ECOLOGÍA



ISSN 2357-3759 (en línea)

Distribución de la colonización micorrízica en las raíces de la orquídea Neotropical *Laelia furfuracea* Lindl.

Distribution of mycorrhizal colonization in the roots of the Neotropical orchid *Laelia furfuracea* Lindl.

Claudia García-Sánchez 1, Jesús Pérez-Moreno 2, Juan José Almaraz-Suárez 3, Julián Delgadillo-Martínez 4, Víctor Manuel Cetina-Alcalá 5

Recibido: 18/Jun/2021
Aceptado: 25/Jul/2022

• Publicación en línea: 08/Nov/2022

Citación: García-Sánchez C, Pérez-Moreno J, Almaraz-Suárez JJ, Delgadillo-Martínez J, Cetina-Alcalá VM. 2024. Distribución de la colonización micorrízica en las raíces de la orquídea Neotropical *Laelia furfuracea* Lindl. Caldasia 46(2):339-349. doi: https://doi.org/10.15446/caldasia.v46n2.96265

RESUMEN

Laelia furfuracea Lindl., es una orquídea epífita endémica de México, de la cual no existen referencias sobre su interacción con los simbiontes micorrízicos orquidoides. Esta orquídea es recolectada en grandes cantidades, debido a la belleza de sus flores, por lo que existe el riesgo de una disminución dramática de sus poblaciones naturales. En este estudio se evaluó la frecuencia de colonización de las raíces y la influencia de los factores edad y cercanía con el centro del pseudobulbo de plantas recolectadas en un bosque de pino-encino, en Santa Catarina Estetla, Oaxaca, México. Las raíces se clasificaron por edades, jóvenes, maduras y senescentes, y cada una de ellas se dividió en tres segmentos: proximal, central y distal, respecto a la parte basal central del pseudobulbo. Se evaluaron 1650 cortes transversales, los cuales se montaron en portaobjetos y se tiñeron para su observación con microscopía óptica. Se observó que las raíces de la orquídea establecen micorrizas en sus células corticales. La frecuencia de colonización se registró en los segmentos de raíces maduras y el área distal de las raíces senescentes, con valores superiores a 30 %. En contraste, en el caso de las raíces jóvenes, la colonización micorrízica no superó el 1 %, independientemente del segmento evaluado. Este es el primer reporte que demuestra la colonización micorrízica en *L. furfuracea* y que la frecuencia de colonización es influenciada por la edad de las raíces y por su cercanía con la parte central del pseudobulbo de las plantas de esta especie.

Palabras clave. Conservación, edad de las raíces, epífita, Orchidaceae, pelotones.

- Estudiante del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México. claudia.garcia@colpos.mx
- ² Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México. iperezm@colpos. mxjepemo@yahoo.com.mx
- 3 Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México. jalmaraz@hotmail.com
- 4 Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México. juliandm@colpos.mx
- Olegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México. vicmac@colpos.mx
- * Autor para correspondencia.



ABSTRACT

Laelia furfuracea Lindl. is an epiphytic orchid endemic to Mexico, of which, so far, there is no information related to its interaction with orchid mycorrhizal symbionts. This orchid is collected in large quantities, due to the beauty of its flowers, so its natural populations are at risk of dramatic decline. In this study, the frequency of root colonization and the influence of two factors: age and proximity to the center of the plant pseudobulbs, collected in a pine-oak forest in Santa Catarina Estetla, Oaxaca, Mexico, were evaluated. The evaluated roots were classified by age as young, mature and senescent, and each of them was divided into three segments: proximal, central and distal, relative to the central basal part of the pseudobulb. One thousand six hundred and fifty cross-sections were evaluated, which were mounted on slides and stained for observation with optical microscopy. It was observed that orchid roots established mycorrhizae in their cortical cells. Colonization frequency was recorded in mature root segments and in the distal area of senescent roots, with values greater than 30%. In contrast, in the case of the young roots, the mycorrhizal colonization did not surpass 1%, regardless of the evaluated segments. This is the first report that demonstrates mycorrhizal colonization in *L. furfuracea* and that the frequency of mycorrhizal colonization was influenced by the root age and their proximity to the central part of the plant pseudobulbs.

Keywords. Conservation, coils, epiphytic, Orchidaceae, root age.

INTRODUCCIÓN

Orchidaceae representa el grupo más amplio de angiospermas con alrededor de 27 000 especies de las cuales 70 % son epífitas (The Plant List 2013, Fay et al. 2015). Se estima que surgieron hace 76 a 84 millones de años, y hoy en día se localizan en todo el planeta con la excepción de las regiones polares y los desiertos (Roberts y Dixon 2008, Pereira et al. 2018). En México se conocen 1260 especies distribuidas en 170 géneros con un endemismo del 40 %, solo superada en número de organismos endémicos por Asteraceae y Fabaceae (Villaseñor 2003, Tejeda-Sartorius et al. 2017). Las orquídeas representan cerca del 10 % de la diversidad florística en los ecosistemas (Li et al. 2021b). Existe un grupo dentro de la familia Orchideaceae que presenta adaptaciones morfológicas y fisiológicas para establecerse en el ámbito epífito, lo cual implica un gran reto ecológico por el acceso a nutrientes, agua y variaciones ambientales drásticas (Zotz y Winkler 2013, de la Rosa-Manzano et al. 2017, Zhang et al. 2018).

En las últimas décadas es evidente la pérdida acelerada y la modificación de los ecosistemas a nivel mundial, a causa de las perturbaciones antrópicas. En México, la deforestación de los bosques de pino, encino y bosque mesófilo de montaña ha causado la disminución y la pérdida de pobla-

ciones enteras de orquídeas (Damon 2017, Beltrán-Nambo et al. 2018). Esta pérdida se ha incrementado en gran medida debido a la fragmentación del hábitat, a la conversión de bosques nativos en tierras agrícolas, al cambio climático y a la extracción no sustentable e ilegal de especímenes para la venta en los mercados nacionales e internacionales (García-Franco 2017, Gómez-Escamilla et al. 2019, Sathiyadash et al. 2020). En conjunto todas las perturbaciones al hábitat afectan el equilibrio de las interacciones ecológicas que establecen con los polinizadores, los forófitos, y los simbiontes micorrízicos, ya que son organismos sensibles al cambio ambiental (Fay et al. 2015, Beltrán-Nambo et al. 2018). Como consecuencia, la familia Orchideaceae se encuentra incluida en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) (Assédé et al. 2018).

Las flores de las orquídeas conocidas como laelias son recolectadas en grandes cantidades y se comercian en los mercados locales a precios accesibles. Son las orquídeas más utilizadas en las fiestas religiosas y se consideran sagradas (Solano-Gómez et al. 2010, Cruz-García et al. 2015, Emeterio-Lara et al. 2016). La taxonomía de las laelias mexicanas se revisó por Halbinger y Soto (1997), ellos reconocieron once especies, dos subespecies y cuatro híbridos naturales. El género *Laelia* engloba unas 25 especies de orquídeas

epífitas neotropicales distribuidas desde México hasta Bolivia, el sur de Brasil y las Antillas. México, es el principal centro de diversidad de Laelia, con trece especies y cuatro híbridos naturales, y constituye uno de los elementos más conspicuos de las epífitas (Salazar et al. 2014, Solano et al. 2019). Laelia furfuracea es una orquídea registrada solo para el estado de Oaxaca en México (Solano et al. 2019), la cual se distribuye en bosques templados de la Sierra Madre del Sur, entre 2100 y 3000 m de altitud. Crece anclada a la corteza de Quercus spp. y su periodo de floración inicia en octubre y culmina en diciembre, pero puede perdurar hasta enero (Halbinger v Soto 1997, Solano-Gómez et al. 2010, Espejo 2012). Debido a la gran extracción que sufre, está registrada en la categoría de Pr, o sujeta a protección especial, en la Norma Oficial Mexicana-059. Secretaría de Medio Ambientey Recursos Naturales-2010 (NOM-059-SEMARNAT-2010) (SEMARNAT 2010).

Una particularidad de las orquídeas es que sus semillas carecen de endospermo y en su germinación participan hongos del filum Basidiomycota y Ascomycota. Las hifas de estos hongos penetran las semillas y dentro de ellas se enrollan y forman pelotones; estructura característica de la simbiosis micorrízica orquidoide, que coloniza el protocormo, una masa de células que crecerá y desarrollará hasta llegar a ser una plántula fotosintética (Smith y Read 2008, Fochi et al. 2017, McCormick et al. 2018). El establecimiento de los simbiontes fúngicos está fuertemente influenciado por el forófito, que brinda el microclima propicio (Otero et al. 2007, Gómez-Escamilla et al. 2019, Izuddin et al. 2019), y cuya composición química y propiedades físicas de la corteza influyen en la germinación de los hongos micorrízicos y en el subsecuente desarrollo de las semillas de las orquídeas epífitas (Bergstrom y Carter 2008, Harshani et al. 2014, Rasmussen et al. 2015). Entre los primeros reportes de colonización micorrízica en las orquídeas epífitas se reportó una micorrización esporádica menor al 1 % (Hadley y Williamson 1972). En años posteriores se ha demostrado que otras especies epífitas como Maxillaria umbratilis L.O. Williams, Beloglottis subpandurata (Ames & C. Schweinf.) Garay (Lesica y Antibus 1990), Epidendrum stamfordianum Bateman y Erycina crista-galli (Rchb. f.) N.H. Williams & M.W. Chase (Bertolini et al. 2014) establecen micorrizas orquidoides; sin embargo, los factores que influyen en la micorrización han recibido escasa atención.

Laelia furfuracea es una orquidea epifita de gran importancia etnocultural, social y económica. Por la belleza de sus flores ha sido utilizada en las festividades, razón principal de la extracción de su hábitat natural. Adicionalmente, sus poblaciones han disminuido por el cambio de uso de suelo, dado que el bosque es talado para el avance de la agricultura; y la tala de los encinos, ya que la población los utiliza para la obtención de madera y carbón. En su conjunto, estas acciones consecuencia de las complejas relaciones naturaleza-sociedad, pueden causar la desaparición de esta especie. A la fecha, el estudio de la cuantificación y los factores que influyen en la intensidad micorrízica de las orquídeas epífitas ha recibido en general escasa atención, por ejemplo, en el caso de L. furfuracea no existe ningún registro relacionado con su colonización micorrízica. En este escenario, el presente trabajo tuvo como objetivos: i) evaluar la frecuencia e intensidad de colonización micorrízica en las raíces de L. furfuracea; y ii) cuantificar el efecto de dos factores en la colonización micorrízica en dicha orquídea epífita: edad de la raíces y cercanía de las raíces respecto a la parte basal del pseudobulbo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta

La colecta se realizó en enero de 2018, en un bosque de pino-encino en la comunidad de Santa Catarina Estetla a 17°16' Norte, 97°38' Oeste, a una altitud de 2150 m en Santa María Peñoles, Oaxaca. Se tomaron tres orquídeas maduras con doce a quince pseudobulbos y se guardaron en bolsas de papel para su transporte al laboratorio. La toma de muestra de las orquídeas se basó siguiendo los métodos propuestos para otras especies epífitas (Bagyaraj y Powell 1983, Bertolini *et al.* 2014). Para entrar al bosque se solicitó permiso a las autoridades comunales y en el recorrido nos acompañó un habitante de la zona, quien estaba familiarizado con las áreas de distribución de la orquídea (Figs. 1a-b).

Clasificación de las raíces

Se seleccionaron raíces maduras y raíces senescentes con el velamen integro, las cuales se cortaron desde la base del pseudobulbo y se lavaron con agua destilada. Posteriormente, las plantas se resguardaron en invernaderos del Colegio de Postgraduados, México y después de un mes se apreció la formación de raíces jóvenes. Se emplearon doce



Figura 1. Hábitat natural y flor de Laelia furfuracea en la comunidad mixteca de Santa Catarina Estetla, Oaxaca, México sobre Quercus sp. a. Crecimiento vegetativo de la orquídea; b. Flor de la orquídea epífita in situ.

raíces para cada una de las tres edades evaluadas. Las raíces se clasificaron en tres estadios ontogénicos: jóvenes, maduras y senescentes. Esta clasificación se basó en los siguientes criterios: 1) En las raíces jóvenes se observó un velamen blanquecino, turgente y de consistencia esponjosa al tacto, y como las raíces estaban en crecimiento, el ápice presentó una coloración verduzca. 2) En las raíces maduras se apreció un velamen de color amarillo-café claro, turgente y de consistencia medianamente esponjosa. 3) Y las raíces senescentes exhibían un velamen de color café oscuro, sin turgencia y su consistencia era coriácea. Las raíces clasificadas por su edad se seccionaron en tres segmentos equidistantes: 1) proximal, 2) central y 3) distal. Esta segmentación se consideró a partir de la parte basal central del pseudobulbo hacia la parte externa de cada una de las raíces.

Tinción y colonización micorrízica

Las raíces se colocaron en cajas de Petri con agua destilada durante 15 min para reblandecer el tejido y realizar cortes transversales de aproximadamente 1 mm de espesor con navajas para afeitar Gillette®. Los cortes seleccionados al azar se colocaron en portaobjetos y con un gotero se adicionó fucsina ácida Meyer® al 0,01 % p/v diluido en ácido láctico, glicerol y agua destilada en la proporción 14:1:1 (Rasmussen y Whigham 2002). Después de 24 horas las muestras se observaron en el microscopio óptico Leica® a 40x. En total se estudiaron tres estadios ontogénicos (juvenil, maduro y senescente) y tres segmentos en cada estadio, tomando como inicio la parte basal central del pseudobulbo (proximal, central y distal). Se tuvieron entonces dos factores: edad y segmento de la raíz. En total se evaluaron 36 raíces (doce de cada una de las tres edades), y en cada edad de raíz se realizaron 540 cortes (540 x 3 = 1620 cortes). Además, cada raíz de las tres edades, se dividió en tres segmentos en relación a su cercanía con la parte basal central del pseudobulbo, de tal manera que se evaluaron 180 cortes por cada edad y segmento (180 cortes x 3 edades x 3 segmentos = 1620 cortes).

En la evaluación de la colonización micorrízica se empleó el método propuesto por Rasmussen y Whigham (2002). Este método consiste en el establecimiento de una escala visual, que permite cuantificar la proporción o la intensidad del tejido cortical colonizado por los hongos mico-

rrízicos, en la cual, los cortes transversales del cortex se dividieron en cuadrantes: 0; 12,5; 25; 50; 75 y 100 %. En total se evaluó la intensidad de colonización en los 1620 cortes. Adicionalmente, esta evaluación permitió estimar simultáneamente la extensión longitudinal o propagación de la colonización micorrízica, tomando en consideración solamente el criterio de raíz con colonización o sin colonización, en los mismos 1620 cortes. Se realizó un análisis de varianza con los datos obtenidos de las variables de estudio, edad y segmento de la raíz, y una comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \le 0.05$), para conocer si las variables evaluadas influían en la intensidad de la colonización micorrízica. Se empleó el programa SAS® versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación a las observaciones realizadas, se confirmó que las raíces de la orquídea epífita *Laelia furfuracea* son colonizadas por los hongos micorrízicos orquidoides (Figs. 5a-d). En general, las orquídeas fotosintéticas se asocian con hongos que pertenecen a la forma anamórfica *Rhizoctonia* con la participación de algunos Ascomycota y principalmente Basidiomycota (Rasmussen *et al.* 2015, Fochi *et al.* 2017). En el caso específico de las orquídeas epífitas, se han identificado asociaciones con hongos miembros de Tulasnellaceae, Ceratobasidiaceae, Serendipitaceae (Seba-

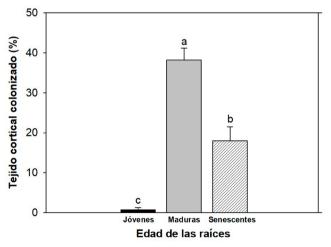


Figura 2. Proporción o intensidad de colonización micorrízica en el tejido cortical en las raíces de diferentes edades en *Laelia furfuracea*. Raíces jóvenes = barra negra; raíces maduras = barra gris; raíces senescentes = barra con diagonales. Los valores son medias \pm error estándar de la media. N = 540. Barras con la misma letra son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey (α = 0,05) y una DMS = 8,92.

cinales), y de la clase Atractiellomycetes (Bokati y Craven 2016, Cevallos *et al.* 2017, Novotná *et al.*, 2018).

La mayor proporción o intensidad de colonización del tejido cortical ocupado por pelotones ($p \le 0.05$) fue registrada en las raíces maduras con 38 %, superando la colonización observada en las raíces senescentes con 18 %; mientras que las raíces jóvenes fueron escasamente colonizadas (< 1 %) (Fig. 2). En relación a la extensión longitudinal de la colonización micorrízica a lo largo de las raíces evaluadas, los mayores valores se observaron en las raíces senescentes (92 %) y en las raíces maduras (89 %), con una escasa colonización en las raíces jóvenes (2%) (Fig. 3). Esto puede ser explicado por el contacto directo de las raíces maduras y senescentes con abundantes restos orgánicos y potencialmente bancos de inóculo de propágulos micorrízicos, que se encontraron en la corteza de los encinos; mientras que, las raíces jóvenes se observaron creciendo de manera aérea en ausencia de contacto con la materia orgánica acumulada en la parte interna de la corteza de su forófito. Los resultados obtenidos concuerdan con los reportes realizados en Dendrobium aqueum Lindl., Liparis elliptica Wight, Erycina cristata-galli y Epidendrum stamfordianum, donde se ha encontrado que las raíces viejas o longevas presentan colonizaciones más intensas que las raíces jóvenes (Raman y Nagarajan 1999, Bertolini et al. 2014), ya que la colonización por hongos micorrízicos se propaga en las raíces que tienen contacto con material orgánico acumulado en las ramas de los árboles u otras raíces micorrizadas (Bermudes y Benzing 1989, Hossain 2019). En contraste, las raíces que no entran en contacto con dichos componentes, reducen su probabilidad de micorrización (Raman y Nagarajan 1999) y pueden llegar a presentar colonizaciones muy bajas (<1 %), como en nuestro estudio.

En el análisis de las raíces completas se registró la mayor intensidad de colonización en las raíces maduras con 38 %. Sin embargo, el análisis de la colonización por segmentos, tomados a partir de la parte basal central del pseudobulbo hacia afuera, dicho estadio ontogénico presentó variaciones importantes. Se observó una micorrización de 50 % en el segmento central de las raíces maduras, la cual fue superior ($p \le 0.05$) a la registrada en los otros segmentos en donde se registró 34 % y 30 % en los segmentos distales y proximales, respectivamente (Fig. 4). En el caso de las raíces senescentes, la mayor intensidad de colonización se encontró en el segmento distal de la raíz con 36 %, seguido del segmento central con 10 % y, finalmente, el segmento

proximal con 7 %; mientras que, las raíces jóvenes registraron una intensidad de colonización muy baja en los tres segmentos dado que solo se registró una colonización del 1 % (Fig. 4). Este análisis sugiere que la colonización de las raíces es influenciada por factores tales como la edad y su contacto con la materia orgánica. El patrón de distribución puede atribuirse a que el segmento central y distal de las raíces son zonas de crecimiento estable, en comparación al segmento inicial que está en constante desarrollo (Raman y Nagarajan 1999, Bertolini *et al.* 2014).

Al estudiar el segmento de la raíz con la edad, se encontró que la colonización fue escasa en los tres segmentos de las raíces jóvenes. Esto como consecuencia directa de la ausencia de restos orgánicos, ya que estas raíces no estuvieron en contacto con la corteza de los encinos, en comparación a las raíces maduras y senescentes que crecieron sobre las ramas de su hospedero. Los resultados indican que es importante el contacto con el forófito, ya que este es el sustrato donde se encuentran las esporas de los hongos micorrízicos y la presencia de musgos, líquenes, bromelias y helechos en las ramas de los encinos permite la acumulación de residuos orgánicos que ayudan a la retención de humedad y por lo tanto a menores variaciones térmicas, condiciones que influyen en el establecimiento de las orquídeas epífitas (Granados-Sánchez et al. 2003, Izuddin et al. 2019).

El mayor porcentaje de colonización se observó en el segmento central de las raíces maduras (50 %) de *Lae*-

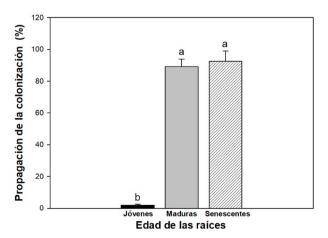


Figura 3. Extensión longitudinal o propagación de la intensidad de colonización micorrízica en las raíces de diferentes edades en *Laelia furfuracea*. Raíces jóvenes = barra negra; raíces maduras = barra gris; raíces senescentes = barra con diagonales. Los valores son medias ± error estándar de la media. N = 540. Barras con la misma letra son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey (α = 0,05) y una DMS = 20,36.

lia furfuracea, con una fuerte variación relacionada con la edad (Fig. 4). Se plantea que la colonización en las orquídeas epífitas es variable, con valores entre 7 % y 90 %. Por ejemplo, en *Cymbidium* se reportan colonizaciones de 88 % (Bagyaroj y Powel 1983), en *Ornithocephalus bryostachyus* Schltr. de 90 % (Bermudes y Benzing 1989), en *Pleurothallis microphylla* A. Rich. & Galeotti de 7 % (Lesica y Antibus 1990), en *Luisia zeylanica* Lindl. de 34 % (Sathiyadash et al. 2012), en *Epidendrum stamfordianum* de 60 % (Bertolini et al. 2014) y en *Gastrochilus calceolaris* (Buch.-Ham. ex Sm.) D. Don de 75 % (Hossain 2019). Los datos generados de 1983 a 2019 contrastan con los primeros reportes, en donde se consideró que las orquídeas epífitas poseen una escasa infección micorrízica (Hadley y Williamson 1972).

En el estudio existieron variaciones dependientes de la edad de las raíces y, en menor medida, de los segmentos (proximal, central y distal). En el análisis sistemático de los 1620 cortes individuales de secciones transversales completas, se observaron desde raíces que tenían o % hasta algunas que poseían un 100 % de colonización. Adicionalmente, se observaron pelotones lisados y activos jóvenes, los cuales se consideran las estructuras de transferencia nutrimental (Figs. 5a-d). Actualmente se reconoce que el intercambio nutrimental sucede con la lisis del pelotón, y se ha confirmado que el carbono y el nitrógeno se transfieren del hongo a la planta antes de la lisis del pelotón (Dearnaley y Cameron 2017, Fochi *et al.* 2017).

La distribución de los hongos micorrízicos en las raíces de las orquídeas epífitas se encuentra influenciada por diversos factores, tales como el hábito de crecimiento, el estado fenológico de las raíces, la edad de la planta (Bagyaroj y Powel 1983, Sathiyadash et al. 2012, Bertolini et al. 2014), el contacto con los residuos orgánicos que se depositan en la corteza del forófito y la época del año en que se realiza el muestreo (Bermudes y Benzing 1989, Lesica y Antibus 1990, Hossain 2019). Adicionalmente, es probable que factores tales como la distribución de los simbiontes fúngicos y las propiedades físicas y químicas de la corteza del hospedero puedan influir en la germinación y desarrollo de las orquídeas epífitas; sin embargo, estos aspectos han sido escasamente explorados (Otero et al. 2007, Bergstrom y Carter 2008, Harshani et al. 2014, Li et al. 2021b). Los resultados confirman que el proceso de colonización es muy dinámico en términos de su distribución espacial.

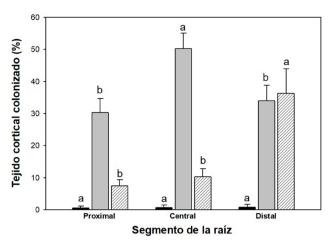


Figura 4. Porcentaje de la colonización micorrízica en los segmentos proximal, central y distal en las raíces de diferentes edades en *Laelia furfuracea* tomando como referencia la parte basal central del pseudobulbo. Raíces jóvenes = barra negra; raíces maduras = barra gris; raíces senescentes = barra con diagonales. Los valores son medias + error estándar de la media. N = 180. Barras con la misma letra, para cada edad de raíz, son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey (α = 0,05) y una DMS = 17,35.

Estudios vinculados con especies del género de orquídeas epífitas *Laelia* son escasos, a pesar de su importante distribución en México y Centroamérica. Por ejemplo, sus forófitos son muy poco explorados (Halbinger y Soto 1997). En términos generales, el conocimiento de la distribución y composición de los hongos micorrízicos en las orquídeas epífitas y su distribución en los forófitos se encuentra en su infancia, y aún se desconoce porque las orquídeas tienen preferencia por ciertos forófitos (Li *et al.* 2021b). A pesar de que el presente estudio no tuvo como objetivo la identificación de los micobiontes orquidoides involucrados, es importante recalcar que dicha identificación sería de enorme relevancia para contribuir al conocimiento de la biodiversidad fúngica capaz de establecer simbiosis micorrízicas con orquídeas epífitas.

En el caso específico de *Laelia furfuracea*, se conoce que tiene una distribución muy restringida. A la fecha, solo se registra en el estado de Oaxaca, México, a altitudes de 2100 a 3000 m. Se demuestra por primera vez que *L. furfuracea*, microendémica de una región del sureste de México, presenta colonización micorrízica. Esta colonización alcanza valores máximos en raíces maduras (38 %), seguidos por los de raíces senescentes (18 %) y raíces jóvenes (<1 %). Las variaciones encontradas pueden estar vinculadas con el mayor contacto de las raíces maduras y senescentes con la materia orgánica en comparación con las raíces jóvenes.

El papel fisiológico, la diversidad fúngica, el grado de asociación o especificidad de los hongos orquidoides en las raíces de las orquídeas epífitas es poco conocido en comparación a las orquídeas terrestres, pero la mayoría de las orquídeas son epífitas tropicales o subtropicales y representan el 70 % de Orchidaceae, por lo que es importante desarrollar estrategias eficientes para su conservación (Beltrán-Nambo et al. 2018, Favre-Godal et al. 2020, Sathiyadash et al. 2020). Una excelente estrategia de conservación y restauración del hábitat es el uso de simbiontes fúngicos, que aumentan la tasa de germinación, estimulan el desarrollo y la capacidad adaptativa de las orquídeas, ya que la distribución y la dinámica de las poblaciones de estas especies están influenciadas por las perturbaciones ecológicas que enfrentan hoy en día (Rasmussen et al. 2015, Beltrán-Nambo et al. 2018, Li et al. 2021a).

Las poblaciones naturales se enfrentan a los efectos del cambio de uso de suelo, causado por el avance de la agricultura, la tala y la expansión de las ciudades, y al cambio climático, condiciones que afectan las interacciones ecológicas que las orquídeas establecen con los simbiontes, los forófitos y los polinizadores; por ello, muchas de ellas se encuentran en peligro de extinción (Fay et al. 2015, Li et al. 2021a). En su conjunto, la degradación, la alteración y la fragmentación del hábitat han provocado que muchas especies de orquídeas presenten poblaciones envejecidas, lo que causa la disminución de las poblaciones (Rasmussen et al. 2015). Otro problema importante es la pérdida de variabilidad genética, ya que muchas de estas especies son extraídas en grandes cantidades y no existe un manejo integral para el mantenimiento de las especies (Gómez-Escamilla et al. 2019). Se proyecta que la urbanización ocurrirá cerca de las áreas protegidas, especialmente en regiones en desarrollo como el sudoeste asiático, China y América del Sur; por ejemplo, en Chile va se reportan especies en peligro de extinción (Herrera et al. 2019, Izuddin et al. 2019, Herrera et al. 2020). Por estas razones, es de enorme importancia resaltar que el diseño e implementación de estrategias de uso sostenible de los bosques y ecosistemas naturales es de crucial importancia para la conservación de su biodiversidad, incluidas las orquídeas epífitas.

En México se conoce la extracción masiva de *Laelia fur-furacea* (Solano-Gómez *et al.* 2010, Cruz-García *et al.* 2015, Gómez-Escamilla *et al.* 2019), y de diversas orquídeas como *L. speciosa* (Kunth) Schltr (Rojas-Méndez *et al.* 2017, Beltrán-Nambo *et al.* 2018), *L. autumnalis* (Lex.)

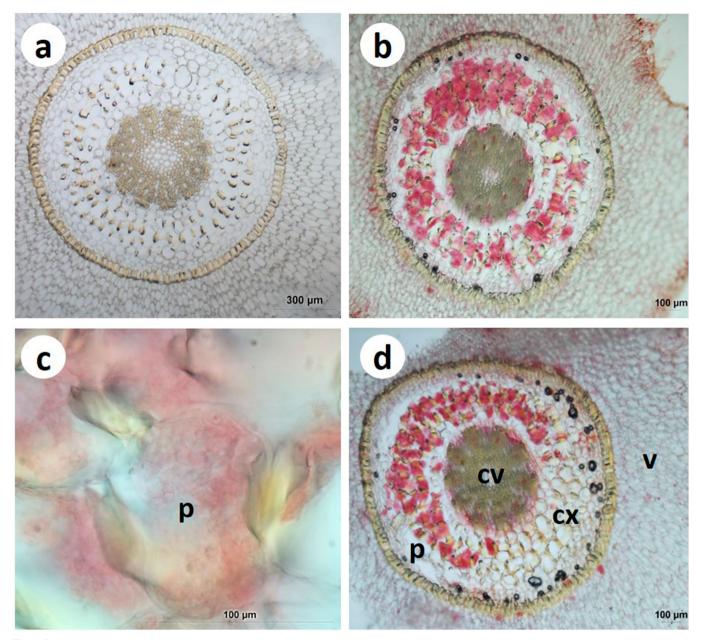


Figura 5. Colonización micorrízica en el tejido cortical de *Laelia furfuracea*. a. Cortex sin colonización; b. Cortex 100 % colonizado; c. Pelotones nuevos; d. Cortex 50 % colonizado; cv = cilindro vascular; cx = cortex; v = velamen; p = pelotones.

Lindl. (Beltrán-Rodríguez et al. 2012, Emeterio-Lara et al. 2016, Beltrán-Nambo et al. 2018), Euchile citrina (Lex.) Withner, Prosthechea squalida (La Llave y Lex.) Soto Arenas y Salazar (Beltrán-Nambo et al. 2018) y Prosthechea karwinskii (Mart.) Soto Arenas & Salazar, para su comercio (Cruz-García et al. 2015). Debido a la pérdida del hábitat y la sobreexplotación de las orquídeas con fines ornamentales y medicinales el 56,5 % de las orquídeas esta en peligro de extinción, de acuerdo a las evaluaciones de la Lista Roja de especies amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN 2018) (Herrera et al. 2019).

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se registra por primera ocasión la colonización micorrízica de la orquídea epífita *Laelia furfuracea*. Adicionalmente, se encontró que tanto la edad de las raíces como su cercanía con la parte central del pseudobulbo influyen en la intensidad de la colonización micorrízica. La intensidad de la colonización micorrízica en el tejido cortical fue mayor en las raíces maduras en relación a las raíces senescentes y jóvenes. En el caso de las raíces jóvenes, se registró una intensidad de colonización muy

reducida, de alrededor del 1 %. Un fenómeno similar se observó en relación a la colonización en la extensión longitudinal de las raíces, con la diferencia que en este último caso las diferencias de colonización entre las raíces maduras y senescentes fue igual. En el caso de la influencia de la intensidad de colonización micorrízica en relación a la proximidad de las raíces con el centro del pseudobulbo, se registraron diversas tendencias en las diferentes edades de las raíces. Para raíces senescentes se observó una mayor intensidad de colonización en la parte distal en comparación con la parte central y proximal; para raíces maduras se observó una mayor intensidad en la parte central de las raíces, en comparación con las partes distales y proximales; y, finalmente, en el caso de las raíces jóvenes, la colonización no varió independientemente de su distancia con el centro del pseudobulbo de la planta hospedera. Este trabajo contribuye al conocimiento y comprensión de la colonización micorrízica en orquídeas epífitas, temática escasamente estudiada, así como a los factores que influven en dicha colonización.

PARTICIPACIÓN DE AUTORES

CGS diseño, toma de datos y escritura del documento, JPM diseño, supervisión de la investigación y revisión del documento, JJAS, JDM Y VMCA análisis de los datos y revisión del documento.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México y al Colegio de postgraduados por el apoyo financiero y logístico concedido para realizar los estudios doctorales. A la Dra. Sandra Cortés Pérez se le agradece su colaboración en la toma de fotografías de los cortes de las raíces. Se agradece asimismo a los pobladores del grupo étnico mixteco de la comunidad de Santa María Estetla en Oaxaca, México y al Dr. Faustino Hernández Santiago por su colaboración para conseguir la autorización para colectar el material biológico estudiado. El autor de correspondencia agradece el apoyo del Colegio de Postgraduados, para desarrollar una estancia académica en el Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences en Kunming, China

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

LITERATURA CITADA

- Assédé ESP, Djagoun CAMS, Azihou FA, Gogan YSC, Kouton MD, Adomou AC, Geldenhuys CJ, Chirwa PW, Sinsin B. 2018. Efficiency of conservation areas to protect orchid species in Benin, West Africa. S. Afr. J. Bot. 116:230-237. doi: https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.02.405
- Bagyaraj DJ, Powell CLl. 1983. Ocurrence and intensity of mycorrhizal infections in cultivated orchids in some New Zealand nurseries. New Zeal. J. Agr. Res. 26(3):409-412. doi: https://doi.org/10.1080/00288233.1983.10427052
- Beltrán-Nambo MA, Martínez-Trujillo M, Montero-Castro JC, Salgado-Garciglia R, Otero-Ospina JT, Carreón-Abud Y. 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. doi: https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.07.001
- Beltrán-Rodríguez LA, Martínez-Rivera B, Paulo A. 2012. Etnoecología de la flor de Catarina – *Laelia autumnalis* (La Llave & Lex.) Lindl. – (Orchidaceae) en una comunidad campesina al sur del estado de Morelos, México: Conservando un recurso y preservando saberes populares. Etnobiología 10(1):1-17.
- Bergstrom B, Carter R. 2008. Host-Tree Selection by an Epiphytic Orchid, *Epidendrum magnoliae* Muhl. (Green Fly Orchid), in an Inland Hardwood Hammock in Georgia. Southeast Nat. 7(4):571-580. doi: https://doi.org/10.1656/1528-7092-7.4.571
- Bermudes D, Benzing DH. 1989. Fungi in neotropical epiphyte roots. Biosystems 23(1):65-73. doi: https://doi.org/10.1016/0303-2647(89)90009-9
- Bertolini V, Cruz-Blasi J, Damon A, Valle J. 2014. Seasonality and mycorrhizal colonization in three species of epiphytic orchids in southeast Mexico. Acta Bot. Bras. 28(4):512-518. doi: https://doi.org/10.1590/0102-33062014abb3436
- Bokati D, Craven K. 2016. The cryptic Sebacinales: An obscure but ubiquitous group of root symbionts comes to light. Fungal Ecol. 22:115-119. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.funeco.2016.01.010
- Cevallos S, Sánchez-Rodríguez A, Decock C, Declerck S, Suárez JP. 2017. Are there keystone mycorrhizal fungi associated to tropical epiphytic orchids? Mycorrhiza 27:225-232. doi: https://doi.org/10.1007/s00572-016-0746-8
- Cruz-García G, Lagunez-Rivera L, Chávez-Ángeles MG, Solano-Gómez R. 2015. The Wild Orchid Trade in a Mexican Local Market: Diversity and Economics. Econ. Bot. 69(4):291-305. doi: https://doi.org/10.1007/s12231-015-9321-z
- Damon A. 2017. Estrategias para el rescate, conservación y aprovechamiento sustentable de las orquídeas (Orchidaceae) en el sureste de México. Agroproductividad 10(6):25-30.

- de la Rosa-Manzano E, Andrade JL, Zotz G, Reyes-García C. 2017. Physiological plasticity of epiphytic orchids from two contrasting tropical dry forests. Acta Oecol. 85:25-32. doi: https://doi.org/10.1016/j.actao.2017.09.006
- Dearnaley J, Cameron D. 2017. Nitrogen transport in the Orchid Mycorrhizal symbiosis- further evidence for a mutualistic association. New Phytol. 213(1):10-12. doi: https://doi.org/10.1111/nph.14357
- Emeterio-Lara A, Palma-Linares V, Vázquez-García LM, Mejía-Carranza J. 2016. Uso y comercialización de orquídeas silvestres en la región sur del Estado de México. Polibotánica 42:197-214.
- Espejo A. 2012. El endemismo en las Liliopsida mexicanas. Acta Bot. Mex. (100):195-257.
- Favre-Godal Q, Gourguillon L, Lordel-Madeleine S, Gindro K, Choisy P. 2020. Orchids and their mycorrhizal fungi: an insufficiently explored relationship. Mycorrhiza 30:5-22. doi: https:// doi.org/10.1007/s00572-020-00934-2
- Fay MF, Pailler T, Dixon KW. 2015. Orchid conservation: making the links. Ann. Bot-London. 116(3):377-379. doi: https://doi.org/10.1093/aob/mcv142
- Fochi V, Chitarra W, Kohler A, Voyron S, Singan V, Lindquist E, Barry K, Girlanda M, Grigoriev I, Martin F, Balestrini R, Perotto S. 2017. Fungal and plant gene expression in the *Tulasnella calospora-Serapias vomeracea* symbiosis provides clues about nitrogen pathways in orchid mycorrhizas. New Phytol. 213(1):365-379. doi: https://doi.org/10.1111/nph.14279
- García-Franco JG. 2017. La fragmentación del bosque de niebla y su efecto en la comunidad de orquídeas (Orchidaceae). Agroproductividad 10(6):13-18.
- Gómez-Escamilla IN, Espejo-Serna A, López-Ferrari AR, Krömer T. 2019. Distribución geográfica de angiospermas epífitas de la región terrestre prioritaria Negro-Yucaño, Oaxaca, México. Rev. Biol. Trop. 67(1):118-131.
- Granados-Sánchez D, López-Ríos GF, Hernández-García MÁ, Sánchez-González A. 2003. Ecología de las plantas epífitas. Rev. Chapingo Ser. Cie. 9(2):101-111.
- Hadley G, Williamson B. 1972. Features of mycorrhizal infection in some malayan orchids. New Phytol. 71:1111-1118. doi: https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1972.tb01989.x
- Halbinger F, Soto M. 1997. Laelias of México. Orquídea (Méx.). 15:1-160.
- Harshani HC, Senanayake S, Sandamali H. 2014. Host tree specificity and seed germination of *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) C.E.C. Fisch. in Sri Lanka. J. Natl. Sci. Found. Sri. 42(1):71-86. doi: http://dx.doi.org/10.4038/insfsr.v42i1.6682
- Herrera H, García-Romera I, Meneses C, Pereira G, Arriagada C. 2019. Orchid mycorrhizal interactions on the pacific side of the Andes from Chile. A review. J. Soil Sci. Plant Nut. 19:187-202. doi: https://doi.org/10.1007/s42729-019-00026-x

- Herrera H, Sanhueza T, Martiarena R, Valadares R, Fuentes A, Arriagada C. 2020. Mycorrhizal fungi isolated from native terrestrial orchids from región of La Araucanía, southern Chile. Microorganisms 8(8):1120. doi: https://doi.org/10.3390/microorganisms8081120
- Hossain M. 2019. Morpho-molecular characterization of *Ceratobasidium* sp.: A mycorrhizal fungi isolated from a rare epiphytic orchid *Gastrochilus calceolaris* (J. E. SM.) D. Don. Bangl. J. Plant Taxon. 26(2):249-257. doi: https://doi.org/10.3329/bjpt. v26i2.44584
- Izuddin M, Srivathsan A, Lee AL, Yam TW, Webb EL.2019. Availability of orchid mycorrhizal fungi on roadside trees in a tropical urban landscape. Sci. Rep-Uk. 9:19528. doi: https://doi.org/10.1038/s41598-019-56049-y
- Lesica P, Antibus R. 1990. The occurrence of mycorrhizae in vascular epiphytes of two Costa Rican rain forests. Biotropica 22(3):250-258. doi: https://doi.org/10.2307/2388535
- Li T, Wu S, Yang W, Selosse M-A, Gao J. 2021a. How mycorrhizal associations influence orchid distribution and population dynamics. Front. Plant Sci. 12:647114. doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2021.647114
- Li T, Yang W, Wu S, Selosse M-A, Gao J. 2021b. Progress and prospects of mycorrhizal fungal diversity in orchids. Front. Plant Sci. 12:646325. doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2021.646325
- McCormick MK, Whigham DF, Canchani-Viruet A. 2018. Mycorrhizal fungi affect orchid distribution and population dynamics. New Phytol. 219(4):1207-1215. doi: https://doi.org/10.1111/nph.15223
- Novotná A, Benítez A, Herrere P, Cruz D, Filipczyková E, Suárez JP. 2018. High diversity of root-associated fungi isolated from three epiphytic orchids in southern Ecuador. Mycoscience 59(1):24-32. doi: https://doi.org/10.1016/j.myc.2017.07.007
- Otero JT, Aragón S, Ackerman JD. 2007. Site variation in spatial aggegation and phorophyte preference in *Psychilis monensis* (Orchidaceae). Biotropica 39(2):227-231. doi: https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2006.00258.x
- Pereira G, Suz LM, Albornoz V, Romero C, García L, Leiva V, Atala C. 2018. Mycorrhizal fungi associated with *Codonor-chis lessonii* (Brongn.) Lindl., a terrestrial orchid from Chile. Gayana Bot. 75(1):447-458. doi: http://dx.doi.org/10.4067/s0717-66432018000100447
- Raman N, Nagarajan N. 1999. Mycorrhizal association of orchids in a tropical forest of southern India. J. Trop. For. Sci. 11(3):548-553.
- Rasmussen HN, Whigham DF. 2002. Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy. New Phytol. 154(3):797-807. doi: https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00422.x
- Rasmussen HN, Dixon KW, Jersáková J, Tesitelová T. 2015. Germination and seedling establishment in orchids: a complex of requirements. Ann. Bot-London. 116(3):391-402. doi: https://doi.org/10.1093/aob/mcv087

- Roberts DL, Dixon KW. 2008. Orchids. Curr. Biol. 18(8):325-329. doi: https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.02.026
- Rojas-Méndez KJ, Peñaloza-Ramírez JM, Rocha-Ramírez V, Cortés-Palomec A, McCauley RA, Oyama K. 2017. Massive extraction of the orchid Laelia speciosa (HBK) Schltr. for trading in local markets affect its population genetic structure in a fragmented landscape in central Mexico. Trop. Conserv. Sci. 10:1-14. doi: https://doi.org/10.1177/1940082917693235
- Salazar G, Jiménez-Machorro R, Huerta HM, Hágsater E. 2014. A new species and a new natural hybrid of *Laelia* (Orchidaceae) from Oaxaca, México. Phytotaxa 178(1):161-170. doi: http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.178.3.1
- Sathiyadash K, Muthukumar T, Karthikeyan V, Rajendran K. 2020. Orchid mycorrhizal fungi: Structure, function, and diversity. In: Khasim S, Hegde S, González-Arnao M, Thammasiri K, editors. Orchid biology: Recent trends & challenges. Singapore: Springer. p. 239-280.
- Sathiyadash K, Muthukumar T, Uma E, Pandey RR. 2012. Mycorrhizal association and morphology in orchids. J. Plant Interact. 7(3):238-247. doi: https://doi.org/10.1080/17429145.2012.69 9105
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NO M-059-SE-MARNAT-2010. [Revisado en: 10 Ene 2020]. Diario Oficial de la Federación 14/11/2019 https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5578808&fecha=14/11/2019#gsc.tab=0
- Smith SE, Read DFRS. 2008. Mycorrhizal symbiosis. Third Edition. London: Academic Press. Chapter 12, The mycorrhizas of green orchids; p.419-457.

- Solano R, Huerta-Espinoza H, Cruz-García G, Ortiz-Riveros F. 2019. A new natural hybrid in the genus *Laelia* (Orchidaceae) from Oaxaca, México. Phytotaxa 402(5):232-240. doi: https://doi.org/10.11646/phytotaxa.402.5.2
- Solano-Gómez R, Cruz G, Martínez A, Lagunez L. 2010. Plantas utilizadas en la celebración de semana santa en Zaachila, Oaxaca, México. Polibotánica 29:263-279.
- Tejeda-Sartorius O, Téllez-Velasco MAA, Escobar-Aguayo JJ. 2017. Estado de conservación de orquídeas silvestres (Orchidaceae). Agroproductividad 10(6):3-12.
- The Plant List. c2013. Version 1.1. [Revisado en: 15 Feb 2020]. http://www.theplantlist.org/
- Villaseñor JL. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. Interciencia. 28(3):160-167. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33907806
- Zhang S, Yang Y, Li J, Qin J, Zhang W, Huang W, Hu H. 2018. Physiological diversity of orchids. Plant Divers. 40(4):196-208. doi: https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.06.003
- Zotz G, Winkler U. 2013. Aerial roots of epiphytic orchids: the velamen redicum and its role in water and nutrient uptake. Oecologia 171:733-741. doi: https://doi.org/10.1007/s00442-012-2575-6