

Hongos formadores de micorrizas aislados a partir de raíces de la orquídea *Rodriguezia granadensis* (LINDL.) RCHB. F.

Mycorrhizal forming fungi isolated from roots of the orchid *Rodriguezia granadensis* (LINDL.) RCHB. F.

Nilsa Ceneida Romero-Salazar¹ ; Johanna Marcela Galvis-Gratz¹ ; Jenny Paola Moreno-López^{2*} 

¹Universidad de Cundinamarca, Sede Fusagasugá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de investigación ProsaFis. Fusagasugá - Cundinamarca, Colombia; e-mail: nceneidaromero@ucundinamarca.edu.co; jmarcelagalvis@ucundinamarca.edu.co

²Universidad de Cundinamarca, Sede Fusagasugá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa Ingeniería Agronómica. Fusagasugá - Cundinamarca, Colombia; e-mail: jpmoreno@ucundinamarca.edu.co

*autor de correspondencia: jpmoreno@ucundinamarca.edu.co

Cómo citar: Romero-Salazar, N.C.; Galvis-Gratz, J.M.; Moreno-López, J.P. 2022. Hongos formadores de micorrizas aislados a partir de raíces de la orquídea *Rodriguezia granadensis* (LINDL.) RCHB. F. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e2086. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2086>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: septiembre 10 de 2021

Aceptado: junio 13 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

Rodriguezia granadensis (Lindl.) Rchb. f. es una orquídea epífita que crece sobre árboles, en zonas poco intervenidas. Para la germinación de sus semillas y en los estadios iniciales de su desarrollo forma relaciones simbióticas con hongos micorrícicos, los cuales, brindan los nutrientes que necesita. En el municipio de Fusagasugá esta especie crece en condiciones naturales y debido a la belleza de sus flores es promisoría para su producción comercial, pero hay poca información sobre los microorganismos asociados a esta planta; por lo tanto, el presente trabajo tuvo como propósito identificar, a nivel de género, los hongos asociados a las raíces de *R. granadensis*, en el agroecosistema Hacienda Betania. Se tomaron muestras de raíz, anotando el forofito donde se encontraban las plantas. En laboratorio, se dividieron en tres extremos: proximal, medio y distal y se realizaron cortes transversales, para identificar enrollamientos hifales. Adicionalmente, se sembraron explantes en agar papa dextrosa, agar Sabouraud y medio de Ko y Hora. Se identificó al género *Rhizoctonia*, con una frecuencia del 95 %. Se encontró que el 70 % de las plantas muestreadas crecían sobre árboles de guayabo

y el 30 % sobre cítricos. Los resultados indican que *R. granadensis* pueden tener interacciones con hongos del género *Rhizoctonia*.

Palabras clave: Enrollamientos hifales; Forofitos; Micosimbionte; Orchidaceae; *Rhizoctonia*.

ABSTRACT

Rodriguezia granadensis (Lindl.) Rchb. f. is an epiphytic orchid that grows on trees in areas with little intervention. For seed germination and the initial stages of development, it forms symbiotic relationships with mycorrhizal fungi, which provide the necessary nutrients. In the municipality of Fusagasugá, this species grows in natural conditions and, due to the beauty of its flowers is a promissory specie to commercial production, but there is little information about the microorganisms associated with this plant; therefore, the purpose of this work was to identify, at the genus level, the fungi associated with the roots of *R. granadensis* in Betania farm. Root samples were taken, noting the phorophyte where the plants grew. In the laboratory, they were divided into three

sections: proximal, middle, and distal, and made cross-sections to identify hyphal curls. Additionally, explants were put in potato dextrose agar, Sabouraud agar, and Ko and Hora media. The genus *Rhizoctonia* was identified, with a frequency of 95 %. It was found that 70 % of the sampled plants grew on guava trees and 30 % on citrus. The results indicate that *R. granadensis* may have interactions with fungi of *Rhizoctonia* genus.

Keywords: Hyphal coils; Orchidaceae; Mycosymbiont; Phorophytes; *Rhizoctonia*.

INTRODUCCIÓN

La familia Orquidaceae es uno de los taxones con más especies reportadas (Chase *et al.* 2015). En Colombia, en términos de riqueza y de abundancia, la región Andina cuenta con un 87,2 %; Amazónica y Pacífica, con 10,6 %; el Caribe, 5 % y la región de la Orinoquía, 4 % (Mejía Rosero & Pino Benítez, 2010). La mayoría de las especies de orquídeas tienden a tener áreas de distribución restringidas y muchas especies se encuentran en peligro de extinción, debido a la pérdida de hábitat, ocasionada por la expansión de la frontera agrícola, el desarrollo urbano, la degradación del hábitat de los parches restantes y la pérdida de interacciones ecológicas críticas (Gale *et al.* 2018; Evans *et al.* 2020; Shefferson *et al.* 2020).

Dentro de la familia Orquidaceae se encuentra el género *Rodriguezia*, que cuenta con más de 30 especies; es una orquídea epífita, que forma grupos pequeños de pseudobulbos (entre uno a veinte), una hoja por pseudobulbo e inflorescencias laterales colgantes (1 o 2 por pseudobulbo) (Ospina-Calderón *et al.* 2015). Las plantas crecen en grupos de varios ejes, en zonas de baja humedad y alta luminosidad y se pueden encontrar fácilmente sobre cafetos (*Coffea arabica*), guayabos (*Psidium guajava*), cítricos (*Citrus* spp.), pomarrosos (*Syzygium jambos*), más precisamente, sobre la corteza desnuda de estos arbustos (Calderón, 2006; Valencia, 2014). En Colombia, *Rodriguezia granadensis* (Lindl.) Rchb. f., se reporta en bosques andinos, en rangos altitudinales que van de los 700 a los 3.900 m s.n.m. (Calderón, 2006; Gil & Jácome 2014), siendo, un ejemplo, la Reserva Forestal natural de Yotoco, en el Valle del Cauca (Ventre-Lespiauq *et al.* 2017). Esta orquídea presenta su floración y producción de cápsulas en las épocas de mayor precipitación (Gil-Clavijo *et al.* 2020).

Las plantas de la familia Orchidaceae son micótrofas y este fenómeno se observa, principalmente, en la germinación de la semilla y en la fase vegetativa (Sarsaiya *et al.* 2019; Sathiyadash *et al.* 2020). En la interacción micorrícica entre hongo y planta, las orquídeas dependen de los nutrientes que le proporciona el micosimbionte, el cual, les suministra minerales, agua y carbono (Kuga *et al.* 2014). La importancia de la relación simbiótica que existe entre microorganismos endófitos, rizosféricos o micorrícicos y las raíces de las orquídeas radica en hacer posible la germinación de las semillas y la toma de nutrientes, debido a que, en ausencia o déficit de éstos, los procesos fisiológicos de estas plantas se podrían ver afectados (Jacquemyn *et al.* 2017; Herrera *et al.* 2017). La relación simbiótica entre las orquídeas y los hongos formadores de

micorrizas es diferente a otras simbiosis, ya que, al principio, es unidireccional, debido a que el hongo le aporta a la semilla y aunque se creyó que los hongos micorrícicos no recibían recompensa, hoy, se sabe que estos también reciben carbono, cuando las orquídeas han crecido y desarrollan hojas para hacer fotosíntesis (Dearnaley & Cameron, 2016; Yeh *et al.* 2019). Por tanto, la distribución de las orquídeas también estaría influenciada por la presencia de hongos formadores de micorrizas (Jacquemyn *et al.* 2017).

Las hifas de los hongos micorrícicos forman complejos en espiral llamadas pelotones en la región parenquimática del córtex de las raíces. Los pelotones varían en cuanto a forma, tamaño y arreglo de la masa hifal (Hadley & Williamson, 1971; Kaur, 2020). Los pelotones pueden ser funcionalmente activos durante algún periodo de tiempo y, posteriormente, se desintegran o se lisan dentro de las células corticales, formando una estructura redonda agrupada o en forma de disco; se tornan de color amarillo o café (Kaur, 2020).

Los hongos formadores de micorrizas juegan un rol importante en los procesos germinación y de establecimiento de las orquídeas en los diferentes ecosistemas, por lo cual, el objetivo de la presente investigación fue identificar los géneros de los hongos formadores de micorrizas asociados a las raíces de *R. granadensis*, presentes en el agroecosistema Hacienda Betania, en el municipio de Fusagasugá, Cundinamarca, como marco inicial del desarrollo de protocolos de germinación y de establecimiento de esta orquídea, para producción comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. La investigación, se realizó en el agroecosistema Hacienda Betania, ubicada en la vereda El Resguardo, corregimiento Occidental del municipio de Fusagasugá, departamento de Cundinamarca, propiedad de la Alcaldía municipal, con coordenadas Latitud 4° 21' 37,3" N y Longitud 74° 22' 29,98" W. Esta área corresponde a la zona de vida denominada bosque húmedo montano bajo (Bh-MB), con una altitud entre los 1.400 y 1.600 m s.n.m. y una temperatura entre 18 y 24 °C. Esta hacienda cuenta con un bosque en recuperación que, anteriormente, se dedicaba a la producción de café (*C. arabica*).

Fase de campo. Para la colecta de las muestras, se realizó un recorrido general de la hacienda Betania, con el fin de identificar la presencia de *R. granadensis* en floración (Figura 1), determinar los puntos de muestreo y ubicar plantas que no mostraran síntomas visuales de problemas fitosanitarios ni de deficiencias nutricionales. Para el muestreo, se identificaron los forofitos (soporte o tutor de una planta epífita), que tuvieran las orquídeas que se buscaban (*R. granadensis*), como los puntos de muestreo en donde cada planta representaba una muestra (en algunos forofitos, se encontró más de una planta). Las muestras, se obtuvieron a partir de forofitos a una altura no mayor a 3 metros, para facilitar la colecta.

Para la toma de las muestras, se tomó una muestra de raíz completa por planta con ayuda de un bisturí desinfectado, previamente, con etanol al 70 %; luego, las muestras colectadas se envolvieron en



Figura 1. *Rodriguezia granadensis* en la Hacienda Betania (Fusagasugá, Cundinamarca).

servilletas y se guardaron en bolsas de papel, rotuladas con los datos de punto de muestreo, forofito y estado fenológico de la planta. Las muestras, se almacenaron en nevera e, inmediatamente, se trasladaron al laboratorio de microbiología de la Universidad de Cundinamarca - sede Fusagasugá, para el respectivo aislamiento, en un lapso no mayor a 24 horas, después de su recolección.

Fase de laboratorio: observación de enrollamientos hifales.

Cada muestra compuesta por la raíz completa, se dividió en tres submuestras: proximal (P), media (M) y distal (D) (Figura 2); luego, se hicieron cortes transversales en cada submuestra, para obtener explantes de, aproximadamente, 1 mm, los cuales, se observaron al microscopio, con el fin de observar enrollamientos hifales (pelotones).

Aislamiento. El aislamiento, se realizó utilizando la metodología adaptada de Ordóñez C. *et al.* (2012); las raíces se lavaron con agua potable, para eliminar residuos; luego, se realizaron cortes de 0,5 cm de longitud (explantes) de la raíz, para obtener las submuestras (P, M y D), las cuales, se desinfectaron, superficialmente, con un tratamiento de lavado inicial con hipoclorito de sodio al 5 %, durante 30 segundos, luego con etanol, al 70 %, por 30 segundos y un enjuague con agua destilada estéril, por un minuto.

La siembra de los explantes desinfectados, se realizó sobre un medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA) $39 \text{ g.L}^{-1} + 0,05 \text{ g.L}^{-1}$ de cloranfenicol, para inhibir el crecimiento bacteriano; posteriormente, se realizaron tres repiques para la obtención de cultivo en el medio Sabouraud dextrosa agar (SDA) $65 \text{ g.L}^{-1} + 0,05 \text{ g.L}^{-1}$

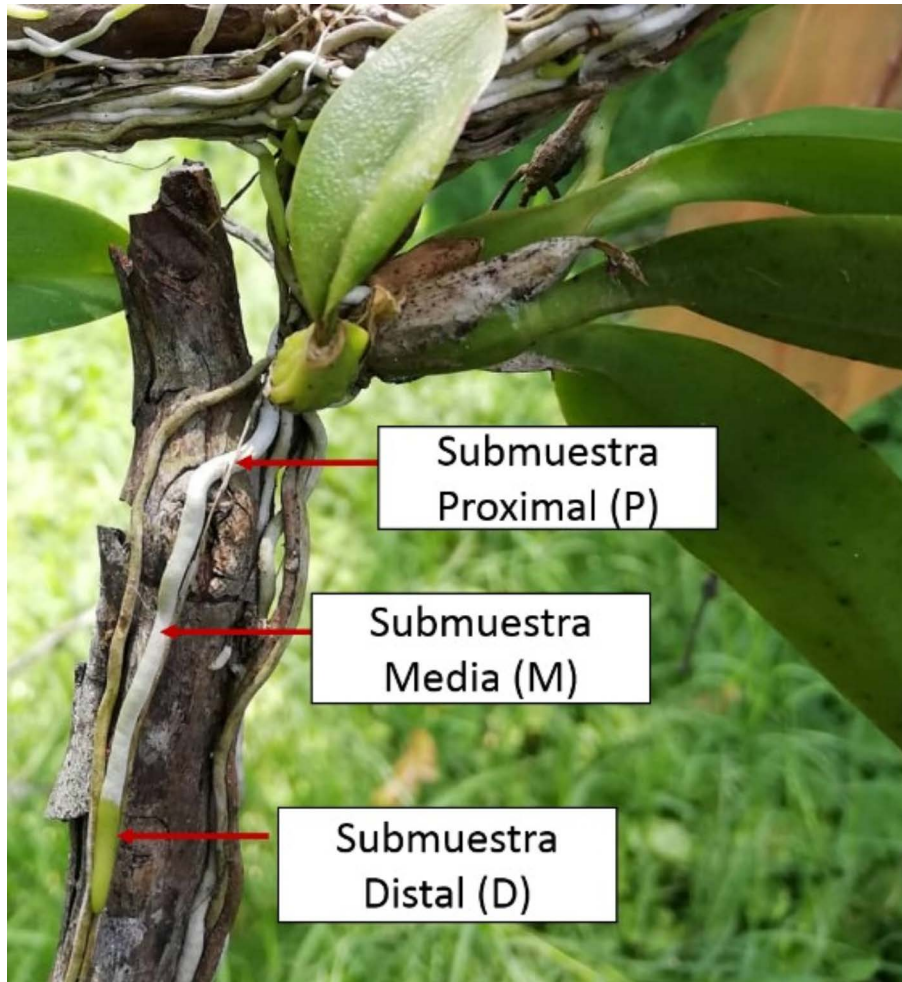


Figura 2. Esquema de la muestra con las respectivas partes utilizadas para el aislamiento de raíz de la orquídea *Rodriguezia granadensis*.

de cloranfenicol y un último repique en medio selectivo, para *Rhizoctonia* (Ko y Hora). Las muestras, se mantuvieron en una incubadora Binder® serie bd avantgarde.line, a una temperatura de 25 °C, hasta observar el desarrollo micelial de los hongos asociados a la raíz (Moreno López & Ariza Castillo, 2020).

Identificación macroscópica y microscópica de los géneros.

La descripción de las características macroscópicas, se realizó a los 7 días después de siembra, en donde se evaluó: textura, tipo de crecimiento y presencia del micelio. La identificación de los hongos, se realizó utilizando un microscopio binocular Leica® Dm500, empleando la clave taxonómica de Barnett & Hunter (1998).

Determinación del índice de diversidad, frecuencia de colonización y abundancia de los hongos encontrados.

Para determinar la diversidad de los hongos micorrícicos encontrados, se utilizó el índice de Shannon-Wiener (H') (Beltrán-Nambo *et al.* 2018); se evaluó el porcentaje de frecuencia de colonización (% FC=((número de unidades muestreadas positivas para la especie/número de unidades muestreadas analizadas)x100) y abundancia relativa (% A= ((número de aislamientos del género/número de aislamientos totales)x100)), del hongo identificado (Lizarazo *et al.* 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de campo. El total de plantas de *R. granadensis* encontradas fue de 20, en 11 puntos diferentes, las cuales, estaban sobre guayabos y cítricos, de la siguiente manera: 70 % de las muestras, en arbustos de guayabo, de los cuales, un 70 % estaban senescentes y, el otro 30 %, en producción; 20 % en arbustos de naranjo (*Citrus X Sinensis*), que se encontraban en fase de producción y el 10 % restante, en arbustos de mandarino (*Citrus reticulata*); de éstos, un 60 %, se encontraba en producción y, el otro 40 %, senescentes.

La distribución de *R. granadensis* es similar a la reportada por Reina-Rodríguez & Otero (2011), quienes indican que, en hábitats transformados o intervenidos, esta orquídea se distribuye en parches y muestra preferencia por arbustos de guayabos y de cítricos. De manera similar, Gil-Clavijo *et al.* (2020) reportaron a los guayabos como el forofito donde crece *R. granadensis*, en un paisaje fragmentado en el Valle del Cauca (Colombia), lo cual, se debe a las condiciones ambientales que estos le proporcionan (Mejía Rosero & Pino Benítez, 2010).

Fase de laboratorio

Identificación de enrollamientos hifales (pelotones). En los cortes transversales de las diferentes partes de la raíz de *R. granadensis* analizadas por separado (Figura 3), se obtuvo que, en las submuestras del extremo proximal, un 70 % de las células presentaron pelotones; en la submuestra parte media de la raíz, un 60 % y en el extremo distal de la raíz, un 35 %.

Rivas *et al.* (1998), Rasmussen & Whigham (2002) y Bertolini *et al.* (2014) encontraron pelotones en raíces que estaban en contacto con el sustrato, es decir, la corteza del forofito, debido a que en las orquídeas epífitas los hongos entran en contacto con el sustrato por medio de las hifas, que salen de las raíces y absorben nutrientes.

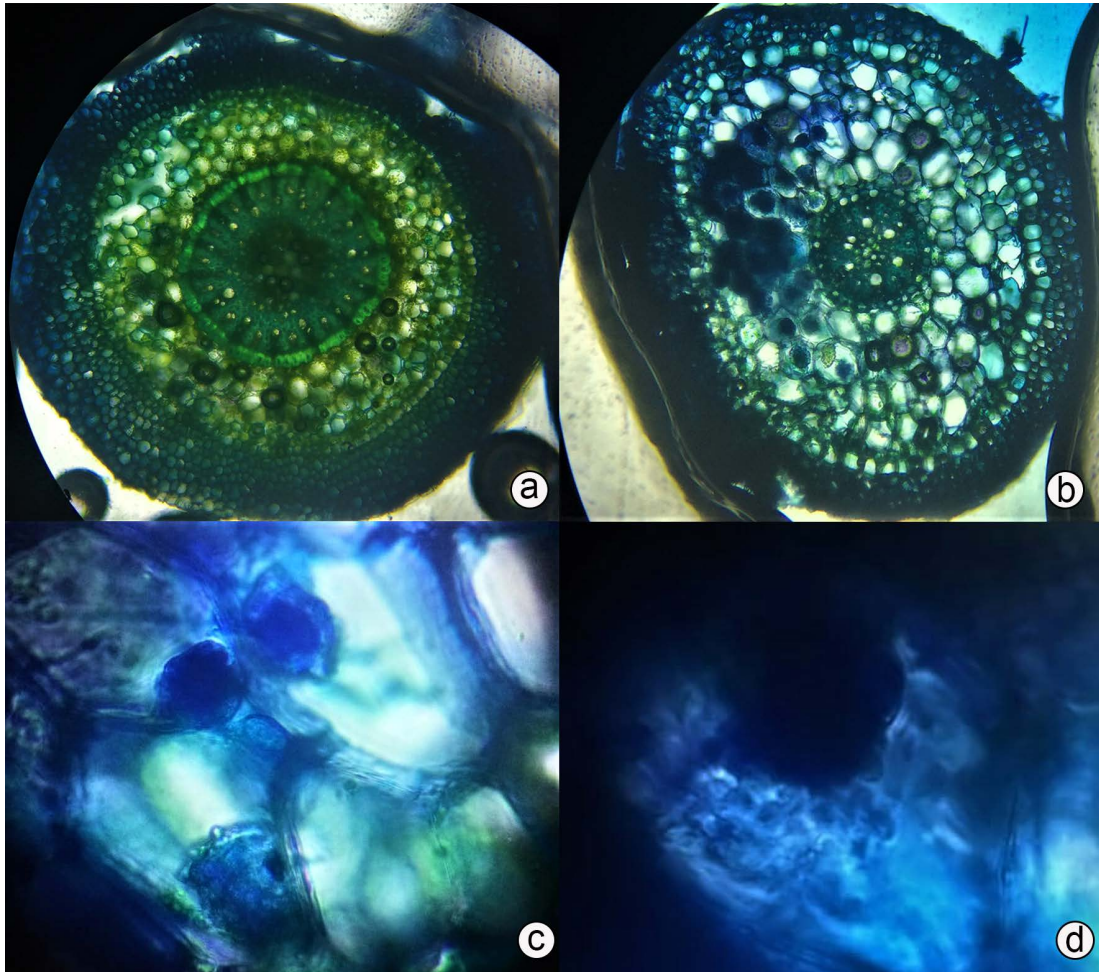


Figura 3. Corte transversal en raíz de la orquídea *Rodriguezia granadensis*. a) Cilindro central sin presencia de pelotones; b) Corte transversal con presencia de pelotones; c) Pelotones e hifas teñidos con azul de metileno; d) Acercamiento de pelotones. Fotografía microscópica (40x y 100x).

Zettler & Corey (2018) indican que los pelotones son digeridos como fuente de carbono (micotrofia), de una forma controlada, según las necesidades de la planta; por otra parte, el número de pelotones en la raíz varía de una planta a otra. En las plantas epífitas, a inicios de las épocas lluviosas, se encuentra mayor cantidad respecto a la temporada seca. Osorio-Gil *et al.* (2008), Bertolini *et al.* (2014) y Jiménez-Peña *et al.* (2018) reportan que la cantidad de pelotones se incrementa al aumentar la madurez de la raíz y al estar en contacto con el sustrato, es decir, la corteza del forofito y al ser estas plantas epífitas, su desarrollo está sujeta, en cierta forma, a la asociación micorrízica, es decir, depende del carbono suministrado por el hongo. Asimismo, Ma *et al.* (2015), también observaron pelotones en raíces de las orquídeas epífitas *Dendrobium* spp. y *Cymbidium* spp., que estuvieron en contacto con el sustrato.

Caracterización microscópica de las muestras. Se obtuvieron 44 submuestras, de las cuales, 39 pertenecen al género-forma *Rhizoctonia* (Figura 4), lo que corresponde al 88,64 % de los aislamientos; cinco submuestras (11,36 % de los aislamientos), no presentaron esporulación y se denominaron *micelia sterilia*, ya que tampoco se logró observar las características que permitieran identificarlos como *Rhizoctonia*. El género-forma *Rhizoctonia*, se caracteriza por la ausencia de conidias y por formar hifas hialinas, cuando pasa por su etapa juvenil y, a medida que va madurando, se torna de color amarillo, café rojizo a oscuro. Se pueden observar células largas y ramificaciones formando un ángulo recto con la hifa principal, haciéndose más estrecha en el punto de la bifurcación y la presencia de un septo cerca de ésta (Figura 4 a, b, c, e, f, g). En ocasiones es posible observar células elipsoides a globosas,

conocidas como células moniloides (Figura 4 d, h, i, j) (Ding *et al.* 2014; Zettler & Corey, 2018).

Características macroscópicas de los aislamientos. El 70 % de las submuestras caracterizadas presentó una textura micelial algodonosa; el 30 % restante, tuvo una textura felposa. En cuanto

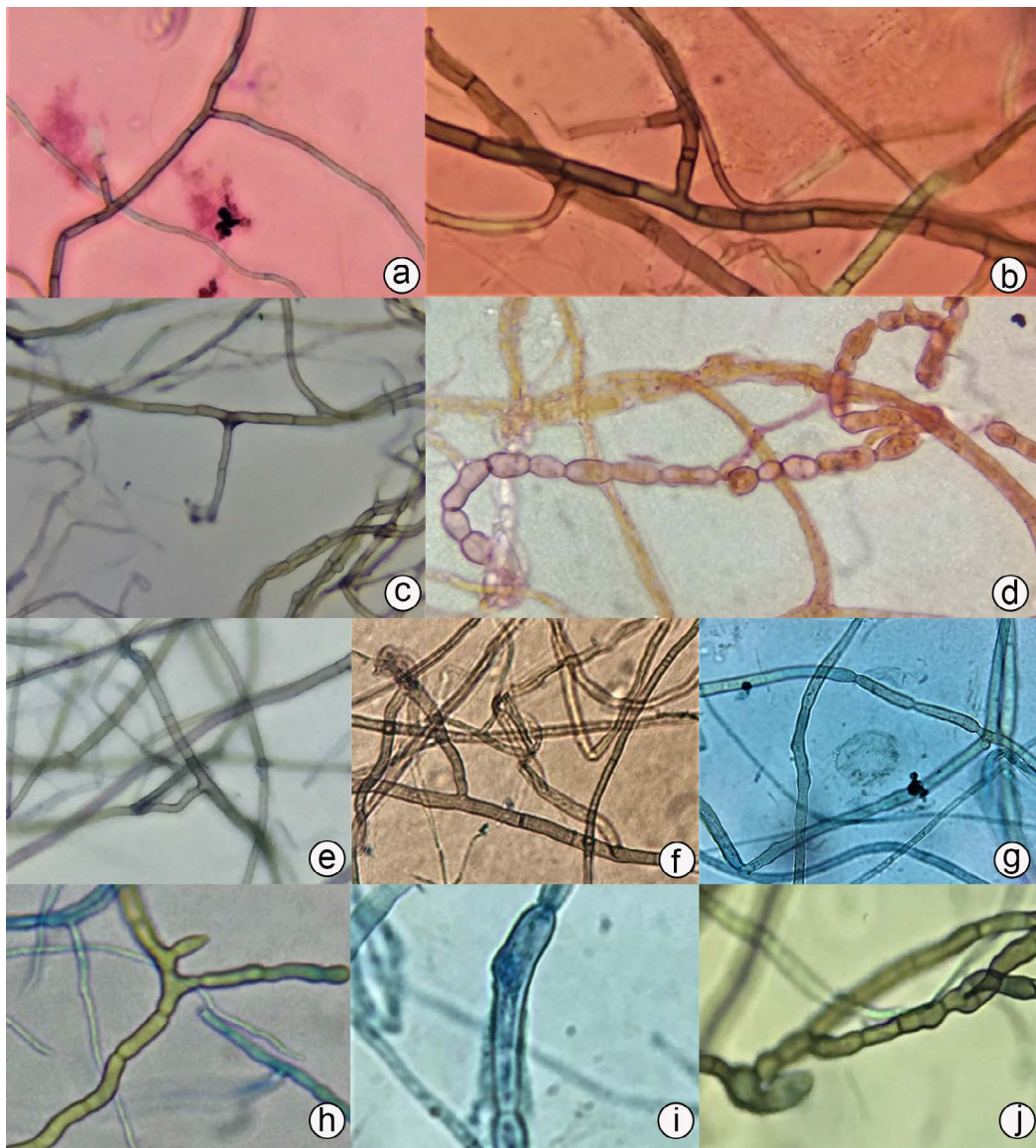


Figura 4. Aislamientos de hifas teñidas con azul de lactofenol identificadas morfológicamente como género-forma *Rhizoctonia*; vista microscópica en 40 x y 100 x. a) P4M6F; b) P4M4M; c) P1M1M; d) P4M6M, se puede observar células moniloides; e) P4M1M; f) P4M4M; g) P2M1I; h) P2M1M; i) P2M2I; j) P8M1M.

al tipo de crecimiento de las colonias, el 31,82 % presentaron color blanco; el 27,27 %, café rojizo; el 20-45 %, color café oscuro y el 20,45 % restante, amarillo. En cuanto a la presencia del micelio, el 40,91 % fue abundante; el 36,36 %, moderado y 22,73 %, poco (figura 5). Se ha descrito que el color de las colonias del género *Rhizoctonia* varía entre colores que van de blanco, crema a castaño y crecimiento abundante (Giovannini *et al.* 2005; Zettler & Corey, 2018), lo cual, coincidió con lo observado en esta investigación.

Según la parte de la raíz, se presentó mayor porcentaje del género-forma *Rhizoctonia* en la parte media, con 36 %, seguida de la parte proximal, con 33 % y la parte final, con 31 %, coincidiendo con

Durán *et al.* (2007) y Ordóñez C. *et al.* (2012), quienes reportaron, en las orquídeas *Gavilea araucana*, *Vanilla planifolia*, *Elleanthus amethystinoide*, *Trichoceros antennifer*, *Epidendrum chioneum*, *Stelis* sp., *Epidendrum* sp. y *Pleurothallis linguifera*, mayor colonización del género-forma *Rhizoctonia*, en la zona media de la raíz, seguida de la región basal y, finalmente, la apical.

Se reporta que los hongos formadores de micorrizas en orquídeas son miembros del complejo de *Rhizoctonia*, que comprende taxones de tres familias fúngicas distintas: Tulasnellaceae, Ceratobasidiaceae y Serendipitaceae (Smith & Read, 2008; Dearnaley *et al.* 2012) y esta asociación, se considera como el estado ancestral de la familia



Figura 5. a-b) Células del micelio en cultivo puro obtenido de explantes de raíces de la orquídea *Rodriguezia grandensis*.

(Dearnaley *et al.* 2012; Ogura-Tsujita *et al.* 2021). Los hongos del género *Rhizoctonia* tienen diferentes estrategias tróficas pudiendo actuar como fitopatógenos, endófitos, saprófitos, hongos micorrízicos orquídeas o ectomicorrízicos (Veldre *et al.* 2013; Ogura-Tsujita *et al.* 2021).

Para determinar si había una asociación entre la presencia del género-forma *Rhizoctonia*, la parte de la raíz y el forofito, se realizó una prueba de Chi-cuadrado (Tabla 1), obteniendo resultados de probabilidad asociada mayor a 0,05, lo que indica, que no hay asociación entre estos factores.

Tabla 1. Asociación entre la presencia del género-forma *Rhizoctonia* y las variables submuestra y forofito.

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0,00	8	> 0,9999
Chi CuadradoMV-G2	0,00	8	> 0,9999
Coef.Conting. Cramer	0,00		
Coef.Conting. Pearson	0,00		

Determinación del índice de diversidad, frecuencia de colonización y abundancia de los géneros fúngicos encontrados. Teniendo en cuenta que se encontraron dos grupos de géneros fúngicos asociados a las raíces de *R. grandensis* encontrados en este trabajo (género-forma *Rhizoctonia* y *micelia sterilia*), la diversidad de los hongos endófitos hallados fue muy baja, con $H' = 0,487$, siendo el género-forma *Rhizoctonia*, el endófito dominante. Esto sugeriría, que *R. grandensis* representa un nicho ecológico pobre en cuanto a micobiota endofítica, por lo que arroja un resultado cercano a cero. Este valor posiblemente cambie, si realizan los cálculos después de la identificación molecular de estos aislamientos.

En cuanto al porcentaje de frecuencia de colonización (% FC) y abundancia relativa (% A), el género-forma *Rhizoctonia*, presentó 95 % de colonización en las muestras analizadas y un 65 % de

abundancia relativa del género-forma *Rhizoctonia*, en los aislamientos realizados. Estas variables indican que *Rhizoctonia* spp. se encuentra como hongo micorrízico orquídeoide disponible en los forofitos del agroecosistema del área de estudio. Bayman *et al.* (1997) reportan que en raíces de la orquídea *Lepanthes* sp., el género *Rhizoctonia* tiene una frecuencia de colonización de 45 %, seguido del género fúngico *Xyzzaria*, con un 29 %. Ordóñez *et al.* (2015) obtuvieron una frecuencia de colonización del género-forma *Rhizoctonia* en raíces de orquídeas *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl., del 83,8 %, en plantas jóvenes y el 54,8 %, en plantas adultas. Por el contrario, en aislamientos de raíz de *Dendrobium nobile* no se reporta la presencia de *Rhizoctonia*, sino de los géneros *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Xyzzaria* (Yuan *et al.* 2009). No se reportan estudios similares para orquídeas del género *Rodriguezia* en otros ecosistemas naturales o en sistemas productivos.

El reconocimiento de los hongos asociados a las raíces de orquídeas *R. granadensis* permitirán realizar estudios que evalúen el efecto de los microorganismos asociados a las raíces en el crecimiento vegetal, el análisis de los efectos que hace el hongo micorrícico orquídeoide encontrado en la estimulación de la tolerancia a estrés, las defensas de la planta y cómo mejora la absorción de nutrientes.

De forma general, se concluye que, en las raíces de *R. granadensis*, el género fúngico más abundante es *Rhizoctonia*, por lo tanto, se recomienda realizar trabajos tendientes a la identificación de las especies asociadas y profundizar en el entendimiento de la interacción micorrícica, para propender por el cuidado de esta orquídea en condiciones naturales y hacer un aprovechamiento de este conocimiento para la propagación, a nivel comercial.

Agradecimientos. Al grupo de investigación Prosafig y a las oficinas de Desarrollo Económico y Turismo de la Alcaldía Municipal de Fusagasugá, por contribuir en el desarrollo del proyecto de investigación “Aspectos generales de la ecología de orquídeas nativas en el ecosistema hacienda Betania, con proyección a su conservación, manejo y producción”, de la Universidad de Cundinamarca. A Alberto Suárez, por su colaboración en el laboratorio de Microbiología de la Universidad de Cundinamarca.

REFERENCIAS

- BARNETT, H.; HUNTER, B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi fourth (fourth ed.). The American Phytopathological Society (Minnesota, USA). 218p.
- BAYMAN, P.; LEBRON, L.L.; TREMBLAY, R.L.; JEAN LODGE, D. 1997. Variation in endophytic fungi from roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae). *New Phytol.* 135:143-149.
- BELTRÁN-NAMBO, M.D.L.A.; MARTÍNEZ-TRUJILLO, M.; MONTERO-CASTRO, J.C.; SALGADO-GARCIGLIA, R.; OTERO-OSPINA, J.T.; CARREÓN-ABUD, Y. 2018. Fungal diversity in the roots of four epiphytic orchids endemic to Southwest Mexico is related to the breadth of plant distribution. *Rhizosphere.* 7:49-56. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.07.001>
- BERTOLINI, V.; CRUZ-BLASI, J.; DAMON, A.; VALLE, J. 2014. Seasonality and mycorrhizal colonization in three species of epiphytic orchids in southeast Mexico. *Acta Botanica Brasílica.* 28(4):512-518. <https://doi.org/10.1590/0102-33062014abb3436>
- CALDERÓN, E. 2006. Libro Rojo de Plantas de Colombia. Orquídeas, Primera Parte. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Vol. 3. Instituto Alexander von Humboldt - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (Bogotá, Colombia). 828p.
- CHASE, M.W.; CAMERON, K.M.; FREUDENSTEIN, J.V.; PRIDGEON, A.M.; SALAZAR, G.; VAN DEN BERG, C.; SCHUITEMAN, A. 2015. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 177(2):151-174. <https://doi.org/10.1111/boj.12234>
- DEARNALEY, J.D.W.; CAMERON, D.D. 2016. Nitrogen transport in the orchid mycorrhizal symbiosis-further evidence for a mutualistic association. *New Phytologist.* 213(1):10-12. <https://doi.org/10.1111/nph.14357>
- DEARNALEY, J.D.W.; MARTOS, F.; SELOSSE, M.A. 2012. 12 Orchid mycorrhizas: molecular ecology, physiology, evolution and conservation aspects. In: Hock, B. (ed.). *Fungal associations. The mycota (A comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research)*. Springer (Berlin, Germany). p.207-230. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30826-0_12
- DING, R.; CHEN, X.H.; ZHANG, L.J.; YU, X.D.; QU, B.; DUAN, R.; XU, Y.F. 2014. Identity and specificity of *Rhizoctonia*-like fungi from different populations of *Liparis japonica* (Orchidaceae) in Northeast China. *PloS one.* 9(8):e105573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105573>
- DURÁN, C.; RIVERO, M.; SEEMANN, P. 2007. Identificación de endomicorrizas en la orquídea nativa *Gavilea araucana* (PHIL.) Correa. *Agrosur.* 35(2):67-69. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2007.v35n2-32>
- EVANS, A.; JANSSENS, S.; JACQUEMYN, H. 2020. Impact of climate change on the distribution of four closely related *Orchis* (Orchidaceae) species. *Diversity.* 12(8):312. <https://doi.org/10.3390/d12080312>
- GALE, S.W.; FISCHER, G.A.; CRIBB, P.J.; FAY, M.F. 2018. Orchid conservation: bridging the gap between science and practice. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 186(4):425-434. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy003>
- GIL, K.S.; JÁCOME, J. 2014. Representatividad de las colecciones “ex situ” de la familia Orchidaceae en la franja altitudinal entre bosque andino y páramo, en el departamento de Cundinamarca, Colombia. *Orquídeología.* 31(2):144-172.
- GIL-CLAVIJO, A.I.; BOHÓRQUEZ, M.A.; REYES, Y.Y. 2020. La precipitación está asociada con la fenología de *Rodriguezia granadensis* (Lindl.) Rchb. f. en Fusagasugá, Cundinamarca. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica.* 23(1):e1511. <https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n1.2020.1511>
- GIOVANNINI, C.; ANDRADE, N.; VALENZUELA, E.; CASTRO, I.; CONTRERAS, A. 2005. Caracterización

- morfológica y patogénica de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) provenientes de diferentes predios de la X región de Chile. *IDESIA* Chile. 23(1):13-18.
16. HADLEY, G.; WILLIAMSON, B. 1971. Analysis of the post-infection growth stimulus in orchid mycorrhiza. *New Phytologist*. 70(3):445-455.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1971.tb02546.x>
 17. HERRERA, H.; VALADARES, R.; CONTRERAS, D.; BASHAN, Y.; ARRIAGADA, C. 2017. Mycorrhizal compatibility and symbiotic seed germination of orchids from the Coastal Range and Andes in south central Chile. *Mycorrhiza*. 27:175-188.
<https://doi.org/10.1007/s00572-016-0733-0>
 18. JACQUEMYN, H.; DUFFY, K.J.; SELOSSE, M.-A. 2017. Biogeography of orchid mycorrhizas. In: Tedersoo, L. (eds). *Biogeography of Mycorrhizal Symbiosis. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*. Springer, Cham. p.159-177.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-56363-3_8
 19. JIMÉNEZ-PEÑA, N.; SANDOVAL-VILLA, M.; VOLKE-HALLER, V.H.; PEDRAZA-SANTOS, M.; FERNÁNDEZ-HERRERA, E. 2018. Colonización micorrízica de *Laelia autumnalis* (La Llave & Lex.) Lindl.). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 5(15):547-553.
<http://dx.doi.org/10.19136/era.a5n15.1756>
 20. KAUR, S. 2020. Mycorrhiza in Orchids. In: Merillon, J.M.; Kodja, H. (eds). *Orchids phytochemistry, biology and horticulture*. Springer, Cham. p.1-14.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-11257-8_7-1
 21. KUGA, Y.; SAKAMOTO, N.; YURIMOTO, H. 2014. Stable isotope cellular imaging reveals that both live and degenerating fungal pellets transfer carbon and nitrogen to orchid protocorms. *New Phytologist*. 202(2):594-605.
<https://doi.org/10.1111/nph.12700>
 22. LIZARAZO, P.; MENDOZA, M.; GUTIERREZ, A. 2015. Diversidad de la microbiota endófito de *Cattleya percivaliana* y *Cattleya trianaei* cultivadas en invernadero. *Actualidades Bilógicas*. 37(102):67-78.
 23. MA, X.; KANG, J.; NONTACHAIYAPOOM, S.; WEN, T.; HYDE, K.D. 2015. Non-mycorrhizal endophytic fungi from orchids. *Current science*. 109(1):36-51.
 24. MEJÍA ROSERO, H.; PINO BENÍTEZ, N. 2010. Diversidad de Orquídeas epífitas en un bosque húmedo tropical (BH-T) del departamento del Chocó, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. 15(2):37-46.
 25. MORENO LÓPEZ, J.P.; ARIZA CASTILLO, C.A. 2020. Procedimientos de laboratorio para la búsqueda de hongos formadores de micorrizas y microorganismos endófitos en orquídeas. En: Banda Sánchez, L.; Gil Clavijo, A.I.; Moreno López, J.P.; Ariza Castillo, C.A.; Vanegas Martínez, L.E. (eds). *Metodologías de muestreo y procedimientos en laboratorio para investigaciones en orquídeas presentes en la región del Sumapaz-Colombia*. Editorial Universidad de Cundinamarca. p.48-57.
 26. OGURA-TSUJITA, Y.; YUKAWA, T.; KINOSHITA, A. 2021. Evolutionary histories and mycorrhizal associations of mycoheterotrophic plants dependent on saprotrophic fungi. *Journal of plant research*. 134(1):19-41.
<https://doi.org/10.1007/s10265-020-01244-6>
 27. ORDÓÑEZ, N.F.; OTERO OSPINA, J.T.; DIAZ, L.A. 2015. Interacciones Micorrízicas de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl. *Orquideología*. 31(2):123-135.
 28. ORDÓÑEZ C., N.F.; OTERO, J.T.; DÍEZ G., M.C. 2012. Hongos endófitos de orquídeas y su efecto sobre el crecimiento en *Vanilla planifolia* Andrews. *Acta Agronómica*. 61(3):283-291.
 29. OSORIO-GIL, E.M.; FORERO-MONTAÑA, J.; OTERO, J.T. 2008. Variation in Mycorrhizal Infection of the epiphytic orchid *Ionopsis utricularioides* (Orchidiaceae) on different substrata. *Caribbean Journal of Science*. 44(1):130-132.
<https://doi.org/10.18475/cjos.v44i1.a15>
 30. OSPINA-CALDERÓN, N.H.; DUQUE-BUITRAGO, C.A.; TREMBLAY, R.L.; TUPAC OTERO, J. 2015. Pollination ecology of *Rodriguezia granadensis* (Orchidaceae). *Lankesteriana*. 15(2):129-139.
 31. RASMUSSEN, H.N.; WHIGHAM, D.F. 2002. Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy. *New Phytologist*. 154:797-807.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00422.x>
 32. REINA-RODRÍGUEZ, G.A.; OTERO, J.T. 2011. Guía ilustrada de las orquídeas del Valle geográfico del Río Cauca y Piedemonte andino bajo. Asociación Vallecaucana de Orquideología. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira (Palmira, Colombia). 96p.
 33. RIVAS, M.; WARNER, J.; BERMÚDEZ, M. 1998. Presencia de micorrizas en orquídeas de un jardín botánico neotropical. *Revista de Biología Tropical*. 46(2):211-216.
 34. SARSAIYA, S.; SHI, J.; CHEN, J. 2019. A comprehensive review on fungal endophytes and its dynamics on Orchidaceae plants: current research, challenges, and future possibilities. *Bioengineered*. 10(1):316-334.
<https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1644854>

35. SATHIYADASH, K.; MUTHUKUMAR, T.; KARTHIKEYAN, V.; RAJENDRAN, K. 2020. Orchid mycorrhizal fungi: structure, function, and diversity. In: *Orchid biology: recent trends & challenges*. Springer (Singapore). p.239-280. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9456-1_13
36. SHEFFERSON, R.P.; JACQUEMYN, H.; KULL, T.; HUTCHINGS, M.J. 2020. The demography of terrestrial orchids: Life history, population dynamics and conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 192(2):315-332. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz084>
37. SMITH, S.E.; READ, D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press. 800p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6>
38. VALENCIA, J. 2014. *Las Orquídeas de San José de Suaita (Santander, Colombia)*. Universidad Nacional de Colombia (Bogotá). 307p.
39. VELDRE, V.; ABARENKOV, K.; BAHRAM, M.; MARTOS, F.; SELOSSE, M.A.; TAMM, H.; KÓLJALG, U.; TEDERSOO, L. 2013. Evolution of nutritional modes of Ceratobasidiaceae (Cantharellales, Basidiomycota) as revealed from publicly available ITS sequences. *Fungal ecology*. 6(4):256-268. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.03.004>
40. VENTRE-LESPIAUCQ, A.B.; DELGADO, J.A.; OSPINA-CALDERÓN, N.H.; OTERO, J.T.; ESCUDERO, A.; SÁNCHEZ, M.A.; BALAGUER, L.; FLANAGAN, N.S. 2017. A tropical epiphytic orchid uses a low-light interception strategy in a spatially heterogeneous light environment. *Biotropica*. 49(3):318-327. <https://doi.org/10.1111/btp.12425>
41. YEH, C.M.; CHUNG, K.; LIANG, C.K.; TSAI, W.C. 2019. New insights into the symbiotic relationship between orchids and fungi. *Applied Sciences*. 9(3):585. <https://doi.org/10.3390/app9030585>
42. YUAN, Z.-L.; CHEN, Y.-C.; YANG, Y. 2009. Diverse non-mycorrhizal fungal endophytes inhabiting an epiphytic, medicinal orchid (*Dendrobium nobile*): estimation and characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2(25):295-303. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9893-1>
43. ZETTLER, L.; COREY, L. 2018. Orchid mycorrhizal fungi: Isolation and identification techniques. In: Lee, Y.I.; Yeung, E.T. (eds). *Orchid propagation: From laboratories to greenhouses-methods and Protocols*. Springer Science. p.27-59. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7771-0_2