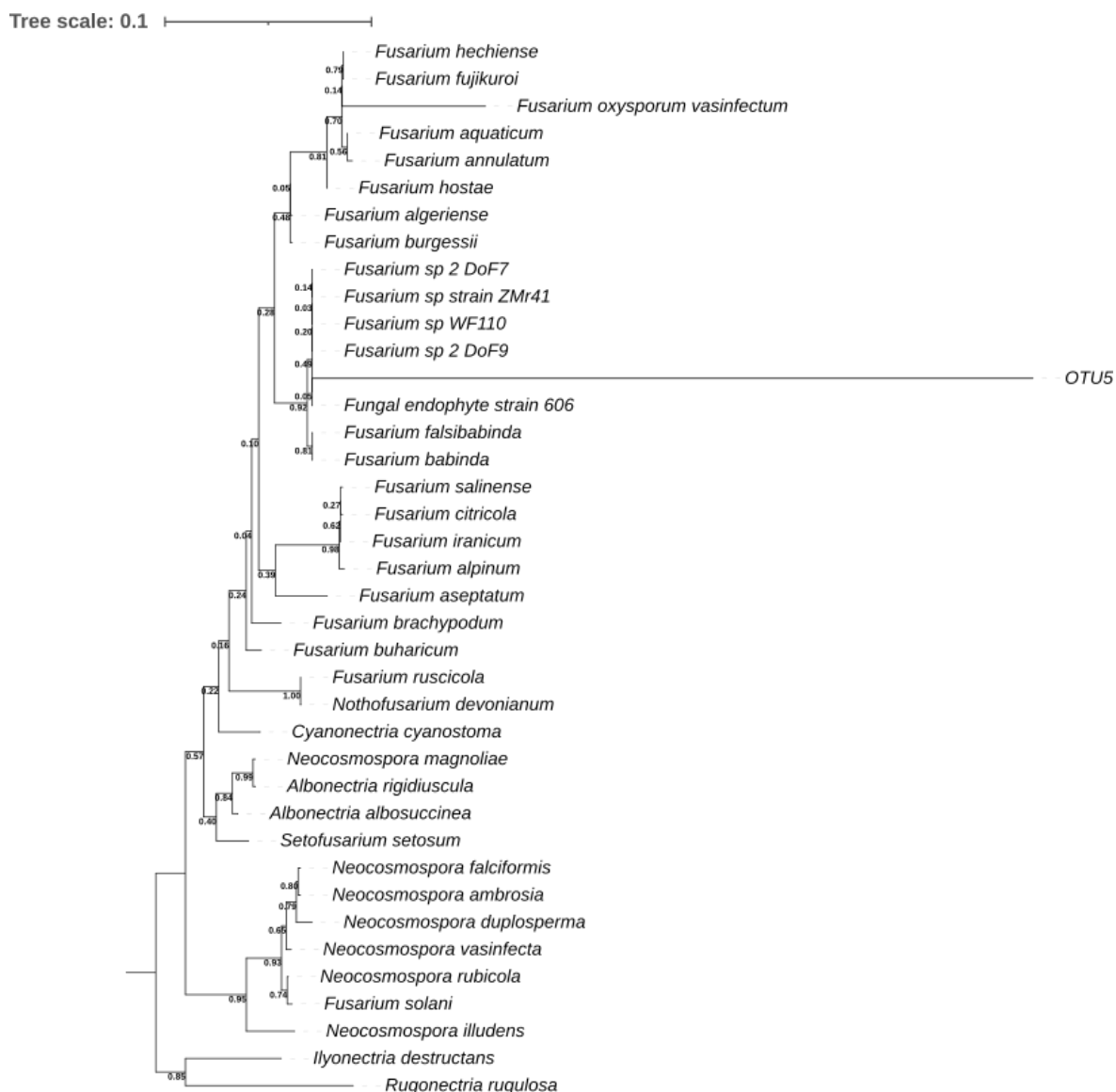


Figura 11. Árbol filogenético generado con la secuencia de ADNr-ITS del OTU5, correspondiente al morfotipo M9, utilizando el modelo de sustitución K2+G+I. La escala fue de 0.1 sustituciones por sitio.

El OTU6 fue identificado como *Umbelopsis brunnea* por su valor de Bootstrap de 1.0 (Figura 12). El árbol se realizó utilizando el modelo de sustitución recomendado Tamura 1992 (T92) con correcciones para heterogeneidad de tasas (G) sitios invariantes (I). Las secuencias de *Mortierella minutissima* y *M. minutissima* variedad *dubia* fueron empleadas para enraizarlo (Wang *et al.*, 2022).

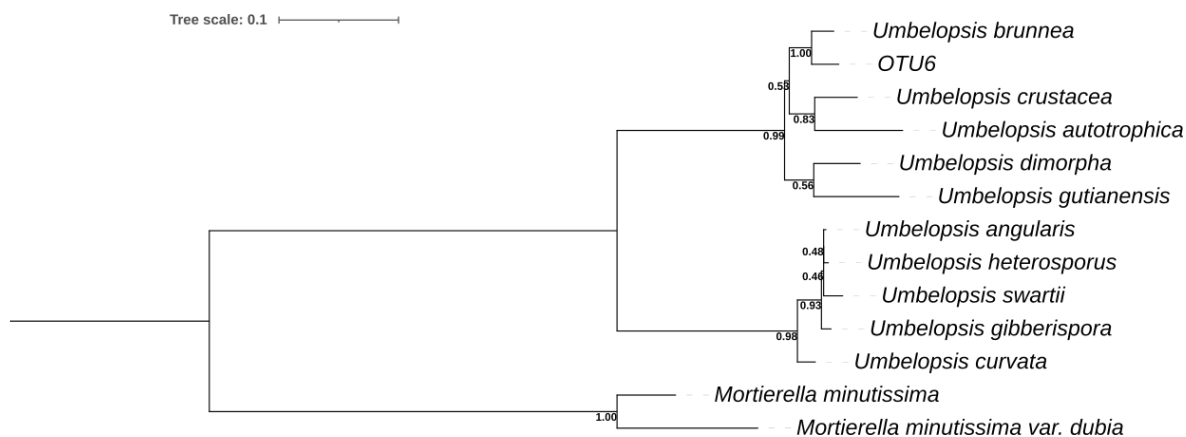
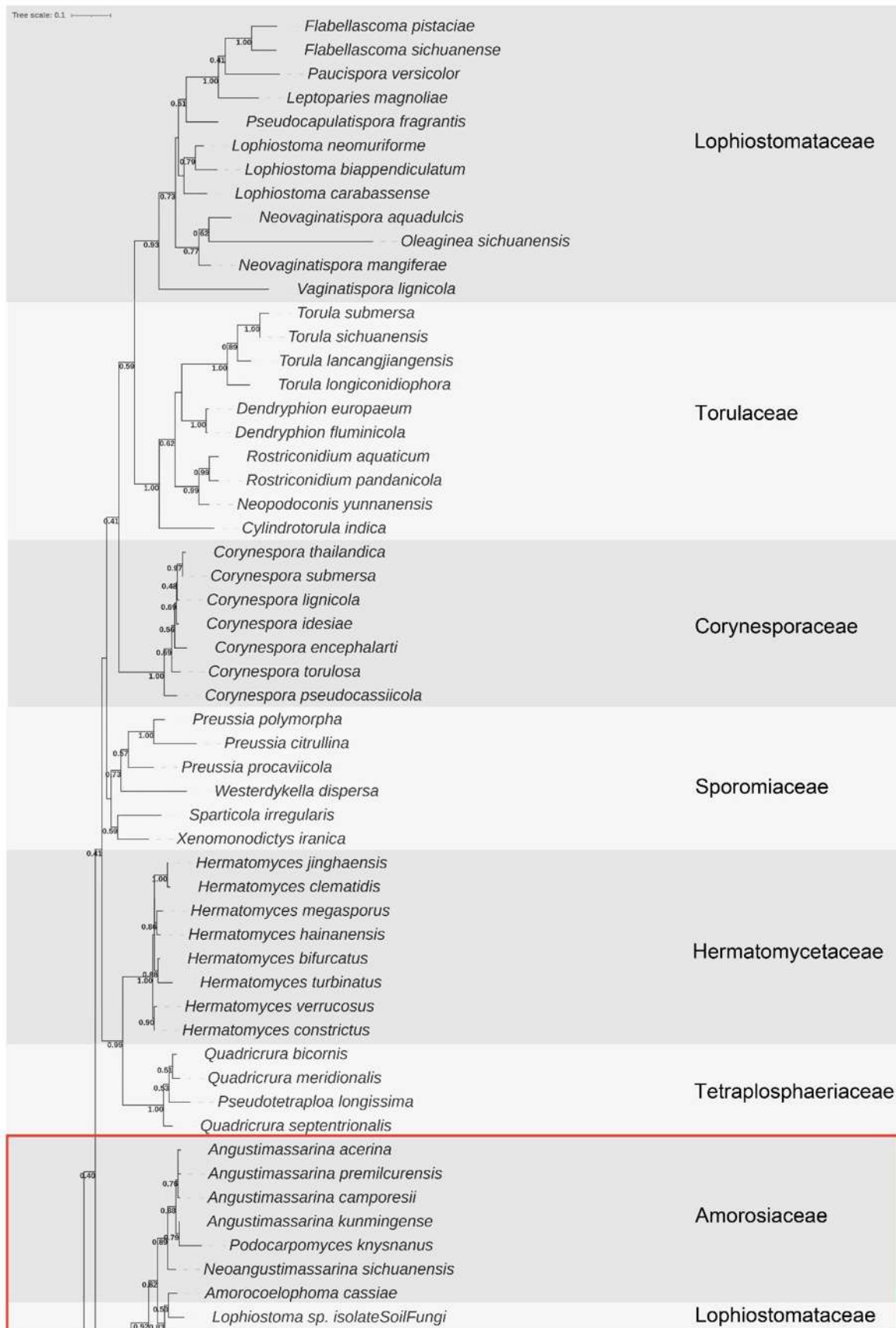


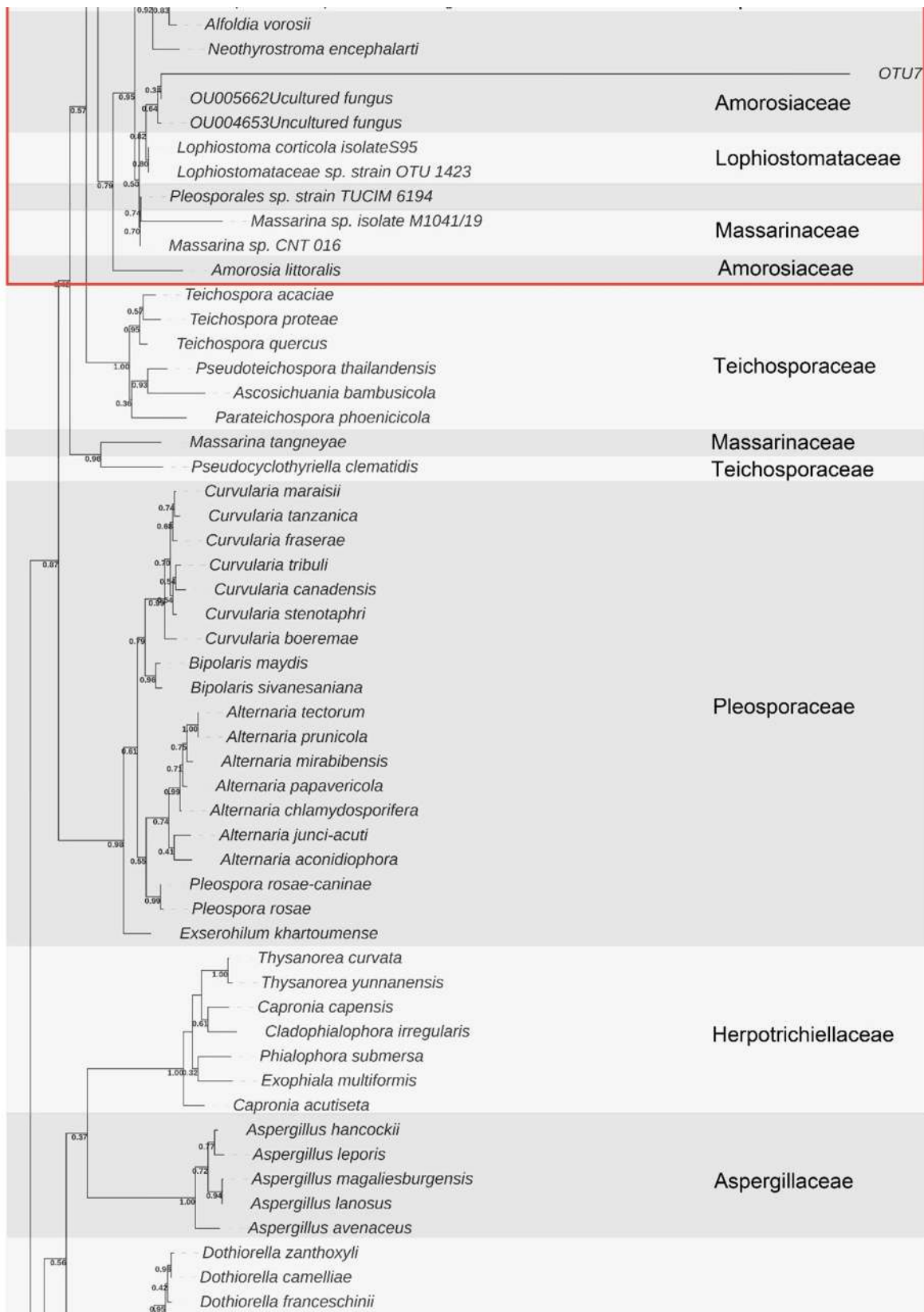
Figura 12. Árbol filogenético generado con la secuencia de ADNr-ITS del OTU6, correspondiente al morfotipo M12, utilizando el modelo de sustitución T92+G+I. La escala fue de 0.1 (10% de sustituciones por sitio).

El OTU7 (M17) fue identificado dentro de la familia Amorosiaceae (Figura 13). Para la inferencia filogenética se utilizó el modelo General Time Reversible (GTR) con distribución gamma de tasas (G) y sitios invariantes (I). La búsqueda en BLAST (GenBank) arrojó diversos resultados tanto en la base de datos curada como en la base de datos general, por lo que se realizó una búsqueda mayor de diferentes especies pertenecientes a las diversas familias previamente arrojadas, todas pertenecientes a la División Ascomycota. El árbol se enraizó con *Umbelopsis brunnea*, hongo perteneciente a la División Mucoromycota (Spatafora *et al.*, 2016).



Continúa
en
la
siguiente
página.





Continúa
en la
siguiente
página. ↓



Figura 13. Árbol filogenético generado con la secuencia de ADNr-ITS del OTU7, correspondiente al morfotipo M17, utilizando el modelo de sustitución GTR+G+I. La escala fue de 0.1 sustituciones por sitio.

En resumen, la distribución de los morfotipos fúngicos identificados mediante análisis molecular, considerando su aparición en diferentes épocas climáticas (épocas húmedas H1 y H2, secas S1 y S2), categorías de desarrollo (juvenil y adulto), y tipos de raíz (aérea y de sustrato) se puede apreciar en la tabla 6. Destaca el morfotipo M1 (*Penicillium* sp. 1) por su presencia constante en todas las condiciones evaluadas. En contraste, otros morfotipos como M5 (*Neopestalotiopsis* sp.), M9 (*Fusarium* sp.) y M12 (*Umbelopsis brunnea*) se encontraron restringidos a individuos juveniles en época seca y con afinidad por un solo tipo de raíz.

Tabla 6. Presencia de morfotipos identificados molecularmente en función de la época, etapa de desarrollo y tipo de raíz de *O. reichenheimii*.

OTU/Morfotipo	Taxón	Épocas presentes	Estado(s) de desarrollo presentes	Tipo(s) de raíz asociados
OTU1/M1	<i>Penicillium</i> sp. 1	H1, S1, H2, S2	Adultos y Juveniles	Aérea y Sustrato
OTU8/M18	<i>Penicillium</i> sp. 2	H1, S1, S2	Adultos y Juveniles	Aérea y Sustrato
OTU9/MP	<i>Penicillium</i> sp. 3	S1	Adultos y Juveniles	Aérea y Sustrato
OTU2/M1T	<i>Leptobacillium</i> sp. 1	H1, S2	Adultos y Juveniles	Aérea y Sustrato

Continúa en la siguiente página.



OTU10/MB	<i>Leptobacillium</i> sp. 2	S2	Juveniles	Aérea y Sustrato
OTU4/M5	<i>Neopestalotiopsis</i> sp.	S1	Juveniles	Sustrato
OTU5/M9	<i>Fusarium</i> sp.	S1	Adultos	Sustrato
OTU6/M12	<i>Umbelopsis</i> <i>brunnea</i>	S1	Adultos	Aérea
OTU7/M17	Amorosiaceae	S1	Adultos y Juveniles	Aérea

Discusión

Aislamiento de hongos asociados

La variabilidad en la diversidad fúngica observada a lo largo de las distintas épocas de muestreo sugiere que los factores climáticos tienen un efecto importante en la composición y estructura de la comunidad de hongos micorrízicos asociados a *O. reichenheimii*. Esta variación es consistente con estudios con otras especies de orquídeas fotosintéticas epífitas y terrestres, como *Bletilla striata*, *B. ochraceae* (Zeng *et al.*, 2021) y *Anacamptis morio* (Ercole *et al.*, 2015), que sugieren que los requerimientos fisiológicos de la planta y condiciones ambientales influyen directamente en la diversidad y abundancia de hongos asociados a sus sistemas radiculares.

La riqueza y abundancia de los morfotipos de hongos fue variable en las diferentes épocas observadas, siendo S1 donde se observó mayor riqueza de morfotipos (Tabla 2), destacó M1, quien se identificó a nivel molecular como *Penicillium* sp. 1, como el hongo más abundante estando presente en todas las épocas y siendo el hongo predominante en la mayoría de ellas (Figura 4). La alta diversidad y equidad observadas en la época seca S1 podría verse relacionada a una estrategia ante las condiciones ambientales menos favorables para compensar la absorción de nutrientes durante la escasez de agua disponible, pues se ha observado la tendencia a mantener un suministro de nutrientes como C y N de manera constante

en diferentes condiciones tanto ambientales como de desarrollo de algunas orquídeas (Ercole *et al.*, 2015; Zeng *et al.*, 2021).

La ganancia de morfotipos entre H1 y S1, y la pérdida del 87 % de los morfotipos presentes en S1 al pasar a H2 evidencia un recambio sustancial de hongos asociados, entre las diferentes épocas. La baja diversidad de morfotipos asociados a las épocas húmedas respecto a las secas sugiere que *O. reichenheimii* mantiene una relación parcialmente específica con sus hongos micorrízicos, pero presenta cierta plasticidad funcional, permitiendo la colonización de nuevos taxones bajo condiciones menos favorables.

La diferenciación observada en la distribución de morfotipos según la categoría de edad y el tipo de raíz de *O. reichenheimii* también concuerda con estudios previos que indican que las comunidades de hongos varían según el estado de desarrollo de las plantas. En *Bletilla ochracea* (Zeng *et al.*, 2021), *Cypripedium calceolus*, *Neottia ovata* y *Orchis militaris* (Oja *et al.*, 2014), *Calanthe siboldi* (Huang *et al.*, 2022), *Anacamptis Mario* (Ercole *et al.*, 2015) *Dichaea eburnea*, *Epidendrum odontochilum*, *Masdevallia nidifica* y *Oncidium klotzschianum* (Fernández *et al.*, 2023) se ha demostrado que la diversidad y composición de hongos cambian desde plántulas hasta individuos adultos.

Algunos hongos son críticos en etapas juveniles, mientras otros se asocian a la reproducción, posiblemente en respuesta a las diferentes necesidades fisiológicas y nutricionales de cada etapa. Su identificación ayuda a explicar el reclutamiento y supervivencia (Fernández *et al.*, 2023).

Del mismo modo, se observó la permanencia de algunos hongos específicos entre las diferentes etapas, sugiriendo que pueden ser esenciales para el establecimiento y desarrollo de estas plantas, mientras que los nuevos podrían tener algún aporte de recursos adicionales en etapas de crecimiento, reproducción o senescencia. En el caso de *O. reichenheimii*, la persistencia de ciertos morfotipos como M1 (*Penicillium* sp.1), M6 y M18 (*Penicillium* sp. 2) a lo largo de las cuatro épocas sugiere la existencia de asociaciones más estables con algunos de los hongos observados, sin embargo, es importante poder determinar el rol de estos hongos en

la asociación con las raíces de esta planta. La especialización en taxa fúngicos permite la partición de recursos, reduciendo competencia entre orquídeas coexistentes (Jacquemyn *et al.*, 2014).

En conjunto, estos resultados respaldan que *O. reichenheimii* presenta una comunidad de hongos asociadas a sus raíces moderadamente específica, con ciertos morfotipos persistentes entre épocas y etapas de desarrollo, pero también con un componente de recambio estacional, ontogénico y espacial. Esta plasticidad simbiótica podría representar una estrategia adaptativa para enfrentar condiciones climáticas contrastantes en su hábitat natural.

Caracterización molecular

La metodología implementada permitió la secuenciación de 9 de los morfotipos observados, la identificación a nivel específico de uno de ellos (*Umbellopsis brunnea*), siete se lograron identificar a nivel genérico (tres *Penicillium*, dos *Leptobacillium*, un *Neopestalotiopsis* y un *Fusarium*) y uno de los morfotipos se pudo identificar solo a nivel de familia (Amorosiaceae). Resalta el género *Penicillium* siendo el más abundante en las 4 épocas de colecta (Figura 4), presente en todas las categorías observadas.

La mayoría de los hongos identificados son descritos como endófitos, y, en general, estos hongos pueden tener la capacidad de generar metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana y mejorar la absorción de nutrientes, contribuyendo potencialmente al mantenimiento de las plantas y la solubilización de nutrientes (Adhikari y Pandey, 2019; Caruso, 2020)

***Penicillium* spp. (M1/OTU1, M18/OTU8, MP/OTU9):**

Los tres hongos clasificados como *Penicillium* (OTU1, OTU8 y OTU9) pertenecen a distintas secciones taxonómicas dentro del género, lo que sugiere una diversidad funcional potencialmente alta dentro del mismo grupo.

OTU1 (sección *Chrysogena*) fue el hongo más común y persistente, presente en todas las épocas, categorías de desarrollo y tipos de raíz, lo que indica una alta plasticidad ecológica y posible rol clave en la simbiosis con *O. reichenheimii*. Por su

parte, OTU8 (sección *Citrina*) también se detectó en tres de las cuatro épocas, exceptuando H2, en las dos categorías de desarrollo y en ambos tipos de raíz, y OTU9 (sección *Exilicaulis*) tuvo presencia restringida, únicamente en H1, en individuos juveniles y en ambos tipos de raíz, lo que sugiere que mientras M1 podría estar implicado en funciones esenciales, los otros dos podrían estar más sujetos a condiciones estacionales. La amplia distribución de M1 en todos los tipos de raíz y estados de desarrollo sugiere una interacción estable, mientras que los otros podrían actuar como simbiontes facultativos o endófitos transitorios.

El género *Penicillium* pertenece a la familia Aspergillaceae, del orden Eurotiales dentro de la división Ascomycota (Houbraken *et al.*, 2020). Este es un grupo de hongos saprófitos oportunistas ampliamente distribuido, en casi cualquier ambiente y diferentes condiciones fisicoquímicas (Pitt y Hocking, 2009).

Se ha demostrado que la asociación endófitica con *Penicillium* promueve la solubilización de fosfatos en raíces de *Taxus wallichiana* (Taxaceae) (Adhikari y Pandey, 2019), además de estimular la producción de ácido indolacético en *Dendrobium longicornu* (Orchidaceae), donde incrementa significativamente el número y tamaño de raíces y hojas en cultivos *in vitro* (Shah *et al.*, 2022); asimismo, este género fúngico ha mostrado capacidad para producir giberelinas, relacionadas con el crecimiento vegetal y la resistencia al estrés (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018), evidenciando su potencial como promotor del desarrollo vegetal.

Se han encontrado especies del género *Penicillium* en raíces de *Bletilla striata* y *B. ochracea* que consideran como especies putativas de hongos micorrízicos de orquídeas, además de especies saprótrofas o endófitas (Zeng *et al.*, 2021), sin embargo, especies de este género han sido mayormente reportadas como especies de hongos endófitos comunes en raíces de orquídeas terrestres y epífitas, como son *Liparis krameri* (Tsutsumi *et al.*, 2022), *Phalaenopsis pulcherrima*, *Bromheadia finlaysoniana* y *Dendrobium crumenatum* (Idris *et al.*, 2019), *Dendrobium longicornu* (Shah *et al.*, 2022), *Laelia speciosa* (Ávila-Díaz *et al.*, 2013), *Phalaenopsis* spp. (Watkinson y Winkel, 2024), *Stanhopea tigrina* (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018), entre otros.

***Leptobacillium* spp. (M1T/OTU2, MB/OTU10):**

Ambos morfotipos fueron identificados dentro del género *Leptobacillium* (OTU2 y OTU10), un grupo fúngico que ha sido recientemente delimitado filogenéticamente, perteneciente a la familia Cordycipitaceae, en el orden Hypocreales, dentro de la división Ascomycota (Zare y Gams, 2016).

OTU2 se registró en dos épocas contrastantes, lo que sugiere cierta adaptabilidad a condiciones ambientales variables. Por otro lado, OTU10 se observó sólo en juveniles, lo que podría indicar un papel específico en etapas tempranas del desarrollo. La asociación de estos morfotipos con raíces tanto aéreas como de sustrato sugiere un rango de interacción amplio, aunque su rol funcional específico aún requiere mayor estudio, pues no tenemos conocimiento acerca del rol ecológico de este género de hongos en Orchidaceae.

Se trata de un género de hongos saprótrofos, en ocasiones fungícolas (Zare y Gams, 2016) con algunas especies endófitas como *L. leptobactrum* y *L. chinese* en *Solanum lycopersicum* (Solanaceae) promoviendo su crecimiento (Liu-Xu *et al.*, 2025) o *L. symbioticum* aislado de soros de *Phakospora pachyrhizi* (Phacosporaceae), un hongo fitopatógeno de la soya (Okane *et al.*, 2020), además de que *L. chinense* ha sido reportado como agente en el control biológico contra nemátodos fitoparásitos (Zhao *et al.*, 2013).

***Neopestalotiopsis* sp. (M5/OTU4):**

Este género fúngico, recientemente descrito pertenece a la familia Pestalotiopsidaceae, del orden Amphisphaeriales, dentro de la división Ascomycota (Maharachchikumbura *et al.*, 2014).

Este morfotipo fue detectado exclusivamente en juveniles y en raíces de sustrato de *O. reichenheimii* la época S1, lo que podría indicar una asociación estacional y ontogénica específica, por otro lado, su presencia restringida podría representar un endófito oportunista más que un simbionte funcional. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para determinar su potencial endófito y/o patógeno en esta especie de orquídea.

Neopestalotiopsis es un género de hongos saprótrofos, endófitos y fitopatógenos de diversas plantas (Heng *et al.*, 2025; Maharachchikumbura *et al.*, 2014), se ha observado que este género es causante de la enfermedad del tronco de la vid (Vitaceae) (Maharachchikumbura *et al.*, 2016), y se ha detectado que afecta las hojas de *Erythralium scandens* (Olacaceae) (Yang *et al.*, 2021) y de *Chamaedorea quezalteca* (Arecaceae) (Sarmiento-Chacón *et al.*, 2023), las hojas y el fruto de la fresa (Rosaceae) (Ávila-Hernández *et al.*, 2025; Jiménez-Madrid *et al.*, 2024; Olivares-Rodríguez *et al.*, 2024), las hojas de *Litsea verticillata* (Lauraceae) (Heng *et al.*, 2025), de *Rhapis excelsa* (Palmae), *Rhododendron simsii* y *R. championiae* (Ericaceae) (Yang *et al.*, 2021).

En Orchidaceae, *Neopestalotiopsis clavispora* ha sido reportado como hongo fitopatógeno en hojas de *Dendrobium officinale* (Cao *et al.*, 2022) y *Neopestalotiopsis* sp. como endófito en raíces, hojas y pseudobulbos de *Stanhopea tigrina* además de que se reportó su capacidad de producir giberelinas (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018), y como endófito de raíces de *Renanthera coccinea* (Wang *et al.*, 2021).

***Fusarium* sp. (M9/OTU5):**

El género *Fusarium* forma parte de la familia Nectriaceae, del orden Hypocreales, dentro de la división Ascomycota (Catalogue of life, 2025-1).

En este estudio, M9 fue exclusivo de plantas adultas y de raíces de sustrato, lo que podría relacionarse con condiciones microambientales específicas.

El género *Fusarium* se encuentra ampliamente distribuido en suelos, principalmente suelos cultivables, y sus especies son reconocidas por su papel como fitopatógenos, causando una amplia gama de enfermedades como marchitez vascular, pudriciones de raíz y tallo, tizones pre y post emergentes, etc. La mayoría de ellas son especies saprófitas, e incluso, se han reportado especies endófitas (Pitt y Hocking, 2009).

Fusarium se encuentra entre los principales géneros fúngicos reconocidos por su capacidad de producir micotoxinas. Dentro de las toxinas más comunes generadas por este grupo se encuentran las tricotecenas, una clase de compuestos

sesquiterpénicos. Se han identificado más de 50 variantes de estas sustancias, muchas de las cuales presentan una toxicidad elevada, sin que se haya comprobado que alguna sea completamente inocua. Además, estas toxinas suelen sintetizarse en combinación, incluso en condiciones controladas de laboratorio, lo que dificulta su aislamiento y hace que la evaluación de su toxicidad individual sea compleja (Pitt y Hocking, 2009), sin embargo, se ha demostrado que *Fusarium* también tiene la capacidad de estimular la producción de ácido indolacético (*F. proliferatum*), un importante regulador del crecimiento y desarrollo de las plantas (Tsavkelova *et al.*, 2012; Shah *et al.*, 2022).

Fusarium fujikuroi, un hongo patógeno del arroz, destaca por su habilidad para sintetizar giberelinas (GAs), que son clave en el crecimiento vegetal. Sin embargo, la mayoría de sus especies afines carecen de esta capacidad, a pesar de poseer los genes necesarios en su genoma. Una excepción es *Fusarium proliferatum*, aislado de orquídeas, que demostró una producción notable de GAs, a diferencia de otras cepas altamente relacionadas (Tsavkelova *et al.*, 2008).

Diversos estudios han documentado la presencia de hongos del género *Fusarium* como endófitos en múltiples especies de orquídeas epífitas y terrestres, lo que sugiere una amplia plasticidad ecológica. Se han identificado especies de *Fusarium* en raíces, pseudobulbos, hojas y flores de *Stanhopea tigrina* (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018), en otras orquídeas como *Acampe rigida* (Wang *et al.*, 2021), *Bletilla striata* y *B. chracea* (Zeng *et al.*, 2021), *Cymbidium aloifolium* (Shubha & Srinivas, 2017), *Dendrobium longicornu* (Shah *et al.*, 2022), *Dichaea andina* (Alomía *et al.*, 2022), *Encyclia tampensis* (García *et al.*, 2024), *Laelia speciosa* y *L. autumnalis* (Ávila-Díaz *et al.*, 2013; Beltrán-Nambo *et al.*, 2018), *Paphiopedilum spicerianum* (Han *et al.*, 2016), *Rhynchostylis retusa* y *Vanda tessellata* (Sayem *et al.*, 2024) confirmando su amplia distribución en Orchidaceae.

Más allá de su papel como colonizador endofítico, algunas cepas de *Fusarium*, como *F. proliferatum* y *F. fujikuroi*, aisladas de varias especies de *Dendrobium* y *Cymbidium* han demostrado capacidad de inhibir bacterias fitopatógenas (Chua *et al.*, 2022), cepas de *Fusarium* que fueron aisladas de *D. moniliforme* lograron

promover la germinación, crecimiento y desarrollo de plántulas de *Rynchostylis retusa*, (Shah *et al.*, 2019), asimismo, y extractos obtenidos de cepas de *Fusarium* que fueron aisladas previamente de raíces de *D. moschatum*, estimularon la germinación de semillas de esta especie así como el desarrollo de protocormos de germinados *in vitro* de *D. longicornu* (Shah *et al.*, 2025).

Fusarium oxysporum, un hongo fitopatógeno, reportado como agente causal de marchitez en: *Bulbophyllum*, *Calanthe*, *Cattleya*, *Clowesia*, *Coelogyne*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Encyclia*, *Epidendrum*, *Gongora*, *Guarianthe*, *Laelia*, *Lemboglossum*, *Miltonia*, *Mormodes*, *Oncidium*, *Phalaenopsis*, *Rodriguezia*, *Rossioglossum*, *Scaphyglottis*, *Vanilla* y *Xylobium* (Rivera-Coto y Corrales-Moreira, 2007), quien principalmente infecta a las orquídeas iniciando por las raíces, atraviesa por el tejido vascular y termina marchitando a toda la planta (Fernández-Herrera *et al.*, 2020), fue reportado como un hongo micorrízico en *Bletilla striata* pues promovió la germinación de sus semillas, la formación de pelotones y el desarrollo de plantas vigorosas (Jiang *et al.*, 2019).

Estos hallazgos sugieren que, aunque algunas especies de *Fusarium* son conocidas por su patogenicidad, otras pueden establecer asociaciones funcionales con orquídeas, favoreciendo su germinación, crecimiento y establecimiento. Se recomienda llevar a cabo estudios necesarios que permitan delimitar si la cepa encontrada se relaciona como un hongo patógeno o endófito delimitado a individuos adultos de *O. reichenheimii*.

***Umbelopsis brunnea* (M12/OTU6):**

U. brunnea es una especie de hongo descrito recientemente (Zhao *et al.*, 2013) cuyas características ecológicas no están ampliamente estudiadas. Este género pertenece a la familia Umbelopsidaceae, del orden Umbelopsidiales perteneciente a la división Mucoromycota (Catalogue of life, 2025-2; Zhao *et al.*, 2013).

El morfotipo M12 fue identificado como *U. brunnea*, un hongo saprótrofo del suelo que también puede comportarse como endófito. En este caso, su aparición

exclusiva en plantas adultas y en una sola época indica una asociación muy específica o transitoria.

El género *Umbelopsis* se conforma de hongos saprótrofos comunes en el suelo y ambientes leñosos que posee un amplio repertorio de enzimas degradadoras de carbohidratos, compatibles con su ecología saprobica en ambientes leñosos y ensamblajes biológicos donde actúa como promotor del metabolismo vegetal y una gran capacidad de producción de lípidos (Muszewska *et al.*, 2021). Hongos de este género se han observado como endófitos de raíces de *Kadsura angustifolia* (Schisandraceae) (Wang *et al.*, 2017) y *Avenella flexuosa* (Poaceae) (Tejesvi *et al.*, 2012), además de promover su crecimiento.

A su vez, *Umbelopsis* ha sido reportado como endófito en raíces de orquídeas, lo que deja abierta la posibilidad de una interacción funcional bajo ciertas condiciones, como lo es en *Liparis krameri* (Tsutsumi *et al.*, 2022) y *Stanhopea tigrina* (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018), sin embargo, no es un hongo comúnmente reportado en los estudios sobre hongos asociados a especies de Orchidaceae, por lo que su presencia en *O. reichenheimii* en organismos adultos durante la época seca podría relacionarse con su capacidad saprótrofa, y es por esto que se recomienda continuar con estudios al respecto.

Amorosiaceae (M17/OTU7):

Este morfotipo no pudo ser identificado a nivel de género, pero se observa su asociación a la familia Amorosiaceae (Figura 13), del orden Pleosporales, dentro de la división Ascomycota (Catalogue of life, 2025-3).

La familia fue determinada por Thambugala *et al.* (2015), actualmente alberga 7 géneros recientemente descritos. Sin embargo, dentro de nuestro conocimiento, estos géneros no han sido reportados como endófitos de Orchidaceae. Los hongos de esta familia son principalmente micoparásitos y saprótrofos de la madera muerta, sin embargo, la presencia en *O. reichenheimii* sugiere una relación novedosa, además de la posibilidad de tratarse de una especie no descrita anteriormente.

Durante la búsqueda en BLAST de la secuencia obtenida de M17, las secuencias más cercanas, con un valor de Bootstrap de 0.64, relacionan a M17 con dos hongos no cultivables aislados de muestras de suelo en un bosque montañoso tropical prístino en el sur de Ecuador (Dueñas *et al.*, 2022), mismos hongos cuyas secuencias no fueron relacionadas con ninguna especie conocida de las que integran la familia Amorosiaceae, lo que refuerza la idea de una especie aún no descrita.

Se presentó únicamente en la época S1, en raíces aéreas de ambos estadios de desarrollo, por lo que podría tratarse de un endófito oportunista o un hongo facultativo, sin embargo, se requiere investigación adicional para confirmar su ecología y función en la relación con *O. reichenheimii*.

Se considera importante llevar a cabo análisis filogenéticos multi locus que permitan la identificación a nivel genérico o específico de esta cepa, o en su defecto, que confirmen su identidad como una especie no descrita, así como la realización de la descripción morfológica macro y microscópica para apoyar en su identificación, así como los experimentos necesarios que permitan determinar cuál es el papel que desempeña en la relación con *O. reichenheimii*.

Perspectivas

Los resultados obtenidos en este estudio abren diversas líneas de investigación que permitirán profundizar en la comprensión de las asociaciones fúngicas en *Oncidium reichenheimii* y otras orquídeas epífitas. En primer lugar, deberá realizarse la identificación de los morfotipos no clasificados hasta el nivel de género o específico ya que podrían corresponder a hongos clave o a especies aún no descritas con roles ecológicos relevantes. Su caracterización no solo ampliará el conocimiento sobre la diversidad fúngica asociada a *O. reichenheimii*, sino que también podría revelar nuevas especies con potencial biotecnológico o aplicaciones en conservación. Para ello, es indispensable el desarrollo y optimización de metodologías específicas que permitan una extracción eficiente y un cultivo exitoso

de hongos micorrízicos, muchas veces de crecimiento lento o con requerimientos particulares.

El uso de medios selectivos, condiciones controladas de incubación, temperatura específica por tipo de hongo en la fase de alineamiento durante la PCR, así como la implementación de técnicas complementarias como PCR anidada o secuenciación de múltiples marcadores, resultan fundamentales para superar las limitaciones actuales en su aislamiento e identificación. Solo mediante una aproximación metodológica más robusta será posible comprender a fondo la funcionalidad de estos simbioses en los procesos de germinación, establecimiento y desarrollo de las orquídeas epífitas en sus ambientes naturales.

Los hongos endófitos son conocidos por la producción de metabolitos secundarios y fitoreguladores como el ácido indolacético y giberelinas, que son importantes en el crecimiento y desarrollo de las plantas, asimismo, se ha demostrado que algunos hongos tienen el potencial de promover la germinación, crecimiento y desarrollo de orquídeas (Rajeevan *et al.*, 2024), los hallazgos de este estudio revelan una marcada variación en la composición y diversidad de la comunidad de hongos entre épocas climáticas y estados de desarrollo de las plantas, lo cual sugiere una interacción dinámica entre los hongos, el entorno y las orquídeas estudiadas.

El recambio de morfotipos observado, especialmente en relación con factores como la disponibilidad de agua y nutrientes, la temperatura y estado de desarrollo de las plantas, así como la persistencia de algunos hongos a lo largo de las épocas y estados de desarrollo de las plantas, apunta a una relación parcialmente específica pero adaptativa, en la que ciertos hongos podrían ser clave en el desarrollo y mantenimiento de *O. reichenheimii* y algunos otros actuar como simbioses facultativos bajo condiciones desfavorables, por ello, se considera importante la identificación y caracterización de los hongos asociados a las diferentes etapas para llevar a cabo estudios de tipo funcional (bioensayos, transcriptómica, metabolómica) que permitan confirmar e identificar la producción de compuestos que influyan en el metabolismo de las plantas, de modo que, al determinar su efecto en la fisiología de la planta hospedera y su relación en las diferentes condiciones contempladas nos

permita comprender su potencial funcional y su papel en el ciclo de vida de la orquídea, del mismo modo, sería interesante complementar con ensayos *in vitro* e *in vivo* que evalúen su papel en la germinación de semillas, establecimiento de protocormos, crecimiento vegetativo o reproducción.

Sería especialmente relevante determinar si estos hongos cumplen una función micorrízica o si se comportan exclusivamente como endófitos oportunistas, o en su defecto, como patógenos por el potencial de ciertos taxa de tener este comportamiento (como *Fusarium*, *Neopestalotiopsis* o *Leptobacillium*).

Asimismo, la identificación de morfotipos poco comunes o escasamente reportados en orquídeas, como *Leptobacillium*, *Umbelopsis brunnea* o el miembro no identificado de la familia Amorosiaceae, resalta la necesidad de realizar análisis filogenéticos multilocus, con el fin de precisar su posición taxonómica, evaluar su grado de novedad (potencial especie nueva) y comprender su rol ecológico.

Finalmente, debido a la situación alarmante de la población de *O. reichenheimii* en Tenderio y su asociación con comunidades fúngicas parcialmente específicas, es necesario incorporar un enfoque de conservación ecológica y simbiótica. Integrando la información obtenida en este estudio dentro de estrategias de propagación y conservación *in situ* y *ex situ* de orquídeas mexicanas, utilizando hongos nativos como bioinoculantes cuya actividad como promotores de la germinación, crecimiento y establecimiento de orquídeas sea comprobada previamente.

Referencias

- Adhikari, P. y A. Pandey. 2019. **Phosphate solubilization potential of endophytic fungi isolated from *Taxus wallichiana* Zucc. roots.** *Rhizosphere*. 9:2-9.
- Ali, A. G. Gyulai, N. Hidvégi, B. Kerti, F. Hemaïd, A. Pandey y J. Lee. 2014. **The changing epitome of species identification - DNA barcoding.** *Saudi Journal of Biological Sciences*. 21(3):204-31. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.03.003>
- Alomía, Y.A., J.T. Otero, J. Jersáková y P.R. Stevenson. 2022. **Cultivable fungal community associated to the tropical orchid *Dichaea andinda*.** *Fungal Ecology*. 57-58:101158.
- Ávila-Díaz, I., R. Garibay-Orijel, R.E. Magaña-Lemus y K. Oyama. 2013. **Molecular evidence reveals fungi associated within epiphytic orchid *Laelia speciosa* (HBK) Schltr.** *Botanical Sciences*. 91(4):523-529.
- Ávila-Hernández, J.G., C.G. León-Ramírez, M. del R. Abraham-Juárez, B. Tlapal-Bolaños, V. Olalde-Portugal, J.P. Délano-Frier, A. Martínez-Antonio y P. Aguilar-Zárate. 2025. ***Neopestalotiopsis* spp.: a threat to strawberry production and management.** *Horticulturae*. 11:288.
- Baldwin, B.G., M.J. Sanderson, J.M. Porter, M.F. Wojciechowski, C.S. Campbell y M.J. Donoghue. 1995. **The ITS region of ribosomal DNA: a valuable source of evidence in Angiosperm phylogeny.** *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 82(2):247-277. <https://doi.org/10.2307/2399880>
- Behrens-Chapuis, S., F. Herder y M. Geiger. 2021. **Adding DNA barcoding to stream monitoring protocols – What's the additional value and congruence between morphological and molecular identification approaches?.** *PLOS ONE*. 16(1): e0244598. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244598>
- Beltrán-Nambo, M.A., M. Martínez-Trujillo, J.C. Montero-Castro, R. Salgado-Garciglia, J.T. Otero-Ospina y Y. Carreón-Abud. 2018. **Fungal diversity in the roots of four epiphytic Orchids endemic to Southwest Mexico is related to the breadth of plant distribution.** *Rhizosphere*. 7:49-56.

- Beltrán-Nambo, M. de los A. 2010. **Aislamiento y caracterización de hongos micorrízicos asociados a orquídeas terrestres del género *Bletia* (Orchidaceae) en la Reserva Natural Brranca de Cupatitzio, del Mpio. de Uruapan, Michoacán.** [Tesis de maestría no publicada]. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán.
- Bertolini, V., J. Cruz-Blasi, A. Damony J. Valle-Mora. 2014. **Seasonality and mycorrhizal colonization in three species of epiphytic orchids in southeast Mexico.** *Acta Botanica Brasilica*. 28(4):512-518.
- Bhuiyan, M.S., M.M. Hossain, K.S. Hossain y M.N. Islam. 2021. **Isolation and identification of mycorrhizal fungus from an epiphytic orchid (*Rhynchostylis retusa* L.BL.).** *Bangladesh Journal of Botany*. 50(1):85-91.
- Boyer, S., V. Flechtner y J. Johansen. 2001. **Is the 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region a good tool for use in molecular systematics and population genetics? A case study in cyanobacteria.** *Molecular biology and evolution*. 18(6):1057-69. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003877>
- Cao, P., Y. Fang, Z. Zheng, X. Han, H. Zou y X. Yan. 2022. **Occurrence of *Neopestalotiopsis clavispora* causing leaf spot on *Dendrobium officinale* in China.** *Plant Disease*. 106:6.
- Caruso, G., N. Golubkina, A. Tallarita, M.T. Abdelhamid y A. Sekara. 2020. **Biodiversity, ecology, and secondary metabolites production of endophytic fungi associated with Amaryllidaceae crops.** *Agriculture*. 10(11):533.
- Catalogue of Life. 2025(1). ***Fusarium***. En <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/4LHD>. Consultado el 28 de Julio de 2025.
- Catalogue of life. 2025(2) ***Umbelopsis***. En <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/84R4>. Consultado el 28 de Julio de 2025.

Catalogue of Life. 2025(3). **Amorosciaceae.** En <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/622S6>. Consultado el 28 de Julio de 2025.

Chua, R.W., K.P. Song y A.S.Y. Ting. 2022. **Antimicrobial activities and phytochemical screening of endophytic fungi isolated from *Cymbidium* and *Dendrobium* orchids.** *South African Journal of Botany*. 151:909-918.

D'Alessandre, C., L.R. Jones y C.C. López-Lastra. 2013. **Characterization and phylogeny of *Isaria* spp. strains (Ascomycota: Hypocreales) using ITS1-5.8S-ITS2 and elongation factor 1-alpha sequences.** *Journal of Basic Microbiology*. 53:1-11.

Dueñas, J.F., S. Hempel, J. Homeier, J.P. Suárez, M.C. Rillong y T. Camenzid. 2022. **Root associated fungal lineages of a tropical montane forest show contrasting sensitivities to the long-term addition of nitrogen and phosphorus.** *Environmental Microbiology Reports*. 14:775-784.

Ercole, E., M. Adamo, M. Rodda, G. Gebauer, M. Girlanda y S. Perotto. 2015. **Temporal variation in mycorrhizal diversity and carbon and nitrogen isotope abundance in the wintergreen meadow orchid *Anacamptis morio*.** *New Phytologist*. 205:1308-1319.

Eustaquio-Nogueira, R., C. van den Berg, O. Liparini-Pereira y M.C. Megumi-Kasuya. 2013. **Isolation and molecular characterization of *Rhizoctonia*-like fungi associated with orchid roots in the Quadrilátero Ferrífero and Zona da Mata regions of the state of Minas Gerais, Brazil.** *Acta Botanica Brasilica*. 28(2):298-300.

Fernández, M., J. Kaur y J. Sharma. 2023. **Co-occurring epiphytic orchids have specialized mycorrhizal fungal niches that are also linked to ontogeny.** *Mycorrhiza*. 33:87-105.

Fernández-Herrera, E., I.I. Ramírez-Bustos, S.F. Moreno-Salazar, A. Ochoa-Meza y E. Villar-Luna. 2020. **Principales enfermedades fúngicas de las orquídeas.** *Agro Productividad*. 13(1):9-14.

- Fochi, V., W. Chitarra, A. Kohler, S. Voyron, V. R. Singan, E. A. Lindquist, K. W. Barry, M. Girlanda, I. V. Grigoriev, F. Martin, R. Balestrini y S. Perotto. 2017. **Fungal and plant gene expression in the *Tulasnella calospora*-*Serapis vomeracea* symbiosis provides clues about nitrogen pathways in orchid mycorrhizas.** *New Phytologist*. 213:365-379.
- Fomina, T.A., V.Yu. Kornienko y M.Yu. Minaev. 2020. **Methods of molecular diagnostics for fish species identification.** 3(3):32-41 *Food systems*. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-3-32-41>
- García, E., J. Dowing y A.A. Khoddamzadeh. 2024. **Characterization of mycorrhiza associating with *Encyclia tampensis* and its effect on plant health.** (Publicación anticipada: Versión 1). Research Square. DOI: 10.21203/rs.3.rs-3909368/v1.
- Gernandt, D., G. Salazar, F. Vergara, S. Arias, V. Sosa, A. García, J. Reyes, L. Cabrera y P. Rosas. 2011. **Código de barras genético de cinco grupos críticos de la flora de México.** Instituto de Ecología. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO, proyecto GE021. México, D. F. En <https://www.snib.mx/iptconabio/resource?r=SNIB-GE021#anchor-citation>.
- Han, J.Y., H.F. Xiao y J.Y. Gao. 2016. **Seasonal dynamics of mycorrhizal fungi in *Paphiopedillum spicerianum* (Rchb. f) Pfitzer – a critically endangered orchid from China.** *Global Ecology and Conservation*. 6:327-338.
- Heng, Z.-A., T.-C. Mu, N.O. Keyhani, L.-X. Yang, M.-H. Zheng, H.-J. Lv, Z.-Y. Zhao, Y.-C. Mao, J.-Y. Shang, J. Yang, H.-L. Pu, Y.-S. Lin, M.-J. Zhu, Y.-X. Dang, D.-M. Wu, Z.-X. Qiu, J.-Z. Qiu y X.-Y. Guan. 2025. **Three new species of *Neopestalotiopsis* and *Pseudoneopestalotiopsis* (Sporocadaceae, Amphisphaeriales) associated with shrub leaf diseases from Fujian, China.** *MycKeys*. 119:1-28.
- Hering, D., Á. Borja, J. Jones, D. Pont. P. Boets, A. Bouchez, K. Bruce, S. Drakare, B. Hänfling, M. Kahlert, F. Leese, K. Meissner, P. Mergen, Y. Reyjol, P. Segurado,

- A. Vogler y M. Kelly. 2018. **Implementation options for DNA-based identification into ecological status assessment under the European Water Framework Directive.** *Water research.* 138:192-205.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.003>
- Houbraken, J., S. Kocsubé, C.M. Visage, N. Yilmaz, X.-C. Wang, B. Kraak, V. Hubka, K. Bensch, R.A. Samson y J.C. Frisvad. 2020. **Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species.** *Studies in Mycology.* 95:5-169.
- Hsu, S.-Y., Y.-C. Xu, Y.-C. Lin, W.-Y. Chuang, S.-R. Lin, M. Stadler, N. Tangthirasunun, R. Cheewangkoon, H.A. Al-Shwaiman, A.M. Elgorban, H.A. Ariyawansa. 2024. **Hidden diversity of *Pestalotiopsis* and *Neopestalotiopsis* (Amphisphaeriales, Sporocadaceae) species allied with the stromata of entomopathogenic fungi in Taiwan.** *MycKeys.* 101:275-312.
- Huang, M., D. Gao, L. Lin, S. Wang y S. Xing. 2022. **Spatiotemporal dynamics and functional characteristics of the composition of the main fungal taxa in the root microhabitat of *Calanthe sieboldii* (Orchidaceae).** *BMC Plant Biology.* 22:556.
- Hyder, Z., G. Rizwani, H. Shareef, I. Azhar y M. Zehra. 2024. **Authentication of important medicinal herbal species through DNA-based molecular characterization.** *Saudi Journal of Biological Sciences.* 31(6): 103985.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103985>
- Idris, N.A., Z. Muhd-Zuhir, N.A. Mohd-Radzuan, N.S. Muda y R.I. Rosli. 2019. ***In vitro* response of fungi isolated from orchid in BRIS, Setiu Wetland and Mangrove in Morib, to different concentrations of lead.** *Malaysian Applied Biology.* 48(1):229-233.
- Jacquemyn, H., R. Brys, V.S.F.T. Merckx, M. Waud, B. Lievens y T. Wiegand. 2014. **Coexisting orchid species have distinct mycorrhizal communities and display strong spatial segregation.** *New Phytologist.* 202:616-627.

- Jacquemyn, H., M. Waud, R. Brys, F. Lallemand, P.E. Courty, A. Robionek y M.A. Selosse. 2017. **Mycorrhizal associations and trophic modes in coexisting Orchids: an ecological continuum between auto- and mixotrophy.** *Frontiers in Plant Science*. 8:1497.
- Jiang, J., K. Zhang, S. Cheng, Q. Nie, S. Zhou, Q. Chen, J. Zhou, X. Zhen, X. Li, T. Zhen, M. Xu, T. Hsiang, Z. Sun e Y. Zhou. 2019. ***Fusarium oxysporum* KB-3 from *Bletilla striata*: an orchid myzhorrizal fungus.** *Mycorrhiza*. 29:531-540.
- Jiménez-Madrid, A.M., G. Munoz, C. Collins y P. Brannen. 2024. **First report of the new *Neopestalotiopsis* species causing strawberry leaf supot and fruit rot in Georgia.** *Plant Disease*. 108:8.
- Katoh, K., K. Misawa, K. Kuma y T. Miyata. 2002. **MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform.** *Nucleic Acids Research*. 30: 3059–3066.
- Kohout, P., T. Tesitelová, M. Roy, M. Vohník y J. Jersáková. 2013. **A diverse fungal community associated with *Pseudorchis albida* (Orchidaceae) roots.** *Fungal Ecology*. 6:50-64.
- Ko Ko, T.W., S.L. Stephenson, A.H. Bahkali y K.D. Hyde. 2011. **From morphology to molecular biology: can we use sequence data to identify fungal endophytes?.** *Fungal Diversity*. 50:113-120.
- Lin, R.C., Z.S. Ding, L.B. Li y T.Y. Kuang. 2001. **A rapid and efficient DNA minipreparation suitable for screening transgenic plants.** *Plant Molecular Biology Reporter*. 19:379a-379e.
- Liu-Xu, L., B. Vicedo, K.K. Papadopoulou, G. Camañes y E. Llorens. 2025. **Isolation and characterization of a new *Leptobacillum* species promoting tomato plant growth.** *Scientific Reports*. 15:930.
- Lizcano-Salas, A.F., J. Duitama, S. Restrepo y A.M. Celis-Ramírez. 2024. **Phylogenomic approaches reveal a robust time-scale phylogeny of the Termina *Fusarium* Clade.** *IMA Fungus*. 15:13.

- Maharachchikumbura, S.S.N., K.D. Hyde, J.Z. Groenewald, J. Xu y P.W. Crous. 2014. ***Pestalotiopsis* revisited**. *Studies in Mycology*. 79:121-186.
- Maharachchikumbura, S.S.N., P. Laringnon, K.D. Hyde, A.M. Al-Sadi y Z.Y. Liu. 2016. **Characterization of *Neopestalotiopsis*, *Pestalotiopsis* y *Truncatella* species associated with gravepine trunk diseases in France**. *Phytopathologia Mediterranea*, 55(3):380-390.
- Maldonado-Bonilla, L.D., A.C. Sánchez-Espinosa y J.L. Villaruel-Ordaz. 2024. **Identificación de hongos mediante mediante códigos de barras de ADN**. *CIENCIA ergo-sum*. 31.
- Martínez-Hernández, F., F. Sánchez-Aguillón, J. Martínez-Ocaña, N. González-Arenas, M. Romero-Valdovinos, E. López-Escamilla, P. Maravilla y G. Villalobos. 2023. **Genetic variability of the internal transcribed spacer and pyruvate:ferredoxin oxidoreductase partial gene of *Trichomonas vaginalis* from female patients**. *Microorganisms*, 11(9):2240. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092240>
- Martos, F., F. Munoz, T. Pailler, I. Kottke, C. Gonneau y M.A. Selosse. 2012. **The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids**. *Molecular Ecology*. 21:5098-5109.
- McCormick, M. K. y H. Jacquemyn. 2014. **What constrains the distribution of orchid populations?**. *New Phytologist*. 202:392-400.
- Minh, B.Q., H.A. Schmidt, O. Chernomor, D. Schrempf, M.D. Woodhams, A. von Haeseler y R. Lanfear. 2020. **IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era**. *Molecular Biology and Evolution*. 37:1530-1534.
- Mir, R., K. Bhat, G. Rashid, L. Ebinezer, A. Masi, R. Rakwal, A. Shah Y S.M. Zargar. 2020. **DNA barcoding: a way forward to obtain deep insights about the realistic diversity of living organisms**. *The Nucleus*. 64:157-165. <https://doi.org/10.1007/s13237-020-00330-3>

- Muszevska, A., A. Okrasińska, K. Steczkiewicz, O. Drgas, M. Orłowska, U. Perlińska-Lenart, T. Aleksandrak-Piekarczyk, K. Szatraj, U. Zielenkiewicz, S. Piłsyk, E. Malc, P. Mieczkowski, J.S. Kruszevska, P. Bernat, J. Pawłowska. 2021. **Metabolic potential, ecology and presence of associated bacteria is reflected in genomic diversity of *Mucoromycotina***. *Frontiers in Microbiology*. 12:636988.
- Oja, J., P. Kohout, L. Tedersoo, T. Kull y U. Kõljalg. 2014. **Temporal patterns of orchid mycorrhizal fungi in meadows and forests as revealed by 454 pyrosequencing**. *New Phytologist*. 205:1608-1618.
- Okane, I., K. Nokata, Y. Kurihara, J.P. Abe e Y. Yamaoka. 2020. **A new species of *Leptobacillium*, *L. symbioticum*, isolated from mites and sori of soybean rust**. *Mycoscience*. 61:165-171.
- Olivares-Rodríguez, G., J.G. Angeles-Núñez, F. Mondragón-Rojas, P. Rivas-Valencia, J.L. Zárate-Castrejón, L.A. Mariscal-Amaro, L.F. Díaz-Espino y T.O. Martínez-Martínez. 2024. **Control *in vitro* de *Neopestalotiopsis* sp. Aislada de fresa empleando *Trichoderma* y fungicidas comerciales**. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 42(4):52.
- Ortega-Larrocea, M.P. 2008. **Propagación simbiótica de orquídeas terrestres con fines de restauración edafológica**. En J. Álvarez-Sánchez y Monroy-Ata. *Técnicas de estudio en las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración*. Facultad de Ciencias. UNAM. Ciudad de México. pp.85-96.
- Otero, J.T., J.D. Ackerman y P. Bayman. 2002. **Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids**. *American Journal of Botany*. 89(11):1852-1858.
- Pitt, J.A. y A.D. Hocking. 2009. **Fungi and food spoilage**. 3a Ed. Springer, Boston, Massachusetts. 520 pp.
- Rajeevan, P., A. Aneesa, G.P.A. Nair y S. Sugathan. 2024. **The role of endophytic fungi on orchid sustainability**. *Journal of Mycopathology Research*. 63(1):31-38.

- Rammitzu, K., N. Yamamoto, R.M.S. R. Chamara, M. Minobe, A. Kinoshita, N. Kotaka y Y. Ogura-Tsujita. 2023. **The epiphytic oechid *Vanda falcata* is predominantly associated with a single Tulanesllaceae fungus in adulthood, and Ceratobasidiaceae fungi strongly induce its seed germination *in vitro*.** *Plant Species Biology*. 38(6):306-318.
- Rasmussen, H.N. y D.F. Whigham. 2002. **Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy.** *New Phytologist*, 154, 797-807.
- Rincón-Hernandez, C.A. 2009. **Identificación de individuos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) con caracteres ancestrales, por medio de ITS** [Tesis de maestría no publicada]. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Micoacán, México.
- Riofrío, M.L., D. Cruz, E. Torres, M. de la Cruz, J.M. Iriondo y J.P. Suárez. 2013. **Mycorrhizal preferences and fine spatial structure of the epiphytic orchid *Epidendrum rhopalostele*.** *American Journal of Botany*. 100(12):2339-2348.
- Rivers, A.R., K. Weber, T. Gardner, S. Liu y S. Armstrong. 2018. **ITSxpress: Software to rapidly trim internally transcribed spacer sequences with quality scores for marker gene analysis.** *F1000Research*. 7. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15704.1>
- Romero-Salazar, N.C., J.M. Galvis-Gratz y J.P. Moreno-López. 2022. **Hongos formadores de micorrizas aislados a partir de raíces de la orquídea *Rodriguezia granadensis* (LINDL) RCHB. F.** *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*. 25(1):e2086.
- Salazar-Cerezo, S., N. Martínez-Montiel, M.C. Cruz-López y R.D. Martínez-Contreras. 2018. **Fungal diversity and community composition of culturable fungi in *Stanhopea tigrina* cast gibberellin producers.** *Frontiers in Microbiology*. 9:612.
- Sarmiento-Chacón, M., V. Hernández-García, L.A. Rodríguez-Larramendi, M.A. Salas-Marina y C. Ríos-Velasco. 2023. ***Neopestalotiopsis* sp. and**

- Colletotrichum karstii*, causal agents of leaf spots on camedor palm (*Chamaedora quezalteca*) in Mexico.** *Revista Mexicana de Fitopatología*. 41(2):165-181.
- Sanger, F., S. Nicklen y A.R. Coulson. 1977. **DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.** *Proceedings of the Natural Academy of Sciences*. 74(12):5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Sayem, M.A., M.S. Miah y M.M. Hossain. 2024. **Isolation and Identification of endophytic fungi from the roots of two epiphytic orchids: *Rhynchosstylis retusa* (L.) Bl. and *Vanda tessellata* (L.) Bl.** (Publicación anticipada: Version 1). *Research Square*. DOI:10.21203/rs.3.rs-4463026/v1.
- Sarmiento-Chacón, M., V. Hernández-García, L.A. Rodríguez-Larramendi, M.A. Salas-Marina y C. Ríos-Velasco. 2023. ***Neopestalotiopsis* sp. and *Colletotrichum karstii*, causal agents of leaf spots on camedor palm (*Chamaedora quezalteca*) in Mexico.** *Revista Mexicana de Fitopatología*. 41(2):165-181.
- Sayem, M.A., M.S. Miah y M.M. Hossain. 2024. **Isolation and Identification of endophytic fungi from the roots of two epiphytic orchids: *Rhynchosstylis retusa* (L.) Bl. and *Vanda tessellata* (L.) Bl.** (Publicación anticipada: Version 1). *Research Square*. DOI:10.21203/rs.3.rs-4463026/v1.
- Sayers, E.W., J. Beck, E.E. Bolton, J.R. Brister, J. Chan, R. Connor, M. Feldgarden, A.M. Fine, K. Funk, J. Hoffman, S. Kannan, C. Kelly, W. Klimke, S. Kim, S. Lathrop, A. Marchler-Bauer, T.D. Murphy, C. O'Sullivan, E. Schmieder, Y. Skripchenko, A. Stine, F. Thibaud-Nissen, J. Wang, J. Ye, E. Zellers, V.A. Schneider y K.D. Pruitt. 2025. **Database resources of the National Center for Biotechnology Information in 2025.** *Nucleic Acids Res.* 6;53(D1):D20-D29.
- Selosse. M., R. Petrolli, M. I. Mujica, L. Laurent, B. Perez-Lamarque, T. Figura, A. Bouceret, H. Jacquemyn, T. Li, J. Gao, J. Minasiewikz y F. Martos. 2022. **The Waiting Room Hypothesis revisited by orchids: were orchid mycorrhizal fungi recruited among root endophytes?.** *Annals of Botany*. 129:259-270.

- Shah, S., R. Shrestha, S. Maharjan, M.A. Selosse, B. Pant. 2019. **Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic fungi from the roots of *Dendrobium moniliforme***. *Plants*. 8:5.
- Shah, S., B. Shah, R. Sharma, B. Rekadwad, Y.S. Shouche, J. Sharma y B. Pant. 2022. **Colonization with non-mycorrhizal culturable endophytic fungi enhances orchid growth and indole acetic acid production**. *BMC Microbiology*. 22:101.
- Shah, S., M.R. Paudel, B.B. Thapa, H. Sharma, A.K. Kashyap, B.N. Rekadwad, R. Sharma, J. Sharma y B. Pant. 2025. **Extract from endophytic *Fusarium* isolates stimulates seed germination of the host and protocorm development of non-host orchids**. *Communicative & Integrative Biology*. 18:1.
- Shubha, J. y C. Srinivas. 2017. **Diversity and extracellular enzymes of endophytic fungi associated with *Cymbidium aloifolium* L.** *African Journal of Biotechnology*. 16(48):2248-2258.
- Silva-Freitas, E.F., M. da Silva, E. da Silva-Cruz, E. Mangaravite, M. Faust-Bocayuva, T.G. Reis-Veloso, M.A. Selosse y M.C. Magumi Kasuya. 2020. **Diversity of *Tulasnella* associated with epiphytic and rupicolous orchids from the Brazilian Atlantic Forest, including four new species**. *Scientific Reports*. 10:7069.
- Smith, S.E. y D.J. Read. 2008. **Mycorrhizal symbiosis**. Cambridge, UK: Academic Press. En [https://books.google.es/books?id=qLciOJaG0C4C&lpg=PP1&dq=Smith%20SE%20and%20Read%20DJ.%20\(2008\).%20Mycorrhizal%20symbiosis.%20Cambridge%2C%20UK%3A%20Academic%20Press&lr&hl=es&pg=PP1#v=onepage&q=Smith%20SE%20and%20Read%20DJ.%20\(2008\).%20Mycorrhizal%20symbiosis.%20Cambridge,%20UK:%20Academic%20Press&f=false](https://books.google.es/books?id=qLciOJaG0C4C&lpg=PP1&dq=Smith%20SE%20and%20Read%20DJ.%20(2008).%20Mycorrhizal%20symbiosis.%20Cambridge%2C%20UK%3A%20Academic%20Press&lr&hl=es&pg=PP1#v=onepage&q=Smith%20SE%20and%20Read%20DJ.%20(2008).%20Mycorrhizal%20symbiosis.%20Cambridge,%20UK:%20Academic%20Press&f=false), consultado el 01 de junio de 2024.
- Song, J., L. Shi, D. Li, Y. Sun, Y. Niu, Z. Chen, H. Luo, X. Pang, Z. Sun, C. Liu, A. Lv, Y. Deng, Z. Larson-Rabin, M. Wilkinson y S. Chen. 2012. **Extensive**

- pyrosequencing reveals frequent intra-genomic variations of internal transcribed spacer regions of nuclear ribosomal DNA.** *PLOS ONE*. 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043971>
- Spatafora, J.W., Y. Chang, G.L. Benny, K. Lazarus, M.E. Smith, M.L. Berbee, G. Bonito, N. Corradi, I. Grigoriev, A. Gryganskyi, T.Y. James, K. O'Donnell, R.W. Roberson, T.N. Taylor, J. Uehling, R. Vilgalys, M.M. White y J.E. Stajich. 2016. **A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data.** *Mycologia*. 108(5):1028-1046.
- Sun, X. y L.D. Guo. 2012. **Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques.** *Mycology*. 3(1):65-76.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei y S. Kumar. 2011. **MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods.** *Molecular Biology and Evolution*. 28: 2731–2739.
- Tejesvi, M.V., T. Sauvola, A.M. Pirttilä y A.L. Routsalainen. 2012. **Neighboring *Deschampsia flexuosa* and *Trientalis europaea* harbor contrasting root fungal endophytic communities.** *Mycorrhiza*. 23:1-10.
- Thambugala, K.M, K.D. Hyde, K. Tanaka, Q. Tian, D.N. Wanasinghe, H.A. Ariyawansa, S.C. Jayasiri, S. Boonmee, E. Camporesi, A. Hashimoto, K. Hirayama, R.K. Schumacher, I. Promputtha y Z.-Y. Liu. 2015. **Towards a natural classification and backbone tree for *Lophiostomataceae*, *Floricolaceae* and *Amorosiaceae* fam nov.** *Fungal Diversity*. 74:199-266.
- Tsavkelova, E.A., C. Bömke, A.I. Netrusov, J. Weiner y B. Tudzynski. 2008. **Production of gibberellic acids by an orchid-associated *Fusarium proliferatum* strain.** *Fungal Genetics and Biology*. 45:1393-1403.
- Tsavkelova, E.A., B. Oeser, L. Oren-Young, M. Israeli, Y. Sasson, B. Tudzynski y A. Sharon. 2012. **Identification and functional characterization of indole-3-acetamide-mediated IAA biosynthesis in plant-associated *Fusarium* species.** *Fungal Genetics and Biology*. 49:48-57.

- Tsutsumi, C., T. Hosoya, Y. Yamashita y T. Yukawa. 2022. **Mycorrhizal fungi isolated from *Liparis krameri* (Orchidaceae) in Japan.** *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B Botany.* 43(3):79-87.
- Wang, L., D. Qin, K. Zhang, Q. Huang, S. Liu, M.J. Han y J.Y. Dong. 2017. **Metabolites from the co-culture of nigranoic acid and *Umbelopsis dimorpha* SWUKD3.1410, an endophytic fungus from *Kadsura angustifolia*.** *Natural Product Research.* 31(12):1414-1421.
- Wang, T., M. Chi, L. Guo, D. Liu, Y. Yang e Y. Zhang. 2021. **The diversity of root-associated endophytic fungi from four epiphytic orchids in China.** *Diversity.* 13(5):197.
- Wang, Y.-N., X.-Y. Liu y R.-Y. Zheng. 2022. **The *Umbelopsis ramanniana* sensu lato consists of five cryptic species.** *Journal of Fungi.* 8:895.
- Watkinson, J.I. y B.S.J. Winkel. 2024. **Diversity of unique, nonmycorrhizal endophytic fungi in cultivated *Phalaenopsis* orchids: a pilot study.** *Plant-Environment Interactions.* 5:e10146.
- White, T.J., T.D. Burns, S.B. Lee y J.W. Taylor. 1990. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.** En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (eds.). *PCR protocols: a guide to methods and applications.* Academic Press. New York. pp. 315–322.
- Wu, L., Y. Cui, Q. Wang, Z. Xu, Y. Wang, Y. Lin, J. Song y H. Yao. 2021. **Identification and phylogenetic analysis of five *Crataegus* species (Rosaceae) based on complete chloroplast genomes.** *Planta.* 254. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03667-4>
- Yang, Q., X.-Y. Zeng, J. Yuan, Q. Zhang, Y.-K. He e Y. Wang. 2021. **Two new species of *Neopestalotiopsis* from southern China.** *Biodiversity Data Journal.* 9:e70446.

- Yao, H., J. Song, C. Liu, K. Luo, J. Han, Y. Li, X. Pang, H. Xu, Y. Zhu, P. Xiao y S. Chen. 2010. **Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals.** *PLOS ONE*. 5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013102>
- Zahn, F.B., Y-I. Lee y G. Gebauer. 2022. **Fungal association and root morphology shift stepwise during ontogenesis of orchid *Cremastra appendiculata* towards autotrophic nutrition.** *AoB Plants*. 14:1-10. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plac021>
- Zare, R., y W. Games. 2016. **More White *Verticillium*-like amamorphs with erect conidiophores.** *Mycological Progress*. 15:993-1030.
- Zeng, X., H. Diao, Z. Ni, L. Shao, K. Jiang, C. Hu, Q. Huang y W. Huang. 2021. **Temporal variation in community composition of root associated endophytic fungi and carbon and nitrogen stable isotope abundance in two *Bletilla* species (Orchidaceae).** *Plants*. 10:18.
- Zhao, D., B. Liu, L.Y. Li, X.F. Zhu, Y.Y. Wuang, J.Q. Wang, Y.X. Duan y L.J. Chen. 2013. ***Simplicillium chinense*; a biological control agent against plant parasitic nematodes.** *Biocontrol Science and Technology*. 23:980-986.

XII. DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS GENERALES

Los resultados obtenidos en este estudio confirman hallazgos previos sobre la plasticidad de las asociaciones micorrízicas en orquídeas epífitas (Jiménez-Peña *et al.*, 2018; Romero-Salazar *et al.*, 2022), pero revelan particularidades notables en *Oncidium reichenheimii*. La variación estacional en los patrones de micorrización, con mayor porcentaje de células micorrizadas durante la época seca pero predominantemente con pelotones digeridos. La variación de la micorrización entre condiciones climáticas coincide con lo reportado para *Tripulara discolor* y *Goodyera pubescens* (Rasmussen y Whigham, 2002), aunque contrasta con observaciones en *Rhynchostilis retusa* que muestra mayor micorrización en épocas húmedas (Sayem *et al.*, 2024). Esta divergencia sugiere que las estrategias simbióticas pueden variar significativamente incluso entre orquídeas epífitas de hábitats similares.

El presente trabajo indica que no existe variación en la micorrización entre individuos juveniles y adultos de *Oncidium reichenheimii*, lo que coincide con lo reportado por Ordoñez *et al.* (2014), quienes tampoco encontraron diferencias significativas entre categorías de desarrollo en *Masdevallia coccinea*. De manera similar, Jiménez-Peña *et al.* (2018) registraron micorrización en etapas adultas de *Laelia autumnalis*. Considerando que los ambientes epífitos son de bajos nutrientes (Osorio-Gil *et al.*, 2008), no sorprende la ausencia de variación en la micorrización entre categorías de desarrollo en *O. reichenheimii*, lo que sugiere que esta especie depende de dicha asociación para su supervivencia en todas las etapas de su ciclo de vida, como estrategia adaptativa frente a la escasez de nutrientes de su hábitat, semejante a lo encontrado para *Rhynchostele cervantesii* en el mismo sitio de estudio (Magaña-Lemus, en proceso).

La distribución de la micorrización no pudo ser determinada con claridad debido a que en cada época de colecta se vio cada vez mayor pérdida de tejido cortical hacia la zona apical de las raíces. Motivo por el cual no se pudo obtener información acerca del porcentaje de células micorrizadas en esta zona para comparar con las otras zonas (media y basal) observadas.

Las observaciones de campo sobre la escasa regeneración y pérdida de tejido cortical (15.29% en zona apical; $p=0.0041$) coinciden con reportes de estrés fisiológico en orquídeas epífitas ante cambios climáticos (Bertolini et al., 2014). El aumento de temperatura registrado (de 19.27°C en H1 a 27.75°C en H2) podría estar exacerbando estos efectos, como se ha documentado en *Erycina crista-galli* (Bertolini et al., 2014). Esta situación alerta sobre la vulnerabilidad de *O. reichenheimii* ante escenarios de calentamiento global, particularmente considerando su distribución restringida (Estrada-Sánchez et al., 2019).

La composición de la comunidad fúngica asociada a *O. reichenheimii* presenta aspectos particulares. La persistencia de *Penicillium* sp.1 en todas las condiciones evaluadas (Tabla 8) amplía el espectro de hongos potencialmente importantes para las Orchidaceae, tradicionalmente enfocado en *Rhizoctonia* spp. (Zeng et al., 2021). Este hallazgo concuerda con reportes recientes en *Stanhopea tigrina* (Salazar-Cerezo et al., 2018) y *Dendrobium longicornu* (Shah et al., 2022), donde especies de *Penicillium* mostraron capacidad para producir compuestos promotores del crecimiento vegetal. Sin embargo, la presencia de *Fusarium* sp. (identificado en adultos durante S1) plantea interrogantes, ya que este género incluye tanto patógenos como endófitos funcionales (Fernández-Herrera et al., 2020; Jiang et al., 2019; Rivera-Coto y Corrales-Moreira, 2007). Curiosamente, en *Bletilla striata*, *Fusarium oxysporum* fue reportado como micorriza (Jiang et al., 2019), lo que sugiere que su rol podría depender del contexto ecológico específico.

Particularmente relevante resulta el aislamiento de un miembro de la familia Amorosiaceae no identificado, que, de acuerdo con la falta de secuencias similares tras su búsqueda en BLAST, y la relativamente reciente descripción de la familia y sus géneros (Thambugala et al., 2015), podría corresponder a una especie no descrita anteriormente, destacando lo mucho que aún desconocemos sobre la diversidad fúngica asociada a los individuos epífitos de Orchidaceae.

En *O. reichenheimii* se observó el recambio de los morfotipos de hongos aislados y taxa de hongos identificados, tanto en diferentes etapas de desarrollo como entre condiciones climáticas, así como el mantenimiento de otros hongos, como

Penicillium sp.1, en todas las condiciones consideradas, estos resultados son consistentes con la alta variabilidad de hongos asociados observada en otras especies de orquídeas como respuesta a diferentes necesidades fisiológicas y nutricionales de cada etapa observada, tal es el caso de *Bletilla ochracea* (Zeng *et al.*, 2021), *Cypripedium calceolus*, *Neottia ovata* y *Orchis militaris* (Oja *et al.*, 2014), *Calanthe siboldi* (Huang *et al.*, 2022), *Anacamptis morio* (Ercole *et al.*, 2015) *Dichaea eburnea*, *Epidendrum odontochilum*, *Masdevallia nidifica* y *Oncidium klotzschianum* (Fernández *et al.*, 2023), donde se observó de manera general el recambio de algunos tipos de hongos y mantenimiento de otros tantos entre diferentes épocas climáticas como etapas de desarrollo.

Penicillium es un género de hongos ampliamente distribuido a nivel global (Pitt y Hocking, 2009), ampliamente representado con especies endófitas muy comunes en las orquídeas, algunas de estas especies han presentado la producción de sustancias que promueven la germinación, el crecimiento y el desarrollo de orquídeas, como el ácido indolacético (Shah *et al.*, 2022) y algunas giberelinas (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018).

Esta plasticidad podría representar una adaptación clave para sobrevivir en el ambiente epífito, caracterizado por fluctuaciones drásticas en disponibilidad de recursos (Osorio-Gil *et al.*, 2008).

Se considera especialmente importante determinar la identidad fúngica a nivel específico de los aislados obtenidos en las diferentes condiciones climáticas, además de realizar pruebas que determinen sus roles funcionales en la asociación con *O. reichenheimii* debido a la probabilidad de que estos socios fúngicos se comporten como endófitos, promotores de germinación, desarrollo y crecimiento vegetal, hongos saprófitos o patógenos en las diferentes etapas de desarrollo de *O. reichenheimii*, así como su capacidad de producir compuestos reguladores del crecimiento vegetal o metabolitos secundarios con efecto sobre la fisiología de las plantas y otros organismos potencialmente fitopatógenos. Con los estudios adecuados de tipo funcional (bioensayos, transcriptómica, metabolómica, expresión genética, cultivo *in vitro* asistido) en las diferentes categorías de desarrollo de *O.*

reichenheimii y bajo condiciones controladas de temperatura, disponibilidad de nutrientes y estrés hídrico se podría determinar el rol de cada uno de los hongos ante las diferentes condiciones previamente mencionadas. De este modo, poder generar conocimiento para promover la conservación a largo plazo de *Oncidium reichenheimii* en el predio de Tenderio, como de diversas orquídeas amenazadas en ambientes de constante perturbación por el cambio climático y alteraciones antropogénicas.

De manera general, *Oncidium reichenheimii* muestra una dinámica de micorrización sensible a las condiciones climáticas, ajustando sus patrones de colonización fúngica según la disponibilidad de humedad. Asimismo, se observa un recambio en los hongos asociados a sus raíces tanto entre los distintos estadios de desarrollo como entre épocas climáticas contrastantes. En conjunto, estos patrones sugieren que la orquídea podría favorecer una mayor colonización micorrízica en periodos de menor disponibilidad hídrica, posiblemente como estrategia para compensar la reducción en la disponibilidad de nutrientes y mantener su desempeño fisiológico.

XIII. REFERENCIAS GENERALES

- Almanza-Álvarez, J., R. Garibay-Orijel, R. Salgado-Garciglia, S. P. Fernández-Pavia, P. Lappe-Oliveras, E. Arellano-Torres e I. Ávila-Díaz. 2017. **Identification and control of pathogenic fungi in neotropical valued orchids (*Laelia* spp.).** *Tropical Plant Pathology*. 42:339-351.
- Alomía, Y.A., J.T. Otero, J. Jersáková y P.R. Stevenson. 2022. **Cultivable fungal community associated to the tropical orchid *Dichaea andinda*.** *Fungal Ecology*. 57-58:101158.
- Arriaga-Cardona, J.J. 2019. **Propagación in vitro y aclimatación de *Oncidium reichenheimii* (Orchidaceae) como estrategia para su conservación.** Tesis de licenciatura. Fac. de Biología no publicada. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 45 pp.
- Beltrán-Nambo, M.A., M. Martínez-Trujillo, J.C. Montero-Castro, R. Salgado-Garciglia, J.T. Otero-Ospina y Y. Carreón-Abud. 2018. **Fungal diversity in the roots of four epiphytic Orchids endemic to Southwest Mexico is related to the breadth of plant distribution.** *Rizosphere*. 7:49-56.
- Bertolini, V., J. Cruz-Blasi, A. Damony J. Valle-Mora. 2014. **Seasonality and mycorrhizal colonization in three species of epiphytic orchids in southeast Mexico.** *Acta Botanica Brasilica*. 28(4):512-518.
- Beutelspacher, B. C. R. 2008. **Catálogo de las orquídeas de Chiapas.** *Lacandonia*. (2) 2: 24-115.
- Bhuiyan, M.S., M.M. Hossain, K.S. Hossain y M.N. Islam. 2021. **Isolation and identification of mycorrhizal fungus from an epiphytic orchid (*Rhynchostylis retusa* L.BL.).** *Bangladesh Journal of Botany*. 50(1):85-91.
- Catalogue of life. 2025(1). **Orchidaceae.** En <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/DPL>. Consultado el 20 de julio de 2025.

- Catalogue of life. 2025(2). ***Oncidium reichenheimii* (Linden & Rchb.f.) Garay & Stacy**. En <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/49GXX>. Consultado el 24 de junio de 2025.
- Dearnaley, J., S. Perotto y M.A. Selosse. 2017. **Structure and development of orchid mycorrhizas**. En F. Martin (Ed.). **Molecular Mycorrhizal Symbiosis** (pp. 63-86). John Wiley & Sons, Inc.
- Domínguez, G. I. 2015. **Listado y caracterización ecológica de las orquídeas epífitas del Predio de Tenderio, de la comunidad indígena de Santiago Tingambato, Michoacán, México**. Tesis de licenciatura. Fac. de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 53 pp.
- Ercole, E., M. Adamo, M. Rodda, G. Gebauer, M. Girlanda y S. Perotto. 2015. **Temporal variation in mycorrhizal diversity and carbon and nitrogen isotope abundance in the wintergreen meadow orchid *Anacamptis morio***. *New Phytologist*. 205:1308-1319.
- Estrada-Sánchez, I., J. García-Cruz, A. Espejo-Serna y G. López-Ortega. 2019. **Identification of areas of endemism in the Mexican cloud forest based on the distribution of endemic epiphytic bromeliads and orchids**. *Phytotaxa*. 397(2):129-145.
- Favre-Godal, Q., L. Gourguillon, S. Lordel-Madeleine, K. Gindro y P. Choisy. 2020. **Orchids and their mycorrhizal fungi: an insufficiently explored relationship**. *Mycorrhiza*. 30:5-22.
- Fernández, M., J. Kaur y J. Sharma. 2023. **Co-occurring epiphytic orchids have specialized mycorrhizal fungal niches that are also linked to ontogeny**. *Mycorrhiza*. 33:87-105.
- Fernández-Herrera, E., I.I. Ramírez-Bustos, S.F. Moreno-Salazar, A. Ochoa-Meza y E. Villar-Luna. 2020. **Principales enfermedades fúngicas de las orquídeas**. *Agro Productividad*. 13(1):9-14.

- Fochi, V., W. Chitarra, A. Kohler, S. Voyron, V. R. Singan, E. A. Lindquist, K. W. Barry, M. Girlanda, I. V. Grigoriev, F. Martin, R. Balestrini y S. Perotto. 2017. **Fungal and plant gene expression in the *Tulasnella calospora*-*Serapis vomeracea* symbiosis provides clues about nitrogen pathways in orchid mycorrhizas.** *New Phytologist*. 213:365-379.
- García, E., J. Dowing y A.A. Khoddamzadeh. 2024. **Characterization of mycorrhiza associating with *Encyclia tampensis* and its effect on plant health.** (Publicación anticipada: Version 1). *Research Square*. DOI: 10.21203/rs.3.rs-3909368/v1.
- García-González, A., A. Damon, F.B. Riverón-Giiró e I. Ávila-Díaz. 2016. **Circular distribution of three species of epiphytic orchids in shade coffee plantation, in Soconusco, Chiapas, Mexico.** *Plant Ecology and Evolution*. 149(2):189-198.
- Herrera-Villanueva, P., I. Ávila-Díaz, A.L. López-Toledo, L. Cabrera-Martínez y C.L. Villanueva. 2019. **Ecological characterization of *Oncidium reichenheimii* with regard to its conservation.** En Conference Papers, Ecology. Ecuador (pp. 576-587).
- Huang, M., D. Gao, L. Lin, S. Wang y S. Xing. 2022. **Spatiotemporal dynamics and functional characteristics of the composition of the main fungal taxa in the root microhabitat of *Calanthe sieboldii* (Orchidaceae).** *BMC Plant Biology*. 22:556.
- INEGI. 2010. **Compendio de información geográfica municipal 2010. Tingambato, Michoacán de Ocampo.** En <https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=702825293048>. Consultado el 24 de julio de 2023.
- Jiang, J., K. Zhang, S. Cheng, Q. Nie, S. Zhou, Q. Chen, J. Zhou, X. Zhen, X. Li, T. Zhen, M. Xu, T. Hsiang, Z. Sun e Y. Zhou. 2019. ***Fusarium oxysporum* KB-3 from *Bletilla striata*: an orchid mycorrhizal fungus.** *Mycorrhiza*. 29:531-540.
- Jiménez-Peña, N., M. Sandoval-Villa, V.H. Volke-Haller, M.E. Pedraza-Santos. y E. Fernández-Herrera. (2018). **Colonización micorrízica de *Laelia autumnalis***

- (La Llave & Lex.) Lindl.). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 5(15): 547-553.
- Martos, F., F. Munoz, T. Pailler, I. Kottke, C. Gonneau y M.A. Selosse. 2012. **The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids**. *Molecular Ecology*. 21:5098-5109.
- McCormick, M. K. y H. Jacquemyn. 2014. **What constrains the distribution of orchid populations?**. *New Phytologist*. 202:392-400.
- McVaugh, R. 1985. **Flora Novo-Galiciana: a Descriptive Account of the Vascular Plants of Western Mexico. Vol. 16 Orchidaceae**. Ann Arbor and The University of Michigan Press, Michigan.
- Nurfadilah, S., N.D. Yulia y E.E. Ariyanti. 2016. **Morphology, anatomy, and mycorrhizal fungi colonization in roots of epiphytic orchids of Sempu Island, East Java, Indonesia**. *Biodiversitas*. 1(2):592-603.
- Oja, J., P. Kohout, L. Tedersoo, T. Kull y U. Kõljalg. 2014. **Temporal patterns of orchid mycorrhizal fungi in meadows and forests as revealed by 454 pyrosequencing**. *New Phytologist*. 205:1608-1618.
- Ordoñez, N.F., J.T. Otero, A.L. Díaz. 2014. **Interacciones de micorrizas de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl.** *Orquideología*. XXXI-2.
- Osorio-Gil, E.M., J. Forero-Montaña y J. Tupac-Otero. 2008. **Variation in mycorrhizal infection of the epiphytic orchid *Sinopsis utricularioides* (Orchidaceae) on different substrata**. *Caribbean Journal of Science*, 44, 130-132.
- Pérez-Decélis, V.A., I. Ávila-Díaz y R. Salgado-Garciglia. 2016. **Propagación *in vitro* de *Cuitlauzina pendula* la llave& lex (Orchidaceae) como alternativa para su conservación**. *Biología y Sustentabilidad*. 91-95.
- Pitt, J.A. y A.D. Hocking. 2009. **Fungi and food spoilage**. 3a Ed. Springer, Boston, Massachusetts. 520 pp.

- Rammitsu, K., N. Yamamoto, R.M.S. R. Chamara, M. Minobe, A. Kinoshita, N. Kotaka y Y. Ogura-Tsujita. 2023. **The epiphytic orchid *Vanda falcata* is predominantly associated with a single Tulanesllaceae fungus in adulthood, and Ceratobasidiaceae fungi strongly induce its seed germination *in vitro*.** *Plant Species Biology*. 38(6):306-318.
- Rasmussen, H.N. y D.F. Whigham. 2002. **Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy.** *New Phytologist*, 154, 797-807.
- Riofrío, M.L., D. Cruz, E. Torres, M. de la Cruz, J.M. Iriondo y J.P. Suárez. 2013. **Mycorrhizal preferences and fine spatial structure of the epiphytic orchid *Epidendrum rhopalostele*.** *Americal Journal of Botany*. 100(12):2339-2348.
- Rivera-Coto, G. y G. Corrales-Moreira. 2007. **Problemas fitosanitarios que amenazan la conservación de las orquídeas en Costa Rica.** *Lankesteriana*. 7(1-2):347-352.
- Roberts, D.L. y K.W. Dixon. 2008. **Orchids.** *Current Biology*. 18(8):R325-R329.
- Rojas-Zenteno, E.C., M. Orozco-Villa, S. Romero-Rangel y R. Montoya-Ayala. 2016. **Vegetación y flora del municipio de Temascaltepec, Estado de México, México.** *Polibotánica*. 42:43.89.
- Romero-Salazar, N.C., J.M. Galvis-Gratz y J.P. Moreno-López. 2022. **Hongos formadores de micorrizas aislados a partir de raíces de la orquídea *Rodriguezia granadensis* (LINDL) RCHB. F.** *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*. 25(1):e2086.
- Salazar-Cerezo, S., N. Martínez-Montiel, M.C. Cruz-López y R.D. Martínez-Contreras. 2018. **Fungal diversity and community composition of culturable fungi in *Stanhopea tigrina* cast gibberellin producers.** *Frontiers in Microbiology*. 9:612.
- Sayem, M.A., M.S. Miah y M.M. Hossain. 2024. **Isolation and Identification of endophytic fungi from the roots of two epiphytic orchids: *Rhynchostylis***

***retusa* (L.) Bl. and *Vanda tessellata* (L.) Bl.** (Publicación anticipada: Version 1). Research Square. DOI:10.21203/rs.3.rs-4463026/v1.

Shah, S., B. Shah, R. Sharma, B. Rekadwad, Y.S. Shouche, J. Sharma y B. Pant. 2022. **Colonization with non-mycorrhizal culturable endophytic fungi enhances orchid growth and indole acetic acid production.** *BMC Microbiology*. 22:101.

Secretaría de Gobernación. 2019. **MODIFICACIÓN del Anexo Normativo III, Lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo, publicada el 30 de diciembre de 2010.** Diario Oficial de la Federación. En https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5578808&fecha=14/11/2019#gsc.tab=0. Consultado el 18 de julio del 2023.

Secretaría del Medio Ambiente. 2022. **Certificado Área Voluntaria para la Conservación “Tenderio”.** SECMA-OS/01944/2022.

Selosse, M.A, R. Petrolli, M. I. Mujica, L. Laurent, B. Perez-Lamarque, T. Figura, A. Bouceret, H. Jacquemyn, T. Li, J. Gao, J. Minasiewikz y F. Martos. 2022. **The Waiting Room Hypothesis revisited by orchids: were orchid mycorrhizal fungi recruited among root endophytes?** *Annals of Botany*. 129:259-270.

Selosse, M.A. y F. Martos. 2014. **Do chlorophyllous orchids heterotrophically use mycorrhizal fungal carbon?** *Trends Plant Sciences*. 19(11):683-5. [http://doi: 10.1016/j.tplants.2014.09.005](http://doi:10.1016/j.tplants.2014.09.005)

Shah, S., B. Shah, R. Sharma, B. Rekadwad, Y.S. Shouche, J. Sharma y B. Pant. 2022. **Colonization with non-mycorrhizal culturable endophytic fungi enhances orchid growth and indole acetic acid production.** *BMC Microbiology*. 22:101.

Silva-Freitas, E.F., M. da Silva, E. da Silva-Cruz, E. Mangaravite, M. Faust-Bocayuva, T.G. Reis-Veloso, M.A. Selosse y M.C. Magumi Kasuya. 2020.

- Diversity of *Tulasnella* associated with epiphytic and rupicolous orchids from the Brazilian Atlantic Forest, including four new species.** *Scientific Reports*. 10:7069.
- Solano, G. R., R. Lagunez R. y O. Herrera. 2013. **Orquídeas de la Sierra Mixe de Oaxaca.** En: Briones-Salas, M., G. Manzanero M. y G. González P. (eds). **Estudios en zonas áridas de Oaxaca: Homenaje al Dr. Alejandro Flores Martínez.** Carteles Editores-P.G.O., S.A. de C.V. Oaxaca de Juárez. pp. 57-73.
- Thambugala, K.M, K.D. Hyde, K. Tanaka, Q. Tian, D.N. Wanasinghe, H.A. Ariyawansa, S.C. Jayasiri, S. Boonmee, E. Camporesi, A. Hashimoto, K. Hirayama, R.K. Schumacher, I. Promputtha y Z.-Y. Liu. 2015. **Towards a natural classification and backbone tree for *Lophiostomataceae*, *Floricolaceae* and *Amorosiaceae* fam nov.** *Fungal Diversity*. 74:199-266.
- Tsutsumi, C., T. Hosoya, Y. Yamashita y T. Yukawa. 2022. **Mycorrhizal fungi isolated from *Liparis krameri* (Orchidaceae) in Japan.** *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B Botany*. 43(3):79-87.
- Zahn, F.E., Y.I. Lee y G. Gebauer. 2022. **Fungal association and root morphology shift stepwise during ontogenesis of orchid *Cremastra appendiculata* towards autotrophic nutrition.** *AoB Plants*.14:1-10.
- Zeng, X., H. Diao, Z. Ni, L. Shao, K. Jiang, C. Hu, Q. Huang y W. Huang. 2021. **Temporal variation in community composition of root associated endophytic fungi and carbon and nitrogen stable isotope abundance in two *Bletilla* species (Orchidaceae).** *Plants*. 10:18.

ANEXO. Lista de códigos de acceso de GenBank de genes ITS para las especies utilizadas para la creación de árboles filogenéticos

OTU1, OTU8, OTU9			
ESPECIE	CÓDIGO GENBANK		
<i>Aspergillus felis</i>	MN431358	<i>Penicillium salmoniflumine</i>	KF932960
<i>Aspergillus oerlinghausenensis</i>	KT359601	<i>Penicillium sinaicum</i>	JX997090
<i>Penicillium allii-sativi</i>	JX997021	<i>Penicillium sizovae strain</i>	GU944588
<i>Penicillium aotearoae</i>	KT887874	<i>Penicillium tardochrysogenum</i>	JX997028
<i>Penicillium archerae</i>	NR185789	<i>Penicillium taurinense</i>	NR172034
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	AF033476	<i>Penicillium thymicola</i>	KJ834518
<i>Penicillium cerradense</i>	NR177502	<i>Penicillium tricolor</i>	JN942704
<i>Penicillium chalabudae</i>	KP016811	<i>Penicillium tropicum</i>	GU944582
<i>Penicillium chrysogenum</i>	NR077145	<i>Penicillium vanluykii</i>	NR111813
<i>Penicillium</i>		<i>Penicillium viridicatum</i>	AY373939
<i>cinnamopurpureum</i>	EF626950	OTU2, OTU10	
<i>Penicillium citreonigrum</i>	AF033456	ESPECIE	CÓDIGO GENBANK
<i>Penicillium citrinum</i>	AF033422	<i>Beauveria caledonica</i>	NR077147
<i>Penicillium confertum</i>	JX997081	<i>Beauveria majiangensis</i>	NR158356
<i>Penicillium cyclopium</i>	JN097811	<i>Beauveria malawiensis</i>	NR136979
<i>Penicillium desertorum</i>	JX997011	<i>Leptobacillium chinense</i>	NR155782
<i>Penicillium dipodomyus</i>	MN431359	<i>Leptobacillium filiforme</i>	NR171744
<i>Penicillium egyptiacum</i>	AF033467	<i>Leptobacillium leptobactrum</i>	NR154111
<i>Penicillium fagi</i>	AF481124	<i>Leptobacillium marksiae</i>	NR198847
<i>Penicillium flavigenum</i>	NR103695	<i>Leptobacillium symbioticum</i>	NR171812
<i>Penicillium goetzii</i>	NR111820	<i>Simplicillium album</i>	NR172844
<i>Penicillium halotolerans</i>	NR111812	<i>Simplicillium aogashimaense</i>	NR111026
<i>Penicillium hetheringtonii</i>	NR111482	<i>Simplicillium cylindrosporum</i>	NR111023
<i>Penicillium katangense</i>	AF033458	<i>Simplicillium humicola</i>	NR172845
<i>Penicillium kewense</i>	AF033466	<i>Simplicillium lamellicola</i>	NR111098
<i>Penicillium kurssanovii</i>	EF422849	<i>Simplicillium minatense</i>	NR111025
<i>Penicillium lanosocoeruleum</i>	JX997110	<i>Simplicillium obclavatum</i>	NR111099
<i>Penicillium malacaense</i>	EU427300	<i>Simplicillium subtropicum</i>	NR111024
<i>Penicillium melanoconidium</i>	MN431393	<i>Simplicillium sympodiophorum</i>	NR111027
<i>Penicillium meridianum</i>	AF033451	OTU4	
<i>Penicillium mononematosum</i>	JX997082	ESPECIE	CÓDIGO GENBANK
<i>Penicillium nalgiovense</i>	NR103694	<i>Neopestalotiopsis aotearoa</i>	NR163673
<i>Penicillium parvulum</i>	EF422845	<i>Neopestalotiopsis eucalypticola</i>	NR163670
<i>Penicillium persicinum</i>	NR111816	<i>Neopestalotiopsis hispanica</i>	NR175724
<i>Penicillium raciborskii</i>	AF033447	<i>Neopestalotiopsis honoluluana</i>	NR145245
<i>Penicillium restrictum</i>	AF033457		
<i>Penicillium rubens</i>	NR111815		

<i>Neopestalotiopsis javaensis</i>	NR145241	<i>Neocosmospora duplosperma</i>	NR177119
<i>Neopestalotiopsis megabetaspora</i>	NR198588	<i>Neocosmospora falciformis</i>	NR164424
<i>Neopestalotiopsis mesopotamica</i>	NR145244	<i>Neocosmospora illudens</i>	PV108226
<i>Neopestalotiopsis piceana</i>	NR163671	<i>Neocosmospora magnoliae</i>	NR_171102
<i>Neopestalotiopsis rosae</i>	NR145243	<i>Neocosmospora rubicola</i>	NR154227
<i>Neopestalotiopsis surinamensis</i>	NR145240	<i>Neocosmospora vasinfecta</i>	L36627
<i>Pestalotiopsis arceuthobii</i>	NR147561	<i>Nothofusarium devonianum</i>	MW827632
<i>Pestalotiopsis novae-hollandiae</i>	NR147557	<i>Rugonectria rugulosa</i>	MG991753
<i>Pseudopestalotiopsis cocos</i>	NR145246	<i>Setofusarium setosum</i>	NR173439
<i>Pseudopestalotiopsis thailandica</i>	NR164472		
<i>Pseudopestalotiopsis theae</i>	NR111716		

OTU6

OTU5	CÓDIGO GENBANK	ESPECIE	CÓDIGO GENBANK
<i>Albonectria albosuccinea</i>	HQ897788	<i>Mortierella minutissima</i>	EU484297
<i>Albonectria rigidiuscula</i>	KU377524	<i>Mortierella minutissima var. dubia</i>	JX976122
<i>Cyanonectria cyanostoma</i>	NR174712	<i>Umbelopsis angularis</i>	NR137072
<i>Fungal endophyte strain 606</i>	FJ449946	<i>Umbelopsis autotrophica</i>	NR111558
<i>Fusarium Algeriense</i>	NR158423	<i>Umbelopsis brunnea</i>	NR191114
<i>Fusarium alpinum</i>	NR182850	<i>Umbelopsis crustacea</i>	NR191181
<i>Fusarium annulatum</i>	NR138275	<i>Umbelopsis curvata</i>	NR189371
<i>Fusarium aquaticum</i>	NR182844	<i>Umbelopsis dimorpha</i>	NR111664
<i>Fusarium aseptatum</i>	NR191237	<i>Umbelopsis gibberispora</i>	NR103656
<i>Fusarium babinda</i>	NR159861	<i>Umbelopsis gutianensis</i>	NR191182
<i>Fusarium brachypodum</i>	NR198193	<i>Umbelopsis heterosporus</i>	NR191086
<i>Fusarium buharicum</i>	NR173416	<i>Umbelopsis swartii</i>	NR103654

OTU7

OTU5	CÓDIGO GENBANK	ESPECIE	CÓDIGO GENBANK
<i>Fusarium burgessii</i>	NR172292	<i>Alfoldia vorosii</i>	NR171211
<i>Fusarium citricola</i>	NR172265	<i>Alternaria aconidiophora</i>	NR166229
<i>Fusarium falsibabinda</i>	NR182843	<i>Alternaria chlamydosporifera</i>	NR166228
<i>Fusarium fujikuroi</i>	NR111889	<i>Alternaria junci-acuti</i>	NR174907
<i>Fusarium hechiense</i>	NR182846	<i>Alternaria mirabibensis</i>	NR171997
<i>Fusarium hostae</i>	NR171109	<i>Alternaria papavericola</i>	NR172290
<i>Fusarium iranicum</i>	NR175069	<i>Alternaria prunicola</i>	NR172408
<i>Fusarium oxysporum vasinfectum</i>	PQ200764	<i>Alternaria tectorum</i>	NR187081
<i>Fusarium ruscicola</i>	NR177580	<i>Amorocoelophoma cassiae</i>	NR163330
<i>Fusarium salinense</i>	NR172264	<i>Amorosia littoralis</i>	AM292047
<i>Fusarium solani</i>	NR163531	<i>Angustimassarina acerina</i>	NR138406
<i>Fusarium sp. 2 DoF7</i>	JQ388252	<i>Angustimassarina camporesii</i>	NR168223
<i>Fusarium sp. 2 DoF9</i>	JQ388254	<i>Angustimassarina kunmingense</i>	NR185720
<i>Fusarium sp. strain ZMr41</i>	MK102657	<i>Angustimassarina premilcurensis</i>	NR154658
<i>Fusarium sp. WF110</i>	HQ130669		
<i>Ilyonectria destructans</i>	MH496589		
<i>Neocosmospora ambrosia</i>	NR173405		

<i>Ascosichuania bambusicola</i>	NR199248	<i>Hermatomyces verrucosus</i>	NR191062
<i>Aspergillus avenaceus</i>	NR131262	<i>Leptoparies magnoliae</i>	NR182612
<i>Aspergillus hancockii</i>	NR154725	<i>Lophiostoma biappendiculatum</i>	NR175067
<i>Aspergillus lanosus</i>	NR135394	<i>Lophiostoma carabassense</i>	NR185590
<i>Aspergillus leporis</i>	NR135327	<i>Lophiostoma corticola isolate S95</i>	OQ789371
<i>Aspergillus magaliesburgensis</i>	NR171610	<i>Lophiostoma neomuriforme</i>	NR189352
<i>Bipolaris maydis</i>	NR138224	<i>Lophiostoma sp. isolate Soil Fungi</i>	PQ456397
<i>Bipolaris sivanesaniana</i>	NR151851	<i>Lophiostomataceae sp. strain</i>	
<i>Capronia acutiseta</i>	NR154744	OTU1423	MH811714
<i>Capronia capensis</i>	NR199125	<i>Massarina sp. CNT 016</i>	DQ863675
<i>Cladophialophora irregularis</i>	NR198226	<i>Massarina sp. isolate M1041/19</i>	MK855507
<i>Corynespora encephalarti</i>	NR165556	<i>Massarina tangneyae</i>	NR185786
<i>Corynespora idesia</i>	NR190269	<i>Neoangustimassarina</i>	
<i>Corynespora lignicola</i>	NR170018	<i>sichuanensis</i>	PP552668
<i>Corynespora pseudocassiicola</i>	NR159833	<i>Neopodoconis yunnanensis</i>	NR198281
<i>Corynespora submersa</i>	NR170017	<i>Neothyrostroma encephalarti</i>	NR166314
<i>Corynespora thailandica</i>	NR161145	<i>Neovaginatishpora aquadulcis</i>	NR182731
<i>Corynespora torulosa</i>	NR145181	<i>Neovaginatishpora mangiferae</i>	NR186930
<i>Curvularia boeremae</i>	NR158451	<i>Oblongocollomyces zhivanae</i>	NR191333
<i>Curvularia canadensis</i>	NR170004	<i>Oleaginea sichuanensis</i>	NR190262
<i>Curvularia fraseriae</i>	NR185676	<i>Parateichospora phoenicicola</i>	NR173065
<i>Curvularia maraisii</i>	NR197897	<i>Paucispora versicolor</i>	NR155306
<i>Curvularia stenotaphri</i>	NR175746	<i>Phaeotrichum benjaminii</i>	NR160140
<i>Curvularia tanzanica</i>	NR173195	<i>Phialophora submersa</i>	NR198229
<i>Curvularia tribuli</i>	NR172977	<i>Pleospora rosae</i>	NR157531
<i>Cylindrotorula indica</i>	NR175156	<i>Pleospora rosae-caninae</i>	NR157532
<i>Dendryphion europaeum</i>	NR158390	<i>Pleosporales sp. strain TUCIM</i>	
<i>Dendryphion fluminicola</i>	NR157490	6194	MT663379
<i>Diplodia acerigena</i>	NR198373	<i>Podocarpomyces knysnanus</i>	MN562155
<i>Diplodia cajani</i>	NR163672	<i>Preussia citrullina</i>	NR191066
<i>Dothiorella camelliae</i>	NR198374	<i>Preussia polymorpha</i>	NR137729
<i>Dothiorella franceschini</i>	NR198362	<i>Preussia procaviicola</i>	NR173052
<i>Dothiorella magnoliae</i>	NR191055	<i>Pseudocapulatispora fragrantis</i>	NR182381
<i>Dothiorella zanthoxyli</i>	NR198375	<i>Pseudocyclothyriella clematidis</i>	NR170799
<i>Eutiarosporella mintziae</i>	NR191344	<i>Pseudoteichospora thailandensis</i>	NR197894
<i>Exserohilum khartoumense</i>	NR157476	<i>Pseudotetraploa longissima</i>	NR119399
<i>Flabellascoma pistaciae</i>	NR190264	<i>Quadricrura bicornis</i>	NR119400
<i>Flabellascoma sichuanense</i>	NR182595	<i>Quadricrura meridionalis</i>	NR119401
<i>Hermatomyces bifurcatus</i>	NR191059	<i>Quadricrura septentrionalis</i>	NR119402
<i>Hermatomyces clematidis</i>	NR170802	<i>Rostriconidium aquaticum</i>	NR160340
<i>Hermatomyces constrictus</i>	NR191060	<i>Rostriconidium pandanicola</i>	NR168186
<i>Hermatomyces hainanensis</i>	NR190258	<i>Sparticola irregularis</i>	NR190259
<i>Hermatomyces jinghaensis</i>	NR174919	<i>Teichospora acaciae</i>	NR138410
<i>Hermatomyces megasporus</i>	NR191061	<i>Teichospora proteae</i>	NR175016
<i>Hermatomyces turbinatus</i>	NR174918	<i>Teichospora quercus</i>	NR159069

<i>Thysanorea curvata</i>	NR154180
<i>Thysanorea yunnanensis</i>	NR154181
<i>Torula lancangjiangensis</i>	NR175706
<i>Torula longiconidiophora</i>	NR198369
<i>Torula sichuanensis</i>	NR198368
<i>Torula submersa</i>	NR198370
<i>Umbelopsis brunnea</i>	NR191114
Uncultured fungus	OU005662
Uncultured fungus	OU004653
<i>Vaginatipora lignicola</i>	NR185420
<i>Westerdykella dispersa</i>	NR111187
<i>Xenomonodictys iranica</i>	NR172001

Jorge de Jesús Arriaga Cardona

Hongos asociados a raíces de *Oncidium reichenheimii* (Linden et Rchb.f.) Garay et Stacy, en el predio de Tenderio, municipio ...

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:535885152

Fecha de entrega

3 dic 2025, 11:36 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

3 dic 2025, 11:41 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Hongos asociados a raíces de *Oncidium reichenheimii* (Linden et Rchb.f.) Garay et Stacy, en el pr....pdf

Tamaño del archivo

3.0 MB

125 páginas

30.109 palabras

173.818 caracteres

21% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 20%  Fuentes de Internet
- 17%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
106 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**
3 caracteres sospechosos en N.º de página
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas	
Título del trabajo	Hongos asociados a raíces de <i>Oncidium reichenheimii</i> (Linden et Rchb.f.) Garay et Stacy, en el predio de Tenderio, municipio de Tingambato, Michoacán, en condiciones climáticas contrastantes	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Biól. Jorge de Jesús Arriaga Cardona	1215879b@umich.mx
Director	D.C. Irene Ávila Díaz	irene.avila@umich.mx
Codirector	M.C. Rosa Elia Magaña Lemus	0212484e@umich.mx
Coordinador del programa	D.C. Rosa Elvira Nuñez Anita	mae.ciencias.biologicas@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	Sí	Se utilizó IA como apoyo en la mejora de redacción y clarificación de ideas en algunos apartados del texto.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	Sí	Se usó IA para mejorar claridad, estilo y fluidez de algunos párrafos, conclusiones y secciones de metodología, sin modificar contenido científico.
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	No	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro	Sí	La IA proporcionó apoyo para identificar errores de formato en Word, resolver problemas de saltos de página y ajustar la presentación de tablas y figuras.

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Jorge de Jesús Arriaga Cardona 
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán. A 28 de noviembre de 2025. 