

Ectomycorrhizal ecology, biotechnology and taxonomy for the conservation and use of *Abies religiosa* in temperate areas of Mexico

Ecología, biotecnología y taxonomía de ectomicorriza para la conservación y aprovechamiento de *Abies religiosa* en zonas templadas de México

Iván Oros-Ortega^{1*}; Antonio Andrade-Torres²; Luis A. Lara-Pérez³; Rubén F. Guzmán-Olmos²; Fernando Casanova-Lugo¹; Luis A. Sáenz-Carbonell³; Iván Córdova-Lara³

¹Instituto Tecnológico de la Zona Maya. Carretera Chetumal-Escárcega km 21.5, Ejido Juan Sarabia, Othón P. Blanco. C. P. 77960. Quintana Roo, México.

²Universidad Veracruzana, Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, Ecología y manejo de la biodiversidad CA-UVER173. Av. de las Culturas Veracruzananas núm. 101, Campus para la Cultura, las Artes y el Deporte, col. Emiliano Zapata. C. P. 91090, Xalapa, Veracruz, México.

³Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán, CICY. Calle 43 núm. 130, col. Chuburná de Hidalgo. C. P. 97205. Mérida, Yucatán, México.

*Autor para la correspondencia: ivanoros1109@hotmail.com, tel.: 9831674915

Abstract

Endemic populations of *Abies religiosa* (fir, oyamel) have great economic, ecological and social importance; in addition, they form different interactions with edaphic microorganisms, mainly with ectomycorrhizal fungi. Currently, isolated populations (i. e. fir) are threatened by deforestation, agricultural expansion and global warming; therefore, it is urgent to understand the ecological and evolutionary interactions with ectomycorrhizal fungi. The objective of the present research was to analyze the use of molecular ecology, taxonomy and biology of ectomycorrhizal fungi to understand the role that these fungi play in *A. religiosa* trees in Mexico. Areas of research are presented as well as the main information gaps in the morphological/molecular characterization, taxonomy and evolution of the ectomycorrhizal symbiosis in *A. religiosa*. For the above, we collected information of 108 taxa of potentially ectomycorrhizal fungi obtained from different fir populations. The taxa with high potential to inoculate *A. religiosa* are *Sebacina dimittica*, *Clavulina* cf. *cinerea*, *Membranomyces* sp., Thelephoraceae, *Russula* spp., *Ramaria* spp., *Lactarius* spp. e *Inocybe* spp. Finally, we discuss issues that remain unresolved to determine their potential for use, management and conservation of *A. religiosa* in temperate areas of Mexico. This problem can be solved by combining molecular tools with the morphological and histological description of ectomycorrhizal morphotypes. In addition, methodologies are required to standardize results to come to more robust conclusions about mycorrhizal interactions.

Keywords: Temperate forests, mycorrhizal status, forest, ITS.

Resumen

Las poblaciones endémicas de *Abies religiosa* (abeto, oyamel) poseen gran importancia económica, ecológica y social; además, forman distintas interacciones con microorganismos edáficos, principalmente con hongos ectomicorrizógenos. Actualmente, las poblaciones aisladas (i. e. oyamel) están amenazadas por la deforestación, la expansión agrícola y el calentamiento global; por lo cual, es urgente entender las interacciones ecológicas y evolutivas con hongos ectomicorrizógenos. El objetivo de la presente investigación fue analizar el uso de la ecología, taxonomía y biología molecular de ectomicorrizas para comprender el papel que juegan estos hongos en árboles de *A. religiosa* en México. Se presentan áreas de oportunidad de investigación, así como los principales vacíos de información de la caracterización morfoanatómica/molecular, taxonomía y evolución de la simbiosis ectomicorrizica en bosques de *A. religiosa*. Para lo anterior, se reunió información de 108 taxones de hongos potencialmente ectomicorrizógenos, colectados en diferentes poblaciones de abetos. Los taxones con potencial alto para inocular *A. religiosa* son *Sebacina dimittica*, *Clavulina* cf. *cinerea*, *Membranomyces* sp., Thelephoraceae, *Russula* spp., *Ramaria* spp., *Lactarius* spp. e *Inocybe* spp. Finalmente, se discuten aspectos que faltan por resolver para determinar el potencial de uso, manejo, conservación y aprovechamiento de *A. religiosa* en zonas templadas de México. Este problema puede resolverse combinando herramientas moleculares con la descripción morfológica e histológica de morfotipos ectomicorrizógenos. Adicionalmente, se requieren metodologías que permitan estandarizar resultados para llegar a conclusiones más sólidas sobre las interacciones micorrízicas.

Palabras clave: Bosques templados, estatus micorrizico, forestal, ITS.

Introduction

Abies religiosa (known in Mexico as oyamel) is the most abundant fir species in this country (Challenger, 1998). It has endemic populations along the Trans-Mexican Volcanic Belt, between 2 800 and 3 500 m of altitude, in the mountainous and temperate areas of Mexico (Jaramillo-Correa et al., 2008; Pérez-Miranda, Moreno-Sánchez, González-Hernández, & Arriola-Padilla, 2015). Fir trees are highly economically, ecologically and socially relevant, providing fundamental ecosystem services such as carbon and water sequestration (Avendaño-Hernandez, Acosta-Mireles, Carrillo-Anzures, & Etchevers-Barra, 2009). In addition, they are a reservoir of biodiversity and host a variety of bird species, insects (i. e. monarch butterfly: *Danaus plexippus*) and plants, as well as a wealth of edible fungi, saprophytes and ectomycorrhizal fungi (EcMF) (Andrade-Torres et al., 2015; Argüelles-Moyao, Garibay-Orijel, Márquez-Valdemar, & Arellano-Torres, 2017; Morales-Mávil & Aguilar-Rodríguez, 2000; Sáenz-Romero, Rehfeldt, Duval & Lindig-Cisneros, 2012).

Fir is used as Christmas tree and as raw material in various economic activities: construction of houses, fences, furniture, pulp production for paper and to obtain turpentine and firewood (Sánchez-Velásquez, Pineda-López, & Hernández-Martínez, 1991). From the social point of view, fir due to its natural beauty, represents a relevant cultural heritage. Its populations are an attraction for recreational activities in the field; as is the case of the forests around Mexico City.

Despite the importance of *A. religiosa* populations, they are now threatened by land-use change, generated by the expansion of agriculture (mainly potato cultivation in the region of Cofre de Perote), deforestation, illegal logging, population growth, air pollution and forest fires. This is due to the fact that models of projections of climate change estimate a decrease of populations between 60 and 80 % (Ángeles-Cervantes & López-Mata, 2009; Pérez-Miranda et al., 2015; Sáenz-Romero et al., 2012; Villers-Ruíz & Trejo-Vázquez, 1998). Therefore, it is urgent to focus research efforts to establish strategies for management and conservation of populations, one of which may be ecological interactions.

In this sense, ectomycorrhiza constitute the main ecological interaction between fir and symbiotic organisms of the soil, because it has a great diversity of functions as the decomposition of organic matter, reduction of nitrogen to ammonium, protection to water stress and prevention against pathogens (Brundrett, 2009; Smith & Read, 2008). This interaction allows the mobilization, translocation and absorption of nutrients from plants. In contrast, the host translocates sources of carbon to fungi (Peterson,

Introducción

Abies religiosa (conocido como oyamel) es la especie de abeto más abundante en México (Challenger, 1998). Tiene poblaciones endémicas a lo largo de la Faja Volcánica Transmexicana, entre los 2 800 y 3 500 m de altitud, en las zonas montañosas y templadas del país (Jaramillo-Correa et al., 2008; Pérez-Miranda, Moreno-Sánchez, González-Hernández, & Arriola-Padilla, 2015). Los árboles de oyamel presentan alta relevancia económica, ecológica y social, ya que brindan servicios ecosistémicos fundamentales como la captura de carbono y agua (Avendaño-Hernandez, Acosta-Mireles, Carrillo-Anzures, & Etchevers-Barra, 2009). Además, son reservorio de biodiversidad y albergan una gran variedad de especies de aves, insectos (i. e. mariposa monarca: *Danaus plexippus*) y plantas, así como una gran riqueza de hongos comestibles, saprófitos y ectomicorrizógenos (Andrade-Torres et al., 2015; Argüelles-Moyao, Garibay-Orijel, Márquez-Valdemar, & Arellano-Torres, 2017; Morales-Mávil & Aguilar-Rodríguez, 2000; Sáenz-Romero, Rehfeldt, Duval & Lindig-Cisneros, 2012).

El oyamel se usa como árbol de navidad y como materia prima en diversas actividades económicas: construcción de viviendas, cercas, fabricación de muebles, producción de celulosa para papel y obtención de trementina y leña (Sánchez-Velásquez, Pineda-López, & Hernández-Martínez, 1991). Desde el punto de vista social, el oyamel, por su belleza estética, constituye un patrimonio cultural relevante. Sus poblaciones son un atractivo para actividades recreativas en campo, como es el caso de los bosques que se encuentran en los alrededores de la Ciudad de México.

A pesar de la importancia de las poblaciones de *A. religiosa*, actualmente se encuentran amenazadas por el cambio de uso de suelo, generado por la expansión de la agricultura (principalmente el cultivo de papa en la región del Cofre de Perote), la deforestación, la tala clandestina, el crecimiento poblacional, la contaminación del aire y los incendios forestales. Lo anterior, a tal grado que los modelos de proyecciones de cambio climático estiman una disminución de las poblaciones entre 60 y 80 % (Ángeles-Cervantes & López-Mata, 2009; Pérez-Miranda et al., 2015; Sáenz-Romero et al., 2012; Villers-Ruíz & Trejo-Vázquez, 1998). Por lo tanto, es urgente dirigir esfuerzos de investigación para establecer estrategias de manejo y conservación de las poblaciones, una de las cuales pueden ser las interacciones ecológicas.

En este sentido, la ectomicorriza constituye la principal interacción ecológica entre el oyamel y los organismos simbióticos del suelo, debido a que tiene una gran diversidad de funciones como la descomposición de materia orgánica, la reducción de nitrógeno a amonio, la protección a estrés hídrico y prevención contra

Massicotte, & Melville, 2004; Smith & Read, 2008). Due to the above, and because the ectomycorrhiza is an obligate interaction, it has a significant influence on the establishment, survival, growth of plant species and regulation of ecosystems.

The study of EcMF, through disciplines such as ecology and biotechnology, can generate strategies that contribute to the conservation of fir populations. The interaction mentioned above plays a fundamental role in the biology and ecology of temperate species, mainly among members of the Pinaceae family, such as fir; however, most species of EcMF associated with ectomycorrhizae are not known (Brundrett, Bougher, Dell, Grove, & Malajczuk, 1996; Smith & Read, 2008). This is due to the limited progress in its morphological, molecular, and taxonomical characterization, mainly due to the low availability of basidiomes in fir forests, the marked seasonality in their appearance (there are species with fructification hypogea) and the difficulty to use, isolate and identify the species associated in ectomycorrhiza (Andrade-Torres et al., 2006; Brundrett, 2009). This difficulty is also due to the lack of use of molecular tools, as well as the still small number of researchers who integrate tools of ecology, taxonomy and molecular biology when analyzing these interactions.

Although it is true that the combination of techniques is gradually developing in Mexico (Argüelles-Moyao et al., 2017; Baeza-Guzmán, Medel-Ortiz, & Garibay-Orijel, 2017; Montoya, Bandala, & Garay-Serrano, 2015; Reverchon, Ortega-Larrocea, Bonilla-Rosso, & Pérez-Moreno, 2012), it is essential to increase the study of this type of interactions. Therefore, the objective of the present study is to analyze the use of molecular ecology, taxonomy and biology of ectomycorrhizal fungi to understand the role these fungi play in trees of *A. religiosa*. This information will make it possible to lead ectomycorrhizal interactions in populations of *A. religiosa* to promote the management and conservation of temperate forests in Mexico.

Evolution and diversity of ectomycorrhizal fungi

The coevolution between mycorrhizal fungi and host roots dates back to the Paleozoic era (more than 400 million years ago), when plants began to develop in terrestrial environments (Redecker, Kodner, & Graham, 2002). It is important to mention that their interaction is a mutualistic and functional association (Smith & Read, 2008). The classification of mycorrhizal fungi depends on the fungal and plant species that establish the association, in addition to the nutritional strategy that allows an intracellular penetration, or not, by the fungi inside the cortical cells of the root of the plants (Honrubia, 2009). The main benefits of

patógenos (Brundrett, 2009; Smith & Read, 2008). Dicha interacción permite la movilización, translocación y absorción de nutrientes de las plantas. Por el contrario, el hospedero transloca fuentes de carbono hacia los hongos (Peterson, Massicotte, & Melville, 2004; Smith & Read, 2008). Por lo anterior, y debido a que la ectomicorriza es una interacción obligada, influye de manera significativa en el establecimiento, supervivencia, crecimiento de las especies vegetales y regulación de los ecosistemas.

El estudio de la ectomicorriza, a través de disciplinas como la ecología y biotecnología, puede generar estrategias que contribuyan en la conservación de las poblaciones de oyamel. La interacción antes mencionada tiene un papel fundamental en la biología y ecología de las especies templadas, principalmente entre los miembros de la familia Pinaceae, como el oyamel; sin embargo, aún no se conoce la mayoría de las especies de hongos ectomicorrizógenos (HEM) asociados con ectomicorriza (Brundrett, Bougher, Dell, Grove, & Malajczuk, 1996; Smith & Read, 2008). Lo anterior se debe al limitado avance en su caracterización morfoanatómica, molecular, taxonómica y, principalmente, por la baja disponibilidad de basidiomas en los bosques de oyamel, la marcada estacionalidad en su aparición (existen especies con fructificación hipógea) y la dificultad de manejar, aislar e identificar las especies asociadas en los hongos ectomicorrizógenos (Andrade-Torres et al. 2015; Brundrett, 2009). Esta dificultad también se debe a la falta de uso de herramientas moleculares, así como al escaso número de investigadores que integran herramientas de ecología, taxonomía y biología molecular al analizar estas interacciones.

Aunque es cierto que la combinación de técnicas poco a poco se está desarrollando en México (Argüelles-Moyao et al., 2017; Baeza-Guzmán, Medel-Ortiz, & Garibay-Orijel, 2017; Montoya, Bandala, & Garay-Serrano, 2015; Reverchon, Ortega-Larrocea, Bonilla-Rosso, & Pérez-Moreno, 2012), es indispensable incrementar el estudio de este tipo de interacciones. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue analizar el uso de la ecología, taxonomía y biología molecular de ectomicorizas para entender el papel que juegan estos hongos en árboles de *A. religiosa*. Esta información permitirá dirigir las interacciones ectomicorricas en poblaciones de *A. religiosa* para promover el manejo y conservación de este tipo de bosques templados en México.

Evolución y diversidad de ectomicorizas

La coevolución entre los hongos micorrízicos y las raíces de sus hospederos data de la era Paleozoica (hace más de 400 millones de años), cuando las plantas iniciaron su desarrollo en medio terrestre (Redecker, Kodner, & Graham, 2002). Es importante mencionar

these fungi are: to provide nutrients (phosphorus, zinc, nitrogen, calcium, sodium and potassium), to release hormones and increase tolerance to salinity, soil acidity, drought and toxicity of certain metals in plants (Smith & Read, 2008).

This interaction occurs in approximately 90 % of plants; so it is found in most of the world's ecosystems (Smith & Read, 2008). Some authors recognized seven types of mycorrhizal fungi: ectomycorrhiza, ectendomycorrhiza, arbuscular mycorrhiza, orchid mycorrhiza, ericoid mycorrhiza, arbutoid mycorrhiza and monotropoid mycorrhiza. Currently, mycorrhizal fungi have been defined by its mutualistic association, characterized by its structures and physiological contribution of fungi to plants; for this reason, only four types are recognized: ectomycorrhiza, arbuscular mycorrhiza, orchid mycorrhiza and ericoid mycorrhiza (van der Heijden, Martin, Selosse, & Sanders, 2015). In view of this, the mycorrhizal fungi are separated from other root-fungus associations, and by not revealing the functionality of the individuals involved they will be referred to as "endophytes" (Brundrett, 2009).

According to the morphological, functional and evolutionary characteristics, ectomycorrhizal fungi shows one of the most relevant interactions associated with the development of different plant species (such as those of the Pinaceae family). Regarding the fossil evidence, fungi and ectomycorrhizal plants have co-evolved for at least 88 million years (Bidartondo, 2005; LePage et al., 2003). Therefore, there is a high diversity of fungi associated with this type of plants. Comandini, Rinaldi, and Kuyper (2012) mention that there are about 7 950 EcMF species grouped in 234 genera, and estimated a potential richness of between 20 000 and 25 000 species; however, this data may be underestimated, because the criterion for inferring ectomycorrhizal status is still not consistent. Most of these EcMF have a wide variety of hosts, for example: *Amanita muscaria*, *Cenococcum geophilum*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius* and *Thelephora terrestris* (Smith & Read, 2008). Also the function of ectomycorrhizal fungi has great relevance due to the high diversity of plants where they are present; as they are found in some 7 750 to 10 000 forest plant species and the following stand out: family Betulaceae, Fagaceae, Pinaceae and Myrtaceae (Brundrett, 2009).

Molecular biology and ecology of ectomycorrhizal fungi

At present, molecular techniques are one of the main pathways of taxonomic, ecological and physiological studies of mycorrhizal symbiosis. However, these studies have been developed mainly with plants in mountainous areas of North America and Europe, with

que su interacción es una asociación mutualista y funcional (Smith & Read, 2008). La clasificación de la micorriza está en función de las especies fúngicas y vegetales que establecen la asociación, además de la estrategia nutricional que posibilita una penetración intracelular, o no, por parte del hongo dentro de las células corticales de la raíz de las plantas (Honrubia, 2009). Los principales beneficios de estos hongos son: aporte de nutrimentos (fósforo, zinc, nitrógeno, calcio, sodio y potasio), liberación de hormonas e incremento de la tolerancia a la salinidad, acidez del suelo, sequía y toxicidad de ciertos metales en las plantas (Smith & Read, 2008).

Dicha interacción se presenta en, aproximadamente, 90 % de las plantas; por lo que se encuentra en la mayoría de los ecosistemas del mundo (Smith & Read, 2008). Algunos autores reconocían siete tipos de micorrizas: ectomicorriza, ectendomycorriza, micorriza arbuscular, micorriza orquideoide, ericoides, arbutoides y monotropides. Actualmente, la micorriza se ha definido por su asociación mutualista, caracterizada por sus estructuras y aporte fisiológico de los hongos a las plantas; por ello, se reconocen únicamente cuatro tipos: ectomicorriza, micorriza arbuscular, orquideoide y ericoide (van der Heijden, Martin, Selosse, & Sanders, 2015). Ante ello, la micorriza se separa de otras asociaciones raíz-hongo, y al no revelar la funcionalidad de los individuos involucrados se les refiriere como "endófitos" (Brundrett, 2009).

De acuerdo con sus características morfológicas, funcionales y evolutivas, la ectomicorriza presenta una de las interacciones más relevantes asociada con el desarrollo de diferentes especies vegetales (como los de la familia Pinaceae). Considerando la evidencia fósil, hongos y plantas ectomicorrízicas han coevolucionado, por lo menos, en los últimos 88 millones de años (Bidartondo, 2005; LePage et al., 2003). Por lo tanto, existe una diversidad alta de hongos asociados con este tipo de plantas. Comandini, Rinaldi, y Kuyper (2012) mencionan que existen alrededor de 7 950 especies de HEM agrupadas en 234 géneros, y estimaron una riqueza potencial de entre 20 000 y 25 000 especies; no obstante, este dato puede estar subestimado, debido a que el criterio para inferir el estatus ectomicorrízico aún no es consistente. De estos HEM, la mayoría tienen una variedad amplia de hospederos, por ejemplo: *Amanita muscaria*, *Cenococcum geophilum*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius* y *Thelephora terrestris* (Smith & Read, 2008). También la función de las ectomicorrizas tiene gran relevancia debido a la alta diversidad de plantas donde se presentan; ya que se encuentran en unas 7 750 a 10 000 especies de plantas forestales, entre las que destacan las familias Betulaceae, Fagaceae, Pinaceae y Myrtaceae (Brundrett, 2009).

only some research on morphological and genetic characterization of EcMF in Mexico (Argüelles-Moyao et al., 2017; Baeza-Guzmán et al., 2017; Montoya et al., 2015). For the specific case of mountain ecosystems in Mexico, there are still many information gaps regarding the study of mycorrhizal symbiosis, both morpho-anatomical descriptions and characterization with the use of molecular biology techniques. These techniques are performed from the amplification of specific and conserved regions of DNA. This has been shown to be of great utility to identify EcMF through polymerase chain reaction (PCR; Bruns & Gardes, 1993).

In these specific regions there are multicopy genes, such as Internal Transcribed Spacer (ITS); which is located within the ribosomal DNA, replicated between the highly conserved genes 18S, 5.8S and 28S. ITS is a non-coding variable region and has two types: ITS1 and ITS2; which are used extensively as species-specific markers (Anderson & Cairney, 2004). These genes are amplified from a small DNA fragment, even if it is diluted or degraded in mixtures of DNA from plant and fungus, where in most cases the fungus may account for less than 1 % of the total extracted (Bruns & Gardes, 1993). The sequences of these regions represent a genetic fingerprint for each species; so they are the main marker in the taxonomic identification of EcMF (Montoya et al., 2015; Schoch et al., 2012).

Molecular biology techniques provide the possibility of identifying fungi species under laboratory conditions, to subsequently cultivate and inoculate them in host plants, evaluate whether they form mycorrhizal fungi and whether they prevail after transplantation; in addition, to study the extraradical mycelium formed in the field after a certain time of having established the host plant. By means of PCR, the genes of the large ribosomal subunit (LSU) of the ectomycorrhizal synthesized between *Turbinellus floccosus* with *Abies religiosa* have been successfully characterized (Lamus et al., 2015), as well as the ITS region of the ectomycorrhiza formed between seedlings of *Pinus pinea* and two strains of *Lactarius deliciosus* (Hortal, Pera, & Parladé, 2009). Molecular tools have also been used to determine the amount of fungal mycelium in different soil types (Landeweert et al., 2003) and the abundance of EcMF species (Kjøller et al., 2012).

Regarding the taxonomic status of EcMF, only a few species have been identified through the description of ectomycorrhizal fungi (de Román, Claveria, & de Miguel, 2005) and by molecular studies (Argüelles-Moyao et al., 2017), without having basidiomes that corroborate their identity with greater precision. The study of EcMF is complicated because there is no consistent taxonomic information, given the complexity of mycorrhizal fungi, and the difficulty of isolating and characterizing those (Read & Pérez-

Biología molecular y ecología de ectomicorrizas

En la actualidad, las técnicas moleculares constituyen una de las principales vías de estudios taxonómicos, ecológicos y fisiológicos de la simbiosis micorrízica. Sin embargo, estos trabajos se han desarrollado mayormente con plantas de zonas montañosas de Norteamérica y Europa, con solo algunas investigaciones de caracterización morfológica y genética de los HEM en México (Argüelles-Moyao et al., 2017; Baeza-Guzmán et al., 2017; Montoya et al., 2015). Para el caso específico de los ecosistemas de montaña en México, todavía existen muchos vacíos de información referentes al estudio de la simbiosis micorrízica, tanto de descripciones morfoanatómicas como de caracterización con el uso de técnicas de biología molecular. Estas técnicas se realizan a partir de la amplificación de regiones específicas y conservadas de ADN. Lo anterior ha demostrado ser de gran utilidad para identificar los HEM a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés; Bruns & Gardes, 1993).

En dichas regiones específicas existen genes multicopias, tales como el espacio interno transcrito (ITS, por sus siglas en inglés); el cual está localizado dentro del ADN ribosomal, repetido entre los genes 18S, 5.8S y 28S altamente conservados. El ITS es una región variable no codificante y es de dos tipos: ITS1 e ITS2, los cuales se usan extensivamente como marcadores específicos de especies (Anderson & Cairney, 2004). Estos genes se amplifican a partir de un pequeño fragmento de ADN, incluso si este se encuentra diluido o degradado en mezclas de ADN de planta y de hongo, donde la mayoría de las veces el hongo puede representar menos de 1 % del total extraído (Bruns & Gardes, 1993). Las secuencias de estas regiones representan una huella genética para cada especie; por lo que son el principal marcador en la identificación taxonómica de HEM (Montoya et al., 2015; Schoch et al., 2012).

Las técnicas de biología molecular brindan la posibilidad de identificar especies de hongos en condiciones de laboratorio, para después cultivarlos, inocularlos en plantas hospederas, evaluar si forman micorriza y si persisten después del trasplante; además, estudiar el micelio extraradical formado en campo después de cierto tiempo de haber establecido la planta hospedera. Mediante PCR se han caracterizado exitosamente los genes de la subunidad ribosomal grande (LSU, por sus siglas en inglés) de la ectomicorriza sintetizada de *Turbinellus floccosus* con *Abies religiosa* (Lamus et al., 2015), así como la región ITS de las ectomicorrizas formadas entre plántulas de *Pinus pinea* y dos cepas de *Lactarius deliciosus* (Hortal, Pera, & Parladé, 2009). Las herramientas moleculares también se han empleado para determinar la cantidad de micelio fúngico en distintos tipos de suelos (Landeweert et al., 2003) y la abundancia de especies de HEM (Kjøller et al., 2012).

Moreno, 2003). Also, it has been discussed that traditional studies may be leaving aside information regarding species with hypogean basidiomes (Dahlberg, 1997; Rodríguez-Tovar, Xoconostle-Cásares, & Valdés, 2004). These, according to studies in temperate forests of North America and Europe, are those of greater abundance (Gardes & Bruns, 1996). Therefore, it is necessary to generate information to determine the correct taxonomy of ectomycorrhizal fungi; which is fundamental to know different ecological attributes of EcMF communities and to understand their role in the establishment, survival and development of *A. religiosa*.

Molecular techniques have provided the study of ecological attributes; for example, alpha diversity, genetic diversity and functional diversity between fungi and host plants (García, Smith, Luoma, & Jones, 2016; Kjølner et al., 2012). Because of this, EcMF diversity has been accurately determined, even without the emergence of basidiomes (Aučina et al., 2011; Kjølner et al., 2012). The information generated with studies of molecular biology and traditional taxonomy (Montoya et al., 2015) represent the starting point for ecology studies (García et al., 2016).

On the other hand, due to recent molecular techniques, such as metagenomics studies, it has been possible to know microorganisms in a wide variety of environments (Tedersoo et al., 2014). Last generation sequencing is relatively inexpensive and produces thousands of sequences with which it is possible to identify and quantify individuals; which allows a better understanding of the ecology of fungal communities (Tedersoo et al., 2014). However, if one does not become aware of possible methodological errors, limiting markers and bioinformatic challenges, one can reach erroneous conclusions (Tedersoo et al., 2010). At present, this type of sequencing is becoming the primary tool for the study of mycorrhizal fungi (Taylor et al., 2016).

Molecular studies should aim to understand the factors that determine the structure of communities both in space and time (García et al., 2016; Koide, Fernández, & Petprakob, 2011). Diversity should be considered simultaneously, both for basidiomes and for root tips. Another alternative is to determine the ectomycorrhizal status of EcMF species by comparing sequences between roots and basidiomes, properly classified (Montoya et al., 2015). This information is the basis for generating criteria in the selection of species of fungi to inoculate plants and thereby improve their development and growth. Due to the great wealth of species that exist in Mexico, it is likely that many of the specimens collected are new or not yet found in gene banks. Future studies of mycorrhizal ecology should, as far as possible, generate vouchers of both basidiomes and root tips to be deposited in herbaria

Referente al estatus taxonómico de los HEM, solo pocas especies han sido identificadas a través de la descripción de hongos ectomicorrizógenos (de Román, Clavería, & de Miguel, 2005) y por estudios moleculares (Argüelles-Moyao et al., 2017), sin tener los basidiomas que corroboren su identidad con mayor precisión. El estudio de los HEM se complica debido a que no existe información taxonómica consistente, dada la complejidad de la micorriza, y a la dificultad para aislarla y caracterizarla (Read & Pérez-Moreno, 2003). También, se ha discutido que los estudios tradicionales pueden estar dejando de lado información referente a las especies que presentan basidiomas hipogeos (Dahlberg, 1997; Rodríguez-Tovar, Xoconostle-Cásares, & Valdés, 2004). Éstas, de acuerdo con estudios en bosques templados de Norte América y Europa, son las de mayor abundancia (Gardes & Bruns, 1996). Por lo tanto, falta generar información para determinar la taxonomía correcta de la ectomicorriza; lo cual es fundamental para conocer distintos atributos ecológicos de las comunidades de HEM y entender su papel en el establecimiento, supervivencia y desarrollo de *A. religiosa*.

Las técnicas moleculares han facilitado el estudio de los atributos ecológicos; por ejemplo, la diversidad alfa, genética y funcional entre hongos y plantas hospedadas (García, Smith, Luoma, & Jones, 2016; Kjølner et al., 2012). Debido a ello, se ha determinado con mayor precisión la diversidad de HEM, incluso sin depender de la aparición de basidiomas (Aučina et al., 2011; Kjølner et al., 2012). La información generada con trabajos de biología molecular y taxonomía tradicional (Montoya et al., 2015) representan el punto de partida para estudios de ecología (García et al., 2016).

Por otra parte, debido a las técnicas moleculares recientes, tales como estudios de metagenómica, se ha logrado conocer microorganismos en una amplia variedad de ambientes (Tedersoo et al., 2014). La secuenciación de última generación es relativamente barata y produce miles de secuencias con las que es posible identificar y cuantificar individuos; lo que permite un mejor entendimiento de la ecología de las comunidades fúngicas (Tedersoo et al., 2014). Sin embargo, si no se toma consciencia de los posibles errores metodológicos, limitación de marcadores y retos bioinformáticos, se puede llegar a conclusiones erróneas (Tedersoo et al., 2010). En la actualidad, este tipo de secuenciación se está convirtiendo en la herramienta primaria para el estudio de hongos micorrízicos (Taylor et al., 2016).

Los estudios moleculares deben encaminarse a entender los factores que determinan la estructura de comunidades en espacio y tiempo (García et al., 2016; Koide, Fernández, & Petprakob, 2011). La diversidad debe ser considerada simultáneamente, tanto para

and to improve storage techniques for subsequent comparative studies. The union of ecological, morphological and molecular data will help to have a better understanding of mycorrhizal interactions and their evolutionary history.

Ectomycorrhizal fungi in *Abies religiosa* forests in Mexico

Ectomycorrhizal fungi studies in *A. religiosa* forests are incipient; with a few exceptions, fungal diversity estimation it is known from mycological and listed taxonomic studies (Andrade-Torres et al., 2015; Burrola-Aguilar, Garibay-Orijel, & Argüelles-Moyao, 2013; García-Bastián, López-López, Velázquez-Martínez, & Pérez-Moreno, 1998; Valdés-Ramírez, 1972). Morphological research of ectomycorrhizal fungi in *A. religiosa* has been restricted to *Cenococcum geophilum* and *Lactarius* sp. (Appendix 1). However, Argüelles-Moyao et al. (2017) studied ectomycorrhizal fungi using molecular tools and pointed out that the Clavulinaceae family is the most dominant; in addition, they found 21 species of *Inocybe*, 10 of *Tomentella* and eight of *Russula*, and *Clavulina* cf. *cinerea* and *Membranomyces* sp. had the highest relative abundance.

At present, we identify 108 taxa of ectomycorrhizal fungi, collected in different populations of *A. religiosa*. Of these, 95 were classified as species and 13 in genera: *Fischerula* sp., *Genabea* sp., *Genea* sp., *Hydnobolites* sp., *Lyophyllum* sp., *Membranomyces* sp., *Peziza* sp., *Phaeocollybia* sp., *Piloderma* sp., *Pseudotomentella* sp., *Tarzetia* sp., *Trychophaea* sp. and *Xerocomus* sp. (Appendix 1).

There are EcMF species, collected in forests of fir, whose interaction by morphology has not yet been verified, with *A. religiosa* and no records have been observed with any other plant species. These are considered to have potential to be associated, since others of the same genus of fungus have been determined as ectomycorrhizal; for example: *Fischerula* sp., *Genabea* sp., *Genea* sp., *Lyophyllum* sp., *Hydnobolites* sp., *Membranomyces* sp., *Peziza* sp., *Piloderma* sp., *Pseudotomentella* sp., *Tarzetia* sp., *Tomentella* sp. and species of the genus *Amanita* spp., *Boletus* spp., *Clavulina* spp., *Cortinarius* spp., *Helvella* spp., *Hygrophorus* spp., *Inocybe* spp., *Lactarius* spp., *Ramaria* spp., *Russula* spp., *Suillus* spp., *Tricholoma* spp., and in particular the following species *Cantharellus floccosus*, *Chroogomphus vinicolor*, *Gomphus floccosus*, *Goutieria chilensis*, *Hebeloma albocolossum*, *Humaria hemisphaerica*, *Hydnotrya cerebriformis*, *Hydnum repandum*, *Hysterangium separabile*, *Leccinum aurantiacum*, *Sebacina dimitica*, *Tuber* cf. *separans* and *Xerocomus* sp. (Appendix 1; Comandini et al., 2012; de Román et al., 2005; Rinaldi, Comandini, & Kuyper, 2008).

Argüelles-Moyao et al. (2017) used sequences from the ITS nrDNA to identify 83 species at seven study sites.

basidiomas como para puntas de raíz. Otra alternativa es determinar el estatus ectomicorrízico de las especies de HEM por comparación de secuencias entre raíces y basidiomas, clasificados de forma correcta (Montoya et al., 2015). Esta información es la base para generar criterios en la selección de especies de hongos para inocular plantas y con ello mejorar su desarrollo y crecimiento. Debido a la gran riqueza de especies que existen en México, es probable que muchos de los especímenes colectados resulten ser nuevos o aún no se encuentran en los bancos de genes. Estudios futuros de ecología de micorrizas, en la medida de lo posible, deben generar ejemplares de referencia (*vouchers*), tanto de basidiomas como de puntas de raíz, para que sean depositados en herbarios, y mejorar las técnicas de almacenamiento para estudios comparativos posteriores. La unión de los datos ecológicos, morfológicos y moleculares ayudará a tener mayor comprensión de las interacciones micorrízicas y su historia evolutiva.

Ectomicorrizas en bosques de *Abies religiosa* en México

En general, los estudios de HEM en bosques de *A. religiosa* son incipientes; salvo algunas excepciones, se conoce la diversidad fúngica estimada a partir de estudios taxonómicos micológicos y listados (Andrade-Torres et al., 2015; Burrola-Aguilar, Garibay-Orijel, & Argüelles-Moyao, 2013; García-Bastián, López-López, Velázquez-Martínez, & Pérez-Moreno, 1998; Valdés-Ramírez, 1972). Las investigaciones morfológicas de ectomicorrizas en *A. religiosa* se han restringido a *Cenococcum geophilum* y *Lactarius* sp. (Anexo 1). Sin embargo, Argüelles-Moyao et al. (2017) estudiaron la ectomicorriza a través de herramientas moleculares y señalan que la familia Clavulinaceae es la más dominante; además, encontraron 21 especies de *Inocybe*, 10 de *Tomentella* y ocho de *Russula*, y que *Clavulina* cf. *cinerea* y *Membranomyces* sp. exhibieron la abundancia relativa más alta.

En la actualidad, se reconocen 108 taxones de hongos potencialmente ectomicorrizógenos, colectados en poblaciones diferentes de *A. religiosa*. De estos, 95 se clasificaron como especie y 13 en géneros: *Fischerula* sp., *Genabea* sp., *Genea* sp., *Hydnobolites* sp., *Lyophyllum* sp., *Membranomyces* sp., *Peziza* sp., *Phaeocollybia* sp., *Piloderma* sp., *Pseudotomentella* sp., *Tarzetia* sp., *Trychophaea* sp. y *Xerocomus* sp. (Anexo 1).

Existen especies de HEM, colectadas en bosques de oyamel, de las que aún no se ha confirmado su interacción, por morfoanatomía, con *A. religiosa* y no se han observado registros con alguna otra especie vegetal. Tales especies se consideran con potencial de asociarse, dado que otras del mismo género de

These species represent 57 % of sampling efficiency; so it is estimated that EcMF associated with adult trees of *A. religiosa* would be about 145 species. This is a good approximation; since *A. religiosa* is located in the Nearctic and Neotropical transition, a high diversity of EcMF species is expected.

There is still a lot of work to do, since there is a lack of information from populations in other regions of Mexico, considering that most EcMF associated with *A. religiosa* in Mexico have restricted distribution, have not been sequenced previously and the rankings that exist to compare them are from specimens of North America, associated with plant species of the family Pinaceae and Fagaceae (Argüelles-Moyao et al., 2017).

The morpho-anatomical description of ectomycorrhizae is missing, as well as the correct identification of the basidiomes. For this type of structures there is only information of molecular characteristics for *A. muscaria*, and *Lactarius luculentus* (Appendix 1). Argüelles-Moyao et al. (2017) consider that the taxa *Sebacina dimitica*, *Russula acrifolia*, *Clavulina* cf. *cinerea*, *Membranomyces* sp. and *Thelephoraceae* sp. (Appendix 1) have greater potential for inoculation programs. However, studies reviewed confirm that the most diverse genera are *Russula* spp., *Ramaria* spp., *Lactarius* spp. and *Inocybe* spp. These could have a strong potential to inoculate populations of fir in Mexico. However, new studies should be considered to know their diversity, distribution, feasibility and ease to spread, and to know if they are edible species.

The above information is essential, even for other temperate forest species in Mexico and in the world. For *Abies* spp. it represents a significant advance, since the potential diversity is high, regarding that it is home to about 48 species distributed in temperate, polar and subtropical areas (Xiang, Cao, & Zhou, 2007).

Future research

There are many gaps of information regarding the understanding of the mycorrhizal interaction in *A. religiosa*, which constitute an area of opportunity to generate lines of research. Some of these questions could be: What is the identity of the different morphotypes associated with *A. religiosa*? What is the evolutionary history of species of ectomycorrhizal fungi and how they established in fir forests? What is the distribution of fungi in fir populations? What are the factors that determine the diversity of EcMF in forest of *A. religiosa*? Does the diversity of EcMF change temporarily? Does the phenological state of the tree influence the EcMF species with which it is associated? In what way do other species of forest plants influence mycorrhizal interaction with *A. religiosa*?

hongo se han determinado como ectomicorrízicas; por ejemplo: *Fischerula* sp., *Genabea* sp., *Genea* sp., *Lyophyllum* sp., *Hydnobolites* sp., *Membranomyces* sp., *Peziza* sp., *Piloderma* sp., *Pseudotomentella* sp., *Tarzetta* sp., *Tomentella* sp. y especies de los géneros *Amanita* spp., *Boletus* spp., *Clavulina* spp., *Cortinarius* spp., *Helvella* spp., *Hygrophorus* spp., *Inocybe* spp., *Lactarius* spp., *Ramaria* spp., *Russula* spp., *Suillus* spp., *Tricholoma* spp., y en particular las especies *Cantharellus floccosus*, *Chroogomphus vinicolor*, *Gomphus floccosus*, *Goutieria chilensis*, *Hebeloma albocolossum*, *Humaria hemisphaerica*, *Hydnotrya cerebriformis*, *Hydnum repandum*, *Hysterangium separabile*, *Leccinum aurantiacum*, *Sebacina dimitica*, *Tuber* cf. *separans* y *Xerocomus* sp. (Anexo 1; Comandini et al., 2012; de Román et al., 2005; Rinaldi, Comandini, & Kuyper, 2008).

Argüelles-Moyao et al. (2017) utilizaron secuencias del ITS nrDNA para identificar 83 especies en siete sitios de estudio. Dichas especies representan 57 % de eficiencia de muestreo; por lo que se estima que los HEM asociados con árboles adultos de *A. religiosa* serían alrededor de 145 especies. Este dato es una buena aproximación; ya que, al considerar que *A. religiosa* está ubicada en la transición Neártica y Neotropical es de esperar una alta diversidad de especies de HEM.

Aún resta una gran labor, debido a la falta información de poblaciones de otras regiones de México, si se considera que la mayoría de los HEM asociados con *A. religiosa* tienen distribución restringida y no han sido secuenciados; además, las clasificaciones que existen para compararlos son de especímenes de Norteamérica, asociados con especies vegetales de la familia Pinaceae y Fagaceae (Argüelles-Moyao et al., 2017).

Adicionalmente, falta la descripción morfoanatómica de las ectomicorrizas, así como la identificación correcta de los basidiomas. Para este tipo de estructuras solo hay información de características moleculares para *A. muscaria* y *Lactarius luculentus* (Anexo 1). Argüelles-Moyao et al. (2017) consideran que los taxones *Sebacina dimitica*, *Russula acrifolia*, *Clavulina* cf. *cinerea*, *Membranomyces* sp. y *Thelephoraceae* sp. (Anexo 1) son los de mayor potencial para programas de inoculación. Sin embargo, los trabajos revisados confirman que los géneros más diversos son *Russula* spp., *Ramaria* spp., *Lactarius* spp. e *Inocybe* spp. Éstos podrían tener un fuerte potencial para inocular poblaciones de oyamel en México. No obstante, todavía deben considerarse nuevos estudios para conocer la diversidad, distribución, factibilidad y facilidad de propagación, y saber si son especies comestibles.

La información anterior es fundamental, incluso para otras especies forestales templadas de México y el mundo. Para el género *Abies* spp. representa un avance significativo, ya que la diversidad potencial

Conclusions

The effort to elucidate the diversity of the communities of ectomycorrhizal fungi associated with *A. religiosa* must be greater, because the knowledge that one has is very incipient; without leaving out the important ecological and functional role of the ectomycorrhizal symbiosis in populations of this forest species. This problem can be solved by combining molecular tools with the morphological and histological description of ectomycorrhizal fungi; which, together with the traditional systematic method, are fundamental to know the diversity associated with the forests of *A. religiosa*.

Finally, a methodology is required to standardize results and reach more solid conclusions on mycorrhizal interactions. In this way, it will be possible to determine its potential of use or management, based on ecological studies that allow conservation, management and use of the forests of *A. religiosa* in temperate areas of Mexico.

Acknowledgements

The first author thanks the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the grant (204524) given to undertake doctoral studies. We thank M. C. Julissa B. Perea-García and the reviewers for their valuable recommendations, comments, remarks and corrections to this manuscript.

End of English version

References / Referencias

- Anderson, I. C., & Cairney, J. W. G (2004). Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. *Environmental Microbiology*, 6(8), 769-779. doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00675.x
- Andrade-Torres, A., Oros-Ortega, I., Solís-Ramos, L. Y., Guzmán-Olmos, R. F., Lara-Pérez, L. A., Sánchez-Velásquez, L. R., & Rodríguez, V. (2015). Simbiosis ectomicorrízica y diversidad de hongos ectomicorrízicos en dos estados sucesionales del bosque de *Abies religiosa* (H. B. K.) Schl. et Cham., del Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz. In M. R. Pineda-López, L. R. Sánchez-Velásquez, & J. Noa-Carranza (Eds), *Ecología, biotecnología y conservación del género Abies en México, Estudios de Abies en México* (pp 81-105). México: Editorial Académica Española.
- Ángeles-Cervantes, E., & López-Mata, L. (2009). Supervivencia de una cohorte de *Abies religiosa* bajo diferentes condiciones post-incendio. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 84, 25-33. Retrieved from www.redalyc.org/articulo.oa?id=57712091003
- Argüelles-Moyao, A., Garibay-Orijel, R., Márquez-Valdelamar, L. M., & Arellano-Torres, E. (2017). *Clavulina*

es alta, si se toma en cuenta que alberga cerca de 48 especies distribuidas en zonas templadas, polares y subtropicales (Xiang, Cao, & Zhou, 2007).

Investigaciones futuras

Existen muchos vacíos de información respecto del entendimiento de la interacción micorrízica en *A. religiosa*, los cuales constituyen un área de oportunidad para generar líneas de investigación. Algunas de estas interrogantes podrían ser: ¿Cuál es la identidad de los diferentes morfotipos asociados con *A. religiosa*? ¿Cuál es la historia evolutiva de las especies de hongos ectomicorrizógenos y cómo se establecieron en los bosques de oyamel? ¿Cuál es la distribución de los hongos en las poblaciones de oyamel? ¿Cuáles son los factores que determinan la diversidad de los HEM en los bosques de *A. religiosa*? ¿La diversidad de los HEM cambia temporalmente? ¿El estado fenológico del árbol influye en las especies de HEM con las cuales se asocia? ¿De qué manera influyen, en la interacción micorrízica con *A. religiosa*, otras especies de plantas del bosque?

Conclusiones

El esfuerzo por elucidar la diversidad de las comunidades de hongos ectomicorrizógenos asociados con *A. religiosa* aún debe ser mayor, debido a que el conocimiento que se tiene es muy incipiente; sin dejar fuera el importante papel ecológico y funcional que realiza la simbiosis ectomicorrízica en las poblaciones de esta especie forestal. Este problema puede resolverse combinando herramientas moleculares con la descripción morfológica e histológica de hongos ectomicorrizógenos; las cuales, en conjunto con los métodos de sistemática tradicional, son fundamentales para conocer la diversidad asociada con los bosques de *A. religiosa*.

Finalmente, se requiere una metodología que permita estandarizar resultados y llegar a conclusiones más sólidas sobre las interacciones micorrízicas. De esta manera, se podrá determinar su potencial de uso o manejo, con base en estudios ecológicos que permitan la conservación, manejo y aprovechamiento de los bosques de *A. religiosa* en zonas templadas de México.

Agradecimientos

El primer autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca (204524) otorgada para sus estudios de doctorado. Agradecemos a la M. C. Julissa B. Perea-García y a los revisores por sus valiosas sugerencias, comentarios, críticas y correcciones al manuscrito.

Fin de la versión en español

- Membranamyces* is the most important lineage within the highly diverse ectomycorrhizal fungal community of *Abies religiosa*. *Mycorrhiza*, 27(1), 53-65. doi: 10.1007/s00572-016-0724-1
- Aučina, A., Rudawska, M., Leski, T., Ryliškis, D., Pietras, M., & Riepšas, E. (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(3), 237-245. doi: 10.1007/s00572-010-0341-3
- Avendaño-Hernandez, D. M., Acosta-Mireles, M., Carrillo-Anzures, F., & Etchevers-Barra, J. D. (2009). Estimación de biomasa y carbono en un bosque de *Abies religiosa*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(3), 233-238. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61011739008>
- Baeza-Guzmán, Y., Medel-Ortiz, R., & Garibay-Orijel, R. (2017). Caracterización morfológica y genética de los hongos ectomicorrízicos asociados a bosques de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(1), 41-48. doi: 10.1016/j.rmb.2017.01.027
- Bidartondo, M. I. (2005). The evolutionary ecology of mycoheterotrophy. *New Phytologist*, 167(2), 335-352. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01429.x
- Brundrett, M. C. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil*, 320(1-2), 37-77. doi: 10.1007/s11104-008-9877-9
- Brundrett, M. C., Bougher, N., Dell, B. Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural.
- Bruns, T. D., & Gardes, M. (1993). Molecular tools for the identification of ectomycorrhizal fungi: taxon-specific oligonucleotide probes for the suilloid fungi. *Molecular Ecology*, 2(4), 233-242. doi: 10.1111/j.1365-294X.1993.tb00013.x
- Burrola-Aguilar, C., Garibay-Orijel, R., & Argüelles-Moyao, A. (2013). *Abies religiosa* forests harbor the highest species density and sporocarp productivity of wild edible mushrooms among five different vegetation types in a neotropical temperate forest region. *Agroforestry Systems*, 87(5), 1101-1115. doi: 10.1007/s10457-013-9623-z
- Challenger, A. (1998). *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, presente y futuro*. México: CONABIO-UNAM-Instituto de biología-Agrupación Sierra Madre.
- Comandini, O., Rinaldi, A., & Kuyper, T. W. (2012). Measuring and estimating ectomycorrhizal Fung Divers: A continuous challenge. In M. Pagano (Ed.), *Mycorrhiza: occurrence in natural and restored environments* (pp. 165-200). Brazil: Nova Science Publishers.
- Dahlberg, A. (1997). Population ecology of *Suillus variegatus* in old Swedish Scots pine forests. *Mycological Research*, 101(1), 47-54. doi: 10.1017/S0953756296002110
- De Román, M., Claveria, V., & de Miguel, A. M. (2005). A revision of the descriptions of ectomycorrhizas published since 1961. *Mycological Research*, 109(10), 1063-104. doi: 10.1017/S0953756205003564
- García, M. O., Smith, J. E., Luoma, D. L., & Jones, M. D. (2016). Ectomycorrhizal communities of ponderosa pine and lodgepole pine in the south-central Oregon pumice zone. *Mycorrhiza*, 26(4), 275-286. doi: 10.1007/s00572-015-0668-x
- García-Bastian, R. M., López-López, M. A., Velázquez-Martínez, A., & Pérez-Moreno, J. (1998). Mycorrhizal and saprotrophic macrofungi in declining sacred-fir stands. *Micología Neotropical Aplicada*, 11, 9-21. Retrieved from <http://www.cabi.org/ISC/abstract/19991003440>
- Gardes, M., & Bruns, T. D. (1996). Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above- and below-ground views. *Canadian Journal of Botany*, 74(10), 1572-1583. doi: 10.1139/b96-190
- Honrubia, M. (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66(1), 133-144. doi: 10.3989/ajbm.2226
- Hortal, S., Pera, J., & Parladé, J. (2009). Field persistence of the edible ectomycorrhizal fungus *Lactarius deliciosus*: effects of inoculation strain, initial colonization level and site characteristics. *Mycorrhiza*, 19(3), 167-177. doi: 10.1007/s00572-009-0228-3
- Jaramillo-Correa, J. P., Aguirre-Planter, E., Khasa, D. P., Eguarte, L. E., Piñero, D., Furnier, G., & Bousquet, J. (2008). Ancestry and divergence of subtropical montane forest isolates: molecular biogeography of the genus *Abies* (Pinaceae) in southern México and Guatemala. *Molecular Ecology*, 17(10), 2476-2490. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03762.x
- Kjøller, R., Nilsson, L. O., Hansen, K., Schmidt, I. K., Vesterdal, L., & Gundersen, P. (2012). Dramatic changes in ectomycorrhizal community composition, root tip abundance and mycelial production along a stand-scale nitrogen deposition gradient. *New Phytologist*, 194(1), 278-286. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.04041.x
- Koide, R. T., Fernandez, C., & Petprakob, K. (2011). General principles in the community ecology of ectomycorrhizal fungi. *Annals of Forest Science*, 68(1), 45-55. doi: 10.1007/s13595-010-0006-6
- Lamus, V., Franco, S., Montoya, L., Endara, A. R., Caballero, L. A., & Bandala, V. M. (2015). Mycorrhizal synthesis of the edible mushroom *Turbinellus floccosus* with *Abies religiosa* from central Mexico. *Mycoscience*, 56, 622-626. doi: 10.1016/j.myc.2015.07.001
- Landeweert, R., Veenman, C., Kuyper, T. W., Fritze, H., Wernars, K., & Smit, E. (2003). Quantification of ectomycorrhizal mycelium in soil by real-time PCR compared to conventional quantification techniques. *FEMS Microbiology Ecology*, 45(3), 283-292. doi: 10.1016/S0168-6496(03)00163-6
- LePage, B. A. (2003). The evolution, biogeography and palaeoecology of the Pinaceae based on fossil and extant representatives. *Acta Horticulturae*, 615,

- 29-52. Retrieved from http://www.actahort.org/books/615/615_1.htm
- Montoya, L., Bandala, V. M., & Garay-Serrano, E. (2015). The ectomycorrhizas of *Lactarius cuspidaurantiacus* and *Lactarius herrerae* associated with *Alnus acuminata* in Central Mexico. *Mycorrhiza*, 25(6), 457-467. doi: 10.1007/s00572-015-0625-8
- Morales-Mávil, J. E., & Aguilar-Rodríguez, S. H. (2000). Avifauna del Parque Nacional Cofre de Perote. *Foresta Veracruzana*, 2(1), 35-40. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49720104>
- Pérez-Miranda, R., Moreno-Sánchez, F., González-Hernández, A., & Arriola-Padilla, V. J. (2015). Distribución de *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. et. Cham. y *Pinus montezumae* Lamb. ante el cambio climático. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(25), 18-33. Retrieved from <http://cienciasforestales.inifap.gob.mx/editorial/index.php/Forestales/article/view/3892/3249>
- Peterson, R. L., Massicotte, H. B., & Melville, L. H. (2004). *Mycorrhizas: anatomy and cell biology*. Ottawa: CABI Publishing.
- Read, D. J., & Pérez-Moreno, J. (2003). Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems - a journey towards relevance? *New Phytologist*, 157(3), 475-492. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00704.x
- Redecker, D., Kodner, R., & Graham, L. E. (2002). *Palaeoglonium grayi* from the Ordovician. *Mycotaxon*, 84, 33-37. Retrieved from <http://www.mycotaxon.com/vol/84.html>
- Reverchon, F., Ortega-Larrocea, M., Bonilla-Rosso, G., & Pérez-Moreno, J. (2012). Structure and species composition of ectomycorrhizal fungal communities colonizing seedlings and adult trees of *Pinus montezumae* in Mexican neotropical forests. *FEMS microbiology ecology*, 80(2), 479-487. doi: 10.1111/j.1574-6941.2012.01314.x
- Rinaldi, A. C., Comandini, O., & Kuyper, T. W. (2008). Ectomycorrhizal fungal diversity: Separating the wheat from the chaff. *Fungal Diversity*, 33, 1-45. Retrieved from <http://www.fungaldiversity.org/fdp/jinds3.php#vol33>
- Rodríguez-Tovar, A., Xoconostle-Cázares, B., & Valdés, M. (2004). Ecología molecular de los hongos ectomicorrízicos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(3), 267-278. Retrieved from <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/27-3/7a.pdf>
- Sáenz-Romero, C., Rehfeldt, G. E., Duval, P., & Lindig-Cisneros, R. A. (2012). *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management*, 275, 98-106. doi: 10.1016/j.foreco.2012.03.004
- Sánchez-Velásquez, L. R., Pineda-López, M., & Hernández-Martínez, A. (1991). Distribución y estructura de la población de *Abies religiosa* (H. B. K.) Schl. et. Cham. en el Cofre de Perote, estado de Veracruz, México. *Acta Botánica Mexicana*, 16, 45-55. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57401604>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., & Chen, W. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16), 6241-6246. doi: 10.1073/pnas.1117018109
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. San Diego California: Academic Press.
- Taylor, D. L., Walters, W. A., Lennon, N. J., Bochicchio, J., Krohn, A., Caporaso, J. G., & Pennanen, T. (2016). Accurate estimation of fungal diversity and abundance through Improved lineage-specific primers optimized for illumina amplicon sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(24), 7217-7226. doi: 10.1128/AEM.02576-16
- Tedersoo, L., Nilsson, R. H., Abarenkov, K., Jairus, T., Sadam, A., Saar, I., Bahram, M., Bechem, E., Chuyon, G., & Kõljalg, U. (2010). 454 Pyrosequencing and Sanger sequencing of tropical mycorrhizal fungi provide similar results but reveal substantial methodological biases. *New Phytologist*, 188(1), 291-301. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03373.x
- Tedersoo, L., Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., ... Abarenkov, K. (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346(6213), 1078. doi: 10.1126/science.1256688
- Valdés-Ramírez, M. (1972). Microflora of a coniferous forest of the mexican basin. *Plant and Soil*, 36(1-3), 31-38. doi: 10.1007/BF01373453
- Van der Heijden, M., Martin, F. M., Selosse, M. A., & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406-1423. doi: 10.1111/nph.13288
- Villers-Ruiz, L., & Trejo-Vázquez, I. (1998). El impacto del cambio climático en los bosques y áreas naturales protegidas de México. *Interciencia*, 8(2), 141-157. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/287831828_Impacto_del_Cambio_Climatico_en_los_bosques_y_areas_naturales_protegidas_de_Mexico
- Xiang, X., Cao, M., & Zhou, Z. (2007). Fossil history and modern distribution of the genus *Abies* (Pinaceae). *Frontiers of Forestry in China*, 2(4), 355-365. doi: 10.1007/s11461-007-0058

Appendix 1. Research studies on ectomycorrhizal fungi associated with populations of *Abies religiosa* in Mexico.Anexo 1. Trabajos de investigación sobre hongos ectomicorrizógenos asociados con poblaciones de *Abies religiosa* en México.

Fungal species / Especie fúngica	References / Referencias	Revised structure / Estructura revisada		Type of studie / Tipo de estudio		Ectomycorrhizal status quotation / Cita de estatus ectomicorrízico
		Basidiomes / Basidioma	Ectomycorrhizal / Ectomicorriza	Morphological / Morfológico	Molecular	
<i>Amanita muscaria</i>	1, 8, 11	x	nda/s/d	x	x	Ingleby, Mason, Last, and Fleming (1990) (<i>Betula pendula</i>)*
<i>A. pantherina</i>	1, 5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Ingleby et al. (1990)**
<i>A. rubescens</i>	3, 5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Ingleby et al. (1990)**
<i>Boletus edulis</i>	1, 5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Ceruti, Tozzi, y Reitano (1987) (<i>Pinus silvestris</i>)*
<i>B. luridus</i>	8	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Brunner, Amiet, Zollinger, and Egli (1992) (<i>Picea abies</i>)*
<i>B. pinophilus</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Brunner et al. (1992)**
<i>Boletellus projectellus</i>	10	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Determinado por filogenia (Binder & Hibbett, 2006).
<i>Cantharellus cibarius</i>	5, 3, 8, 6	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Mleczko (2004) (<i>Pinus sylvestris</i>)*
<i>C. floccosus</i>	12, 3	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Mleczko (2004)**
<i>Cenococcum geophilum</i>	12, 9	nda/s/d	x	x	nda/s/d	Valdés-Ramírez (1972) (<i>Abies religiosa</i>)*
<i>Chroogomphus vinicolor</i>	1, 5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Agerer (1990)**
<i>Clavulina aff. rugosa</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Tedersoo, Kõljalg, Hallenberg, and Larsson (2003)**
<i>C. cinerea</i>	4	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Tedersoo et al. (2003)**
<i>Collybia dryophyla</i>	3, 10	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Undetermined
<i>Cortinarius cf. ignipes</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Agerer (1987)**
<i>C. obtusus</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Agerer (1987)**
<i>C. vernus</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Buée, Vairelles, and Garbaye (2005)**
<i>Fischerula sp.</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Buée et al. (2005)**
<i>Genabea sp.</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Buée et al. (2005)**
<i>Genea sp.</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Buée et al. (2005)**
<i>Gomphus floccosus</i>	1, 3, 4, 6, 8	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Agerer, Beenken, and Christan (1998)**
<i>Goutieria chilensis</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Palfner (2001)**
<i>Hebeloma albocolossum</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Jakucs, Magyar, and Beenken (1999)**
<i>Helvella sculenta</i>	3	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Tedersoo, Hansen, Perry and Kjølner (2006)**
<i>H. crispa</i>	3, 4, 6	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Tedersoo et al. (2006)**
<i>H. lacunosa</i>	3, 6	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Tedersoo et al. (2006)**
<i>Helvellosebacina helveloides</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Undetermined
<i>Humaria hemisphaerica</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Ingleby et al. (1990)**
<i>Hydnobolites sp.</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Molina, Massicotte, and Trappe (1992)**
<i>Hydnotrya cerebriformis</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Tedersoo et al. (2003)**
<i>Hydnum repandum</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Agerer, Kraigher, and Javornik (1996)**
<i>Hygrophoropsis aurantiaca</i>	10	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Undetermined
<i>Hygrophorus chrysodon</i>	5, 8, 12	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Treu (1990)**
<i>H. hypothejus</i>	5, 8	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Treu (1990)**
<i>H. nigrescens</i>	5	X	nda/s/d	x	nda/s/d	Treu (1990)**
<i>H. russula</i>	10	X	nda/s/d	x	nda/s/d	Treu (1990)**
<i>Hysterangium separabile</i>	12	X	nda/s/d	x	nda/s/d	Raidl and Agerer (1998)**
<i>Inocybe aff. fastigiata</i>	6	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Magyar, Beenken, and Jakucs (1999)**
<i>I. aff. geophylla var. alba</i>	6	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Magyar et al. (1999)**
<i>I. geophylla var. geophylla</i>	5, 10	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Magyar et al. (1999)**
<i>I. griseovelata</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Magyar et al. (1999)**
<i>I. lanatodisca</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Magyar et al. (1999)**
<i>I. lilacina</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Magyar et al. (1999)**
<i>I. lutescens</i>	10	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Magyar et al. (1999)**

Appendix 1. Research studies on ectomycorrhizal fungi associated with populations of *Abies religiosa* in Mexico (cont.)Anexo 1. Trabajos de investigación sobre hongos ectomicorrizógenos asociados con poblaciones de *Abies religiosa* en México (cont.)

Fungal species / Especie fúngica	References / Referencias	Revised structure / Estructura revisada		Type of studie / Tipo de estudio		Ectomycorrhizal status quotation / Cita de estatus ectomicorrízico
		Basidiomes / Basidioma	Ectomycorrhizal / Ectomicorriza	Morphological / Morfológico	Molecular	
<i>I. obscura</i>	10	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Magyar et al. (1999)**
<i>Laccaria laccata</i>	1, 4	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Dickie, Guza, Krazewski, and Reich (2004) (<i>Elianthemum bicknellii</i>)*
<i>Lactarius chelidonium</i> var. <i>chelidonioides</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Eberhardt et al. (2000)**
<i>L. chysorrhheus</i>	10	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Eberhardt et al. (2000)**
<i>L. deliciosus</i>	1, 3	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan, Currah, and Bayer (1997) (<i>Abies lasiocarpa</i>)*
<i>L. fenoscandicus</i>	2	nda / s/d	x	nda / s/d	x	Eberhardt et al. (2000)**
<i>L. luculentus</i>	4, 9	x	nda / s/d	x	x	Eberhardt et al. (2000)*
<i>L. mexicanus</i>	1, 5, 7	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Eberhardt et al. (2000)*
<i>L. rubrilacteus</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Eberhart and Luoma (1997) (<i>Pseudotsuga menziesii</i>)*
<i>L. rufus</i>	1, 5	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Ingleby et al. (1990) (<i>Picea sitchensis</i>)*
<i>L. salmonicolor</i>	3, 5, 8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Eberhardt et al. (2000) (<i>Abies alba</i>)*
<i>L. vietus</i>	10			x	nda / s/d	Hagerman, Sakakibara, and Durall (2001) (<i>Pseudotsuga menziesii</i>)
<i>Leccinum aurantiacum</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Müller and Agerer (1990)**
<i>Lyophyllum</i> sp.	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Agerer and Beenken (1998)**
<i>Membranomyces</i> sp.	2	nda / s/d	x	nda / s/d	x	Tedersoo et al. (2003)**
<i>Peziza</i> sp.	2	nda / s/d	x	nda / s/d	x	Tedersoo et al. (2006)**
<i>Phaeocollybia</i> sp.	2	nda / s/d	x	nda / s/d	x	Undetermined
<i>Piloderma</i> sp.	2	nda / s/d	x	nda / s/d	x	Hagerman et al. (2001)**
<i>Pseudotomentella</i> sp.	2	nda / s/d	x	nda / s/d	x	Agerer (1994)**
<i>Ramaria bonii</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra, Horton, Cazares, and Castellano (2005)**
<i>R. botrytis</i> var. <i>botrytis</i>	1, 3, 5	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>R. cystidiophora</i> var.	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>R. stricta</i>	3	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>R. flava</i> var. <i>sanguinea</i>	1, 3	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>R. flavobrunnescens</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>R. rasilispora</i> var. <i>scatesiana</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>R. rubiginosa</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>R. rubricarnata</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>R. rubripermanens</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Nouhra et al. (2005)**
<i>Russula abietina</i>	1,	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. (1997)**
<i>R. acrifolia</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Agerer et al. (1996) (<i>Picea abies</i>)*
<i>R. americana</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. (1997)**
<i>R. brevipes</i>	3, 4, 8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. 1997 (<i>Abies lasiocarpa</i>)*
<i>R. cf. chloroides</i>	2	nda / s/d	x	nda / s/d	x	Kernaghan et al. (1997)**
<i>R. delicata</i>	1, 5, 12	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Beenken (2001) (<i>Fagus sylvatica</i>)*
<i>R. emetica</i>	1, 5	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. (1997)**
<i>R. aff. firmula</i>	2	nda / s/d	x	nda / s/d	x	Treu (1990) (<i>Pinus mugo</i>)*
<i>R. foetens</i>	6	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Beenken (2001) (<i>Fagus sylvatica</i>)*
<i>R. aff. lepida</i>	6	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. (1997)**
<i>R. mexicana</i>	6	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. (1997)**
<i>R. olivacea</i>	1, 8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. (1997)**
<i>R. puellaris</i>	5	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. (1997)**
<i>R. romagnesiana</i>	8	x	nda / s/d	x	nda / s/d	Kernaghan et al. (1997)**

Appendix 1. Research studies on ectomycorrhizal fungi associated with populations of *Abies religiosa* in Mexico (cont.)Anexo 1. Trabajos de investigación sobre hongos ectomicorrizógenos asociados con poblaciones de *Abies religiosa* en México (cont.)

Fungal species / Especie fúngica	References/ Referencias	Revised structure / Estructura revisada		Type of studie / Tipo de estudio		Ectomycorrhizal status quotation / Cita de estatus ectomicorrízico
		Basidiomes/ Basidioma	Ectomycorrhizal/ Ectomicorriza	Morphological/ Morfológico	Molecular	
<i>R. sanguinaria</i>	8	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Kernaghan et al. (1997)**
<i>Sarcodon imbricatus</i>	1, 5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Agerer (1990) (<i>Picea abies</i>)*
<i>S. escabrosus</i>	4	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Agerer (1990) (<i>Picea abies</i>)*
<i>Sebacina dimittica</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	de Román, Claveria, and de Miguel, (2005)**
<i>S. incrustans</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Urban, Weiss, and Bauer (2003) (<i>Picea abies</i>)**
<i>Suillus americanus</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Treu (1990)
<i>S. brevipes</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Bradbury (1998) (<i>Pinus contorta</i>)**
<i>S. granulatus</i>	1, 5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Yamada, Ogura, and Ohmasa (2001)(<i>Pinus densiflora</i>)*
<i>S. guzmanii</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Treu (1990)**
<i>S. tomentosus</i>	8	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Bradbury (1998) (<i>Pinus contorta</i>)*
<i>Thelephora terrestris</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Agerer and Weiss (1989) (<i>Picea abies</i>)*
<i>Tarzetta</i> sp.	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Tedersoo et al. (2006)**
<i>Tomentella lateritia</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Bradbury (1998)**
<i>T. pilosa</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	de Román et al. (2005) (<i>Quercus ilex</i>)*
<i>Tremelloscypha dichroa</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Undetermined, only by phylogenies (Weiß & Oberwinkler, 2001)
<i>Tricholoma equestre</i>	1, 8	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Comandini, Haug, Rinaldi, and Kuyper (2004)**
<i>T. imbricatum</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Comandini et al. (2004)**
<i>T. terreum</i>	5	x	nda/s/d	x	nda/s/d	Comandini et al. (2004)**
<i>Trychophaea</i> sp.	2	nda/s/d	x	nda/s/d	x	Undetermined
<i>Tuber</i> cf. <i>separans</i>	2	nda/s/d	x	nda/s/d	X	Comandini and Pacioni (1997) **
<i>Xerocomus</i> sp.	2	nda/s/d	x	nda/s/d	X	Torres and Honrubia (1997)**

nda: no data available.

*Species from which its ectomycorrhizal status has been determined in species of phytobionts other than *Abies religiosa*.

**Species of ectomycorrhizal fungi without status, only in other species of the same genus.

s/d: sin dato disponible.

*Especie de la cual su estatus ectomicorrízico ha sido definido en especies de fitobiontes distintos a *Abies religiosa*.

**Especie de hongo ectomicorrizógeno del cual no se ha determinado su estatus, solo en otras especies del mismo género.

The references of the research studies correspond to the following authors: /

Las referencias de los trabajos de investigación corresponden a los siguientes autores:

Andrade-Torres, A., Oros-Ortega, I., Solís-Ramos, L. Y., Guzmán-Olmos, R. F., Lara-Pérez, L. A., Sánchez-Velásquez, L. R., & Rodríguez, V. (2015). Simbiosis ectomicorrízica y diversidad de hongos ectomicorrízicos en dos estados sucesionales del bosque de *Abies religiosa* (H. B. K.) Schl. et Cham., del Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz. In M. R. Pineda-López, L. R. Sánchez-Velásquez, & J. Noa-Carranza (Eds.), *Ecología, biotecnología y conservación del género Abies en México, Estudios de Abies en México* (pp 81-105). México: Editorial Académica Española.

Argüelles-Moyao, A., Garibay-Orijel, R., Márquez-Valdelamar, L. M., & Arellano-Torres, E. (2017). *Clavulina-Membranomyces* is the most important lineage within the highly diverse ectomycorrhizal fungal community of *Abies religiosa*. *Mycorrhiza*, 27(1), 53-65. doi: 10.1007/s00572-016-0724-1

Arteaga-Martínez, B., & Moreno-Zárate, B. (2006). Los hongos comestibles silvestres de Santa Catarina del Monte, Estado de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 12(2), 125-131. Retrieved from https://chapingo.mx/revistas/forestales/contenido.php?id_articulo=457

Burrola-Aguilar, C., Garibay-Orijel, R., & Argüelles-Moyao, A. (2013). *Abies religiosa* forests harbor the highest species density and sporocarp productivity of wild edible mushrooms among five different vegetation types in a neotropical temperate forest region. *Agroforestry Systems*, 87(5), 1101-1115. doi: 10.1007/s10457-013-9623-z

Córdova-Chávez, O., Medel, R., Mata, G., Castillo, R., & Vázquez-Ramírez, J. (2014). Evaluación de hongos ectomicorrízicos del grupo de los basidiomicetos en la zona del Cofre de Perote, Veracruz. *Madera y Bosques*, 20(1), 97-106. doi: 10.21829/myb.2014.201179

- García-Bastian, R. M., López-López, M. A., Velázquez-Martínez, A., & Pérez-Moreno, J. (1998). Mycorrhizal and saprotrophic macrofungi in declining sacred-fir stands. *Micología Neotropical Aplicada*, 11, 9-21. Retrieved from <http://www.cabi.org/ISC/abstract/19991003440>
- Kong, A., & Estrada-Torres, A. (1994). A new species of *Lactarius* from Mexico. *Mycotaxon*, 52(2), 443-466.
- Montoya, A., Kong, A., Estrada-Torres, A., Cifuentes, J., & Caballero, J. (2004). Useful wild fungi of La Malinche National Park, Mexico. *Fung Divers*, 17, 15-43. Retrieved from <http://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/17-8.pdf>
- Oros-Ortega, I. (2015). *Estructura de la comunidad de hongos ectomicorrizógenos en bosque de Abies religiosa (H. B. K.) Schl. et Cham, a través de un gradiente altitudinal*. (Tesis Doctoral). Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.
- Pérez-Silva, E., Herrera, T., & Ocampo-López, A. (2011). Nuevos registros de macromicetos para el municipio de Temascaltepec, Estado de México. *Revista Mexicana de Micología*, 34, 23-30. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018731802011000200005&lng=es&tlng=es
- Ramos-Fernández, A., López-Ramírez, F., Flores-Estevez, N., Jiménez-Montaño, M. A., Sánchez-Velásquez, L., Pineda-López, M., & Noa-Carrazana, J. (2013). An approach to finding enzymatic restriction patterns for molecular characterization of *Amanita muscaria*. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(1), 1099-1102. Retrieved from http://world-food.net/download/journals/2013-issue_1/2013-issue_1-environment/86.pdf
- Valdés-Ramírez, M. (1972). Microflora of a coniferous forest of the mexican basin. *Plant and Soil*, 36(1-3), 31-38. doi: 10.1007/BF01373453

The ectomycorrhizal status was determined from the following reviews: /

El estatus ectomicorrízico se determinó a partir de las siguientes revisiones:

- Agerer, R. (1987). Studies on ectomycorrhizae. X. *Mycorrhizae* formed by *Cortinariopsis obtusus* and *C. venetus* on spruce. *Mycologia*, 79(4), 524-539. doi: 10.2307/3807591
- Agerer, R. (1990). Studies of ectomycorrhizae. XXIV. Ectomycorrhizae of *Chroogomphus helveticus* and *C. rutilus* (Gomphidiaceae, Basidiomycetes) and their relationship to those of *Suillus* and *Rhizopogon*. *Nova Hedwigia*, 50(1-2), 1-63. Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19902302879>
- Agerer, R. (1994). *Pseudotomentella tristis* (Thelephoraceae). An analysis of fruitbody and ectomycorrhiza. *Zeitschrift für Mykologie*, 60(1), 143-158. Retrieved from <https://www.dgfm-ev.de/publikationen/artikelsuche?start=300>
- Agerer, R., & Beenken, L. (1998). *Lyophyllum decastes* (Fr.) Sing. + *Quercus robur* L. *Descriptions of Ectomycorrhizae*, 3, 43-47. Retrieved from <http://www.nhbs.com/series/185718/descriptions-of-ectomycorrhizae>
- Agerer, R., Beenken, L., & Christan, J. (1998). *Gomphus clavatus* (Pers.: Fr.) SF Gray + *Picea abies* (L.) Karst. *Descriptions of Ectomycorrhizae*, 3, 25-29. Retrieved from <http://www.nhbs.com/series/185718/descriptions-of-ectomycorrhizae>
- Agerer, R., Kraigher, H., & Javornik, B. (1996). Identification of ectomycorrhizae of *Hydnum rufescens* on Norway spruce and the variability of the ITS region of *H. rufescens* and *H. repandum* (Basidiomycetes). *Nova Hedwigia*, 63(1), 183-194. Retrieved from http://www.schweizerbart.de/journals/nova_hedwigia
- Agerer, R., & Weiss, M. (1989). Studies on ectomycorrhizae. XX. *Mycorrhizae* formed by *Thelephora terrestris* on Norway spruce. *Mycologia*, 81(3), 444-453. doi: 10.2307/3760081
- Beenken, L. (2001). *Russula nothofaginea* Sing. + *Nothofagus dombeyi* (Mirbel) Oersted. *Descriptions of Ectomycorrhizae*, 5, 175-179. Retrieved from <http://www.nhbs.com/series/185718/descriptions-of-ectomycorrhizae>
- Binder, M., & Hibbett, D. S. (2006). Molecular systematics and biological diversification of Boletales. *Mycologia*, 98(6), 971-981. doi: 10.1080/15572536.2006.11832626
- Bradbury, S. M. (1998). Ectomycorrhizas of lodgepole pine (*Pinus contorta*) seedlings originating from seed in southwestern Alberta cut blocks. *Canadian Journal of Botany*, 76(2), 213-217. doi: 10.1139/b97-171
- Brunner, I., Amiet, R., Zollinger, M., & Egli, S. (1992). Ectomycorrhizal syntheses with *Picea abies* and three fungal species: a case study on the use of an in vitro technique to identify naturally occurring ectomycorrhizae. *Mycorrhiza*, 2(2), 89-96. doi: 10.1007/BF00203255
- Buée, M., Vairelles, D., & Garbaye, J. (2005). Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza*, 15, 235-245. doi: 10.1007/s00572-004-0313-6
- Ceruti, A., Tozzi, M., & Reitano, G. (1987). Micorrize di sintesi tra *Boletus edulis*, *Pinus sylvestris* e *Picea excelsa*. *Allionia*, 28, 117-124.
- Comandini, O., & Pacioni, G. (1997). *Mycorrhizae* of Asian black truffles, *Tuber himalayense* and *T. indicum*. *Mycotaxon*, 63, 77-86. Retrieved from <http://www.mycotaxon.com/vol/63.html>
- Comandini, O., Haug, I., Rinaldi, A. C., & Kuyper, T. W. (2004). Uniting *Tricholoma sulphureum* and *T. bufonium*. *Mycological Research*, 108(10), 1162-1171. doi: 10.1017/S095375620400084X
- de Román, M., Claveria, V., & de Miguel, A. M. (2005). A revision of the descriptions of ectomycorrhizas published since 1961. *Mycological Research*, 109(10), 1063-1104. doi: 10.1017/S0953756205003564
- Dickie, I. A., Guza, R. C., Krazewski, S. E., & Reich, P. B. (2004). Shared ectomycorrhizal fungi between a herbaceous perennial (*Helianthemum bicknellii*) and oak (*Quercus*) seedlings. *New Phytologist*, 164(2), 375-382. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01177.x
- Eberhardt, J. L., Oberwinkler, F., Verbeken, A., Rinaldi, A. C., Pacioni, G., & Comandini, O. (2000). *Lactarius ectomycorrhizae* on *Abies alba*: morphological description, molecular characterization and taxonomic remarks. *Mycologia*, 92(c), 860-873. doi: 10.2307/3761582

- Eberhart, J., & Luoma, D. M. (1997). *Lactarius rubrilacteus* Hesler & Smith + *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco o CDE15. In D. M. Goodman, D. M. Durall, J. A. Trofymow, & S. Berch (Eds.), *Concise descriptions of North American ectomycorrhizae: including microscopic and molecular characterization*. Sidney, B.C., Canada: Mycologue Publications.
- Hagerman, S. M., Sakakibara, S. M., & Durall, D. M. (2001). The potential of woody understory plants to provide refuge for ectomycorrhizal inoculum at an interior Douglas-fir forest after clear-cut logging. *Canadian Journal of Forest Research*, 31(4), 711-721. doi: 10.1139/x00-199
- Ingleby, K., Mason, P. A., Last, F. T., & Fleming, L. V. (1990). *Identification of ectomycorrhizas*. London: ITE Research Publication.
- Jakucs, E., Magyar, L., & Beenken, L. (1999). *Hebeloma ammophilum* Bohus + *Fumana procumbens* (Dun.) Gr. *Godr. Descriptions of Ectomycorrhizae*, 4, 49-54. Retrieved from <http://www.nhbs.com/series/185718/descriptions-of-ectomycorrhizae>
- Kernaghan, G., Currah, R. S., & Bayer, R. J. (1997) Russulaceous ectomycorrhizae of *Abies lasiocarpa* and *Picea engelmannii*. *Canadian Journal of Botany*, 75(11), 1843-1850. doi: 10.1139/b97-896
- Magyar, L., Beenken, L., & Jakucs, E. (1999). *Inocybe heimii* Bon + *Fumana procumbens* (Dun.) Gr. *Godr. Descriptions of Ectomycorrhizae*, 4, 61-65. Retrieved from <http://www.nhbs.com/series/185718/descriptions-of-ectomycorrhizae>
- Mleczko, P. (2004). *Cantharellus cibarius* Fr. + *Pinus sylvestris* L. *Descriptions of Ectomycorrhizae*, 7(8), 11-20. Retrieved from <http://www.nhbs.com/series/185718/descriptions-of-ectomycorrhizae>
- Molina, R., Massicotte, H., & Trappe, J. M. (1992). Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. In M. Allen (Ed.), *Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process* (pp. 357-423). New York: Chapman & Hall.
- Müller, W., & Agerer, R. (1990). Studies on ectomycorrhizae XXXI. *Betulaerhiza hystrix*, an unidentified mycorrhiza on *Betula pendula*. *Cryptogamic Botany*, 2(1), 64-68. Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19922323731>
- Nouhra, E. R., Horton, T. R., Cazares, E., & Castellano, M. (2005). Morphological and molecular characterization of selected *Ramaria mycorrhizae*. *Mycorrhiza*, 15(1), 55-59. doi: 10.1007/s00572-004-0294-5
- Palfner, G. (2001). *Taxonomische studien an Ektomykorrhizen aus den nothofagus-wäldern mittelsüdchiles*. Germany: Schweizerbart science publishers.
- Raidl, S., & Agerer, R. (1998). *Hysterangium stoloniferum* Tul & Tul. + *Picea abies* (L) Karst. *Descriptions of Ectomycorrhizae*, 3, 31-35. Retrieved from <http://www.nhbs.com/series/185718/descriptions-of-ectomycorrhizae>
- Tedersoo, L., Hansen, K., Perry, B. A., & Kjoller, R. (2006). Molecular and morphological diversity of pezizalean ectomycorrhiza. *New Phytologist*, 170(3), 581-596. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01678.x
- Tedersoo, L., Kõljalg, U., Hallenberg, N., & Larsson, K. H. (2003). Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytologist*, 159(1), 153-165. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00792.x
- Torres, P., & Honrubia, M. (1997). Changes and effects of a natural fire on ectomycorrhizal inoculum potential of soil in a *Pinus halepensis* forest. *Forest Ecology and Management*, 96(3), 189-196. doi: 10.1016/S0378-1127(97)00058-3
- Treu, R. (1990). *Charakterisierung und identifizierung von Ektomykorrhizen aus dem Nationalpark Berchtesgaden*. Germany: Schweizerbart science publishers.
- Urban, A., Weiss, M., & Bauer, R. (2003). Ectomycorrhizas involving sebacinoid mycobionts. *Mycological Research*, 107(1), 3-14. doi: 10.1017/S0953756202007116
- Valdés-Ramírez, M. (1972). Microflora of a coniferous forest of the Mexican basin. *Plant and Soil*, 36(1-3), 31-38. doi: 10.1007/BF01373453
- Weiß, M., & Oberwinkler, F. (2001). Phylogenetic relationships in Auriculariales and related groups—hypotheses derived from nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycological Research*, 105(4), 403-415. doi: 10.1017/S095375620100363X
- Yamada, A., Ogura, T., & Ohmasa, M. (2001). Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by in vitro mycorrhizal synthesis. *Mycorrhiza*, 11(2), 67-81. doi: 10.1007/s005720000092