

## *Cenococcum geophilum* y su asociación con *Pinus maximartinezii* árbol nativo de México en peligro de extinción

*Cenococcum geophyllum* and its association with *Pinus maximartinezii* an endangered and native tree of Mexico

Alejandra Almaraz-Llamas<sup>1</sup>, Jesús Pérez-Moreno<sup>2</sup>, Margarita Torres-Aquino<sup>1</sup>, Moisés G. Carcaño-Montiel<sup>3</sup>, Ismael Hernández Ríos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Postgrado de Innovación en Manejo de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados Campus San Luis Potosí, Iturbide 73, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí. C.P. 78600. México.

<sup>2</sup> Microbiología, Edafología, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. C.P. 56230. Texcoco, Estado de México.

<sup>3</sup> Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Instituto de Ciencias, Laboratorio de Microbiología de Suelos. Edificio 103 J, Ciudad Universitaria. C. P. 72570, Puebla, México.

### RESUMEN

**Antecedentes:** Pese a su amplia distribución y ubicuidad en diferentes ambientes, *Cenococcum geophilum* ha sido poco estudiado en México, en particular su asociación con especies en peligro de extinción, como es el caso de *Pinus maximartinezii*.

**Objetivo:** Caracterizar morfológica y anatómicamente a *Cenococcum geophilum* asociado en condiciones naturales a *Pinus maximartinezii*.

**Métodos:** En Cerro de Piñones al sur de Zacatecas, se realizó un muestreo de raíces en los cuatro puntos cardinales de árboles adultos. Cada muestra fue extraída con un tubo de PVC (5 x 30 cm). Posteriormente en el laboratorio, se analizaron las raíces obtenidas en época de sequía y de lluvia, y se realizó la caracterización morfoanatómica.

**Resultados y conclusiones:** De un total de 18 morfotipos *Cenococcum geophilum* fue el más abundante, debido a que se encontró en el 42.5 % del total de raíces ectomicorrizadas vivas. Es importante mencionar que el morfotipo de *C. geophilum* no había sido caracterizado en *Pinus maximartinezii*. Sin embargo, se requiere realizar estudios de biología molecular con el fin de identificar los diferentes morfotipos ectomicorrizicos asociados al pino azul, así como trabajos de fisiología que permitan elucidar el papel que desempeña *C. geophilum* en la conservación de esta especie en peligro de extinción.

**Palabras clave:** hongo ectomicorrizico, morfotipo, pino piñonero

### ABSTRACT

**Background:** Despite its wide distribution and ubiquity in different environments, *Cenococcum geophilum* has been scarcely studied in Mexico, particularly its association with species in danger of extinction as is the case of *Pinus maximartinezii*.

**Objective:** Characterizing *Cenococcum geophilum* morphologically and anatomically, associated in natural conditions to *Pinus maximartinezii*.

**Methods:** In Piñones hill, southern Zacatecas, roots samples were taken in the four cardinal points of adult trees. Each sample was extracted with a PVC tube (5 x 30 cm). Later in the laboratory, the roots obtained were analyzed during drought and rainy season. *C. geophilum* was characterized morphologically according to its distinctive traits.

**Results and conclusions:** Out of a total of 18 morphotypes, *Cenococcum geophilum* was the most abundant, since it was found in 42.5 % of the total live ectomycorrhizae roots. It is important to mention that there was no prior record of the formation of the *Cenococcum geophilum* - *Pinus maximartinezii* symbiosis. However, molecular biology studies should be performed with the aim of identifying the different ectomycorrhizae morphotypes associated to blue pine, as well as physiology studies with the purpose of elucidating the role of *C. geophilum* in the conservation of this species in danger of extinction.

**Keywords:** ectomycorrhizal fungi, morphotypes, pinyon pine

### ARTICLE HISTORY

Received 08 August 2018 / Accepted 08 August 2019

Published on line: 13 September 2019

### CORRESPONDING AUTHOR

✉ Margarita Torres Aquino, maquino@colpos.mx

ORCID: 0000-0001-5268-9426

## INTRODUCCIÓN

Se estima que solo un número reducido de plantas vasculares (2 %) forman ectomicorriza (Dickie et al., 2013), con aproximadamente 20-25 mil especies de hongos de diversos clados fúngicos (Comandini et al., 2012; van der Heijden et al., 2015). La simbiosis ectomicorrízica, es un componente esencial en la mayoría de las comunidades vegetales que conforman los bosques templados, boreales, tropicales y subtropicales, dado que realizan un importante papel en el crecimiento y supervivencia de plantas hospederas, a través de una mayor absorción de nutrimentos y agua (Smith y Read, 2008), a cambio, el hongo ectomicorrízico (EcM) recibe carbono fotosintéticamente fijado por la planta hospedera (Treseder y Lennon, 2015; van der Heijden et al., 2017). Mucha de la sucesión vegetal forestal, establecimiento y rehabilitación de ecosistemas forestales, han sido ligados a la disponibilidad de esporas y esclerocios producidos por una amplia gama de hongos EcM (Garibay-Orijel et al., 2013). Las especies fúngicas responden al estrés ambiental ocasionado por periodos secos y temperaturas extremas, a través de la formación de esclerocios, los cuales contienen sustancias de reserva y agua (Amasya et al., 2015; Matsuda et al., 2015). *Cenococcum geophilum* Fr. es un complejo de especies crípticas (especies estrechamente relacionadas con una variación genética significativa, inclusive dentro de comunidades forestales análogas), la cual se caracteriza por producir estas estructuras de resistencia (Jany et al., 2002; Chen et al., 2007; Douhan et al., 2007). *Cenococcum geophilum* es el hongo EcM dentro de la clase Dothideomycetes, cuyo genoma fúngico se considera el de mayor tamaño (178 Mb), resultado de su alto contenido en secuencias repetidas (81 %) compuestas principalmente de elementos transponibles; secuencias de ADN que podrían explicar el éxito de *C. geophilum* para colonizar un amplio rango de hospederos y hábitats, debido a que estos elementos contribuyen a la plasticidad y adaptación de los hongos a su entorno (Peter et al., 2016); de tal forma que este simbionte fúngico se ha reportado como abundante bajo condiciones de estrés hídrico y suelos erosionados (Chen et al., 2007; Herzog et al., 2012; Obase et al., 2016; Peter et al., 2016). Por lo que, se ha sugerido que genera resiliencia con más de 200 especies vegetales con las que se asocia (40 géneros entre angiospermas y gimnospermas), las cuales

se desarrollan bajo condiciones restrictivas de agua (LoBuglio, 1999; Douhan et al., 2007; Tedersoo et al., 2010), tal es el caso de especies del género *Pinus* (Jany et al., 2002; Matsuda et al., 2009). Se ha mencionado, que la producción de melanina, pigmento que le da el color oscuro a *C. geophilum*, es un importante rasgo funcional que contribuye a la tolerancia al estrés hídrico de este hongo, incluso se ha sugerido que la melanina puede ser utilizada por otros micobiontes y otros hongos asociados a las raíces para tolerar tanto el estrés osmótico como la desecación (Fernández y Koide, 2013). Sin embargo, los rasgos fisiológicos específicos responsables del éxito frente al estrés hídrico y su biología en general son poco conocidos (Spatafora et al., 2012; Fernández y Koide, 2013; Peter et al., 2016). Debido a su morfología distintiva, *C. geophilum* es una de las pocas especies de hongos ectomicorrízicos que se pueden identificar de manera confiable con características morfológicas de las raíces colonizadas (Obase et al., 2017). Es una especie poco estudiada en México, en particular su asociación con especies de zonas semiáridas, tal es el caso de *Pinus maximartinezii* Rzed., especie endémica y de distribución restringida, que se ha reportado para el sur de Durango (González-Elizondo et al., 2011) y sur de Zacatecas (Sierra de Morones, Juchipila), México (Rzedowski, 1964). Donde ocupa una superficie total de 376 km<sup>2</sup>, no obstante, se estima una superficie real de 35 km<sup>2</sup> (Farjon, 2013). De acuerdo a la Lista Roja de especies amenazadas de la IUCN, 2018 y a la NOM-059-SEMARNAT-2010, esta especie se encuentra en peligro de extinción, debido a la recolecta no controlada de semilla, que afecta la regeneración natural de la especie, ganado itinerante dentro del área de distribución e incendios inducidos, que han destruido gran parte de la población localizada en el sur de Zacatecas (López-Mata et al., 2013). Se desarrolla en suelos muy delgados y pedregosos, que en ocasiones presentan afloramiento de la roca madre y además es frecuentemente colonizador de lugares que han sido afectados por incendios forestales. Adicionalmente es abundante en laderas, llegando a formar pequeños rodales fragmentados de una hectárea y raramente rodales más grandes (López-Mata y Galván-Escobedo, 2011). *Pinus maximartinezii*, conocido como pino azul, piñón azul o piñón real se caracteriza por el gran tamaño de sus semillas (Rzedowski, 1964) y de alto valor nutritivo (López-Mata, 2013). López-Mata y Galván-Escobedo (2011), reportaron la

venta de semilla, en el mercado nacional (Pueblo Viejo y Juchipila, Zacatecas) e internacional (Nuevo México, Estados Unidos y Japón), para el año 2005 cotizada en \$ 260.00 m.n. por kg de semilla fresca (equivalente a \$ 21.60 USD). Asimismo, es considerada una especie de interés ornamental. Con base en lo anterior, la descripción e identificación de especies ectomicorrízicas que proporcionen nutrientes y agua, que aminoren los efectos negativos de la sequía y de altas temperaturas son de gran relevancia, para el diseño de estrategias de conservación del pino azul. El objetivo del presente trabajo fue realizar una descripción morfo-anatómica del morfotipo de *Cenococcum geophilum* en asociación con *Pinus maximartinezii* creciendo en su área de distribución natural.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del área de estudio

La población de *P. maximartinezii* que se estudió se ubica en el Cerro de Piñones, el cual forma parte de la Sierra Morones, perteneciente a la Sierra Madre Occidental, a una altitud entre 1650 a 2500 m s.n.m. Esta población se localiza al sur de Zacatecas y al oeste de la comunidad Pueblo Viejo, perteneciente al municipio

de Juchipila (21° 20' a 21° 22' N y 103° 12' a 103° 15' O). La precipitación y temperatura máxima anual es de 691 mm y 21.7 °C (Campos-Aranda, 2016). La época seca comprende los meses de enero a mayo, mientras que la mayor precipitación se presenta durante los meses de junio a septiembre (Medina *et al.*, 2016, 2017). El clima del área de estudio se clasifica como semicálido, semiárido a templado (Ruiz-Garduño *et al.*, 2011). El pino azul crece escasamente en terrenos planos y de manera más densa sobre pendientes empinadas (70.02 - 142.81 %); el tipo de suelo es calcáreo, rocoso y muy seco (López-Mata y Galván-Escobedo, 2011; López-Mata, 2013). Dentro del ecosistema natural del pino azul, es posible encontrar especies como *Quercus macrophilla* Nee, *Pinus lumholtzii* Robins & Ferns y algunas especies arbustivas o semiarbustivas como *Arctostaphylos pungens*, *Arbutus* sp., *Dodonea viscosa*, etc. (Rzedowski, 1964), la vegetación dominante es matorral subtropical (*Acacia* sp., *Acacia farnesiana*, *Acacia gregii*, etc).

### Recolecta del material biológico

Se establecieron un total de 5 sitios de muestreo (Figura 1). Con el fin de descartar la presencia de otros hospederos ectomicorrízicos pertenecientes a las especies

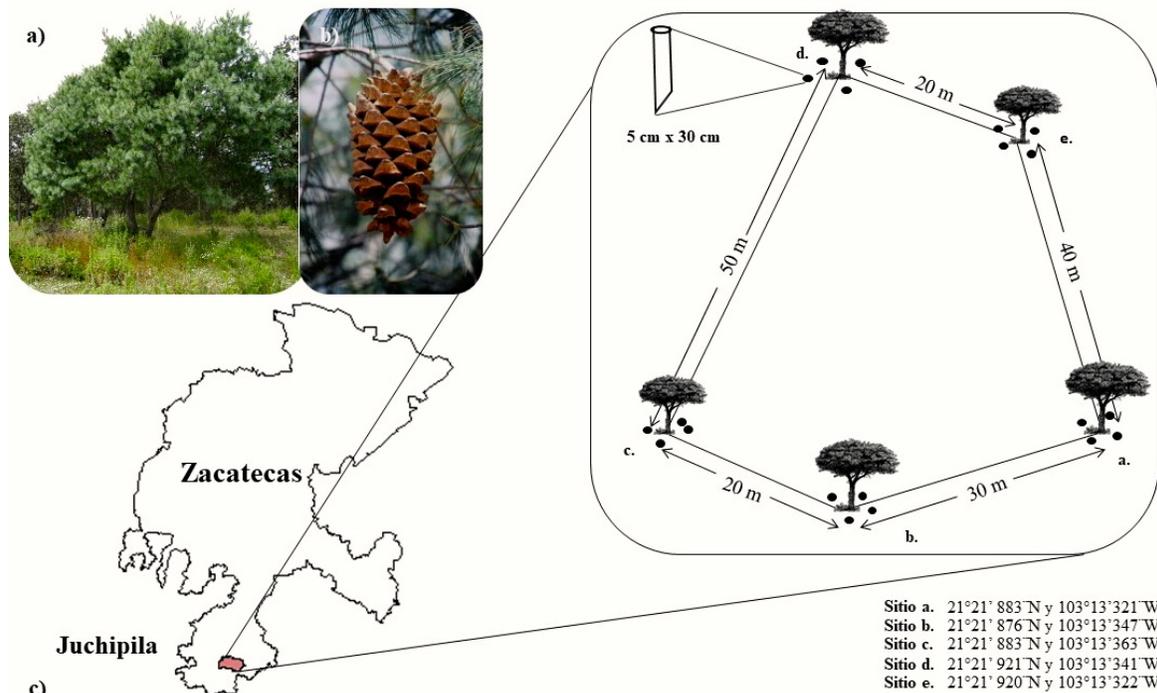


Figura 1. Distribución de los sitios de muestreo, a) *Pinus maximartinezii*; b) Estróbilo del pino azul (reportado como uno de los conos de mayor tamaño (30 cm); c) Sitios de muestreo en Sierra Morones cercanos a la localidad de Juchipila, con una superficie total de 1,495 m<sup>2</sup>.

forestales circundantes, se seleccionaron rodales puros de árboles adultos de *P. maximartinezii* (N= 8/1000 m<sup>2</sup>). Se escogieron 5 árboles al azar con una distancia entre cada árbol de entre 30 a 50 m (Figura 1). Se tomaron cuatro muestras de suelo a una distancia aproximada de 1.5 m del tronco del árbol (área de goteo) y en cada uno de los puntos cardinales. Para esto se removió la hojarasca hasta dejar el suelo al descubierto y se tomaron las muestras con un tubo de policloruro de vinilo (PVC) de 5 x 30 cm para la extracción de las muestras. Cada muestra fue etiquetada y mantenida en los tubos de PVC para su transporte al laboratorio. Las muestras se conservaron a 4 °C hasta su procesamiento de acuerdo a la metodología propuesta por Argüelles et al. (2016), modificada para las condiciones de bosque de *P. maximartinezii*. Se llevaron a cabo dos muestreos, el primero se realizó en época seca (mayo del 2017) y el segundo en la época de lluvia (septiembre del mismo año), en total se obtuvieron 10 muestras por época de muestreo.

#### Caracterización morfológica de *Cenococcum geophilum*

La separación de raíces se llevó a cabo en el laboratorio de Micorrizas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Cada muestra fue colocada en recipientes con agua destilada durante un periodo de 24 horas, con la finalidad de eliminar las partículas de suelo adherido a las raíces, posteriormente, se realizó un tamizado (de malla 16, abertura 1.18 mm) y con la ayuda de pinzas de disección se recolectaron las raíces (las cuales fueron conservadas en alcohol 70%). Enseguida, con la ayuda de un microscopio estereoscópico marca LEICA (*mismo con el que se tomaron las fotografías*) se realizó la descripción macroscópica y microscópica, para la que se efectuaron cortes histológicos transversales del morfotipo *Cenococcum geophilum*, en lo que se observó bajo microscopio los tejidos: manto fúngico, manto interno y red de hartig, realizándose la caracterización e identificación de acuerdo a las características distintivas propuestas para esta especie (LoBuglio, 1999; Goodman et al., 2000).

## RESULTADOS

Se identificó a *C. geophilum* asociado con árboles adultos de *P. maximartinezii*. De un total de 18 morfotipos, *C. geophilum* fue el más abundante, dado que se encontró en el 42.5% del total de raíces ectomicorri-

zadas vivas analizadas (18.3 época seca y 24.2 % para época de lluvia).

#### Descripción del morfotipo *Cenococcum geophilum* con *Pinus maximartinezii*

##### Características morfoanatómicas

El morfotipo presenta un color negro carbonizado y una superficie brillante con una ramificación dicotómica o simple, cuya longitud varía de 4 a 5 mm; desde la superficie del manto de aspecto granuloso se desarrollan abundantes hifas gruesas de color café oscuro a negras (Figura 2a), no ramificadas, frecuentemente curvas y con presencia de septos a distancia irregular; esta red de filamentos de exploración corta conforma un micelio extraradical bien desarrollado y concentrado principalmente en el ápice de los morfotipos evaluados. La disposición y organización del manto es plectenquimatoso, con hifas dispuestas radialmente (Figura 2d), y un patrón tipo estrella corresponde al tipo G, es decir, con hifas distribuidas de forma compacta y sin espacio entre ellas (DEEMY 2018). No se registraron estructuras como rizomorfos o cistidios. Respecto a la red de Hartig, interface entre la planta hospedera y su micosimbionte, solo ocupó de una a dos capas de células corticales cercanas a la epidermis (Figura 2e). Así mismo, los esclerocios presentaron una consistencia dura, color negro, en su mayoría de forma esférica con cuantiosas hifas emanantes, encontrándose en abundancia, pero no se detectaron en asociación directa o cercanos a los morfotipos de *C. geophilum*. El diámetro estimado osciló entre los 0.04 a 4 mm en *P. maximartinezii*.

## DISCUSIÓN

Es importante señalar que en el área de estudio la precipitación promedio que se ha reportado es de 691 mm (Campos-Aranda, 2016) y durante el año de los muestreos fue de 390 mm (Medina et al., 2017), por lo cual se considera que el pino azul estuvo sometido a condiciones de estrés hídrico y altas temperaturas (35.8 °C promedio anual), posterior al muestreo del mes de mayo (época de lluvia), se presentó un incendio forestal, que afectó gran parte de la población natural del pino azul. No obstante, a dicha condición *C. geophilum* fue el morfotipo más abundante, aún después del incendio forestal, inclusive aumentando su frecuencia en rela-

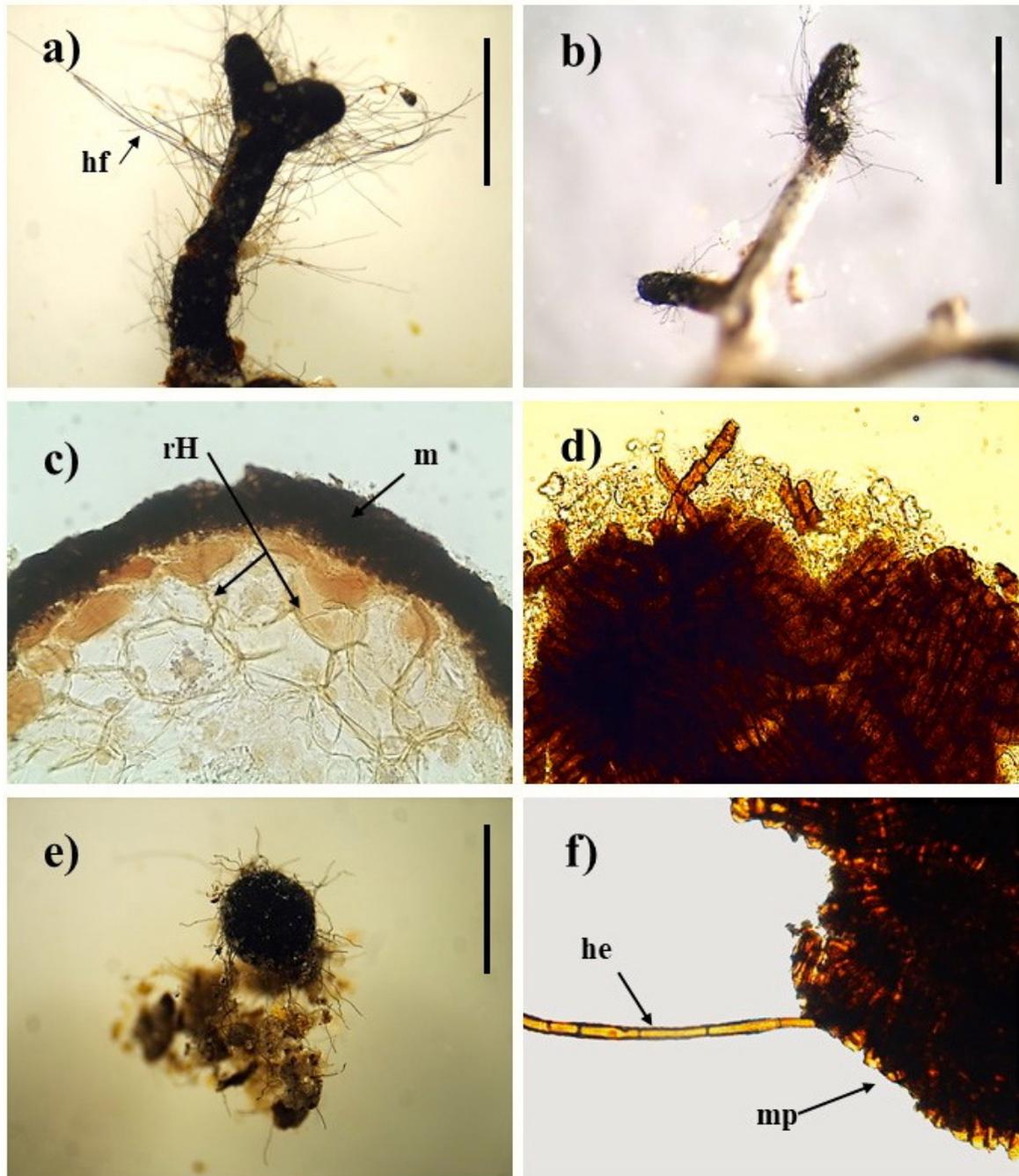


FIGURA 2. Ectomicorriza de *Cenococcum geophilum* con *Pinus maximartinezii*. a) Morfotipo ectomicorrizico dicotómico (4X). b) Morfotipo ectomicorrizico simple (2.1X). c) Corte transversal: manto (m) y red de Hartig (rH) (40X). d) Manto plectenquimatoso melanizado tipo G. e) esclerocio característico de *C. geophilum* (4.5X). f) Manto plectenquimatoso (mp) con hifa emanante (he) (40X) (Barra = 0.5mm).

ción a la época de sequía, indicando su resistencia al fuego y tal vez su capacidad de rápida recuperación frente a factores antropogénicos como el fuego (Kipfer *et al.*, 2011), de manera que se infiere la importancia que juega este simbiote en la conservación del pino azul, el cual se desarrolla bajo condiciones de estrés

hídrico, altas temperaturas y suelos erosionados. Se ha demostrado que a pesar de que su tipo de exploración a corta distancia, este simbiote fúngico puede proporcionar ventajas al sistema radical de su hospedero (Jany *et al.*, 2002), mejorando el estatus de agua bajo condiciones de sequía, aumentando la superficie

de absorción, mediante una conducción más eficiente a través del micelio extraradical, obteniendo efectos nutrimentales y hormonales mayores que modifican la regulación de la conductividad hidráulica en la interfase suelo-raíz, contribuyendo así en la conservación y supervivencia de múltiples especies forestales (Mohatt et al., 2008; Nedelin, 2014). Además, los taxones cosmopolitas como *C. geophilum* son dominantes en ambientes secos, lo cual es explicado a través de la hipótesis de representar un menor costo de carbono para sus hospederos, debido a un micelio extraradical más delgado y tipo de exploración, para este caso de corta distancia (Defrenne et al., 2019). Asimismo, la producción de melanina en la pared celular fúngica de *C. geophilum* es un rasgo funcional clave para la tolerancia al estrés hídrico (Fernández y Koide, 2014). Previamente, *C. geophilum* se ha reportado asociado a árboles adultos de *Pinus sylvestris* en Francia (Ponge et al., 1990); en *Pinus thunbergii* en Korea (Obase et al., 2010); *Pinus densiflora* en China (Ma et al., 2012), asimismo, para la sierra de México (Sierra de Chichinautzin) asociado a *Pinus montezumae* (Reverchon et al., 2010); considerándose, por lo tanto un simbiote dominante en bosques de pinos, tanto en árboles maduros como en plántulas que se regeneran naturalmente (Obase et al., 2010; Peter et al. 2016; Garay-Serrano et al. 2018). Al respecto, se ha reportado a *C. geophilum* como el hongo ECM más frecuente (64 %) y abundante (51 %) en plántulas de *Pinus albicaulis*, debajo del área de goteo de árboles adultos y menos abundante en plántulas más alejadas de los árboles (Mohatt et al., 2008), así como en plántulas y juveniles de *Abies lasiocarpa* (Hook.) Nutt. y *Picea engelmannii* Parry (Hasselquist et al., 2005). Mientras que, en *Pinus mugo* subsp. *turra* y *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc., *C. geophilum* se registró en una abundancia relativa dos veces mayor en plántulas que en árboles adultos en la región costera de Lituania y al este de China (Aučina et al., 2011; Ma et al., 2012), lo que se puede atribuir al papel vital que desempeña *C. geophilum* en la regeneración de los rodales (Ma et al., 2012). Cabe mencionar que existen otros mecanismos diferentes a la simbiosis EcM que contribuyen a la supervivencia de las plántulas, como son: tolerancia al sombreo, resistencia a patógenos, herbívoros y predadores de semillas (Mc Guire, 2007). El papel ecológico que llevan a cabo simbioses generalistas, como *C. geophilum* en comparación con simbioses específicos (*Rhizopogon*

y *Suillus* spp.) en el establecimiento de plántulas, es poco conocido (Mohatt et al., 2008). Sin embargo, no queda duda del importante papel de *C. geophilum* para incrementar la tolerancia a la sequía, por lo que esta asociación podría beneficiar a especies forestales que habitan bajo condiciones de estrés hídrico, suelos erosionados y en la supervivencia de múltiples especies de coníferas (Mohatt et al., 2008; Nedelin, 2014).

#### Descripción del morfotipo *Cenococcum geophilum* con *Pinus maximartinezii*

Las características morfoanatómicas de *C. geophilum* reportadas en el presente trabajo coinciden con las registradas en *Pinus sylvestris* y *Pinus montezumae* (Ponge, 1990; Garay-Serrano, et al., 2018), así como en *Picea sitchensis* (Ingleby et al., 1990) en los cuales la ramificación fue simple y dicotómica; mientras que en especies como *Pinus resinosa* y *Pinus densiflora* solo forman ramificación simple (LoBuglio, 1999; Ma et al., 2010). La coloración negra y superficie brillante se ha reportado como característica principal en dicho simbiote EcM por Trappe (1964), Ponge (1990), LoBuglio (1999) y Spatafora et al. (2012). Se ha registrado un espesor del manto externo para *Pinus resinosa* entre 20-30  $\mu\text{m}$  (LoBuglio, 1999) y de 10 a 25  $\mu\text{m}$  de espesor para *Picea sitchensis* (Ingleby et al., 1990); no se registra en el presente estudio. La profundidad de penetración de la red de Hartig es similar a lo reportado para *Pinus ayacahuite* (Arteaga-León, 2014). Así mismo, las características que presentaron las estructuras de resistencia son similares a las descritas en la literatura (Amasya et al., 2015), reportándose como abundantes, pero no en asociación directa con las raíces, lo cual contrasta con lo reportado por Trappe (1969), quien encontró abundantes esclerocios en la micorrizosfera de *C. geophilum* y su planta hospedera. El diámetro oscila entre los 0.04 a 4 mm en *P. maximartinezii*, mientras que Arteaga-León (2014), reportó un diámetro para estas estructuras en *P. ayacahuite* de 0.5 a 1.5 mm, así como mayores diámetros que van de 0.4-2.6 mm y 0.8-4.4 mm (Amasya et al., 2015).

## CONCLUSIONES

De un total de 18 morfotipos registrados en *P. maximartinezii*, *C. geophilum* fue el más abundante, con el 42.5 % del total de raíces ectomicorrizadas vivas analizadas en dos épocas (18.3 y 24.2 % seca y de llu-

via, respectivamente). Es importante enfatizar que el morfotipo de *Cenococcum geophilum* no había sido caracterizado en *Pinus maximartinezii*. Las características morfológicas y anatómicas del morfotipo de *C. geophilum* + *P. maximartinezii* creciendo en su área de distribución natural son similares a las descritas por diversos autores en otras especies forestales. Sin embargo, se requiere realizar trabajos de fisiología que nos permitan elucidar el papel que juega este simbionte y los otros morfotipos ectomicorrízicos en la conservación de esta especie forestal en peligro de extinción y de distribución restringida, la cual se desarrolla bajo condiciones de estrés hídrico, altas temperaturas y suelos erosionados.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), para la realización de estudios de Maestría en Ciencias, dentro del Programa de Innovación de Manejo en Recursos Naturales, del Colegio de Postgraduados-Campus San Luis Potosí; así como al Ing. Isaac Quintero Quintero y a Elías Magallanes por la guía y apoyo en campo.

### LITERATURA CITADA

- Amasya, A.F., K. Narisawa, M. Watanabe, 2015. Analysis of sclerotia-associated fungal communities in cool-temperate forest soil in North Japan. *Microbes and Environments* 30: 113-116.
- Argüelles-Moyao, A., R. Garibay-Orijel, L.M. Márquez-Valdelamar, E. Arellano-Torres, 2016. *Clavulina-Membranomyces* is the most important lineage within the highly diverse ectomycorrhizal fungal community of *Abies religiosa*. *Mycorrhiza* 27: 53-65.
- Arteaga-León, C., 2014. Ectomicorrización con hongos de la Sierra Nevada, México en el crecimiento y movilización nutrimental de *Pinus ayacahuite* Ehrenb. Ex Schldl. Tesis de Doctorado, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.
- Aučina, A., M. Rudawska, T. Leski, D. Ryliškis, P. Pietras, E. Riepšas, 2011. Ectomycorrhizal fungal communities on seedlings and conspecific trees of *Pinus mugo* grown on the coastal dunes of the Curonian Spit in Lithuania. *Mycorrhiza* 21: 237-245.
- Campos-Aranda, D.F., 2016. Annual meteorological droughts study by means of the aridity index, in the Zacatecas state of Mexico. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 17(3): 405-417.
- Chen L.H., Y.A.N. Wei, X.U. Yan, 2007. Identification and preliminary analysis of the genetic diversity of *Cenococcum geophilum* Fr. *Agricultural Sciences in China* 6: 956-963.
- Comandini, O., A.C. Rinaldi, T.W. Kuyper, 2012. Measuring and estimating ectomycorrhizal fungal diversity: a continuous challenge. In: Pagano M. (ed.), *Mycorrhiza: occurrence in natural and restored environments*. Nova Science Publishers Inc., Nueva York. Pp. 165-200.
- DEEMY, 2018. An information system for characterization and determination of ectomycorrhizae. <<http://www.deemy.de>> (acceso noviembre 14, 2018).
- Defrenne, C.E., T.J. Philpott, S.H.A. Guichon, W.J. Roach, B.J. Pickles, S.W. Simard, 2019. Shifts in ectomycorrhizal fungal communities and exploration types relate to the environment and fine-root traits across interior Douglas-Fir Forests of Western Canada. *Frontiers in Plant Sciences* 10: 643. DOI: 10.3389/fpls.2019.00643
- Dickie, I.A., L.B. Martínez-García, N. Koele, G.A. Grelet, J.M. Tiliakakis, D.A. Peltzer, S.J. Richardson, 2013. Mycorrhizas and mycorrhizal fungal communities throughout ecosystem development. *Plant Soil* 367: 11-39.
- Douhan, G.W., K.L. Hurn, L.I. Douhan, 2007. Significant diversity and potential problems associated with inferring population structure within the *Cenococcum geophilum* species complex. *Mycologia* 99: 812-819.
- Farjon, A., 2013. *Pinus maximartinezii*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of threatened species <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Consultado: 12 de junio de 2017.
- Fernández, C.W., R.T. Koide, 2013. The function of melanin in the ectomycorrhizal fungus *Cenococcum geophilum* under water stress. *Fungal Ecology* 6: 479-486.
- Garay-Serrano, E., M.P. Ortega-Larrocea, F. Reverchon, I. Suárez-Quijada, 2018. Persistence of ecto- and ectendomycorrhizal fungi associated with *Pinus montezumae* in experimental microcosms. *Symbiosis* 74: 67-78.
- Garibay-Orijel, R., E. Morales-Marañón, M. Domínguez-Gutiérrez, A. Flores-García, 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: 153-169.
- González-Elizondo, M., S. González-Elizondo, L. Ruacho-González, M. Molina-Olvera, 2011. *Pinus maximartinezii* rz. (Pinaceae), primer registro para Durango, segunda localidad para la especie. *Acta Botánica Mexicana* 96: 33-48.
- Hasselquist, N., M.J. Germino, T. McGonigle, W.K. Smith, 2005. Variability of *Cenococcum* colonization and its ecophysiological significance for young conifers at alpine-treeline. *New Phytologist* 165: 867-873.
- Herzog, C., M. Peter, K. Pritsch, M.S. Günthardt-Goerg, S. Egli, 2012. Drought and air warming affects abundance and exoenzyme profiles of *Cenococcum geophilum* associated with *Quercus robur*, *Q. petraea* and *Q. pubescens*. *Plant Biology* 15: 230-237.
- Ingleby, K., P.A. Manson, F.T. Last, L.V. Fleming, 1990. Identification of ectomycorrhizas. ITE Res Pub No 5. HMSO, Londres.
- IUCN, 2017. The IUCN red list of threatened species. Version 2017-3. <<http://www.iucnredlist.org>> Consultado el 18 de junio de 2017.
- Jany, J.L., J. Garbaye, F. Martin, 2002. *Cenococcum geophilum* population show a high degree of genetic diversity in beech forests. *New Phytologist* 154: 651-659.
- Kipfer, T., B. Moser, S. Egli, T. Wohlgemuth, J. Ghazoul, 2011. Ectomycorrhiza succession patterns in *Pinus sylvestris* forests after stand-replacing fire in the Central Alps. *Oecologia* 167: 219-228.

- LoBuglio, K.F., 1999. *Cenococcum*. In: Cairney J.W.G., S.M. Chambers (eds.), *Ectomycorrhizal fungi key genera in profile*. Springer, Berlin, Heidelberg. Pp. 287-309.
- López-Mata, L., 2013. The impact of seed extraction on the population dynamics of *Pinus maximartinezii*. *Acta Oecologica* 49: 39-44.
- López-Mata, L., I.G. Galván-Escobedo, 2011. Extracción de semillas de *Pinus maximartinezii* y sus consecuencias poblacionales. *Biodiversitas* 98: 1-7.
- Ma, D., G. Yang, L. Mu, 2010. Morphological and molecular analyses of ectomycorrhizal diversity in *Pinus densiflora* seedlings. *Symbiosis* 51: 233-238.
- Ma, D., S. Zang, L. Wan, D. Zhang, 2012. Ectomycorrhizal community structure in chronosequences of *Pinus densiflora* in eastern China. *African Journal of Microbiology Research* 6: 6204-6209.
- Mc Guire K.L., 2007. Common ectomycorrhizal networks may maintain monodominance in a tropical rain forest. *Ecology* 88: 567-574.
- Matsuda, Y., N. Hayakawa, S. Ito, 2009. Local and microscale distribution of *Cenococcum geophilum* in soil of coastal pine forest. *Fungal Ecology* 2: 31-35.
- Matsuda, Y., K. Takeuchi, K. Obase, S. Ito, 2015. Spatial distribution and genetic structure of *Cenococcum geophilum* in coastal pine forest in Japan. *FEMS Microbiology Ecology* 91: 1-14.
- Medina G.G., J.I.F. Casas, G.M.A. González, S.A. Corrales, J.L.A. González, 2016. Red de monitoreo agroclimático del Estado de Zacatecas. Centro de Investigación Regional Norte Centro, Campo Experimental Zacatecas, Calera, Zacatecas, México.
- Medina, G.G., F.J.I. Casas, M.M.P. Narvaez, M.V.M. Rodríguez, 2017. Reporte agromereológico. Red de monitoreo agroclimático del estado de Zacatecas. Centro de Investigación Regional Norte Centro (INIFAP), Campo Experimental Zacatecas. Folleto informativo No. 159: 1-28.
- Mohatt, K.R., C.L. Cripps, M. Lavin, 2008. Ectomycorrhizal fungi of whitebark pine (a tree in peril) revealed by sporocarps and molecular analysis of mycorrhizae from treeline forests in the Greater Yellowstone Ecosystem. *Botany* 86: 14-25.
- Nedelin, T., 2014. Ectomycorrhiza-nature and significance for functioning of forest ecosystems. *Forestry Ideas* 20: 3-29.
- Obase, K., J.K. Lee, S.K. Lee, S.Y. Lee, K.W. Chun, 2010. Variation in sodium chloride resistance of *Cenococcum geophilum* and *Suillus granulatus* isolates in liquid culture. *Mycobiology* 38: 225-228.
- Obase, K., G.W. Douhan, Y. Matsuda, M.E. Smith, 2016. Revisiting phylogenetic diversity and cryptic species of *Cenococcum geophilum* sensu lato. *Mycorrhiza* 26: 529-540.
- Obase, K., G.W. Douhan, Y. Matsuda, M.E. Smith, 2017. Progress and challenges in understanding the biology, diversity, and biogeography of *Cenococcum geophilum*. In: Tedersoo L. (ed.), *Biogeography of mycorrhizal symbiosis*. Springer, Cham. Pp. 299-317.
- Peter M., A. Kohler, R.A. Ohm, A. Kuo, J. Krützmann, E. Morin, M. Arend, K.W. Barry, 2016. Ectomycorrhizal ecology is imprinted in the genome of the dominant symbiotic fungus *Cenococcum geophilum*. *Nature Communications* 7: 12662 p.
- Ponge, J.F., 1990. Ecological study of a forest humus by observing a small volume. I. Penetration of pine litter by mycorrhizal fungi. *European Journal of Forest Pathology* 20: 290-303.
- Reverchon, F., M.D.P. Ortega-Larrocea, J. Pérez-Moreno, V.M. Peña-Ramírez, C. Siebe, 2010. Changes in community structure of ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus montezumae* across a volcanic soil chronosequence at Sierra Chichinautzin, Mexico. *Canadian Journal of Forest Research* 40: 1165-1174.
- Ruiz-Garduño, R.R., M. Márquez Madrid, R.D. Valdez Cepeda, F. Blanco Macías, J.C. Ledesma Mares, 2011. Estado y conservación del pino azul (*Pinus maximartinezii*) y sus especies asociadas en la Sierra de Juchipila, Zacatecas. In: Laclette J.P., P. Zúñiga, J.A. Romero (eds.), *El Impacto de los Fondos Mixtos en el Desarrollo Regional*. CONACYT, FCCYT y REDNACECYT. Ciudad de México. Pp. 351-361.
- Rzedowski, J., 1964. Una especie nueva de pino piñonero del estado de Zacatecas (México). *Ciencia* 23: 17-20.
- Sakagami, S., 2010. Analysis on formation factor of sclerotia of *Cenococcum geophilum* in *Picea abies* forest, Harz Mts., Germany. *Geographical Review of Japan Series B* 82: 184-195.
- SEMARNAT, 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, "Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestre - categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, Lista de especies en riesgo", Segunda Sección, México. Diario Oficial de la Federación, 30 de diciembre 2010.
- Smith, S.E., D.J. Read, 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Third Edition. Academic Press, Londres.
- Spatafora, J.W., C.A. Owensby, G.W. Douhan, E.W.A. Boehm, C.L. Schoch, 2012. Phylogenetic placement of the ectomycorrhizal genus *Cenococcum* in Gloniaceae (Dothideomycetes). *Mycologia* 104: 758-765.
- Tedersoo, L., T.W. May, M.E. Smith, 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20: 217-263.
- Trappe, J.M., 1964. Mycorrhizal host and distribution of *Cenococcum graniforme*. *Lloydia* 27: 100-106.
- Trappe, J.M., 1969. Studies on *Cenococcum graniforme*. I. An efficient method for isolation from sclerotia. *Canadian Journal of Botany* 47: 1389-1390.
- Treseder, K.K., J.T. Lennon, 2015. Fungal traits that drive ecosystem dynamics on land. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69 (2): 243-262.
- van der Heijden, M.G.A., F.M. Martin, M.A. Selosse, I.R. Sanders, 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist* 205: 1406-1423.
- van der Heijden M.G.A., N. Dombrowski, K. Schlaeppi, 2017. Continuum of root-fungal symbioses for plant nutrition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114: 11574-11576.