



Caracterización de la síntesis micorrícica de *Pinus cooperi* C. E. Blanco con *Suillus placidus* (Bonord.) Singer en vivero

Título corto: Síntesis de *Pinus cooperi* con *Suillus placidus*

Laura E. Martínez-Nevárez¹ (<https://orcid.org/0000-0001-6443-3305>)

José L. García-Rodríguez² (<https://orcid.org/0000-0002-8581-1229>)

José Á. Prieto-Ruíz¹ (<https://orcid.org/0000-0002-2954-535X>)

José Á. Sigala-Rodríguez² (<https://orcid.org/0000-0003-4292-8707>)

Artemio Carrillo-Parra³ (<https://orcid.org/0000-0003-0285-5224>)

Pedro A. Domínguez-Calleros¹ (<https://orcid.org/0000-0001-9520-2817>)

Magdalena Martínez-Reyes^{4*} (<https://orcid.org/0000-0003-2352-917X>)

¹Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Av. río Papaloapan y Bulevar Durango s/n, col. Valle del Sur. C. P. 34120. Durango, Durango, México.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Valle del Guadiana. Carretera El Mezquital-Durango, km 4.5. C. P. 34170. Durango, Durango, México.

³Universidad Juárez del Estado de Durango, Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera. Av. Veterinaria núm. 501, esquina con Bulevar del Guadiana, Circuito Universitario. C. P. 34120. Durango, Durango, México.

⁴Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, col. Montecillo. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

*Corresponding author: martinezreyes2012@gmail.com



Resumen

Introducción. Las ectomicorrizas del género *Suillus* tienen un alto grado de afinidad con *Pinus* spp.; no obstante, la asociación entre las especies de ambos géneros no siempre es compatible. Específicamente para *Pinus cooperi* C. E. Blanco, a la fecha, no hay reportes de la descripción de la asociación con algún hongo ectomicorrícico.

Objetivo. Comprobar y describir la asociación micorrícica entre *P. cooperi* y *Suillus placidus* (Bonord.) Singer en vivero.

Materiales y métodos. Las plantas de *P. cooperi* se inocularon a los tres meses de edad con himenio de *S. placidus*. Dieciséis meses después de la siembra, las raíces micorrizadas se muestrearon para la caracterización molecular y morfoanatómica de los morfotipos.

Resultados. La secuenciación genética tuvo un rango de 99.67 a 100 % de afinidad con datos del GenBank para *S. placidus*. El sistema micorrícico fue abundante con morfotipos dicotómicos y micelio externo con presencia de rizomorfos. El arreglo celular del manto fúngico fue plectenquimatoso y la red de Hartig cubrió hasta la tercera capa de células corticales.

Conclusión. Se comprobó la síntesis micorrícica entre *P. cooperi* con *S. placidus*. Se describe por primera vez una asociación simbiótica para el fitobionte.

Palabras clave: caracterización molecular, ectomicorriza, manto fúngico, morfotipos, rizomorfos.

Recibido: 27 de junio, 2025

Aceptado: 11 de junio, 2026

Introducción



El sistema radical del 90 % de las plantas vasculares del planeta está asociado con hongos del suelo en una relación simbiótica mutualista. Este tipo de unión se conoce como micorriza; hay siete tipos, pero la micorriza arbuscular y la ectomicorriza (ECM) son las de mayor importancia y distribución en ecosistemas forestales (Smith & Read, 2008). La ECM predomina en árboles de la familia Pinaceae, asociados principalmente con hongos ectomicorrícicos de los filos Basidiomycota y Ascomycota (Rodríguez-Gutiérrez et al., 2020).

En la asociación de ECM, las estructuras filamentosas de los hongos, llamadas hifas fúngicas, conforman el manto fúngico, el cual recubre los ápices de las raíces de las plantas en forma de un manto. Las hifas de dicho manto, a su vez, crecen de forma bidireccional hacia afuera en el suelo formando el micelio externo y hacia adentro de la raíz a través de los espacios intersticiales de las células del córtex, formando la red de Hartig (Barragán-Soriano et al., 2022; Pérez-Moreno & Read, 2004). A través del micelio externo, las plantas pueden adquirir agua no disponible en la zona inmediata del sistema radical y transportarla de manera eficiente hasta el xilema, lo cual mejora las relaciones hídricas de las plantas hospederas (Brunner et al., 2015).

Los hongos ectomicorrícicos (HECM) pueden transferir nutrientes esenciales a los fitobiontes, debido a su mayor capacidad de exploración y acceso a la solución del suelo; sin embargo, en sitios con fertilidad alta, la diversidad de HECM y la tasa de colonización disminuyen (Kumar & Atri, 2018). Por otra parte, los HECM modulan las comunidades bacterianas y la dinámica de metales pesados mediante mecanismos fisiológicos y nutricionales de la planta (Chot & Reddy, 2022; Song et al., 2025; Yuan et al., 2026). También se ha documentado que los HECM pueden mejorar el almacenamiento de carbohidratos no estructurales en las plantas en condiciones de sequía severa (Wang et al., 2021a); a cambio, los HECM obtienen carbohidratos derivados de la fotosíntesis de las plantas (Smith & Read, 2008). Asimismo, la inoculación con HECM en etapa de vivero puede beneficiar el crecimiento de plantas después del trasplante, especialmente en áreas perturbadas (Murata et al., 2017). De esta manera, los HECM favorecen el éxito y



supervivencia de las reforestaciones, plantaciones y rehabilitación de tierras forestales (Hui et al., 2018; Smith & Read, 2008).

Los efectos de los HECM en las plantas varían según la interacción específica entre especies de fitobionte y micobionte (Cheng et al., 2024) y se reflejan en diferencias de la tolerancia al estrés y la respuesta morfofisiológica en las plantas (Bai et al., 2021). Además, puede existir incompatibilidad entre simbiontes, incluso dentro del mismo género (Liao et al., 2016), por lo que es necesario comprobar la compatibilidad entre organismos de especies distintas y, posteriormente, su persistencia y efectos en el desarrollo vegetal (Gomes et al., 2016). En este sentido, existen herramientas moleculares que definen las especies involucradas en una simbiosis ECM (Ángeles-Argáiz & Garibay-Orijel, 2019; Wang et al., 2021b); sin embargo, son técnicas especializadas y costosas, por lo que se utilizan con poca frecuencia. La identificación de la ECM con descriptores morfológicos y anatómicos es una herramienta complementaria y accesible (Janowski & Leski, 2023), especialmente cuando se carece de equipos sofisticados y recursos económicos para realizar análisis moleculares. También pueden estar presentes otros rasgos informativos no anatómicos, como las reacciones químicas y el color de la ECM (Agerer, 2006; Janowski & Leski, 2023). No obstante, se ha demostrado que el uso de herramientas moleculares, junto con la caracterización de morfotipos, es más efectiva para la identificación de especies que cuando se utilizan por sí solas (Estevão et al., 2018; Marozzi et al., 2018).

La información en las descripciones de ECM es importante para reconocer a los hongos asociados a un fitobionte en particular, en ausencia de esporomas y análisis moleculares (Baeza et al., 2021; Rodríguez-Gómez-Tagle et al., 2024; Soto-Gil et al., 2022). Varios HECM con plantas de los géneros *Abies* Mill., *Pinus* L. y *Quercus* L. se han caracterizado por Agerer (1991, 1995, 2001, 2006). También existen bancos de información digital como DEEMY (An Information System for characterization and DEtermination of EctoMYcorrhizae) que ofrece información con una cantidad importante de caracterizaciones de ECM (DEEMY, 2024). Una implicación práctica es la comprensión del impacto de ciertas prácticas silvícolas sobre la diversidad, riqueza y abundancia de HECM en condiciones diversas, para buscar estrategias que conserven el reservorio



genético y la restauración de ecosistemas forestales (Soto-Gil et al., 2022) o bien para estudios de distribución de las especies (Pietras et al., 2018).

Pinus cooperi C. E. Blanco es una variedad endémica de la Sierra Madre Occidental (SMO) con distribución natural en Chihuahua, Durango y Nayarit (García & González, 2003). En el estado de Durango, *P. cooperi* es una de las principales especies producidas en vivero por su uso amplio en los programas de reforestación, ya que aporta madera de buena calidad y de mayor valor económico (Graciano-Luna et al., 2025). A la fecha, se han realizado estudios en vivero para la producción de planta de *P. cooperi* de calidad, con la finalidad de aumentar la supervivencia y desarrollo en campo (González-Orozco et al., 2018; Martínez-Nevárez et al., 2023; Prieto-Ruíz et al., 2018), y se han analizado las dosis óptimas de fertilización para favorecer la colonización ectomicorrícica (Martínez-Nevárez et al., 2025). No obstante, aún se carece de estudios que describan morfoanatómicamente las ECM en esta especie.

Los hongos del género *Suillus* se distribuyen ampliamente en la SMO y son conocidos por su capacidad alta para asociarse a plantas de *Pinus* spp., por lo que se consideran especies pioneras con potencial de uso como bioinoculante en vivero (Lofgren et al., 2024; Pérez-Moreno et al., 2020; Policelli et al., 2019); además, son hongos comestibles en estados del centro de México (Garibay-Orijel et al., 2013). No obstante, es importante confirmar y caracterizar la asociación entre ambos simbioses para promover, posteriormente, el uso de *S. placidus* como bioinoculante en la producción de planta en vivero. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue comprobar y describir la asociación micorrícica entre *P. cooperi* y *Suillus placidus* (Bonord.) Singer en vivero.

Materiales y métodos

Área de recolección de esporomas



Los esporomas se recolectaron en un bosque de pino-encino de la SMO con predominancia de *P. cooperi*, *P. durangensis* Martínez y especies del género *Quercus*. El sitio se ubica en las coordenadas 23° 40' 30" a 23° 50' 35" N y 105° 30' 30" a 105° 19' 30" O en el ejido El Brillante, Pueblo Nuevo, Durango, México, con altitudes de 2 200 a 2 800 m. El clima es templado semifrío subhúmedo con lluvias en verano, precipitación anual entre 700 y 1 300 mm y temperaturas entre 10 y 18 °C (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2025).

Obtención del material fúngico

En julio de 2021, durante la temporada de lluvias, se recolectaron esporomas de HECM con características morfológicas afines a *S. placidus* (Figura 1a). El material de estudio se colocó y transportó en canastas de mimbre, para favorecer la dispersión de esporas, la ventilación y la integridad física de los ejemplares.



Figura 1. Plantas de *Pinus cooperi* de 11 semanas, en etapa de vivero, inoculadas con esporomas afines a *Suillus placidus*. a) Esporomas frescos recolectados en campo; b)



inoculación mediante aplicación de himenios secos y molidos directamente en el medio de crecimiento.

Procesamiento en laboratorio

El material fúngico se procesó en condiciones de laboratorio, donde se separó el himenio del píleo y se secó sobre bastidores con malla tamiz de 0.5 cm a temperatura ambiente ($<30\text{ }^{\circ}\text{C}$). Una vez seco, el himenio se molió en un molino eléctrico para forraje (Thomas Model 4 Wiley® Mill) con tamiz de 1 mm. El material procesado tuvo un contenido de 1.07×10^7 esporas $\cdot\text{g}^{-1}$, contabilizadas con un hematocitómetro. El inóculo se almacenó durante 90 días en recipientes plásticos en refrigeración a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su utilización en vivero (Barragán-Soriano et al., 2022; Figura 1b).

Producción de plantas

La planta de *P. cooperi* se produjo en el vivero forestal de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED) en Durango, México. Las semillas se recolectaron en rodales naturales de pino-encino de la comunidad Guajolotes ($24^{\circ} 27' 39.75''\text{ N}$ y $105^{\circ} 32' 53''\text{ O}$, 2 540 m), municipio de San Dimas, Durango, México.

Los envases de cultivo fueron tubetes cónicos de polietileno negro de 170 mL, con 20 cm de largo y diámetros de 2 cm en la base y 4 cm en la parte superior. Como sustrato se



empleó una mezcla de 60 % de turba y 40 % de corteza de pino compostada. Previo al llenado del envase, el sustrato se desinfectó con una solución de $6.26 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ de bactericida-fungicida comercial (sales cuaternarias de amonio + sulfato de cobre pentahidratado, Anibac Plus®, México). El sustrato reposó por dos días y, posteriormente, se sometió a esterilización en vapor de agua durante dos horas por dos días. Previo a la siembra, la semilla se remojó en agua durante 24 h y luego se desinfectó en una solución de hipoclorito de sodio al 10 % por 10 minutos. Transcurrido este tiempo, el 13 de septiembre de 2021, la semilla se impregnó con fungicida (Tiabendazol: 2-(4-tiazolil) - 1H benzimidazol, Tecto® 60, Syngenta AG, México) para el control de posibles hongos parásitos o patógenos y se procedió a la siembra (Prieto Ruíz et al., 2009).

Siete semanas después de la siembra se aplicaron fertilizantes hidrosolubles junto con el riego de forma manual dos veces por semana y un riego intermedio con solo agua. La fertilización se hizo a razón 60 mg de nitrógeno (N) por planta y se complementó con proporciones de fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca) y azufre (S) (Prieto Ruíz et al., 2009). Además, se aplicó un complejo de micronutrientes quelatados (Ultrasol® micro, Rexene®, SQM, Chile) a razón de $0.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Las plantas crecieron durante 24 semanas en condiciones de invernadero a 15.5°C y 47.2 % de humedad relativa; posteriormente, estuvieron en un área con malla sombra durante 15 semanas a 22.4°C y 44.6 % de humedad relativa. El resto de su desarrollo, hasta la evaluación del sistema micorrícico (29 semanas), ocurrió en condiciones de intemperie a temperatura media de 22.6°C y humedad relativa de 58 %.

Inoculación ectomicorrícica

La inoculación se hizo en dos aplicaciones. La primera a las siete semanas después de la siembra, momento en que aparecieron las raíces de tercer orden, y la segunda a las 11 semanas. Para cada período se aplicaron 0.5 g de inóculo por planta. Con una



espátula de laboratorio se removió cuidadosamente la capa superficial del sustrato alrededor de la raíz, se aplicó el inoculante contenido en tubos de microcentrífuga Eppendorf y la raíz se cubrió con el sustrato removido previamente (Figura 1b). Por último, se aplicó un riego ligero para favorecer la diseminación de las esporas por la mezcla de sustrato y facilitar su contacto con el sistema radical de las plantas (Barragán-Soriano et al., 2022).

Toma de muestras de morfotipos

Después de 16 meses de cultivo en vivero, se tomaron 25 plantas al azar y se analizaron en el laboratorio de Micorrizas del edificio de Edafología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, donde se realizó la identificación molecular y la caracterización morfológica y anatómica de las ECM presentes en el sistema radical de las plantas de *P. cooperi*. El sistema radical se examinó con un estereoscopio (Leica®, EZ4, EUA) que permitió la identificación y selección de los sistemas micorrícicos representativos. Posteriormente, se separaron del cepellón bajo estereoscopio con un bisturí, según las recomendaciones de Agerer (1991).

Caracterización molecular de morfotipos

Del total de las muestras se eligieron tres morfotipos y se colocaron en tubos Eppendorf con alcohol al 70 %, bajo condiciones de asepsia. Estos se analizaron mediante el



espacio transcripto interno (ITS) para hongos, con los iniciadores ITS5/ITS4 (White et al., 1990).

Se hicieron amplificaciones de cada región de ácido desoxirribonucleico (ADN), para lo cual se preparó la mezcla de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a un volumen final de 13 μL (**Cuadro 1**). Las amplificaciones se realizaron con un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C por 4 min, 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 1 min, hibridación con los iniciadores a 57 °C durante 1 min, seguido de una extensión final de 2 min a 72 °C. Todas las reacciones de PCR se hicieron en un Peltier Thermal Cycler PTC-200 (BIORAD, México). Las amplificaciones se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1.5 % preparado con 1X TAE *buffer* (Tris Acetate-EDTA) y se corrieron a 95 V·cm⁻³ durante 1 h. El gel se tiñó con Gel red (Biotium, EUA) y las bandas se visualizaron en un transiluminador (Infinity 3000 Vilber Lourmat, Alemania). Los productos amplificados se purificaron con el kit ExoSAP (Affymetrix, EUA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Martínez-González et al., 2017).

Los productos se secuenciaron en un Applied Biosystems (3730XL, EUA). Las secuencias de ambas hebras se analizaron, editaron y ensamblaron usando BioEdit version 7.0.5 (Hall, 1999) para generar una secuencia consenso. Estas se compararon con las depositadas en GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI), empleando la herramienta BLASTN 2.2.19 (Zhang et al., 2000).

Cuadro 1. Mezcla de reacción para la amplificación de ADN de morfotipos de raíces ectomicorizadas de *Pinus cooperi* con *Suillus placidus*.

Reactivo	Concentración	Concentración final	Volumen (1X) (μL)
Agua libre de nucleasas	-		7.6
PCR buffer	10X	1X	3.0
dNTP	10 mM	0.2 mM	0.6
ITS4	100 μM	10 μM	0.2
ITS5	100 μM	10 μM	0.2
Go Taq DNA polimerasa	5 U	2 U	0.4
DNA	100 ng	20 ng· μL^{-1}	1.0



Caracterización morfológica y anatómica de la ectomicorriza

Para realizar la caracterización anatómica, se tomaron cinco morfotipos a los que se hicieron cortes transversales y longitudinales, y cuatro del manto fúngico; se realizaron nueve preparaciones fijas en total, con nueve cortes en promedio cada una. El reactivo Melzer se utilizó como medio de contraste para la observación de los cortes y descripción de micorrizas. Los cortes se observaron y fotografiaron con un microscopio óptico (Leica®, DM1000, EUA) con los objetivos 40x y 100x y cámara acoplada (Leica®, DFC290 HD, EUA). Las mediciones se realizaron en el material fotográfico con el procesador de imágenes digitales ImageJ 1.50i (Wayne Rasband/National Institutes of Health [NIH], Bethesda, MD, EUA). Los estadísticos de tendencia central de 25 mediciones de los morfotipos y de las estructuras micorrícicas se calcularon en el *software* RStudio 24.12.1 (R Core Team, 2025). Para describir el color de las micorrizas, se utilizó la carta de colores Munsell (Munsell Plant Tissue, Color Book, Munsell Color®, EUA). Todos los ápices micorrizados se describieron morfológica y anatómicamente según Agerer (1991, 1995, 2006) y DEEMY (2024).

Resultados y discusión

El análisis de homología de las secuencias obtenidas, comparadas con las depositadas en la base de datos del GenBank, reveló afinidad filogenética de 99.67 al 100 % con *S.*



placidus. Dos alineamientos de secuencias mostraron identidad del 100 % (accesiones QQ474973.1 y QQ474973.2), mientras que una de las muestras presentó 99.67 % de similitud (accesión PP850419.1; **Cuadro 2**). No se detectaron inserciones ni deleciones que sugieran la presencia de especies crípticas o variantes intraespecíficas en la población muestreada. Los parámetros de diversidad genética intraespecífica, calculados mediante el modelo de sustitución de nucleótidos de Kimura-2-parámetros, arrojaron distancias genéticas inferiores de 0.005, lo que confirma conservación alta de la región ITS entre los individuos de *S. placidus* asociados a *P. cooperi*. Por tanto, se valida la identidad taxonómica del simbionte fúngico en las muestras analizadas. Este hallazgo es de gran relevancia, ya que no todas las especies de hongos y plantas establecen una asociación funcional; la compatibilidad simbiótica está determinada por mecanismos moleculares de reconocimiento que involucran la señalización mediada por exudados radicales y la expresión diferencial de genes en ambos organismos (Feng et al., 2022; Liao et al., 2016). La certeza de dicha afinidad en condiciones controladas de vivero tiene implicaciones ecológicas y biotecnológicas importantes, particularmente en la promoción del crecimiento y desarrollo de las plantas hospederas, así como en su resiliencia frente a factores de estrés biótico y abiótico.

Cuadro 2. Identificación molecular de morfotipos ectomicorrícicos formados entre *Pinus cooperi* y *Suillus placidus*, a los 16 meses de cultivo en vivero, mediante análisis de afinidad filogenética y su comparación con secuencias depositadas en GenBank.

GenBank 1	e	Id (%)	Coincidencia en NCBI	GenBank 2
PQ380159	0	100	<i>Suillus placidus</i>	QQ474973.1
PQ380160	0	100	<i>Suillus placidus</i>	QQ474973.2
PQ380161	0	99.67	<i>Suillus placidus</i>	PP850419.1

e: error en la identificación; Id: porcentaje de similitud entre las secuencias; NCBI: National Center for Biotechnology Information.

Aunque muchas especies de hongos ectomicorrícicos presentan un espectro amplio de hospedantes (generalistas), otras muestran un grado alto de especificidad, asociándose con un grupo taxonómico restringido. Este es el caso del género *Suillus*, cuyos miembros



se asocian preferentemente con coníferas de la familia Pinaceae, especialmente con pinos (*Pinus* spp.) y alerces (*Larix* spp.) (Liao et al., 2016; Lofgren et al., 2024; Pietras et al., 2018). La especificidad observada en *S. placidus* se ha documentado en asociación con *Pinus cembra* L. (Keller, 1992), *P. massoniana* Lamb. (Li et al., 2021), *P. sibirica* Du Tour (Palamarchuk et al., 2021), *P. radiata* D. Don (Wang et al., 2022) y, más recientemente, con *P. cooperi* (Martínez-Nevárez et al., 2025). Sin embargo, no todos estos estudios incluyen una caracterización morfoanatómica detallada de la ECM, lo que subraya el valor añadido del presente trabajo. La especificidad observada en la interacción *S. placidus* – *P. cooperi* podría explicarse por una coevolución molecular que ha moldeado la expresión diferencial de genes implicados en la producción de moléculas señal (v. g., lipoquitooligosacáridos y factores de intercambio gaseoso) y la liberación de exudados orgánicos compatibles por parte de la raíz. Estos exudados no solo promueven la elongación y ramificación de las hifas, sino que también aumentan el área de contacto y facilitan el anclaje del micobionte en el fitobionte (Feng et al., 2022; Liao et al., 2016; Lofgren et al., 2024; Ramírez-Mendoza et al., 2026).

Características morfológicas

El sistema micorrícico de *P. cooperi* colonizado por *S. placidus* se caracterizó por la formación abundante de agregados en forma de 'nido' (Figuras 2a, 2c y 2d). Los valores correspondientes a la media, mediana, desviación estándar y coeficiente de variación de la ectomicorriza formada son presentados en el Cuadro 3. Los morfotipos observados midieron 0.9 a 1.7 mm de longitud y 0.3 a 0.5 mm de diámetro, con ramificación predominantemente dicotómica, aunque en algunas ocasiones se registró una ramificación monopodial (Figura 2c). El color de la superficie de las ectomicorrizas en su base y parte media fue marrón oscuro, correspondiente a la notación 5YR 4/2 de las cartas de color Munsell. Las terminaciones de los ápices fueron rectas, ligeramente



cilíndricas y exhibieron un tono más claro que la superficie de la base (notación 7.5YR 7/2 de las cartas de color Munsell) en la región apical, donde además se observó ligero engrosamiento. La superficie del manto fúngico vista en estereomicroscopio fue ligeramente rugosa y algodonosa. Se observaron hifas emanantes densas que se originaban a partir de la raíz corta y micelio extramatricial de color blanquecino (2.5Y 8/2 según las cartas Munsell; **Figura 2c**). Un rasgo distintivo fue la presencia de rizomorfos lisos, bien diferenciados y altamente desarrollados, que emergían en las proximidades de las dicotomías y de la punta de los ápices ectomicorizados. Estos rizomorfos midieron entre 100 y 250 μm diámetro y se acompañaban frecuentemente de hifas emanantes individuales (**Figuras 2b y 2d**).

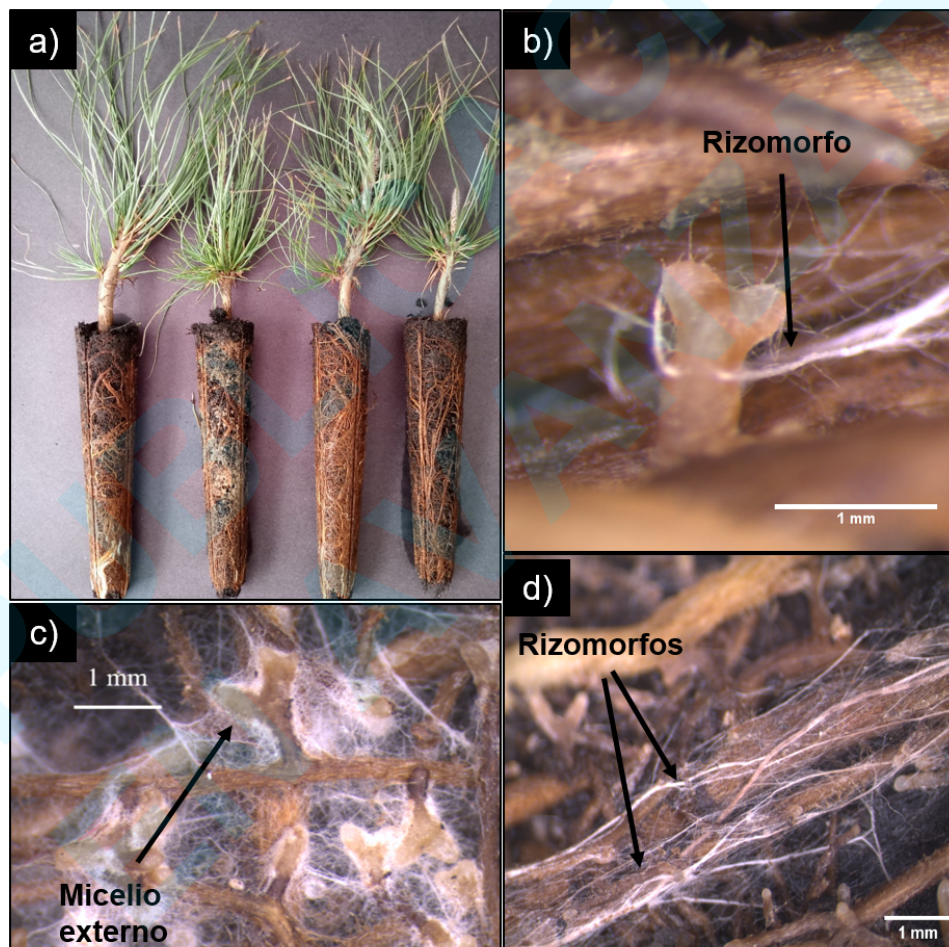


Figura 2. Características morfológicas de las ectomicorrizas formadas entre *Suillus placidus* y *Pinus cooperi* a los 16 meses de cultivo en vivero. a) Cepellón de *P. cooperi* bien estructurado con presencia de micelio de la ectomicorriza de *S. placidus*; b)



presencia de rizomorfos que emergen desde los ápices micorrizados con ramificación dicotómica; c) raíces cortas micorrizadas con presencia de rizomorfos, característicos de *Suillus* spp.; d) rizomorfos lisos y abundantes desarrollados en raíces de *P. cooperi*.

Descripción anatómica

Al igual que para la descripción morfológica, los valores correspondientes a la media, mediana, desviación estándar y coeficiente de variación se presentan en el Cuadro 3. El manto fúngico tuvo un espesor entre 23 y 29 μm y un arreglo celular plectenquimatoso de tipo E (Figura 3a). Las hifas del manto mostraron grosor entre 3.5 y 5.0 μm y longitud celular variable de 15 a 30 μm . Estas hifas de color marrón (5YR 5/6 según cartas Munsell) sin reacción al Melzer fueron producidas por hifas rectangulares y ramificadas de acuerdo con Agerer (1991, 2006). La morfología de las células corticales de la raíz hospedera fue globosa a rectangular, con diámetros de 44 a 80 μm (Figura 3b). La red de Hartig se encontró bien desarrollada, penetró a la segunda y, a veces, hasta la tercera capa de células corticales con presencia de taninos (Figuras 3b y 3d). El ancho de la red de Hartig en los espacios intersticiales se mantuvo relativamente constante con un rango de 4.8–6.1 μm . El micelio extramatricial presentó hifas hialinas, filamentosas, tubulares y septadas (Figura 3c) con diámetro entre 2.5 y 4.0 μm . Los septos fueron simples sin fíbulas. No se observaron estructuras de reproducción sexual ni asexuales (conidios) directamente sobre las raíces micorrizadas en las condiciones de muestreo. Tampoco se observó reacción amiloide al reactivo de Melzer (ausencia de tinción azul). La presencia de compuestos fenólicos (taninos) en las células corticales adyacentes al manto y a la red de Hartig se evidenció por su color marrón (5YR 5/6 en las cartas Munsell), lo que sugiere una posible respuesta de defensa localizada.

Cuadro 3. Estadísticos descriptivos de la ectomicorriza formada entre *Suillus placidus* y *Pinus cooperi* a los 16 meses de cultivo en vivero (n = 25).



Medida	Morfotipos		Anatomía			Espacios intersticiales
	Longitud	Diámetro	Manto	Hifa	Células	
	(mm)				(μm)	
Mínimo	0.9	0.3	23.0	3.2	44.0	4.0
Máximo	1.7	0.5	29.0	5.0	80.0	9.0
Media	1.5	0.4	25.5	4.4	63.2	5.4
Mediana	1.5	0.4	26.0	4.6	67.0	5.0
Desviación estándar	0.2	0.1	1.8	0.6	10.3	1.2
Coefficiente de variación (%)	16.0	19.7	6.9	13.2	16.3	21.4

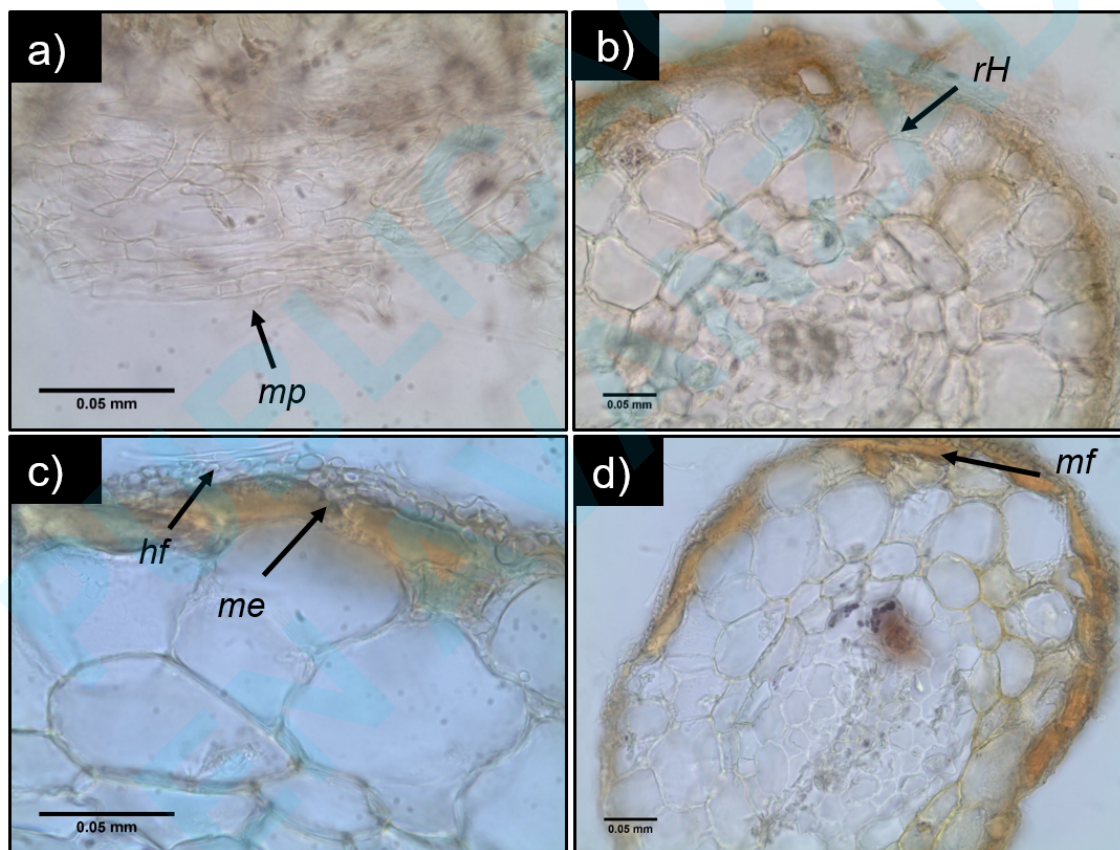


Figura 3. Anatomía de la ectomicorriza de *Pinus cooperi* con *Suillus placidus* a los 16 meses de cultivo en vivero. a) Corte del manto con arreglo celular plectenquimatoso (*mp*) de tipo E; b) corte transversal con la red de Hartig (*rH*) cubriendo hasta la tercera capa de células corticales; c) micelio externo (*me*) con hifas septadas (*hf*); d) corte



longitudinal con apreciación del manto fúngico (*mf*).

Las evidencias morfológicas y anatómicas demuestran inequívocamente la presencia de las tres estructuras diagnósticas de la ECM: el manto fúngico, la red de Hartig y el micelio externo, así como la formación de rizomorfos, estructuras de exploración a larga distancia. Estas observaciones evidencian el establecimiento de una asociación ECM funcional entre simbiontes (Ángeles-Argáiz et al., 2024), ya que tanto los caracteres morfológicos (ramificación, color y textura del manto) como los anatómicos (organización del manto y profundidad de la red de Hartig) son diagnósticos a nivel de género e incluso de especie para los hongos ectomicorrícicos (Agerer 2001, 2006). Por ejemplo, las ramificaciones dicotómicas que con el tiempo se vuelven coraloides son típicas del género *Suillus* (Cuadro 4) y este patrón se observó claramente en la asociación estudiada.



PUBLICACIÓN
EN AVANZADA



1 **Cuadro 4.** Comparación de características morfológicas y anatómicas de ectomicorrizas formadas por especies de *Suillus*
2 con varios hospedantes.

Micobionte	Fitobionte	Morfortipo		Longitud (mm)	Grosor	Hifas	Manto	Rizomorfos	Red de Hartig	Referencia
		Ramificación	Aspecto de la superficie							
<i>Suillus bovinus</i> (L.) Roussel	<i>Pinus massoniana</i> Lamb.	Dicotómica a coraloide	Amarillenta a marrón amarillenta, lisa, sin adherencias y a veces presenta constricciones en las ramas	-	-	-	38.64 µm	-	1- 2 capas	Sun et al. (2019); Feng et al. (2022)
<i>S. cavipes</i> (Klotzsch) A. H. Sm. & Thiers	<i>Larix laricina</i> (Du Roi) K. Koch	Simple o muy pinnada con los extremos redondeados	Blanca aterciopelada que se vuelve fieltada con la edad; micelio abundante, blanco y algodonoso	1-3.5	0.4-0.6	Blancas opacas de 1-9 µm con fíbulas	Prosenquimatoso con hifas laxamente paralelas a entrelazadas, cubiertas de material amorfo gris pálido, 29-71 µm	Presentes	2-3 capas	Samson y Fortin (1988)
<i>S. granulatus</i> (L.) Roussel	<i>P. elliotii</i> Engelm.	Dicotómica, algunas apretadas y de apariencia coraloide	Blanca opaca con áreas castaño claro	-	-	1-2 µm con fíbulas	Plectenquimatoso con hifas laxas	Blancos, abundantes, 12-160 µm (78 µm)	-	Nouhra y Becerra (2001)
<i>S. grevillei</i> (Klotzsch) Singer	<i>L. laricina</i>	Simple y dicotómica con extremos puntiagudos y rojos	Blanca con textura lanosa, a menudo oculta por una capa gruesa de micelio	1-4	0.4-0.5	-	Prosenquimatoso, 14-65 µm	Translúcidos, blancos, 35 µm	1-2 capas	Samson y Fortin (1988)



<i>S. luteus</i> (L.) Roussel	<i>P. elliottii</i>	Dicotómica a coraloide	Marrón claro cuando son jóvenes y después marrón oscuro	-	-	Blancas	-	Blancos, densos y flocculentos	-	Pan et al. (2022)
<i>S. luteus</i>	<i>P. ponderosa</i> Douglas ex Lawson	Dicotómica simple o múltiples con extremos amarillentos	Castaño claro con parches blanquecinos ligeramente nacarados, textura lanosa, brillo nulo o ligeramente satinado fuera de los parches	1.6-3.2	1.8-3.2	4 µm	Plectenquimatoso, con hifas ramificadas, irregulares y entrelazadas	Muy frecuentes, color pardo oscuro, 150-160 µm	-	Barroetaveña et al. (2012)
<i>S. placidus</i> (Bonord.) Singer	<i>P. ayacahuite</i> Ehrenb. ex Schltdl.	Dicotómica y coraloide	Blanca con micelio externo abundante y ápices cilíndricos cuando joven y blanco rojizo al madurar	0.5-1.0	0.4-0.5	--	Plectenquimatoso de 2-3 µm de grosor	Abundantes, blancos y exploración de larga distancia	3 capas	Ortiz-López et al. (2025)
<i>S. placidus</i> (Bonord.) Singer	<i>P. cooperi</i> C. E. Blanco	Dicotómica y en ocasiones monopoidal	Rugosa y algodonosa, marrón oscuro, con terminaciones rectas, ligeramente cilíndricas de color más claro en el ápice	0.9-1.7	0.3-0.5	Hifas densas y blanquecinas de 3.2 a 5.0 µm	Plectenquimatoso de tipo E, de 23-29 µm de espesor	Abundantes, lisos bien diferenciados	2-3 capas	En este trabajo
<i>S. pseudobrevipes</i> A. H. Sm. & Thiers	<i>P. montezumae</i> Lamb.	Dicotómica o simple con terminaciones rectas y puntas cilíndricas agudas	Blanca, afelpada y algodonosa, luego café y finalmente gris, micelio abundante cubriendo el morfotipo de color gris	-	-	Abundantes	-	Ausentes	-	Garibay-Orijel et al. (2013)



<i>S. pungens</i> Thiers & A. H. Sm. (1964)	<i>P.</i> <i>montezumae</i>	Dicotómica a coraloide y finalmente tuberculosa, con extremos rectos blancos o grises azulados y translúcido	Blanca algodonosa y en la base se vuelve café, con micelio abundante color gris	-	-	-	-	Delgados color crema y otros más gruesos color gris	-	Garibay-Orijel et al. (2013)
<i>S. tomentosus</i> Singer, Snell & E. A. Dick.	<i>P.</i> <i>montezumae</i>	Dicotómica a coraloide	-	0.4-1.6	0.1	Emanantes ocasionales con cristales	Plectenquimatoso con hifas entrelazadas, 21.49-88.87 μm (48.03 μm)	Ausentes	1.5 capas	Galindo-Flores et al. (2015)

3

4

5

6

7



Cada una de las estructuras de las ECM cumplen funciones clave en la ecofisiología de la simbiosis (Agerer, 2006; Smith & Read, 2008). El manto fúngico actúa como interfaz de almacenamiento de nutrientes y como barrera frente a patógenos del suelo; la red de Hartig es el sitio principal de intercambio bidireccional de carbono, nitrógeno, fósforo y agua; y el micelio externo extiende la zona de absorción del sistema radical más allá de la rizosfera. Por otra parte, los rizomorfos son agregados de hifas diferenciadas que permiten el transporte rápido de agua y nutrientes a distancias de varios decímetros o metros (Duddridge et al., 1980). Aunque no son exclusivos de *Suillus* spp. (Endo et al., 2020), su presencia es distintiva de diversas especies de este género asociadas a *Pinus* spp. y otras coníferas (Agerer, 2006). Ejemplos documentados incluyen *S. brevipes* (Peck) Kuntze asociado a *Quercus incana* W. Bartram y *S. luteus* (L.) Roussel asociado a *P. ponderosa* Douglas ex Lawson y *P. elliotii* Engelm. (Barroetaveña et al., 2012; Pan et al., 2022). Sin embargo, la presencia de rizomorfos no es universal en el género *Suillus* ni en todas las asociaciones con pinos. Por ejemplo, en *P. montezumae* Lamb. no se encontraron rizomorfos cuando se asoció con *S. pseudobrevipes* A. H. Sm. & Thiers (Garibay-Orijel et al., 2013), ni con *S. tomentosus* Singer, Snell & E. A. Dick. (Galindo-Flores et al., 2015) (Cuadro 4). En la asociación *S. placidus* – *P. cooperi* se observó formación abundante de rizomorfos lisos y bien diferenciados, lo que sugiere que esta interacción posee alta capacidad de exploración del suelo y de conducción de agua hacia la planta hospedera. De hecho, trabajos preliminares han señalado que esta característica podría ser la base de la tolerancia a la desecación observada en *P. cooperi* inoculado con *S. placidus* (Martínez-Nevárez et al., 2025). Los rizomorfos confieren exploración de largo alcance para recursos hídricos (Castaño et al., 2023), mientras que las hifas emanantes individuales que parten de los rizomorfos o directamente del manto proporcionan exploración de corto alcance, pero muy efectiva para nutrientes móviles como el fósforo (Agerer, 2001, 2006). La presencia de ambos tipos de exploración optimiza la adquisición de recursos en suelos heterogéneos.

Caracterización del manto fúngico y de la red de Hartig



El manto fúngico y las hifas emanantes presentan patrones estructurales que, si bien pueden variar entre especies, suelen conservarse a nivel de género, lo que facilita la caracterización taxonómica de los simbiontes (Balestrini & Kottke, 2016). Las familias del orden Boletales, en particular Suillaceae, generalmente presentan un manto con arreglo celular plectenquimatoso; es decir, hifas entrelazadas sin una orientación definida, pero con espacios interhifales reducidos. Por ejemplo, *S. grevillei* (Klotzsch) Singer presenta formación de anillos concéntricos como patrón adicional (Agerer, 2006). El manto de *S. placidus* en asociación con *P. cooperi* no es una excepción en cuanto al arreglo plectenquimatoso, pero no mostró la estructura anillada, lo que coincide con lo descrito para *S. granulatus* (L.) Roussel asociado a *P. elliotii* (Nouhra & Becerra, 2001). En esta última asociación, además, se reportó micelio extramatricial blanquecino y denso, similar al observado en el presente estudio. De manera comparable, las ECM de *S. cavipes* (Klotzsch) A. H. Sm. & Thiers y *S. grevillei* con *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch presentaron micelio extramatricial denso y blanquecino, con una red de Hartig que penetraba los dos tercios exteriores de la corteza radicular (Samson & Fortin, 1988). En el presente estudio, la red de Hartig penetró hasta la segunda y, ocasionalmente, la tercera capa de células corticales, lo que indica una interfaz extensa y potencialmente eficiente; este aspecto puede ser variable en otras ECM del género *Suillus* y la profundidad de la red podría estar correlacionada con la eficiencia en la transferencia de carbono y nutrientes. La presencia de taninos en las células corticales adyacentes a la red de Hartig, observada en los cortes histológicos (Figura 3d), sugiere que existe una respuesta de defensa localizada, aunque no impide el establecimiento de la simbiosis, lo que indica una modulación fina de las vías de señalización defensiva por parte del hongo.

Implicaciones ecológicas y biotecnológicas



67

68 Más allá de la caracterización descriptiva, los hallazgos de este trabajo adquieren
69 relevancia aplicada a la luz de estudios previos sobre los efectos funcionales de *S.*
70 *placidus* en varios hospederos. En trabajos preliminares con *P. cooperi* se demostró que
71 la inoculación con *S. placidus* mejora la resistencia a la sequía, mediada posiblemente
72 por aumento en la eficiencia en el uso del agua y en la actividad de enzimas antioxidantes
73 (Martínez-Nevárez et al., 2025). En *P. massoniana*, la misma especie fúngica incrementó
74 el contenido de prolina, la actividad enzimática antioxidante (superóxido dismutasa,
75 catalasa y peroxidasa) y la eficiencia fotoquímica del fotosistema II bajo estrés hídrico, lo
76 que se tradujo en mayor supervivencia en campo (Li et al., 2021). Además, se ha
77 reportado que *S. placidus* mejora la absorción de fósforo en vivero, un nutriente limitante
78 en muchos suelos forestales (Peng et al., 2021). En un contexto de biorremediación,
79 estudios *in vitro* indican que *S. placidus* posee tolerancia alta al cadmio con capacidad de
80 acumularlo en sus hifas, lo que lo convierte en un candidato prometedor para la
81 fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados en asociación con pinos
82 (Luo et al., 2023). Asimismo, la inoculación de *P. cembra* con *S. placidus* ha demostrado
83 ser sostenible durante décadas, incluso bajo condiciones de cambio climático y
84 fertilización nitrogenada, lo que atestigua su resiliencia y compatibilidad a largo plazo
85 (Rainer et al., 2015).

86 Toda esta evidencia posiciona a *S. placidus* como un bioinoculante potencialmente
87 valioso para la producción de plantas de *P. cooperi* en viveros forestales, especialmente
88 con fines de restauración ecológica y reforestación en zonas sujetas a estrés hídrico o
89 degradación edáfica. En este sentido, la caracterización morfológica y anatómica de la
90 ECM aporta elementos diagnósticos de evaluación fácil y rápida (color del manto, tipo de
91 ramificación, presencia/ausencia de rizomorfos, profundidad de la red de Hartig) que
92 pueden utilizarse como criterios de calidad para verificar el establecimiento exitoso de la
93 simbiosis antes de la plantación en campo. La combinación de herramientas moleculares
94 (secuenciación de ITS) con la observación morfoanatómica sigue siendo el enfoque más
95 robusto para la identificación de simbiosis compatibles, esencial para la selección de
96 cepas fúngicas destinadas a la producción de inoculantes comerciales, particularmente
97 cuando se trabaja con especies nativas de alto valor ecológico (Galindo-Flores et al.,



2015; Herrera et al., 2022; Oros-Ortega et al., 2017). Futuras líneas de investigación deberían orientarse a evaluar la especificidad funcional de la cepa de *S. placidus* utilizada en este estudio frente a otras especies de *Pinus* nativas de la región, así como a determinar las condiciones óptimas de producción de inóculo (sustrato, relación C:N, temperatura) que maximicen la colonización radical y los beneficios fisiológicos para la planta.

Conclusiones

El análisis molecular y la caracterización morfoanatómica de los morfotipos demuestran la asociación ectomicorrícica entre *P. cooperi* y *S. placidus* en condiciones de vivero. Tal hallazgo confirma la compatibilidad entre ambos simbioses. Este estudio describe por vez primera la síntesis ectomicorrícica de *P. cooperi* con *Suillus placidus* y posiciona a dicha especie fúngica como un bioinoculante ectomicorrícico para la producción de *P. cooperi* en vivero.

Agradecimientos

Martínez-Nevárez agradece a la SECIHTI-470972 por la beca postdoctoral. Se agradece al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango (COCYTED) por el apoyo al proyecto “Diversidad de hongos silvestres macromicetos de bosque templado, potencial alimenticio y su aplicación biotecnológica en la producción de planta forestal” (folio 2369). Se agradece también al Colegio de Postgraduados, a través del Proyecto CONV_ENASAS_2026_29, por el apoyo recibido para el desarrollo de parte de esta investigación.



Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaramos que no tenemos conflictos de intereses económicos ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

Declaración del uso de inteligencia artificial (IA)

Los autores declaramos no haber utilizado IA generativa o tecnologías asistidas por IA para el desarrollo del presente manuscrito.

Referencias

- Agerer, R. (1991). Characterization of ectomycorrhiza. In *Methods in microbiology* (vol. 23, pp. 25–73). [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70172-7](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70172-7)
- Agerer, R. (1995). Anatomical characteristics of identified ectomycorrhizas: An attempt towards a natural classification. In A. Varma & B. Hock (Eds.), *Mycorrhiza: Structure, function, molecular biology and biotechnology* (pp. 633–682). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-08897-5_29
- Agerer, R. (2001). Exploration types of ectomycorrhizae: A proposal to classify ectomycorrhizal mycelial systems according to their patterns of differentiation and putative ecological importance. *Mycorrhiza*, 11(2), 107–114. <https://doi.org/10.1007/s005720100108>
- Agerer, R. (2006). Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. *Mycological Progress*, 5(2), 67–107. <https://doi.org/10.1007/s11557-006-0505-x>
- Ángeles-Argáiz, R. E., Cruz-Gutiérrez, R., Medel-Ortiz, R., Pérez-Moreno, J., Velázquez-López, O. E., & Mata, G. (2024). Recognizing symbiotic compatibility between *Laccaria trichodermophora* and *Pinus teocote*. *Symbiosis*, 94, 151–164. <https://doi.org/10.1007/s13199-024-01021-2>



- 151 Ángeles-Argáiz, R., & Garibay-Orijel, R. (2019). The evolution of ectomycorrhizal
152 symbiosis from the genomic perspective. *Scientia Fungorum*, 49, 1–16.
153 <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1247>
- 154 Baeza, Y., Dorantes, J., Mende, R., & Trejo, D. (2021). Ectomycorrhizae morphotypes in
155 a *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. stand chronosequence in eastern
156 Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 12(66), 141–164.
157 <https://doi.org/10.29298/rmcf.v12i66.819>
- 158 Bai, X.-N., Hao, H., Hu, Z.-H., & Leng, P.-S. (2021). Ectomycorrhizal inoculation enhances
159 the salt tolerance of *Quercus mongolica* seedlings. *Plants*, 10(9), 1790.
160 <https://doi.org/10.3390/plants10091790>
- 161 Balestrini, R., & Kottke, I. (2016). Structure and development of ectomycorrhizal roots. In
162 F. Martin (Ed.), *Molecular mycorrhizal symbiosis* (pp. 47–61). Wiley-Blackwell.
163 <https://doi.org/10.1002/9781118951446.ch4>
- 164 Barragán-Soriano, J. L., Pérez-Moreno, J., Almaraz-Suárez, J. J., Carcaño-Montiel, M.
165 G., Delgadillo-Martínez, J., Cetina-Alcalá, V. M., & Mata, G. (2022). Coinoculación
166 de *Pinus montezumae* (Pinaceae) con un hongo comestible ectomicorrízico y
167 bacterias promotoras de crecimiento vegetal. *Acta Botánica Mexicana*, 129, e2024.
168 <https://doi.org/10.21829/abm129.2022.2024>
- 169 Barroetaveña, C., Bassani, V. N., & Rajchenberg, M. (2012). Inoculación micorrícica de
170 *Pinus ponderosa* en la Patagonia Argentina: colonización de las raíces, descripción
171 de morfotipos y crecimiento de las plántulas en vivero. *Bosque (Valdivia)*, 33(2),
172 163–169. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002012000200006>
- 173 Brunner, I., Herzog, C., Dawes, M. A., Arend, M., & Sperisen, C. (2015). How tree roots
174 respond to drought. *Frontiers in Plant Science*, 6, 547.
175 <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00547>
- 176 Castaño, C., Suarez-Vidal, E., Zas, R., Bonet, J. A., Oliva, J., & Sampedro, L. (2023).
177 Ectomycorrhizal fungi with hydrophobic mycelia and rhizomorphs dominate in
178 young pine trees surviving experimental drought stress. *Soil Biology and*
179 *Biochemistry*, 178, 108932. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108932>



- Cheng, K., Liu, Y., Tang, M., & Zhang, H. (2024). *Suillus grevillei* and *Suillus luteus* promote lead tolerance of *Pinus tabulaeformis* and biomineralize lead to pyromorphite. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1296512. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1296512>
- Chot, E., & Reddy, M. S. (2022). Role of ectomycorrhizal symbiosis behind the host plants ameliorated tolerance against heavy metal stress. *Frontiers in Microbiology*, 13, 855473. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.855473>
- DEEMY. (2024). An information system for characterization and determination of ectomycorrhizae. <https://www.deemy.de/>
- Duddridge, J. A., Malibari, A., & Read, D. J. (1980). Structure and function of mycorrhizal rhizomorphs with special reference to their role in water transport. *Nature*, 287(5785), 834–836. <https://doi.org/10.1038/287834a0>
- Endo, N., Yamamoto, T., Sugawara, R., Sotome, K., Maekawa, N., & Nakagiri, A. (2020). Characterization of Japanese *Lactarius* section *deliciosi* ectomycorrhizae: Toward the use of mycorrhizae for taxonomy and expansion of available cultures. *Mycoscience*, 61(6), 293–306. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2020.06.002>
- Estevão, B., Oliveira, A., Bortoluzzi, D., Fiuza, D., Seminoti, R. J., & Inês, Z. (2018). Characterization of ectomycorrhizal species through molecular biology tools and morphotyping. *Scientia Agricola*, 75, 246–254. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0419>
- Feng, W., Sun, X., & Ding, G. (2022). Morphological and transcriptional characteristics of the symbiotic interaction between *Pinus massoniana* and *Suillus bovinus*. *Journal of Fungi*, 8(11), 1162. <https://doi.org/10.3390/jof8111162>
- Galindo-Flores, G., Castillo-Guevara, C., Campos-López, A., & Lara, C. (2015). Caracterización de las ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. *Botanical Sciences*, 93(4), 855–863. <https://doi.org/10.17129/botsci.200>
- García, A. A., & González, M. S. (2003). *Pináceas de Durango* (2.^a ed.). Instituto de Ecología, A. C.



- Garibay-Orijel, R., Morales-Marañón, E., Domínguez-Gutiérrez, M., & Flores-García, A. (2013). Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(1), 153–169. <https://doi.org/10.7550/rmb.29839>
- Gomes, F., Suárez, D., Santos, R., Silva, M., Gaspar, D., & Machado, H. (2016). Mycorrhizal synthesis between *Lactarius deliciosus* and *Arbutus unedo* L. *Mycorrhiza*, 26, 177–188. <https://doi.org/10.1007/s00572-015-0656-1>
- González-Orozco, M. M., Prieto-Ruiz, J. Á., Aldrete, A., Hernández-Díaz, J. C., Chávez-Simental, J. A., & Rodríguez-Laguna, R. (2018). Sustratos a base de aserrín crudo con fertilización y la calidad de planta de *Pinus cooperi* Blanco en vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 9(48), 203–225. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v8i48.125>
- Graciano-Luna, J. de J., Alanís-Rodríguez, E., Aguirre-Calderón, O. A., Cantú-Ayala, C. M., Yerena-Yamallel, J. I., Luján-Soto, J. E., Martínez-Adriano, C. A., & Graciano-Ávila, G. (2025). Composición y estructura de un bosque bajo manejo forestal en el estado de Durango, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 12(5), e4549. <https://doi.org/10.19136/era.a12nV.4549>
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95–98. https://www.academia.edu/2034992/BioEdit_a_user_friendly_biological_sequence_alignment_editor_and_analysis_program_for_Windows_95_98_NT
- Herrera, M., Yu, F. Q., Ramos-Rendón, D., Martínez-Reyes, M., Hernández-Santiago, F., Chater, C. C., & Perez-Moreno, J. (2022). Morphoanatomical and phylogenetic characterization of the ectomycorrhiza between *Laccaria squarrosa* with *Pinus pseudostrobus* and its relevance for reforestation programs. *Botanical Sciences*, 100(2), 397–411. <https://doi.org/10.17129/botsci.2830>



- Hui, N., Liu, X., Jumpponen, A., Setälä, H., Kotze, D. J., Biktasheva, L., & Romantschuk, M. (2018). Over twenty years farmland reforestation decreases fungal diversity of soils, but stimulates the return of ectomycorrhizal fungal communities. *Plant and Soil*, 427, 231–244. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3647-0>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2025). *Climatología*. <https://www.inegi.org.mx/temas/climatologia/>
- Janowski, D., & Leski, T. (2023). Methods for identifying and measuring the diversity of ectomycorrhizal fungi. *Forestry: An International Journal of Forest Research*, 96(5), 639–652. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpad017>
- Keller, G. (1992). Isozymes in isolates of *Suillus* species from *Pinus cembra* L. *New Phytologist*, 120(3), 351–358. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb01075.x>
- Kumar, J., & Atri, N. S. (2018). Studies on ectomycorrhiza: an appraisal. *The Botanical Review*, 84, 108–155. <https://doi.org/10.1007/s12229-017-9196-z>
- Li, M., Wang, H., Zhao, X., Lu, Z., Sun, X., & Ding, G. (2021). Role of *Suillus placidus* in improving the drought tolerance of Masson Pine (*Pinus massoniana* Lamb.) seedlings. *Forests*, 12(3), 332. <https://doi.org/10.3390/f12030332>
- Liao, H. L., Chen, Y., & Vilgalys, R. (2016). Metatranscriptomic study of common and host-specific patterns of gene expression between pines and their symbiotic ectomycorrhizal fungi in the genus *Suillus*. *PLoS Genetics*, 12(10), e1006348. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006348>
- Lofgren, L., Nguyen, N. H., Kennedy, P. G., Pérez-Pazos, E., Fletcher, J., Liao, H. L., Wang, H., Zhang, K., Ruytinx, J., Smith, A. H., Ke, Y-H, Cotter, H. V. T., Engwall, E., Hameed, K. M., Vilgalys, R., & Branco, S. (2024). *Suillus*: an emerging model for the study of ectomycorrhizal ecology and evolution. *New Phytologist*, 242(4), 1448–1475. <https://doi.org/10.1111/nph.19700>
- Luo, X., Zhang, C., & Wang, Y. (2023). Different responses of two ectomycorrhizal fungi to Cd treatment. *Polish Journal of Environmental Studies*, 32(6), 5732–5731. <https://doi.org/10.15244/pjoes/169396>



- Marozzi, G., Benucci, G. M. N., Baciarelli Falini, L., Albertini, E., & Donnini, D. (2018).
Synthesis of *Tuber mesentericum* ectomycorrhizae with *Quercus pubescens*: a
morphological review and DNA characterization. *Sydowia*, 70, 81–88.
<https://doi.org/10.12905/0380.sydowia70-2018-0081>
- Martínez-González, C. R., Ramírez-Mendoza, R., Jiménez-Ramírez, J., Gallegos-
Vázquez, C., & Luna-Vega, I. (2017). Improved method for genomic DNA extraction
for *Opuntia* Mill. (Cactaceae). *Plant Methods*, 13, 1–10.
<https://doi.org/10.1186/s13007-017-0234-y>
- Martínez-Nevárez, L. E., Prieto-Ruíz, J. Á., Sigala-Rodríguez, J. Á., García-Rodríguez, J.
L., Martínez-Reyes, M., Carrillo-Parra, A., & Domínguez-Calleros, P. A. (2023).
Crecimiento y eficiencia en el uso de nutrientes de plantas de *Pinus cooperi* CE
Blanco producidas en vivero con un fertilizante de liberación controlada. *Terra*
Latinoamericana, 41, 1–12. <https://doi.org/10.28940/terra.v41i0.1707>
- Martínez-Nevárez, L. E., Sigala, J. A., Prieto-Ruíz, J. Á., García-Rodríguez, J. L., Uscola,
M., Martínez-Reyes, M., Carrillo-Parra, A., & Domínguez-Calleros, P. A. (2025).
Improving ectomycorrhizal colonization and morpho-physiological traits of *Pinus*
cooperi seedlings through organic nitrogen fertilization. *Mycorrhiza*, 35(28).
<https://doi.org/10.1007/s00572-025-01206-7>
- Murata, M., Kanetani, S., & Nara, K. (2017). Ectomycorrhizal fungal communities in
endangered *Pinus amamiana* forests. *PLoS ONE*, 12(12), e0189957.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189957>
- Nouhra, E. R., & Becerra, A. G. (2001). Síntesis micorrícica de *Suillus granulatus*
(Eumycota) y plantines de *Pinus elliottii* (Pinaceae). *Boletín de la Sociedad*
Argentina de Botánica, 36(4), 209–215. <http://hdl.handle.net/11336/39184>
- Oros-Ortega, I., Andrade-Torres, A., Lara-Pérez, L. A., Guzmán-Olmos, R. F., Casanova-
Lugo, F., Sáenz-Carbonell, L. A., & Córdova-Lara, I. (2017). Ectomycorrhizal
ecology, biotechnology and taxonomy for the conservation and use of *Abies*
religiosa in temperate areas of Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias*



<https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2016.11.060>

Ortiz-López, I., Pérez-Moreno, J., Martínez-Reyes, M., Almaraz-Suárez, J. J., Ayala-Vásquez, O., & Carballo-Sánchez, M. P. (2025). Crecimiento y fisiología en plantas de *Pinus ayacahuite* (Pinaceae) inoculado con *Suillus placidus* (Suillaceae) y una bacteria promotora del crecimiento vegetal. *Acta Botanica Mexicana*, 132, e2473.

<https://doi.org/10.21829/abm132.2025.2473>

Palamarchuk, M. A., Kirillov, D. V., & Shadrin, D. M. (2021). Morphology and molecular data of the species of *Suillus* (Suillaceae, Boletales) associated with *Pinus sibirica* at the European northeast of Russia. *Phytotaxa*, 490(1), 18–34.

<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.490.1.2>

Pan, X., Zhang, J., Xue, Z., Liang, J., Chen, Y., & Liu, Y. (2022). Synergistic effect of phytohormone-producing ectomycorrhizal fungus *Suillus luteus* and fertilizer GGR6 on *Pinus massoniana* growth. *Journal of Plant Interactions*, 17(1), 643–655.

<https://doi.org/10.1080/17429145.2022.2081369>

Peng, L., Li, Y., Huang, J., & Yuan, L. (2021). Soil phosphorus mobilization and utilization by *Suillus* isolates and *Suillus*-mycorrhized pine plants. *Forest Ecology and Management*, 483, 118772. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118772>

Pérez-Moreno, J., Martínez-Reyes, M., Hernández-Santiago, F., & Ortiz-Lopez, I. (2020). Climate change, biotechnology, and Mexican Neotropical edible ectomycorrhizal mushrooms. In Pérez-Moreno, J., Guerin-Laguet, A., Flores Arzú, R., & Yu, F.-Q. (Eds.), *Mushrooms, humans and nature in a changing world* (pp. 61–99). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-37378-8_3

Pérez-Moreno, J., & Read, D. J. (2004). Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia*, 29(5), 239–247.

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442004000500004&lng=es&tlng=es



- Pietras, M., Litkowiec, M., & Gołębiewska, J. (2018). Current and potential distribution of the ectomycorrhizal fungus *Suillus lakei* ((Murrill) A.H. Sm. & Thiers) in its invasion range. *Mycorrhiza*, 28, 467–475. <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0836-x>
- Policelli, N., Bruns, T. D., Vilgalys, R., & Nuñez, M. A. (2019). Suilloid fungi as global drivers of pine invasions. *New Phytologist*, 222(2), 714–725. <https://doi.org/10.1111/nph.15660>
- Prieto Ruíz, J. A., García Rodríguez, J. L., Mejía Bójoquez, J. M., Huchín Alarcón, S., & Aguilar Vitela, J. L. (2009). *Producción de planta del género Pinus en vivero en clima templado frío*. Campo Experimental Valle del Guadiana INIFAP-SAGARPA. Durango, Dgo. México. <https://es.scribd.com/document/374541047/Produccion-de-Planta-Del-Genero-Pinus-en-Vivero-en-Clima-Templado-Frio>
- Prieto-Ruíz, J. Á., Duarte-Santos, A., Goche-Télles, J. R., González-Orozco, M. M., & Pulgarín-Gámiz, M. Á. (2018). Supervivencia y crecimiento de dos especies forestales, con base en la morfología inicial al plantarse. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 9(47), 151–168. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i47.182>
- R Core Team. (2025). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rainer, G., Kuhnert, R., Unterholzer, M., Dresch, P., Gruber, A., & Peintner, U. (2015). Host-specialist dominated ectomycorrhizal communities of *Pinus cembra* are not affected by temperature manipulation. *Journal of Fungi*, 1(1), 55–75. <https://doi.org/10.3390/jof1010055>
- Ramírez-Mendoza, R., Martínez-Reyes, M., Wang, Y., Zhou, Y., Galvis-Spinola, A., Almaraz-Suárez, J. J., Yu, F., & Pérez-Moreno, J. (2026). Molecular crosstalk underlying pre-colonization signaling and recognition in ectomycorrhizal symbiosis. *Forests*, 17(1), 134. <https://doi.org/10.3390/f17010134>
- Rodríguez-Gómez-Tagle, G., Vargas Hernández, J. J., López Upton, J., & Pérez Moreno, J. (2024). Diversidad de morfotipos de hongos ectomicorrizógenos y adaptación al hospedero en poblaciones contrastantes de *Pinus greggii* var. *australis* (Pinaceae).



<https://doi.org/10.21829/abm131.2024.2151>

Rodríguez-Gutiérrez, I., Garibay-Orijel, R., Santiago-Morales, B., & Lindig-Cisneros, R. (2020). Comparison between *Laccaria* basidiomata and ectomycorrhizae abundances in Ixtlan de Juarez, Oaxaca. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 91, e913340. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.3340>

Samson, J., & Fortin, J. A. (1988). Structural characterization of *Fuscoboletinus* and *Suillus* ectomycorrhizae synthesized on *Larix laricina*. *Mycologia*, 80(3), 382–392. <https://doi.org/10.1080/00275514.1988.12025553>

Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3rd ed.). Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/book/9780123705266/mycorrhizal-symbiosis>

Song, Y.-P., Anderson, D., & Wu, Y.-T. (2025). Ectomycorrhizal fungi significantly shape endorhizal bacteria associated with *Pinus taiwanensis* in heavy metal soils. *Ecosphere*, 16, e70488. <https://doi.org/10.1002/ecs2.70488>

Soto-Gil, A. L., Velázquez-Martínez, A., Pérez-Moreno, J., Fierros-González, A. M., & Martínez-Reyes, M. (2022). Ectomycorrhizal morphotypes in structural variable retention of *Pinus patula* Schltdl et Cham. *Madera y Bosques*, 28(2), 1–15. <https://doi.org/10.21829/myb.2022.2822388>

Sun, X., Feng, W., Li, M., Shi, J., & Ding, G. (2019). Phenology and cultivation of *Suillus bovinus*, an edible mycorrhizal fungus, in a *Pinus massoniana* plantation. *Canadian Journal of Forest Research*, 48(8), 960–968. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2018-0405>

Wang, J., Zhang, H., Gao, J., Zhang, Y., Liu, Y., & Tang, M. (2021a). Effects of ectomycorrhizal fungi (*Suillus variegatus*) on the growth, hydraulic function, and non-structural carbohydrates of *Pinus tabulaeformis* under drought stress. *BMC Plant Biology*, 21, 171. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02945-3>

Wang, R., Wang, Y., Guerin-Laguette, A., Zhang, P., Colinas, C., & Yu, F. (2022). Factors influencing successful establishment of exotic *Pinus radiata* seedlings with co-introduced *Lactarius deliciosus* or local ectomycorrhizal fungal communities. *Frontiers in Microbiology*, 13, 973483. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.973483>



- Wang, R., Yu, F. Q., Pérez-Moreno, J., & Colinas, C. (2021b). A new edible *Rhizopogon* species from Southwest China, and its mycorrhizal synthesis with two native pines. *Mycorrhiza*, 31(1), 85–92. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00996-2>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. White (Eds.), *PCR Protocols: a guide to methods and applications* (pp. 315–322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Yuan, J., Wang, Y., Zhang, X., Yan, Z., Wang, R., Yang, C., He, X., Pérez-Moreno, J., Yu, F., & Zheng, Y. (2026). Compartment-specific assembly and functional characterization of the bacterial microbiome in a *Pinus radiata*–*Lactarius deliciosus* plantation system. *Applied Soil Ecology*, 221, 106943. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2026.106943>
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., & Miller, W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational Biology*, 7, 203–214. <https://doi.org/10.1089/10665270050081478>