



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

MAESTRIA EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE

TITULO:

Estudio comparativo de la riqueza de hongos endófitos asociados a la diversidad de orquídeas epífitas en los bosques de Mazán y la zona de influencia del Parque Nacional El Cajas

TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE

AUTOR: Biol. Marjorie Jazmin Salazar Orellana

DIRECTOR: Msc. Denisse Fabiola Peña Tapia

CUENCA, ECUADOR

(2017)



RESUMEN

Los microorganismos juegan un papel importante en la nutrición y el desarrollo de las plantas. En el caso de las orquídeas, se conoce que este grupo de plantas requiere de una simbiosis obligada para su germinación y nutrición. Sin embargo, son escasos los estudios sobre la diversidad de hongos que colonizan estas especies y que se mantienen como endófitos cumpliendo diversas funciones, las que aún no son caracterizadas completamente. El objetivo de este trabajo fue determinar las especies de hongos endófitos presentes en raíces de orquídeas epífitas y su posible asociación con patrones de diversidad de estas orquídeas en los bosques siempreverde montano alto de Mazán y Llaviuco. A partir de raíces colectadas en campo de plantas adultas de orquídeas epífitas se aislaron hongos endófitos; de estas 52 cepas fueron identificadas por secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal. La diversidad de orquídeas epífitas fue registrada con base a la riqueza de géneros y especies. Se registraron un total de 6 géneros y 10 especies. No existieron diferencias en la diversidad de orquídeas y riqueza de hongos endófitos cultivables al comparar los bosques evaluados. La riqueza de hongos endófitos con la diversidad de orquídeas epífitas se correlacionaron positivamente, permitiendo inferir el rol simbiótico en la dinámica ecológica de ciertas especies de orquídeas. El aislamiento y conservación de cepas puras de hongos identificados como posibles formadores de micorrizas serán la base para nuevas investigaciones asociadas a la germinación simbiótica, información dirigida a fortalecer programas de conservación y reintroducción de orquídeas.

Palabras claves: ORQUÍDEAS EPÍFITAS, HONGOS ENDÓFITOS, RIQUEZA, DIVERSIDAD, BOSQUES MONTANOS



ABSTRACT

The microorganisms play a preponderant role in the nutrition and development of plants. For the case of orchids, it is known that these plants require a forced symbiosis for their nutrition and germination. However, not much it is known about the diversity of fungi that colonize these species and remain endophytes meeting several functions, many of which are completely uncharacterized. The objective of the present study was to determine the species of endophytes fungi which are present in roots of epiphytic orchids and their possible association with diversity patterns of these orchids in the evergreen upper montane forests Mazán and Llaviuco. From the roots collected along the field, endophytes fungi were isolated, 52 strains were identified through the sequencing of the ITS of ribosomal DNA region. The diversity of epiphytic orchids was registered, and it was possible to identify 6 types and 10 species in total, differences between the orchid diversity and richness of cultivable endophytic fungi could not be found when comparing the forests evaluated. The data showed a positive correlation between the association and the richness of the endophytic fungi and the orchid diversity, making evident the role of endophytic fungi in the dynamic of orchids populations. The isolation and conservation of pure strains of fungi identified as possible formers of mycorrhizae will be the base for new research associated with the symbiotic germination, information expected to be very useful for conservation and reintroduction programs of orchids.

Keywords: EPITHITE ORCHIDS, ENDOPHOTOS FUNGI, WEALTH, DIVERSITY, MOUNTAIN FORESTS



TABLA DE CONTENIDOS

| | |
|---|----|
| RESUMEN..... | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| TABLA DE CONTENIDOS | 3 |
| LISTA DE TABLAS..... | 5 |
| LISTA DE FIGURAS..... | 6 |
| DERECHO DE AUTOR..... | 7 |
| CLAUSULA PROPIEDAD INTELECTUAL..... | 8 |
| AGRADECIMIENTOS | 9 |
| DEDICATORIA..... | 10 |
| CAPITULO I: INTRODUCCIÓN..... | 11 |
| 1.2 OBJETIVO GENERAL | 13 |
| 1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 13 |
| CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 13 |
| 2.1 HONGOS ENDÓFITOS | 13 |
| 2.2 INTERACCIONES ECOLÓGICAS CON ORQUÍDEAS EPÍFITAS | 14 |
| 2.3 IMPLICACIONES PARA LA DISTRIBUCIÓN | 15 |
| CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS | 17 |
| 3.1 ÁREA DE ESTUDIO | 17 |
| 3.2 RECOLECCIÓN DE DATOS | 18 |
| 3.3 RECOLECCIÓN DE MATERIAL EN CAMPO..... | 20 |
| 3.4 AISLAMIENTO DE HONGOS ENDÓFITOS..... | 20 |
| 3.5 ANÁLISIS MOLECULAR..... | 21 |
| 3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 21 |
| CAPITULO IV: RESULTADOS..... | 22 |
| 4.1 DIVERSIDAD DE ORQUÍDEAS EPÍFITAS EN LOS BOSQUES DE MAZAN Y LLAVIUCO | 22 |
| 4.2 RIQUEZA DE HONGOS ENDOFITOS EN LOS BOSQUES DE MAZAN Y LLAVIUCO | 25 |
| CAPITULO V: DISCUSIÓN | 32 |
| CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 35 |



| | |
|--|----|
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 37 |
| ANEXOS | 45 |
| 1. Abundancia de orquídeas epífitas por árbol forófito muestreado dentro de cada parcela en el Bosque de Llaviuco..... | 45 |
| 2. Abundancia de orquídeas epífitas por árbol forófito muestreado dentro de cada parcela en el Bosque de Mazán. | 46 |
| 3. Secuencias con mayor similitud de hongos endófitos en la búsqueda en BLAST..... | 47 |



LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1 Comparación entre los bosques de Mazán y Llaviuco de acuerdo a valores de los índices | 23 |
| Tabla 2 Total de número de orquídeas, géneros y especies registradas en los bosques de Mazán y LLaviuco | 24 |
| Tabla 3 Géneros de hongos endófitos y su presencia en los bosques de Mazán y LLaviuco. | 28 |
| Tabla 4 Comparación entre los bosques de Mazán y Llaviuco de acuerdo a los valores del índice de diversidad y la riqueza..... | 28 |



LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Fig 1 Ubicación de las parcelas concéntricas en los sitios de estudio | 19 |
| Fig 2 Valor del Índice de Shannon (H') en cada parcela por sitio de estudio..... | 23 |
| Fig 3 Abundancia de las orquídeas epífitas en los bosques de Mazán y LLaviuco | 25 |
| Fig 4 Porcentaje de aislamiento por grupos de hongos en los bosques de Mazán y Llaviuco | 26 |
| Fig 5 Número de aislamientos reportados por cada familia de hongos endófitos en los sitios de estudio y los aislamientos Basidiomycete micorrízico y hongo endófito que no fueron identificados hasta familia | 27 |
| Fig 6 Correlación entre la riqueza de hongos endófitos aislados de orquídeas epífitas en los bosques de Mazán y Llaviuco. | 29 |
| Fig 7 Correlación entre diversidad del género Epidendrum y la riqueza de hongos endófitos aislados de éste | 30 |
| Fig 8 Asociación entre las especies de hongos endófitos y las orquídeas epífitas en los bosques de estudio..... | 31 |



Marjorie Jazmin Salazar Orellana, autor/a de la tesis " Estudio comparativo de la riqueza de hongos endófitos asociados a la diversidad de orquídeas epífitas en los Bosques de Mazan y la zona de influencia del Parque Nacional El Cajas", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de (título que obtiene). El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor/a

Cuenca, 20 de febrero del 2017

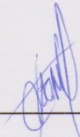
Marjorie Jazmin Salazar Orellana

C.I: 0703228841



Marjorie Jazmin Salazar Orellana, autor/a de la tesis "*Estudio comparativo de la riqueza de hongos endófitos asociados a la diversidad de orquídeas epífitas en los Bosques de Mazan y la zona de influencia del Parque Nacional El Cajas*", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 20 de febrero del 2017



Marjorie Jazmin Salazar Orellana

C.I: 0703228841



AGRADECIMIENTOS

Mi infinito agradecimiento a mi Directora Msc. Denisse Peña Tapia, al PhD. Eduardo Chica, por su apoyo incondicional y su guía en la elaboración de esta investigación. A los docentes PhD. Alfredo Martínez, Msc. Oswaldo Jadán, PhD. Andrés Yarzabal y PhD. Antonio Vallecillo por sus aportes. A la empresa ETAPA E.P por facilitar el acceso a los sitios de estudio. Y a todas las personas que de una u otra forma me apoyaron en éste proceso.

Marjorie Jazmin Salazar Orellana



DEDICATORIA

A mi familia por su apoyo incondicional, en especial a mi esposo Pablo, mi hijo Matias, el motor de mi vida, a mis padres por ser quien soy, a mi hermana Paola y a mi hermana Viviana ejemplo de lucha.

Marjorie Jazmin Salazar Orellana



CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

La familia Orchideaceae es una de las más diversas a nivel mundial, con aproximadamente 20.000 a 35.000 especies (Jiménez et al., 2009). Su distribución se extiende desde el nivel del mar hasta los 5000 metros de altura y desde los 72°norte hasta los 52°sur; registrándose su presencia en todos los continentes, incluso en algunas islas de la Antártida (Swarts y Dixon, 2009). La mayor riqueza de orquídeas se encuentra en zonas tropicales y subtropicales, siendo Ecuador, Colombia, Brasil y Perú los países que registran el mayor número de especies (Endara et al., 2010).

Pese a su amplia distribución, la supervivencia de las orquídeas en la naturaleza se ha reducido significativamente a nivel mundial. Así, por ejemplo, según la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) el 74% de las especies de orquídeas son vulnerables y el 11% están en peligro o peligro crítico.

En Ecuador, es la familia de plantas vasculares más numerosa, con aproximadamente 4000 especies, de las cuales el 40% son endémicas (Jorgensen y León-Yáñez, 1999) y de estas se estima que el 85% presentan algún tipo de amenaza (Valencia, 2010).

La reducción en la distribución y riqueza de orquídeas en el Ecuador se debe principalmente a las actividades antrópicas que ejercen perturbaciones en su hábitat. Especialmente en la región andina donde estudios recientes demuestran que la deforestación ponen en riesgo la permanencia de ecosistemas nativos como los bosques montanos por la ampliación de la frontera agrícola y ganadera (Jadán et al., 2016). Sumado a esto, la especificidad en las relaciones ecológicas de las orquídeas, especialmente con microorganismos y polinizadores, lo cual, en muchos casos limita su supervivencia (Endara et al., 2010).



La distribución y abundancia de orquídeas en sus hábitats naturales depende principalmente de la compatibilidad de las interacciones entre las orquídeas, el medio físico en el cual se desarrollan y otros organismos que comparten este medio (Whigham y Willems, 2003; Newman et al., 2007). Así, las especies de orquídeas han evolucionado en diferentes formas de vida que permite clasificarlas como epífitas, terrestres, saprófitas y litófitas.

Las orquídeas epífitas representan el 75% de todas las especies de la familia Orchidaceae a nivel mundial y su distribución está determinada por la edad y estructura de los bosques en los que habitan, el forófito y biotipo hospedero sobre el cual se desarrollan, la presencia de polinizadores especializados, de otras epífitas en el mismo forófito, y de microorganismos endófitos y rizosféricos (Madison, 1979; McCormick et al., 2012).

La relación entre una orquídea epífita y su forófito puede ser catalogada como un comensalismo u epifitismo. Aquí el árbol hospedero o forófito es utilizado únicamente como soporte, sin causar más daño físico que el ocasionado por su abundancia dentro de las ramas (Ceja et al., 2008). Esta relación entre la orquídea y su forófito puede ser específica o no; en caso de ser específica, la distribución de la orquídea se encadena a la distribución del forófito. (Trapnell & Hamrick, 2006; Jiménez et al., 2009; Mújica et al., 2010; Castro y Márquez, 2015).

En relación a los polinizadores, muchas especies de orquídeas han coevolucionado al punto de haber generado estructuras y mecanismos altamente específicos que promueven la polinización cruzada garantizando la variabilidad genética, distribución y supervivencia de ambos (Juárez et al., 2016).

Por otra parte, la interacción entre orquídeas y microorganismos, principalmente hongos micorrízicos y endófitos, es obligatoria para la germinación de las semillas y su desarrollo. De esta forma, la distribución de muchas especies de orquídeas en su medio natural es la consecuencia de los efectos combinados de cada una de estas interacciones entre la orquídea y su entorno (Rasmussen et al., 2015; Smith, 1966).



Estas interacciones incrementan la complejidad de predecir o modificar patrones en la distribución de estas especies bajo condiciones naturales. Aún más, en las orquídeas epífitas consideradas como el grupo más vulnerable (Zotz & Bader, 2009) sobre el cuál poca información ecológica se ha generado.

En los bosques montanos del sur del Ecuador, a las orquídeas se las conserva sin mayor conocimiento de su ecología e interacciones específicas con otros microorganismos que podrían ser fundamentales para su conservación en la naturaleza. Este trabajo es un aporte al conocimiento y con ello a la conservación, de este recurso.

1.2 OBJETIVO GENERAL

- Generar información sobre la riqueza de hongos endófitos asociados a orquídeas epífitas en los bosques andinos de Mazán y Llaviuco (zona de influencia del Parque Nacional El Cajas)

1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar molecularmente los hongos endófitos aislados.
- Establecer y comparar la riqueza de hongos endófitos asociados a la diversidad de orquídeas epífitas en los bosques de Mazán y Llaviuco (zona de influencia del Parque Nacional El Cajas).
- Crear un banco de hongos asociados a orquídeas epífitas de ambos bosques con fines de conservación y aprovechamiento.

CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 HONGOS ENDÓFITOS

Microorganismos como los hongos, especialmente los endófitos, han despertado el interés de muchos científicos en los últimos años por la interacción que realizan con las plantas y su implicación en la biodiversidad y estructura de las comunidades (McCormick et al., 2012).



Los hongos endófitos son organismos que viven asintóticamente durante una parte o todo su ciclo de vida dentro del tejido vegetal vivo y que pueden formar relaciones simbióticas complejas con su hospedero (Carroll, 1995). Diferenciándose de los hongos endófitos micorrízicos por no formar pelotones al interior de las células (Hyde y Soyong, 2008).

En este caso en particular, la interacción hongo endófito-orquídea, permite al hongo obtener de la planta hospedera estructura espacial, protección contra la desecación y nutrientes (Schulz, 2006). Mientras el hongo ofrece al hospedero defensa contra patógenos al producir metabolitos secundarios (Aly et al., 2011; Rubini et al., 2005) secreción endofítica de fitohormonas (Rey et al., 2001; Schulz et al., 2002) tolerancia a estrés abiótico (Barrow y Aaltonen, 2001; Redman 2002; Barrow 2003;) y movilización de nutrientes a la rizósfera del hospedero (Caldwell et al., 2000; Lodge y Cantrell, 1995; Ohki et al., 2002).

En la mayoría de plantas vasculares y briófitas su nutrición está relacionada directamente con la nutrición de los hongos. Es así, que los hongos endófitos pueden ser responsables de una regulación equilibrada de nutrientes para el crecimiento (García et al., 2003).

2.2 INTERACCIONES ECOLÓGICAS CON ORQUÍDEAS EPÍFITAS

Las orquídeas se encuentran entre las especies vegetales más estudiadas respecto a la interacción planta-microorganismo, debido a su dependencia a hongos endófitos para su nutrición (Ordoñez, 2012). Se reportan varios estudios que han concentrado sus esfuerzos en determinar la diversidad de hongos endófitos no formadores de micorrizas asociados a las raíces y partes aéreas de las orquídeas.

Hasta la fecha, se ha identificado aproximadamente 110 géneros entre los que se reportan *Sordarymycetes*, *Dothideomycetes*, *Leotiomycetes*, *Agaricomycetes* (Xiaoya et al., 2015). Especies de *Pezizomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Chaetothyriomycetes*, *Helotiales*, *Xylariales* y los géneros *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* y *Verticillium* (Bayman et al., 1997; Kasmir et al., 2011).



En el caso de la orquídea epífita *Laelia speciosa* se han reportado géneros de hongos saprófitos, parásitos y micorrízicos (Garibay-Orijel et al., 2011). Estudios en el género de orquídeas epífitas *Dendrobium* han reportado el aislamiento de 127 géneros de hongos endófitos de los cuales 11 pertenecen al género *Rhizoctonia*. Además, de los géneros *Xylaria*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Colletotrichum*, *Pestalotiopsis* y *Phomopsis* (Chen et al., 2012).

En las especies *Cattleya skinneri*, *Cattleya aurantiaca* y *Brassavola nodosa* se evidenció la presencia de hongos endófitos *Trichoderma*, *Epulorhiza* y *Botrytis* en las raíces de plantas adultas que en algunos casos promovían el crecimiento de *Cattleya aurantiaca*. (Ovando et al., 2005).

En Ecuador, Guzmán y Moreno (2014) reportan una alta riqueza de hongos micorrízicos pertenecientes a las familias *Tulasnellaceae*, *Sebasinaceae* y *Ceratobasidiaceae*. presentes en orquídeas epífitas, Cueva (2014) reporta también en *Epidendrum hemiscleria*, *Epidendrum dalessandroi*, *Cyrtochilum flexuosum* y *Cyrtochilum myanthum*, la presencia del hongo micorrízico del género *Tulasnella*, además de grupos de Ascomycetes como Helotiales, Hypocreales y *Fusarium sp* estos últimos como hongos endófitos.

En los géneros *Pleurothallis* y *Stelis* los hongos aislados fueron del grupo de los Ascomycetes, principalmente *Xylaria*, reportado como hongo endófito no micorrízico (Kasmir et al., 2011) *Hypoxylon*, *Cyrtosporiopsis* y con menos frecuencia del grupo de los Basidiomycetes (Suárez, et al., 2006). Sin embargo, no existen estudios concretos que reporten hongos endófitos no formadores de micorrizas en los bosques montanos del Azuay.

2.3 IMPLICACIONES PARA LA DISTRIBUCIÓN

La riqueza y distribución de los hongos endófitos puede estar influenciada por las condiciones climáticas (Gamboa-Gaitán, 2006) y por la especificidad del hospedero. En cuanto, a la especificidad entre las orquídeas y los hongos endófitos no micorrízicos, ha sido menos estudiada en comparación con su biodiversidad (Xiaoya, et al., 2015).



Estudios señalan que existe una mayor especificidad de las orquídeas mycoheterotróficas como *Eulophia zollingeri* a hongos endófitos no micorrízicos (Martos et al., 2009). Sin embargo, también podría observarse especificidad en orquídeas fotosintéticas como *Dendrobium sp.* que frecuentemente se asocia con hongos de la familia *Xylariaceae*. (Yuan et al., 2008; Chen et al., 2013).

A esto se suma la especificidad del hongo endófito por un tejido vegetal en particular, estudios en el género *Lepanthes*, no evidenciaron diferencias significativas entre los hongos endófitos de tallos y raíces (Bayman et al., 1997), contrario a lo reportado por Chen (2013) quién encontró mayor diversidad de hongos endófitos no micorrízicos en hojas que en raíces de orquídeas epífitas del género *Dendrobium* especulando que probablemente la textura de cada órgano de la planta proporciona diferentes hábitats ecológicos con variaciones fisiológicas y químicas para los taxones.

Con respecto a las condiciones climáticas, un aspecto determinante probablemente es el tipo de hábitat en que crece la orquídea, ya que la complejidad espacial donde están presentes los bosques tropicales dan origen a una alta variedad de microclimas y microhábitats (Lodge & Cantrell, 1995) lo que influye significativamente en la diversidad de hongos endófitos no micorrízicos.

Estudios en la orquídea *Cypripedium acaule*, indicaron que la diversidad de los hongos fue determinada por la geografía y el tipo de suelo (Bunch et al., 2013). Sudheep y Sridhar (2012) reportaron haber aislado grupos de hongos endófitos relativamente similares de dos especies de orquídeas que se encontraban distantes pero que habitaban ecosistemas similares. Otro reporte sobre nichos donde habitan las orquídeas es el realizado por Shefferson (2008) quien manifiesta no haber encontrado taxas similares de hongos endófitos no micorrízicos aislados de *Epipactis atrorubens*, de muestras tomadas en dos sitios diferentes.

Es así, que un sin número de factores como el clima, tipo de suelo, geografía, entre otros podrían influenciar en la presencia de hongos endófitos en orquídeas epífitas,



en particular en bosques tropicales montanos. Aquí este grupo de plantas son un componente importante en cuanto a su abundancia, número de especies y la relación que puede existir entre estas con su entorno.

CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDIO

BOSQUE DE MAZAN:

Se encuentra ubicado 10 km al noroeste de la ciudad de Cuenca, en un rango altitudinal que varía entre los 2800 msnm y los 4137 msnm. Geopolíticamente pertenece a las parroquias rurales de San Joaquín y Sayausí. Tiene un área de 2640 hectáreas (Serrano, 1996), cubiertas por páramo, bosque de *Polylepis*, bosque primario y secundario donde se encuentran aproximadamente 300 especies vasculares (Serrano, 1996). Las actividades antrópicas en este bosque son mínimas siendo el acceso restringido a procesos de investigación y conservación, ya que se encuentra protegido por ser una fuente importante de provisión de agua para la ciudad de Cuenca.

BOSQUE DE LLAVIUCO (ZONA DE INFLUENCIA DEL PARQUE NACIONAL EL CAJAS):

Se localiza a 17 km al noroeste de la ciudad de Cuenca, compuesto por páramo de pajonal, bosque primario, secundario y pastizal (Rodas et al., 2005) formando una variedad de agroecosistemas (Minga et al., 2000). Además, es un sitio de importancia para la conservación, en donde el 20% de las especies vegetales presentes están catalogadas como útiles y raras. En la actualidad se encuentran en estado de recuperación, siendo una zona turística de acceso público manejada con criterios de conservación.



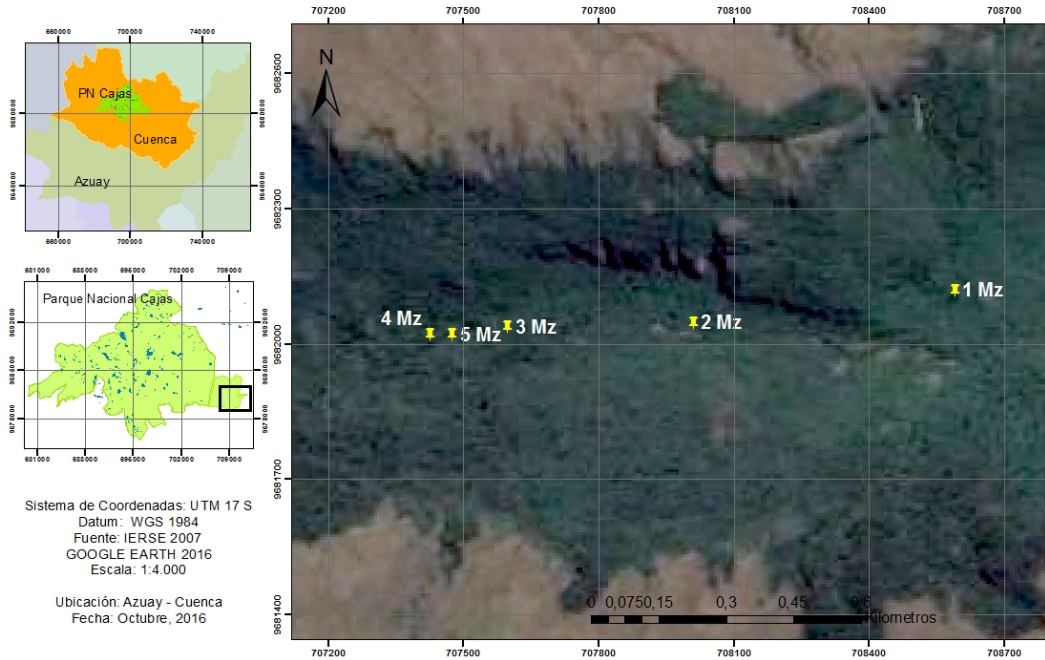
Los bosques de Mazán y LLavicuo presentan una formación vegetal de bosque siempreverde montano alto (Sierra, 1999), ecosistema fundamental para la regulación hídrica. Ambos bosques forman parte de macizo del Cajas, área considerada por la UNESCO como Reserva de Biosfera en el año 2013.

3.2 RECOLECCIÓN DE DATOS

Se empleó la metodología propuesta por Gradstein et al. (2003) que consiste en seleccionar al azar cinco árboles dominantes dispersos en una hectárea de superficie. Alrededor de cada uno se instala una parcela circular concéntrica de 1000 m² (12,7 m de radio) y se registran los datos a evaluar dentro de ella. En este estudio se evaluó la riqueza mediante la identificación *in situ* de cada una de las especies de orquídeas epífitas adultas y la abundancia contabilizándose el número de individuos por especies ubicadas hasta la primera rama de cada uno de los árboles mayores a 10 cm de diámetro a la altura del pecho (DAP).



Ubicación Puntos de Muestreo - Bosque Mazan



Ubicación Puntos de Muestreo - Bosque Llaviuco

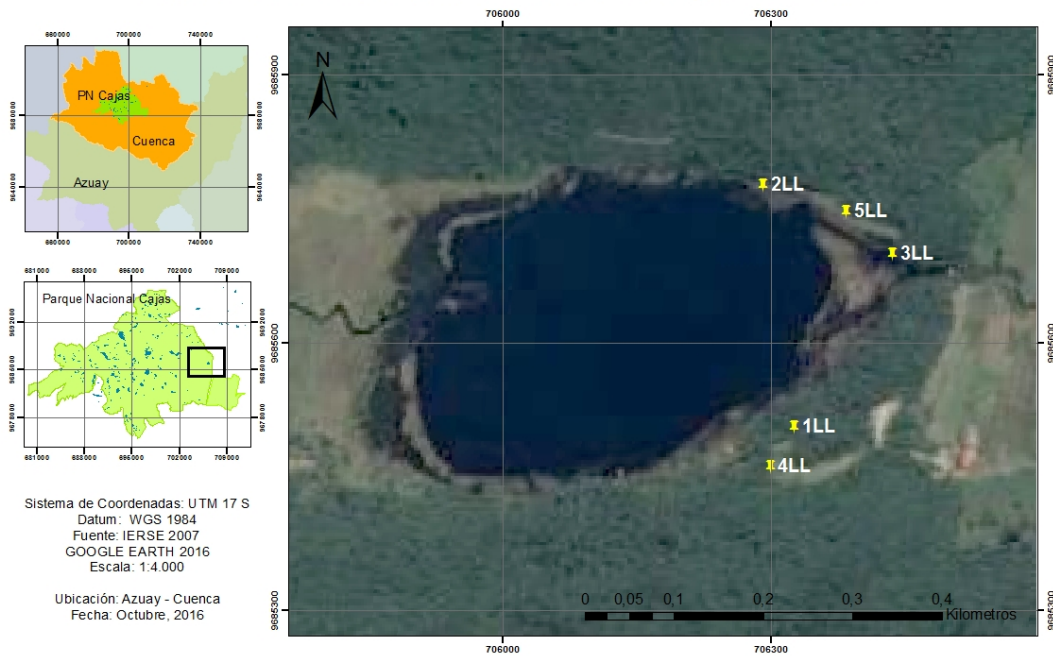


Fig. 1 Ubicación de las parcelas concéntricas en los sitios de estudio



3.3 RECOLECCIÓN DE MATERIAL EN CAMPO

Dentro de las parcelas circulares establecidas, en todos los árboles con un diámetro a la altura del pecho (DAP) mayor o igual a 10 cm, se muestrearon tres orquídeas por cada uno de los géneros identificados hasta la primera rama, siguiendo los criterios de “zonificación forofítica” de Johansson (1974) que corresponde a la sección I: desde la base del tronco hasta los 3m de altura y la sección II: el resto del tronco hasta el nacimiento de las primeras ramas.

Se colectó un segmento de raíz de aproximadamente 5 cm por planta adulta. Las muestras se mantuvieron húmedas y en refrigeración hasta su procesamiento.

3.4 AISLAMIENTO DE HONGOS ENDÓFITOS

Los hongos endófitos fueron aislados siguiendo el protocolo descrito por (Zettler et al., 2003) modificando el porcentaje de hipoclorito de sodio del 5% al 2%. Las raíces colectadas fueron lavadas en agua corriente y desinfectadas superficialmente durante un minuto en una solución compuesta por 5ml de etanol absoluto (96%), 5 ml de hipoclorito de sodio al 2% y 90 ml de agua destilada estéril, seguido por tres enjuagues con agua destilada estéril para eliminar la solución desinfectante. Los segmentos de raíces de 2cm de longitud fueron transferidos individualmente a cajas petri y cortados en fragmentos más pequeños con el fin de liberar pelotones o hifas de hongos endófitos. A continuación, se añadió medio de cultivo nutritivo fungus isolation medium (FIM) específico para el desarrollo de hongos, suplementado con sulfato de streptomicina 300mg/l para reducir la contaminación por bacterias; finalmente las cajas fueron selladas con parafilm e incubadas a 40°C en oscuridad. Transcurrido dos días del aislamiento cada una de las hifas de los hongos que iniciaron su desarrollo fueron separadas y subcultivadas en cajas petri en medio de cultivo Papa Agar Dextrosa (PDA) con el fin de obtener cepas puras y promover el crecimiento del micelio requerido para la extracción de ADN, las cepas se mantuvieron a 40°C, hasta su procesamiento para el análisis molecular.



3.5 ANÁLISIS MOLECULAR

El ADN de los hongos aislados fue extraído siguiendo las especificaciones del Kit comercial de extracción PureLink Genomic DNA (Invitrogen), posteriormente el ADN fue amplificado usando primers universales para eucariotas ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') (White et al., 1990) y TW14 (5'-GCTATCCTGAGGGAACTTC-3') (Cullings, 1994) para amplificar la región ITS1-5.8S- ITS2 y 28S parcial de rDNA. La amplificación fue realizada en un termociclador programado para 34 ciclos. Cada ciclo consistió en 30 seg. a 94°C desnaturalización, 45 seg. a 57°C alineamiento y 45 seg. a 72°C extensión. Los productos de la amplificación se comprobaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Posteriormente se realizó una anidación con los primers ITS1 y NLB4 (5'-GGATTCTCACCTCTATGAC-3') para reducir el tamaño del amplicon. Los amplicones fueron enviados para secuenciación en MacroGen (Sur Korea).

Con las secuencias obtenidas se construyó un alineamiento múltiple en *MultAlin* (Corpet, 1998) con la finalidad de establecer secuencias repetidas, posteriormente se editaron mediante *Bioedit sequence Alignment Editor* para eliminar el ruido que podría interferir en los resultados durante la búsqueda en BLAST. Con los resultados obtenidos de la secuenciación se realizaron asignaciones taxonómicas por máxima similitud entre el 70% y 100% con las secuencias publicadas en GenBank mediante una búsqueda en BLAST.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para evaluar la riqueza de hongos y diversidad de orquídeas epífitas entre los diferentes bosques, se empleó un diseño completamente al azar con dos tratamientos (T1= Bosques Mazán, T=2 Bosque Llavicu), con cinco repeticiones que fueron cada una de las parcelas circulares implementadas en los sitios de estudio.

Se evaluó la abundancia definida como el número de individuos por especie registrada durante el muestreo. La riqueza como el número de especies que se detectan en un muestreo. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa estadístico IBM SPSS 22, para determinar diferencias significativas.



Para analizar la diversidad de los sitios en estudio se aplicó el índice de Shannon (H') que expresa cuan diversa es una muestra, su fórmula: $H = -\sum p_i \ln(p_i)$. El índice de Simpson (D) manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de la misma muestra pertenezcan a la misma especie, su fórmula: $D = \sum p_i \cdot p_i$ o sea $D = \sum p^2$ y el índice de Pielou (J) que determina la equitatividad de la distribución de la abundancia de las especies en un ecosistema, su fórmula: $J = H' / \log 2 S$

La asociación entre orquídeas epífitas y hongos endófitos por sitio de estudio fue evaluada mediante la aplicación de un análisis de correlación que nos permitió asociar la presencia de los hongos identificados con las diferentes especies de orquídeas de las que fueron aislados.

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 DIVERSIDAD DE ORQUÍDEAS EPÍFITAS EN LOS BOSQUES DE MAZAN Y LLAVIUCO

Los valores presentados en la tabla 1, indican las posibles relaciones o diferencias entre los sitios de estudio, de acuerdo a la riqueza, abundancia, diversidad, equidad y dominancia de las orquídeas epífitas.

Al comparar la abundancia de orquídeas entre ambos bosques esta fue significativamente diferente ($p= 0.028$) al registrarse mayor abundancia en el bosque de LLaviuco, que en el bosque de Mazán, 506 y 106 individuos respectivamente. No obstante, no existió estadísticamente diferencia significativa ($p= 0.069$) al analizar la riqueza de los bosques.

En cuando a los índices, el índice de Shannon (H') pone en evidencia que la diversidad es semejante en los bosques, de acuerdo al valor $p= 0.175$ no existen diferencias significativas. Similares resultados se presenta en el índice de Simpson (D), al comparar los bosques de Mazán y Llaviuco ($p=0.545$) no existiendo diferencia significativa en cuanto a la dominancia de especies.



El índice de Pielou (J') o equidad presento un valor de 0.604 y 0.643 en los bosques de Mazán y Llaviuco, respectivamente. Esto indica una distribución no equitativa de la abundancia sobre las especies de orquídeas en ambos bosques.

| Bosque | Riqueza | Abundancia | Shannon H' | Equidad J' | Simpson D |
|----------|---------|------------|--------------|--------------|-----------|
| Mazán | 2.8 | 53 | 0.678 | 0.604 | 0.392 |
| Llaviuco | 5.2 | 278 | 1.006 | 0.643 | 0.254 |
| Valor p | 0.069 | 0.028 | 0.175 | 0.295 | 0.545 |

Tabla 1 Comparación entre los bosques de Mazán y Llaviuco de acuerdo a valores de los índices

Por otro parte, al comparar cada una de las parcelas mediante los valores del Índice de Shannon estas presentan una diversidad similar (Figura 2).

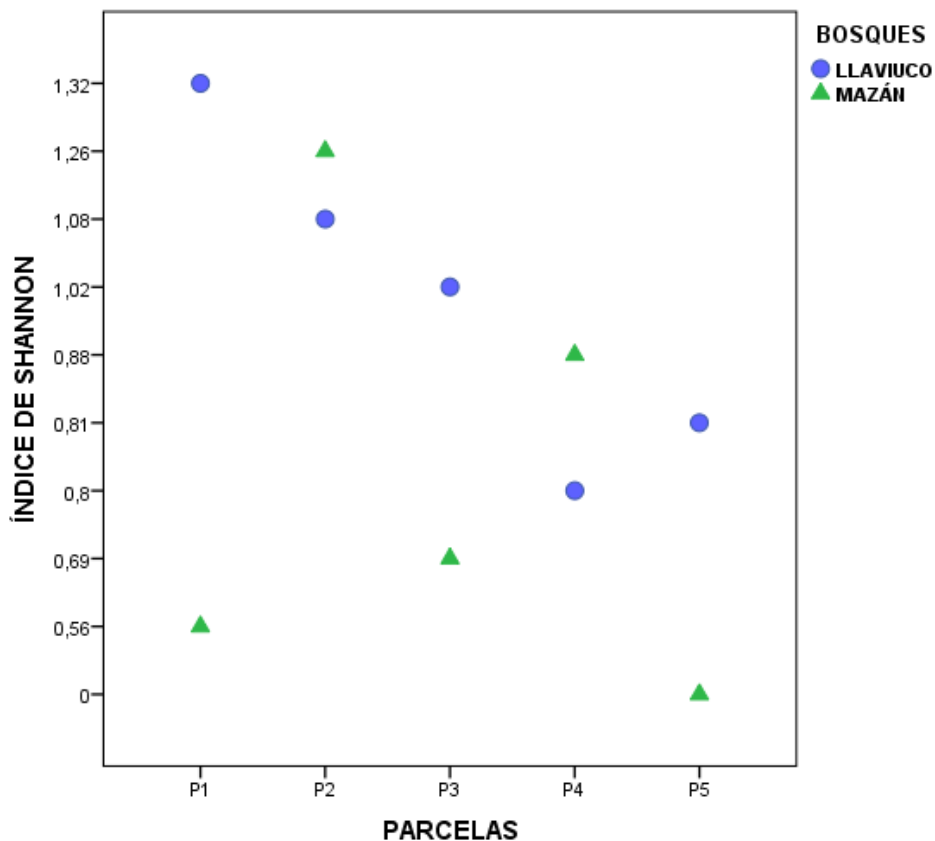


Fig. 2 Valor del Índice de Shannon (H') en cada parcela por sitio de estudio.



Como resultado del estudio, se contabilizaron un total de 612 individuos, distribuidos en 6 géneros y 10 especies (Tabla 2).

| Variables evaluadas | Mazán | LLaviuco |
|----------------------------|--------------|-----------------|
| Número de orquídeas | 106 | 506 |
| Número de géneros | 4 | 6 |
| Número de especies | 6 | 10 |

Tabla 2 Total de número de orquídeas, géneros y especies registradas en los bosques de Mazán y LLaviuco

El género más abundantemente presente en ambos bosques fue *Stelys* con 211 y 61 individuos en Llaviuco y Mazán, respectivamente. En Llaviuco, el segundo género más abundantemente fue el género *Epidendrum*, seguido de los géneros *Odontoglossum*, *Pleurothallis* (*P. coriacardia*), *Lephante* y *Fronitaria* (*F. caulescens*) (Figura 3). En Mazán, el segundo género más abundantemente representado fue el género *Odontoglossum*, seguido por *Epidendrum* y *Pleurothallis* (*P. coriacardia*) (Figura 3).

El bosque de Llaviuco contó con registros exclusivos de *Epidendrum fruticosum*, *Epidendrum geminiflorum*, *Lephante* sp., y *Fronitaria caulescens* que no se encontraron en el bosque de Mazán.

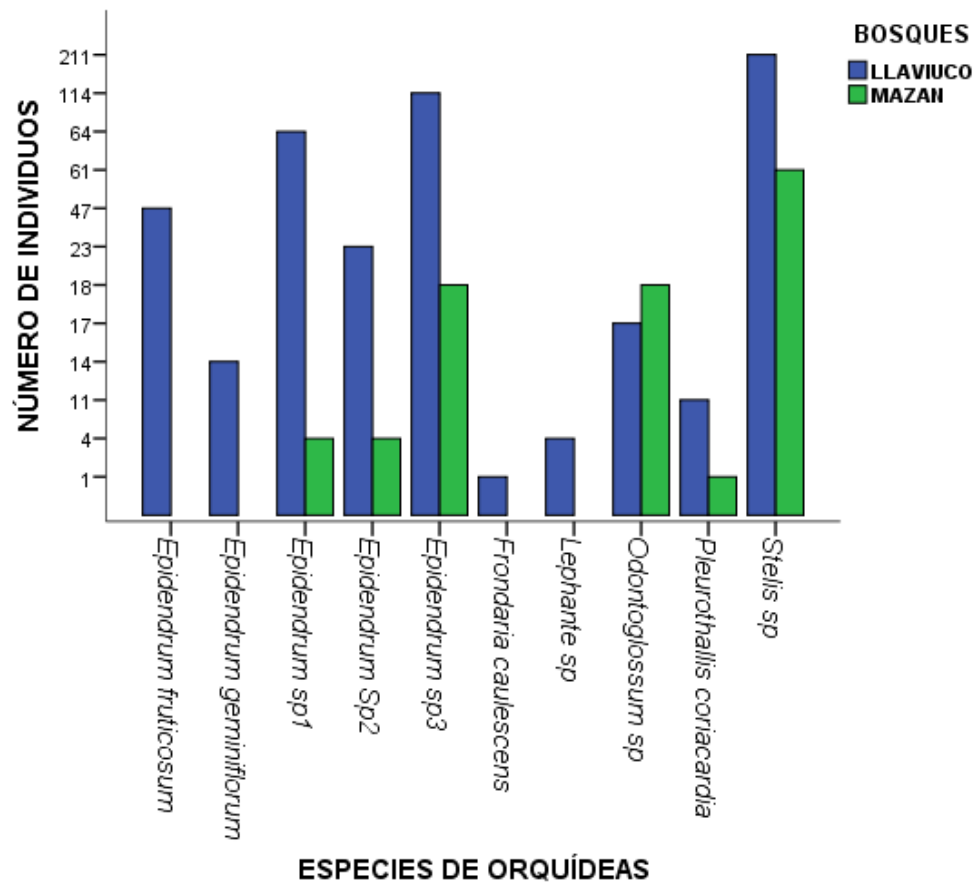


Fig 3 Abundancia de las orquídeas epífitas en los bosques de Mazán y Llaviuco

4.2 RIQUEZA DE HONGOS ENDOFITOS EN LOS BOSQUES DE MAZAN Y LLAVIUCO

El análisis de 54 secuencias permitió agrupar los hongos en Basidiomycetes y Ascomycetes. El primer grupo estuvo representado por el 46.2% de las secuencias en el bosque de Llaviuco y 39% en el bosque de Mazán. El segundo grupo, Ascomycetes por el 5.6 % en ambos bosques (Figura 4).

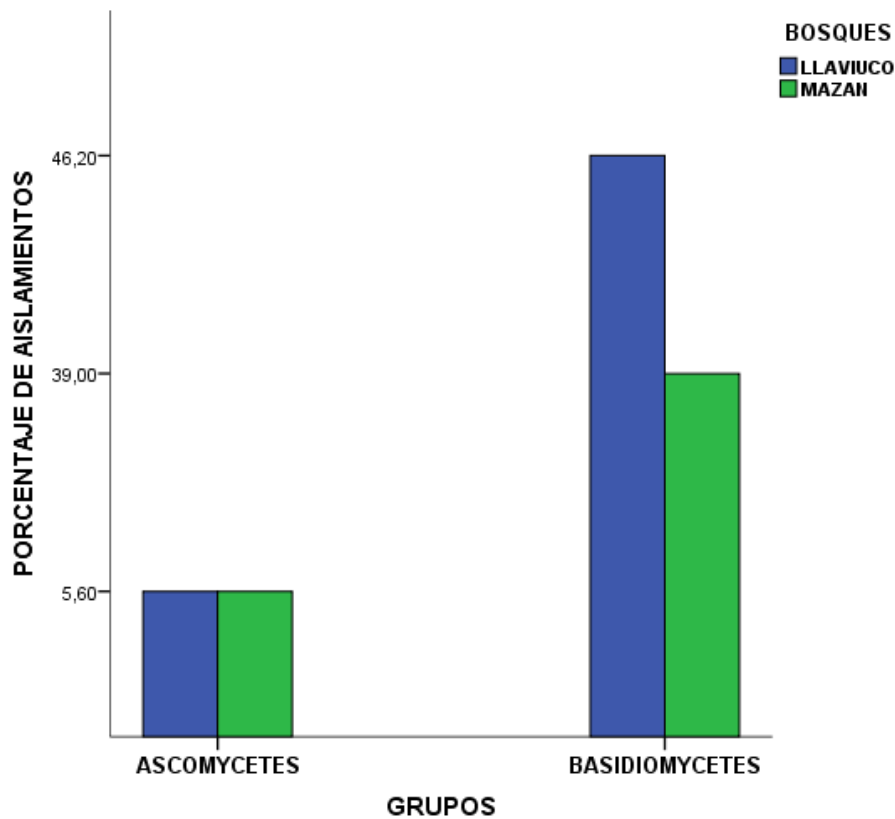


Fig 4 Porcentaje de aislamiento por grupos de hongos en los bosques de Mazán y Llaviuco

En el grupo de los Basidiomycetes se registró 41 aislamientos pertenecientes a la familia *Coprinaceae*, dos aislamientos de la familia *Polyporaceae*, uno para las familias *Lepidotaceae* y *Cantharellaceae*, respectivamente. El grupo conformado por los Ascomycetes se identificaron las familias *Trichocomaceae*, con cuatro aislamientos y *Nectriaceae* y *Shaccharomycetaceae* con un aislamiento para cada una (Figura 5).

Se registraron dos aislamientos que han sido reportados en el GenBank 39 como hongo endófito y uno como basidiomycete micorrízico, sin ser identificados a nivel de familia.

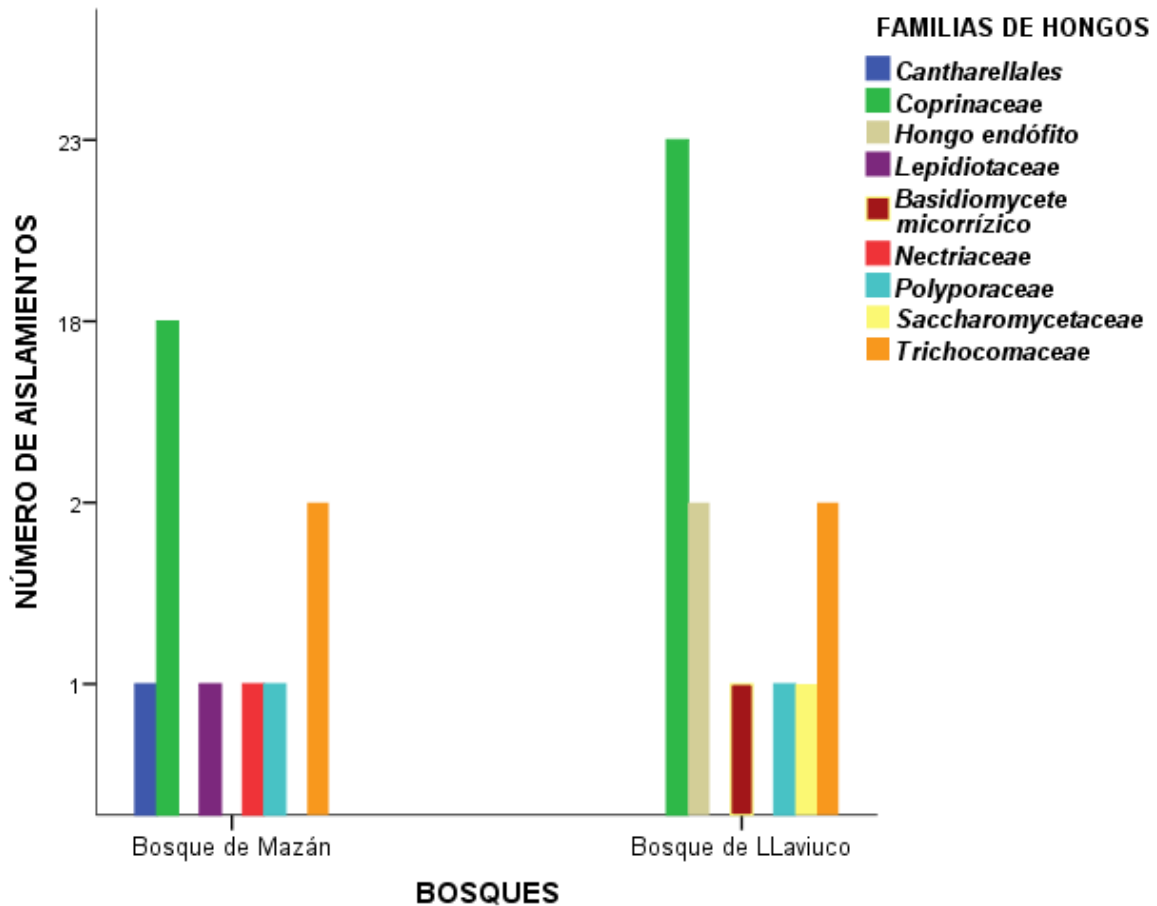


Fig 5 Número de aislamientos reportados por cada familia de hongos endófitos en los sitios de estudio y los aislamientos *Basidiomycete micorrízico* y hongo endófito que no fueron identificados hasta familia

La mayoría de las familias de hongos endófitos identificadas registraron una sola especie, a excepción de la familia *Trichocomaceae* que estuvo representada por la especie *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium rubens* (Tabla 3).



| FAMILIA | GÉNERO Y ESPECIE | MAZÁN | LLAVICUO |
|----------------------------|----------------------------------|-------|----------|
| <i>Coprinaceae</i> | <i>Coprinellus radians</i> | • | • |
| <i>Polyporaceae</i> | <i>Trametes sp.</i> | • | • |
| <i>Lepidiotaceae</i> | ----- | • | |
| <i>Cantharellaceae</i> | <i>Botryobasidium sp</i> | • | |
| <i>Trichocomaceae</i> | <i>Penicillium chrysogenum</i> | • | • |
| | <i>Penicillium rubens</i> | • | |
| <i>Nectriaceae</i> | <i>Fusarium sp.</i> | • | |
| <i>Shaccharomycetaceae</i> | <i>Meyerozyma guilliermondii</i> | | • |

Tabla 3 Géneros de hongos endófitos y su presencia en los bosques de Mazán y LLaviuco.

Al comparar la riqueza de hongos endófitos entre los bosques no se encontró diferencia significativa ($p= 0.905$). El Índice de Shannon ($p= 0.916$) indica que los bosques mantienen una diversidad similar, pues no existe diferencia significativa (Tabla 4)

| Bosque | Riqueza | Shannon H' |
|----------|---------|------------|
| Mazán | 2.0 | 0.54 |
| Llaviuco | 2.2 | 0.58 |
| Valor p | 0.905 | 0.916 |

Tabla 4 Comparación entre los bosques de Mazán y Llaviuco de acuerdo a los valores del índice de diversidad y la riqueza.



4.3 ASOCIACION HONGOS ENDÓFITOS – ORQUÍDEAS EPÍFITAS EN LOS BOSQUES DE MAZAN Y LLAVIUCO

Una asociación positiva se registró al correlacionar ($p=0.009$) la diversidad de orquídeas epífitas y la riqueza de hongos. Como se observa en la figura 6, la diversidad de orquídeas aumenta en presencia de mayor riqueza de hongos endófitos.

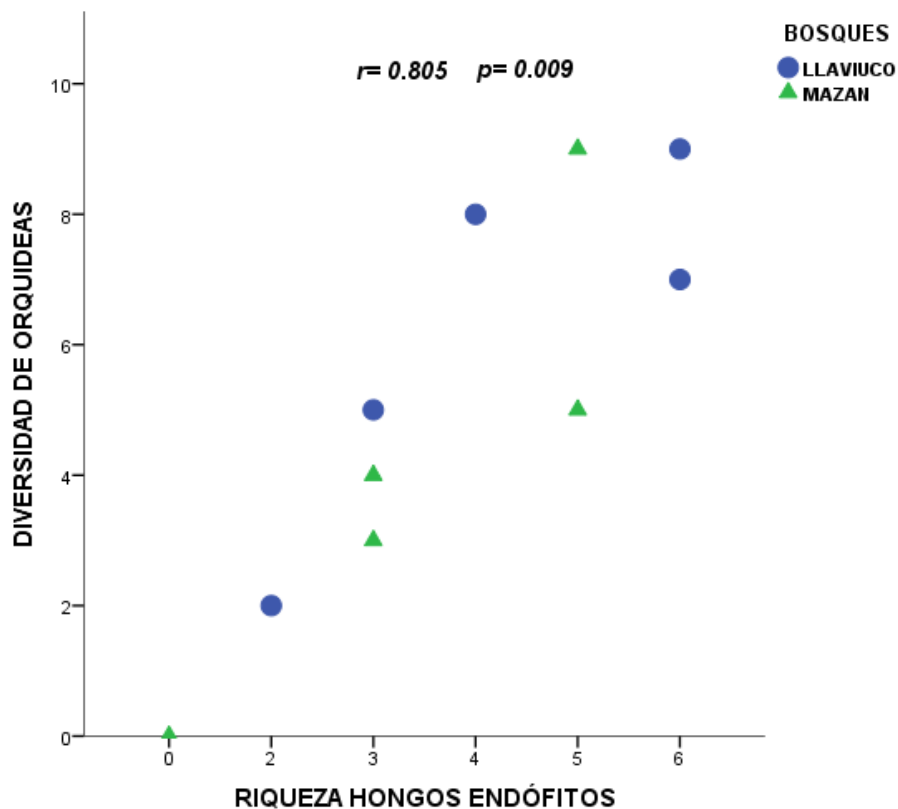


Fig 6 Correlación entre la riqueza de hongos endófitos aislados de orquídeas epífitas en los bosques de Mazán y Llaviuco.

El mismo resultado, de una correlación lineal positiva, se registró al asociar el género *Epidendrum*, que presenta mayor diversidad, con la riqueza de hongos endófitos que se aislaron de las cinco especies pertenecientes a este género, con un valor $p=0,026$. (Figura 7). Corroborando la correlación que existe en la interacción hongo endófito-orquídea.

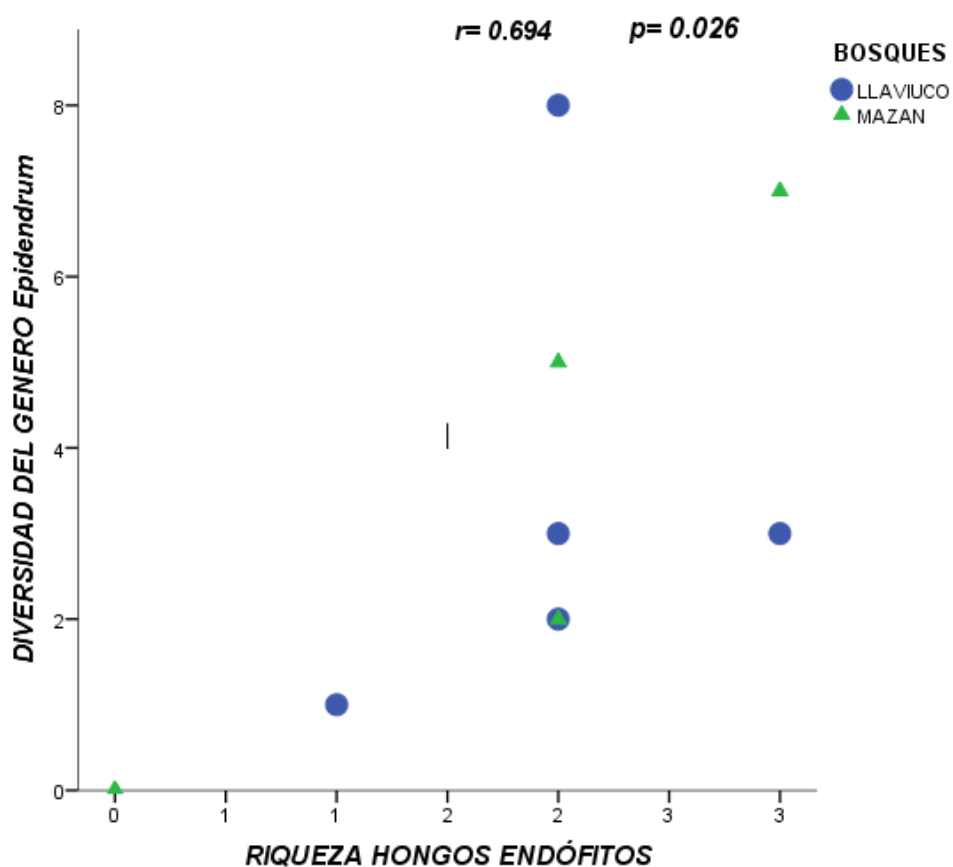


Fig 7 Correlación entre diversidad del género *Epidendrum* y la riqueza de hongos endófitos aislados de éste

Al analizar la asociación hongos endófitos-orquídeas epífitas, los géneros *Fusarium sp*, *Botryobasidium sp* y *Lepidiotaceae* están asociados a las especies de orquídeas del género *Epidendrum*, (*E.sp1*, *E. sp3*) y *Odontoglossum sp*, que solo fueron registrados en el bosque de Mazán. Mientras, que los hongos *Meyerozyma guillermondii*, *Penicillium rubens*, *Basidiomycete micorrízico* y el aislamiento hongo

endófito, encontrados en las especies *Epidendrum geminiflorum*, *Fronitaria caulescens*, *Stelis sp.* y *Epidendrum fruticosum* fueron exclusivas del bosque de LLaviuco.

Los hongos *Coprinellus radians*, *Trametes sp* y *Penicillium chrysogenum* fueron comunes en ambos bosques. Es así que *Coprinellus radians* fue recurrente en la totalidad de orquídeas. No así, *Trametes sp* que fue exclusivo de *Epidendrum sp2* en el bosque de Llaviuco y *Odontoglossum sp.* en el bosque de Mazán. Además, *Penicillium chrysogenum* fue aislado únicamente de *Epidendrum fruticosum* y *Epidendrum sp1* en Llaviuco y Mazán respectivamente (Figura 8).

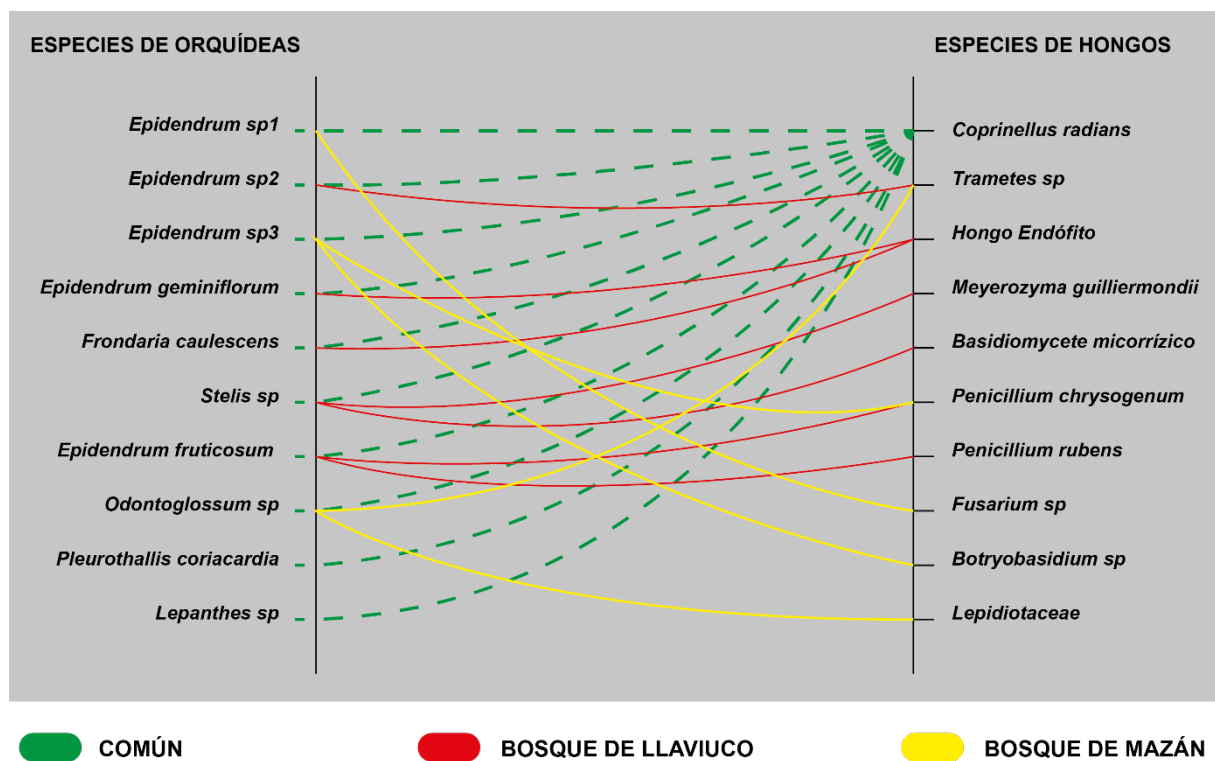


Fig 8 Asociación entre las especies de hongos endófitos y las orquídeas epífitas en los bosques de estudio



CAPITULO V: DISCUSIÓN

5.1 DIVERSIDAD DE ORQUÍDEAS

Los resultados mostraron una similitud en la diversidad de orquídeas al comparar los valores del Índice de Shannon entre el Bosque de Mazán y Llavico (Tabla 1) Presumiblemente, los sitios de estudio presentan características ecosistémicas similares, al encontrarse ambos dentro del Bosque Montano del área del Macizo del Cajas caracterizado por la presencia de grandes árboles como romerillo, sarar, duco, por epífitas como bromelias, musgos y orquídeas. Además, se pone en evidencia que las actividades de conservación como: establecer límites en la capacidad de carga turística, erradicar actividades antropogénicas (ganadería y pesca), controlar la extracción de vida silvestre, entre otras, realizadas en el bosque de Llavico para conservar la biodiversidad del lugar han generado resultados positivos.

La mayor abundancia significativa en orquídeas epífitas registrada en el bosque de Llavico (Tabla 1) podría atribuirse, a que después de un proceso de deforestación ocurrido entre los años 70 y 80 ha sucedido un proceso de recuperación y regeneración natural en este bosque (Minga et al., 2000). Así, probablemente en el interior del bosque se generaron una variedad de microhábitas donde pequeñas variaciones de luz y disponibilidad de humedad en el aire podrían ser claves para la colonización de orquídeas epífitas, como lo afirma Hernández-Rosas, (2000) y García (2014).

Adicionalmente, otro factor importante, en base a las observaciones realizadas durante la recolección de datos en campo, es la preferencia de las orquídeas por un hospedero en particular, tal como lo reporta Johansson (1974) y Benzing (1998) planteando que puede existir especificidad del epífito por un determinado portador, debido a algunas características del forofito como la edad, hábito de crecimiento y características de la corteza como relieve, estructura, composición química y porosidad.



Por lo tanto, las especies de hospederos presentes en los sitios de estudio podrían influir fuertemente en la dinámica de las poblaciones de orquídeas epífitas, ya que al analizar la abundancia de orquídeas por forófito en cada una de las parcelas, existe árboles que albergan varias especies de orquídeas y en otros no se registra ninguna (Anexo 1 y 2).

5.2 RIQUEZA DE HONGOS ENDÓFITOS

Al analizar los datos en cuanto a las especies de hongos endófitos, se encontró que dentro del orden Agaricales, el género *Coprinellus* con la especie *radians* estuvo presente en todas las orquídeas epífitas identificadas en ambos sitios de estudio (Figura 8).

Este género ha sido reportado por Xiaoya (2004) como hongo micorrízico, lo que permite inferir que este hongo endófito podría estar influenciando en la regeneración natural de las orquídeas. De ser así, podría ser indispensable su presencia y asociación para la germinación y/o el desarrollo de las especies de orquídeas estudiadas. Otro aislamiento que podría ejercer un rol en el proceso de germinación pertenece al grupo de los Basidiomycetes, registrado en el GenBank como hongo endófito micorrízico de orquídeas.

Los géneros *Penicillium* (Bayman et al., 1997; Tremblay, 2008; Yuan et al., 2008; Sudheep & Sridhar, 2012), *Fusarium* (Bayman et al., 1997; Yuan et al., 2008; Behera et al., 2013), *Meyerozyma* o *Candida* (Pecoraro et al., 2012) y *Botryobasidium* (Ogura-Tsujita et al., 2012) también registrados en este estudio (Tabla 3), han sido reportados como hongos endófitos en orquídeas epífitas. Al igual que el género *Trametes* reportado por Cueva (2014) como hongo endófito en el mismo sitio de estudio aislado también de una orquídea epífita *Cyrtorchilum flexuosum*.

Los hongos aislados se asocian con géneros o especies de orquídeas en particular, lo que podría indicar especificidad en la relación planta-hongo. Estudios reportan que la especificidad depende de la especie de orquídea y, posiblemente, del estado de desarrollo vegetal de la planta (Otero et al., 2002). Otros resultados sugieren que



la especificidad podría estar determinada por el estado de desarrollo y la especie (Chen et al. 2012). Según Otero, Ospina, y Bayman (2009) el hábito de crecimiento sería otro factor de asociación.

El género *Coprinellus* fue la excepción, ya que se registró en las 10 especies de orquídeas epífitas en los sitios de estudio, lo que pone en evidencia que la especificidad de la orquídea por sus hongos puede variar sustancialmente, de las asociaciones especializadas a las más generalistas. Además la relación hongo endófito-orquídea podría ser específica para cierto estado de desarrollo, ya que este fue aislado de plantas adultas cuyo resultado concuerda con lo reportado por Yamato (2005). Este investigador registra al género *Coprinellus* en plantas adultas de la orquídea terrestre *Epipogium roseum*. Estos, resultados, ponen en manifiesto que en la especificidad ecológica entre orquídeas y hongos endófitos existe una serie de factores que influyen en la colonización de raíces de orquídeas epífitas, siendo necesarios más estudios en los sitios de muestreo para corroborar los datos obtenidos. Estos resultados son limitados para determinar la especificidad de las orquídeas. Sin embargo, los resultados de la presente investigación son importantes y significativos ya que se ha generado información que contribuye al conocimiento sobre la riqueza de estos microorganismos. Además, constituyen la base para la ejecución de estudios que determinen el potencial micorrízico de los hongos aislados e identificados en este estudio y su posible uso en planes de conservación de la familia Orchidaceae.

5.3 ASOCIACION DIVERSIDAD DE ORQUÍDEAS EPÍFITAS-RIQUEZA DE HONGOS ENDÓFITOS

Al asociar la riqueza de los hongos endófitos con la diversidad de orquídeas epífitas existe una correlación positiva que concuerda con lo reportado por Hawksworth (2001) quien manifiesta un incremento lineal entre el número de especies de endófitos y el número de especies de plantas de orquídeas cuya relación comúnmente es usada para extrapolar la biodiversidad y la riqueza de endófitos y especies de plantas.



Además Hawksworth (2001) cita una relación 6:1 hongos:planta que incluye patógenos y endófitos, cuyo datos aunque no es igual mantiene una relación similar a lo obtenido en nuestro estudio 4:1 hongo:planta. También concuerdan con lo reportado por Arnold y Lutzoni (2007) quienes manifiestan que los estudios de diversidad y riqueza de hongos endófitos han permitido hipotetizar que una planta puede ser colonizada por al menos un hongo endófito.

CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Al realizar la comparación entre los Bosques de Mazán y Llaviuco (Área de Influencia del Parque Nacional Cajas) no se registró diferencia en la riqueza de especies de orquídeas epífitas, lo que refleja un proceso de recuperación del bosque de Llaviuco en donde probablemente se han generado microhábitas para la colonización de orquídeas epífitas, lo que se pudo evidenciar al registrar mayor abundancia de especies con respecto al bosque de Mazán.
- Este estudio refleja que la especificidad en la relación orquídeas epífitas-hongos endófitos puede ser variable, reportándose géneros de hongos aislados de una especie de orquídea en particular y el género *Coprinellus* que fue común para todas las orquídeas epífitas identificadas en ambos sitios de estudio.
- Se evidenció una correlación positiva entre la riqueza de hongos endófitos y la diversidad de orquídeas epífitas, poniendo en evidencia que la interacción planta-microorganismo puede ser un aspecto determinante para la distribución de orquídeas epífitas.
- Se logró establecer un banco de germoplasma de hongos endófitos que permitirá el desarrollo de nuevas investigaciones sobre el potencial micorrízicos de los estos en orquídeas epífitas.



- Se debería realizar estudios que abarquen otras variables que podrían estar desempeñando un rol importante en la dinámica de las poblaciones de orquídeas epífitas.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arnold, A. E., & Lutzoni, F. (2007). DIVERSITY AND HOST RANGE OF FOLIAR FUNGAL ENDOPHYTES: ARE TROPICAL LEAVES BIODIVERSITY HOTSPOTS? *Ecology*, 88(3), 541–549. <http://doi.org/10.1890/05-1459>
- Barrow, J., & Aaltonen, R. (2001). Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity. *Mycorrhiza*, 11(4), 199–205. article. <http://doi.org/10.1007/s005720100111>
- Barrow, J. R. (2003). Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands. *Mycorrhiza*, 13(5), 239–247. article. <http://doi.org/10.1007/s00572-003-0222-0>
- Bayman, P., Lebron, L. L., Tremblay, R. L., & Lodge, D. J. (1997). Variation in endophytic fungi from roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae). *New Phytologist*, 135(1), 143–149. <http://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00618.x>
- Behera, D., Tayung, K., & Mohapatra, U. B. (2013). PCR-based identification of endophytes from three orchid species collected from Similipal Biosphere Reserve, India, 10–17.
- Benzing, D. H. (1998). Vulnerabilities of Tropical Forests to Climate Change: The Significance of Resident Epiphytes. In A. Markham (Ed.), *Potential Impacts of Climate Change on Tropical Forest Ecosystems* (pp. 379–400). inbook, Dordrecht: Springer Netherlands. http://doi.org/10.1007/978-94-017-2730-3_19
- Bunch, W. D., Cowden, C. C., Wurzbarger, N., & Shefferson, R. P. (2013). Geography and soil chemistry drive the distribution of fungal associations in lady's slipper orchid, *Cypripedium acaule*. *Botany*, 91(12), 850–856. JOUR. <http://doi.org/10.1139/cjb-2013-0079>
- Caldwell, B. A., Jumpponen, A., & Trappe, J. M. (2000). Utilization of Major Detrital Substrates by Dark-Septate, Root Endophytes. *Mycologia*, 92(2), 230–232. JOUR. <http://doi.org/10.2307/3761555>
- Carroll, G. (1995). Forest endophytes : pattern and process, 73.
- Castro, Y. P., & Márquez, R. P. (2015, February 18). Relaciones ecológicas de orquídeas epífitas en la reserva de la biosfera Sierra del Rosario. *Orquideología*. Retrieved from <http://revista.sco.org.co/index.php/orquideologia/article/view/37>
- Ceja, J., Espejo, A., López, A. R., García, J., Mendoza, A., & Perez, B. (2008). Las plantas epífitas, su diversidad e importancia. *Ciencias* 91, (Julio), 35–41. Retrieved from <http://www.ojs.unam.mx/index.php/cns/article/view/12162/11484>
- Chen, J., Hu, K. X., Hou, X. Q., & Guo, S. X. (2011). Endophytic fungi assemblages



- from 10 *Dendrobium* medicinal plants (Orchidaceae). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5), 1009–1016. <http://doi.org/10.1007/s11274-010-0544-y>
- Chen, J., Wang, H., & Guo, S.-X. (2012). Isolation and identification of endophytic and mycorrhizal fungi from seeds and roots of *Dendrobium* (Orchidaceae). *Mycorrhiza*, 22(4), 297–307. <http://doi.org/10.1007/s00572-011-0404-0>
- Chen, J., Zhang, L.-C., Xing, Y.-M., Wang, Y.-Q., Xing, X.-K., Zhang, D.-W., ... Guo, S.-X. (2013). Diversity and Taxonomy of Endophytic Xylariaceous Fungi from Medicinal Plants of *Dendrobium* (Orchidaceae). *PLOS ONE*, 8(3), e58268. JOUR. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0058268>
- Cueva, A. (2014). *Caracterización molecular de hongos micorrízicos aislados a partir de cuatro especies de orquídeas epífitas, en dos pisos altitudinales de bosque montano.*
- Cullings, K. W. (1994). Molecular phylogeny of the Monotropoideae (Ericaceae) with a note on the placement of the Pyroloideae. *J. Evol. Biol.*, 7, 501–516. <http://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1994.7040501.x>
- Currah, R. (1987). New records and new taxa of fungi from the mycorrhizae of terrestrial orchids of Alberta. *Canadian Journal of ...* Retrieved from <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/b87-336>
- Damon, A., Aguilar-Guerrero, Rivera, L., & Nikolaeva, V. (2004). GERMINACIÓN in vitro DE SEMILLAS INMADURAS DE TRES ESPECIES DE ORQUÍDEAS DE LA REGIÓN DEL SOCONUSCO, CHIAPAS, MÉXICO. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 10(2), 195–203.
- Davis, B. J., Phillips, R. D., Wright, M., Linde, C. C., & Dixon, K. W. (2015). Continent-wide distribution in mycorrhizal fungi: implications for the biogeography of specialized orchids. *Annals of Botany*, 116(3), 413–421. <http://doi.org/10.1093/aob/mcv084>
- Dearnaley, J. D. W. (2007). Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza*, 17(6), 475–486. <http://doi.org/10.1007/s00572-007-0138-1>
- Dearnaley, J. D. W., Martos, F., & Selosse, M. -a. (2012). Orchid Mycorrhizas: Molecular Ecology, Physiology, Evolution and Conservation Aspects. *Fungal Associations*, 216. <http://doi.org/10.1007/978-3-642-30826-0>
- Dressler, R. (1993). *Phylogeny and classification of the orchid family.* Retrieved from https://books.google.es/books?hl=en&lr=lang_en|lang_es&id=4_xL5qOVa-sC&oi=fnd&pg=PA7&dq=orchidaceae+type+habit&ots=phaZwM75lv&sig=4XVD-PJ2hBBEwh_uOU_EtKLdiW0
- Endara, L., Williams, H. N., & León-Yáñez, S. (2010). *Explorando los patrones de endemismo de las orquídeas ecuatorianas: Implicaciones para su conservación.* La Serena, Chile.
- Farías, G. (2012). Preferencia De Hospederos Y Distribución Espacial De Epífitas



Vasculares En Un Fragmento De Bosque Mesófilo De Montaña De La Reserva De La Biósfera “ El, 121–131.

- Fay, M. F., Pailler, T., & Dixon, K. W. (2015). Orchid conservation: making the links. *Annals of Botany*, 116(3), 377–379. <http://doi.org/10.1093/aob/mcv142>
- Gamboa-Gaitán, M. a. (2006). Hongos Endófitos Tropicales : Conocimiento actual y perspectivas. *Acta Biológica Colombiana*, 11(1), 3–20.
- García, F. R. (2003). *Concentración de reguladores del desarrollo vegetal inducida por hongos endomicorrízicos en dos cultivares de chile (Capsicum annum L.)*. Retrieved from http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Francisco Roman Garcia.pdf
- García, M., Parra, D., & Mena, P. (2014). *El país de la biodiversidad Ecuador*. (F. B. de L. A. M. del A. y F. Ecofondo, Ed.). Ecuador.
- Garibay-Orijel, Roberto; Oyama, K. y Ä. D. I. (2011). Hongos endófitos de la orquídeas epífita *Laelia speciosa*. *Lankesteriana*, 11, 367. Retrieved from <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/lankesteriana/article/viewFile/18301/18490>
- Gradstein, S. R., Nadkarni, N. M., Krömer, T., Holz, I., & Nöske, N. (2003). A Protocol for rapid and representative sampling of vascular and non-vascular epiphyte diversity of tropical rain forests, 24, 105–111. <http://doi.org/10.2307/41750962>
- Granados-Sánchez D., Lopéz-Ríos G.F., Hernández-García M.A., A. S.-G. (2007). Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62913142001>. *Chapingo*, 9(2), 101–111.
- Guzmán, Nubia ; Moreno, B. (2014). *Efecto de la altitud en la composición y riqueza de hongos micorrízicos de orquídeas epífitas en bosques montano altos del sur de Ecuador*. Retrieved from <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/4239/1/10798.pdf>
- Hawsksworth, D. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1·5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105(12), 1422–1432. JOUR. <http://doi.org/10.1017/S0953756201004725>
- Hernández, A. F. (2010). *Germinación in vitro de Semillas y Desarrollo de Plántulas de Orquídeas Silvestres de Tabasco*.
- Hernández-Rosas, J. (2000). Patrones De Distribución De Las Epifitas Vasculares Y Arquitectura De Los Forofitos De Un Bosque Húmedo Tropical Del Alto Orinoco , Edo . Amazonas , Venezuela . Vascular Epiphytic Distributional Patterns and Architecture of the Phorophytes in a Tropical W. *Acta Biológica Venezolana*, 20(3), 43–60.
- Hyde, K. and Soyong, K. (2008). The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, 33, 163–173. Retrieved from <http://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/33-9.pdf>
- Jadán, O., Cedillo, H., Zea, P., Quichimbo, P., Peralta, A., & Vaca, C. (2016). Relación entre la deforestación y variables topográficas en un contexto agrícola ganadero,



cantón Cuenca. *Bosques Latitud Cero*, 6, 1–13.

- Jiménez, M., Amenazadas, E., & Manejo, Y. S. U. (2015). Orquídeas del Ecuador- Número de especies , endemismo , especies amenazadas y su manejo adecuado, (October), 1–3.
- Jiménez, N. S., Rodríguez, T., & Marín, G. (2009). Estructura y composición de la comunidad de orquídeas en dos zonas de la Reserva Natural “La Montaña del Ocaso” Quimbaya-Quindío Structure and. *Revista De Investigación De La Universidad De Quindío*, (19), 122–134. Retrieved from http://www.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/9efc_n1914.pdf
- Johansson, D. (1974). *Ecology of vascular epiphytes in West African rain forest. Acta Phytogeographica Suecia* (Vol. 59). <http://doi.org/10.1093/jexbot/52.364.2067>
- Jorgensen, Peter & León-Yáñez, S. (1999). Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Retrieved April 13, 2016, from <http://www.mobot.org/mobot/research/Ecuador/historysp.shtml>
- Juárez, L., Méndez-Dewar, G., & Nava-Tablada, M. E. (2016, January 18). Aspectos fenológicos y actividad del polinizador de una orquídea terrestre. *Revista Internacional de Desarrollo Regional Sustentable*. Retrieved from <http://www.rinderesu.com/index.php/rinderesu/article/view/6>
- Jumpponen, A., & Trappe, J. (1998). Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytologist*. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/2588371>
- Kasmir, J., Senthilkumar, S. R., Brito, S. J. L., & Raj, J. M. (2011). Identification of fungal endophytes from Orchidaceae members based on nrITS (Internal Transcribed Spacer) region . *Journal of Biotechnology*, 2(6), 139–144.
- Lee, Y.-I., Chung, M.-C., Yeung, E. C., & Lee, N. (2015). Dynamic distribution and the role of abscisic acid during seed development of a lady's slipper orchid, *Cypripedium formosanum*. *Annals of Botany*, 1–9. <http://doi.org/10.1093/aob/mcv079>
- Lizarazo-medina, P. X., & Mendoza-salazar, M. M. (2014). Diversidad de la microbiota endófitas de, 307–318.
- Lodge, D. J., & Cantrell, S. (1995). Fungal communities in wet tropical forests: variation in time and space. *Can. J. Bot.*, 73(1), 11.
- Luz Amparo Triana-Moreno, Garzon-Venegas, N. J., Sanchez-Zambrano, J., & Vargas, O. (2003). Vascular Epiphytes as Regeneration Indicators of Disturbed Forests of the Colombian Amazon Region. *Acta Biológica Colombiana*, 8(2), 31–42. Retrieved from http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/Resumenes/80203/R4_V8N2.pdf
- Madison, M. (1979). Distribution of epiphytes in a rubber plantation in Sarawak. *Selbyana*, 5(2), 207–213. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/41759528>



- Martin, K. J., & Rygiewicz, P. T. (2005). Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC Microbiology*, 5, 28. <http://doi.org/10.1186/1471-2180-5-28>
- Martos, F., Dulormne, M., Pailler, T., Bonfante, P., Faccio, A., Fournel, J., ... Selosse, M.-A. (2009). Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids. *The New Phytologist*, 184(3), 668–81. <http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02987.x>
- McCormick, M. K., Lee Taylor, D., Juhaszova, K., Burnett, R. K., Whigham, D. F., & O'Neill, J. P. (2012). Limitations on orchid recruitment: not a simple picture. *Molecular Ecology*, 21(6), 1511–23. <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05468.x>
- Minga, D., Serrano, F., Verdugo, F., & Zarate, A. (2000). Diversidad Forestal de la cuenca del río Paute, (600 mm), 1–2. Retrieved from <http://www.uazuay.edu.ec/HerbarioAzuay/documentos/diforpa.pdf>
- Mosquera-Espinosa, A. T., Bayman, P., Prado, G. a, Gómez-Carabalí, A., & Otero, J. T. (2013). The double life of *Ceratobasidium*: orchid mycorrhizal fungi and their potential for biocontrol of *Rhizoctonia solani* sheath blight of rice. *Mycologia*, 105(1), 141–50. <http://doi.org/10.3852/12-079>
- Mújica, E., Reventós, J., & González, E. (2010). Análisis de la selección de sustrato por parte de *Dendrophylax lindenii* (Orchidaceae) en Cabo San Antonio, Península de Guanahacabibes, Pinar del Río, Cuba. *Lankesteriana*, 9(3), 533–540.
- Newman, B. J., Ladd, P., Batty, A., & Dixon, K. (2007). Ecology of orchids in urban bushland reserves - Can orchids be used as indicators of vegetation condition? *Lankesteriana*, 7(1–2), 313–315.
- Ogura-Tsujita, Y., Yokoyama, J., Miyoshi, K., & Yukawa, T. (2012). Shifts in mycorrhizal fungi during the evolution of autotrophy to mycoheterotrophy in *Cymbidium* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 99(7), 1158–1176. <http://doi.org/10.3732/ajb.1100464>
- Ohki, T., Masuya, H., Yonezawa, M., Usuki, F., Narisawa, K., & Hashiba, T. (2002). Colonization process of the root endophytic fungus *Heteroconium chaetospora* in roots of Chinese cabbage. *Mycoscience*, 43(2), 191–194. <http://doi.org/10.1007/s102670200027>
- Oliveira, S. F., Bocayuva, M. F., Veloso, T. G. R., Bazzolli, D. M. S., da Silva, C. C., Pereira, O. L., & Kasuya, M. C. M. (2014). Endophytic and mycorrhizal fungi associated with roots of endangered native orchids from the Atlantic Forest, Brazil. *Mycorrhiza*, 24(1), 55–64. <http://doi.org/10.1007/s00572-013-0512-0>
- Ordoñez Castillo, N. F. (2012). *Efecto de hongos endófitos de orquídeas del grupo Rhizoctonia y otros endófitos cultivables sobre el desarrollo de plantas de Vanilla planifolia* Jacks. Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from <https://oatd.org/oatd/record?record=oai%5C%3Awww.bdigital.unal.edu.co%5C%>



3A6760

- Ortega-larrocea, M. P., Martínez, A., & Chávez, V. M. (2007). Conservación y propagación de orquídeas. *Conservación Y Propagación de Orquídeas*, 483–495.
- Otero, J. T., Flanagan, N. S., Herre, E. A., Ackerman, J. D., & Bayman, P. (2007). Widespread mycorrhizal specificity correlates to mycorrhizal function in the neotropical, epiphytic orchid *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 94(12), 1944–1950. <http://doi.org/10.3732/ajb.94.12.1944>
- Otero, J. T., Flanagan, N. S., Herre, E. A., Ackerman, J. D., & Bayman, P. (2007). Widespread mycorrhizal specificity correlates to mycorrhizal function in the neotropical, epiphytic orchid *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 94(12), 1944–50. <http://doi.org/10.3732/ajb.94.12.1944>
- Otero, J. T., Mosquera, A. T., & Flanagan, N. S. (2013). Tropical orchid mycorrhizae: Potential applications in orchid conservation, commercialization, and beyond. *Lankesteriana*, 13(1–2), 57–63.
- Otero, T. J., Ackerman, J. D., & Bayman, P. (2002). Diversity and host specificity of endophytic Rhizoctonia-like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany*, 89(11), 1852–1858. <http://doi.org/10.3732/ajb.89.11.1852>
- Otero, T., Ospina, J., & Bayman, P. (2009). Germinación simbiótica y asimbiótica en semillas de orquídeas epifitas. *Acta Agronómica*, 58(4), 270–276.
- Ovando, Isidro; Damon, Anne; Bello, Ricardo; Ambrosio, Dolores; Albores, Victor; Adriano, Lourdes y Salvador, M. (2005). Isolation of Endophytic Fungi and Their Mycorrhizal Potential for the Tropical Epiphytic Orchids *Cattleya skinneri*, *C. aurantiaca* and *Brassavola nodosa* - 309-315.pdf. *Asian Journal of Plant Sciences*, 4, 309–315. Retrieved from <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/ajps/2005/309-315.pdf>
- Pecoraro, L., Girlanda, M., Kull, T., Perini, C., & Perotto, S. (2012). Analysis of fungal diversity in *Orchis tridentata* Scopoli. *Open Life Sciences*, 7(5). <http://doi.org/10.2478/s11535-012-0071-y>
- Pellegrino, G., & Bellusci, F. (2009). Molecular identification of mycorrhizal fungi in *Dactylorhiza sambucina* (Orchidaceae). *Biologia*, 64(5). <http://doi.org/10.2478/s11756-009-0175-7>
- Plantas, D. D. E., & Vanilla, D. E. (2012). Agradecimientos.
- Rasmussen, H. N., Dixon, K. W., Jersáková, J., & Těšitelová, T. (2015). Germination and seedling establishment in orchids: a complex of requirements. *Annals of Botany*, (2012), mcv087-. <http://doi.org/10.1093/aob/mcv087>
- Redman, R. S. (2002). Thermotolerance Generated by Plant/Fungal Symbiosis. *Science*, 298(5598), 1581–1581. <http://doi.org/10.1126/science.1072191>
- Rey, P., Leucart, S., Désilets, H., Bélanger, R., Larue, P., & Tirilly, Y. (2001). Production of indole-3-acetic acid and tryptophol by *Pythium* group F: possible



- role in pathogenesis. *EurJPlant Pathol*, 895–904.
- Rodas, F., Contreras, X., & Tinoco, B. (2005). *Aviturismo. Rutas del Austro*. Cuenca, Ecuador.
- Rubini, M. R., Silva-Ribeiro, R. T., Pomella, A. W. V, Maki, C. S., Araújo, W. L., Dos Santos, D. R., & Azevedo, J. L. (2005). Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicios*a, causal agent of Witches' Broom Disease. *International Journal of Biological Sciences*, 1(1), 24–33. <http://doi.org/10.7150/ijbs.1.24>
- Salinas, R. N., Moscoso, Z. D., & Nauray, H. W. (2003). Problemática de la Familia Orchidaceae en el Valle Sagrado de los Incas. *Lyonia*, 4(1), 19–24.
- Schulz, B. (2006). Mutualistic Interactions with Fungal Root Endophytes. Retrieved April 25, 2016, from http://sci-hub.io/10.1007/3-540-33526-9_15
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Rommert, A.-K., & Krohn, K. (2002). Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research*, 106(9), 996–1004. JOUR. <http://doi.org/10.1017/S0953756202006342>
- Serrano, F. (1996). *Árboles y arbustos del bosque de Mazán*. (E. E.P., Ed.). Cuenca.
- Shefferson, R. P., Kull, T., & Tali, K. (2008). Mycorrhizal interactions of orchids colonizing Estonian mine tailings hills. *American Journal of Botany*, 95(2), 156–164. <http://doi.org/10.3732/ajb.95.2.156>
- Sierra, R. (1999). Propuesta Preliminar de un Sistema de Clasificación de Vegetación para el Ecuador Continental. *Proyecto INEFAN/GEF-BIRF Y EcoCiencia*, (1), 1–192. <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Smith, S. (1966). Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition. *New Phytologist*. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.1966.tb05972.x/abstract>
- Suárez, J. P., Weiss, M., Abele, A., Garnica, S., Oberwinkler, F., & Kottke, I. (2006). Diverse tulasnelloid fungi form mycorrhizas with epiphytic orchids in an Andean cloud forest. *Mycological Research*, 110(Pt 11), 1257–70. <http://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.08.004>
- Suárez, J. P. et al. (2006). Diverse tulasnelloid fungi form mycorrhizas with epiphytic orchids in an Andean cloud forests. *Mycological Research*, 110(11), 1257–1270. Retrieved from <http://sci-hub.io/10.1016/j.mycres.2006.08.004>
- Sudheep, N. M., & Sridhar, K. R. (2012). Non-mycorrhizal fungal endophytes in two orchids of Kaiga forest (Western Ghats), India. *Journal of Forestry Research*, 23(3), 453–460. article. <http://doi.org/10.1007/s11676-012-0284-y>
- Swarts, N. D., & Dixon, K. W. (2009). Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Annals of Botany*, 104(3), 543–56. <http://doi.org/10.1093/aob/mcp025>
- Trapnell, D. W., & Hamrick, J. L. (2006). Floral display and mating patterns within

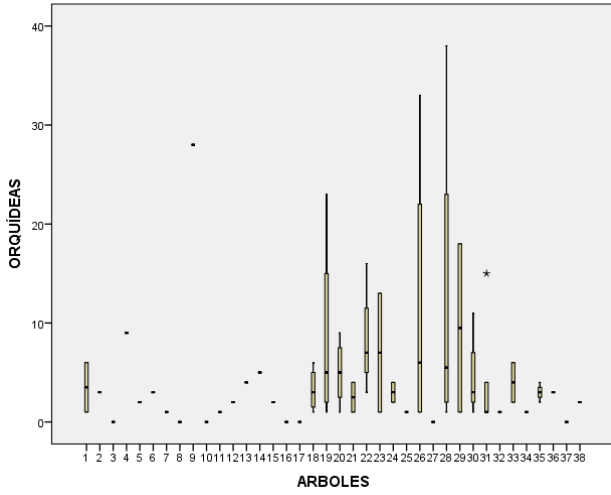


- populations of the neotropical epiphytic orchid, *Laelia rubescens* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 93(7), 1010–1017. <http://doi.org/10.3732/ajb.93.7.1010>
- Tremblay, R. L. (2008). Ecological correlates and short-term effects of relocation of a rare epiphytic orchid after Hurricane Georges. *Endangered Species Research*, 5(1), 83–90. JOUR. Retrieved from <http://www.int-res.com/abstracts/esr/v5/n1/p83-90/>
- Valencia, R. (2010). *Libro Rojo de las plantas endémicas del Ecuador*. Quito.
- Whigham, D. F., & Willems, J. H. (2003). Demographic studies and life-history strategies of temperate terrestrial orchids as a basis for conservation. *Orchid Conservation*, 137–158.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315–322.
- Xiaoya, M., Kang, J., Nontachaiyapoom, S., Wen, T. y, & Hyde, K. D. (2015). Non-mycorrhizal endophytic fungi from orchids. *Current Science*, 108, 1–16.
- Yamato, M., Yagame, T., Suzuki, A., & Iwase, K. (2005). Isolation and identification of mycorrhizal fungi associating with an achlorophyllous plant, *Epipogium roseum* (Orchidaceae). *Mycoscience*, 46(2), 73–77. article. <http://doi.org/10.1007/s10267-004-0218-4>
- Yuan, Z., Chen, Y., & Yang, Y. (2008). Diverse non-mycorrhizal fungal endophytes inhabiting an epiphytic, medicinal orchid (*Dendrobium nobile*): estimation and characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(2), 295. article. <http://doi.org/10.1007/s11274-008-9893-1>
- Zettler, L. W., Sharma, J., & Rasmussen, F. P. N. (2003). Mycorrhizal diversity. In N. H. Publications. (Ed.), *Orchid conservation* (pp. 205–226). Kota Kinabalu, Sabad.
- Zotz, G., & Bader, M. Y. (2009). Epiphytic Plants in a Changing World-Global: Change Effects on Vascular and Non-Vascular Epiphytes. In U. Lüttge, W. Beyschlag, B. Büdel, & D. Francis (Eds.), *Progress in Botany* (pp. 147–170). inbook, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. http://doi.org/10.1007/978-3-540-68421-3_7

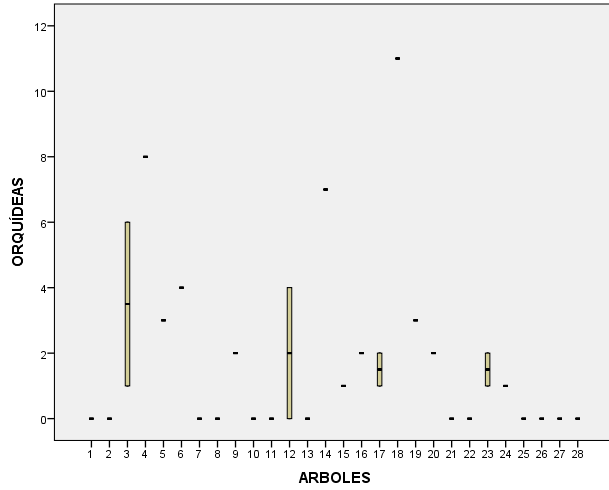


ANEXOS

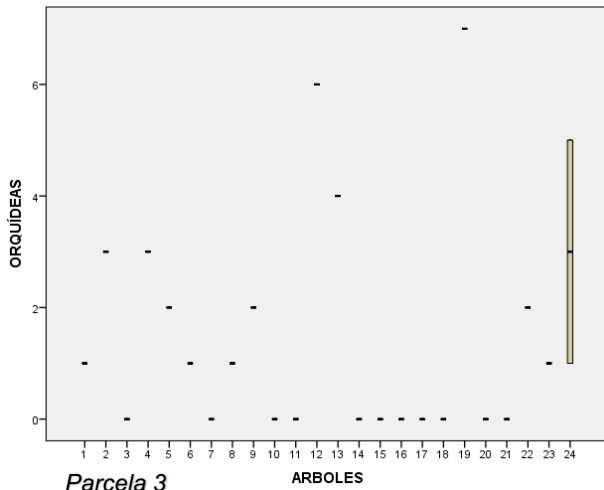
1. Abundancia de orquídeas epífitas por árbol forófito muestreado dentro de cada parcela en el Bosque de Llaviuco.



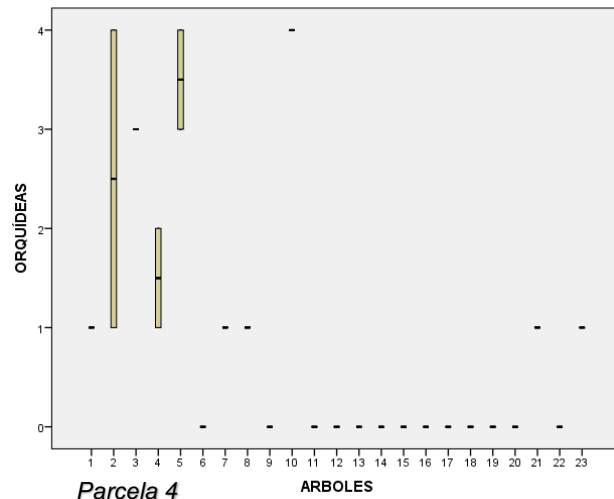
Parcela 1



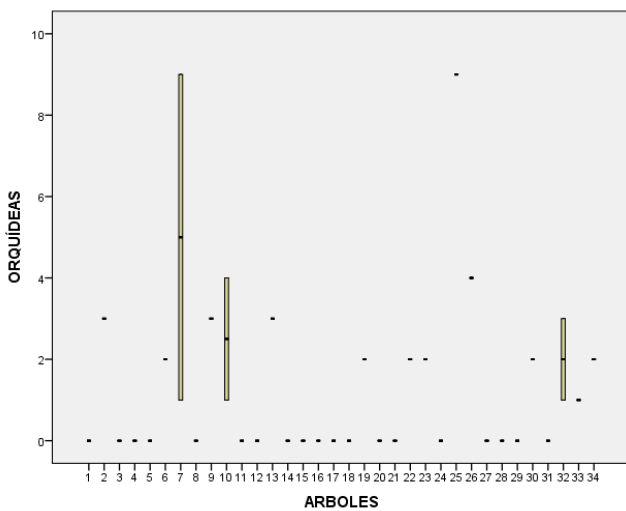
Parcela 2



Parcela 3



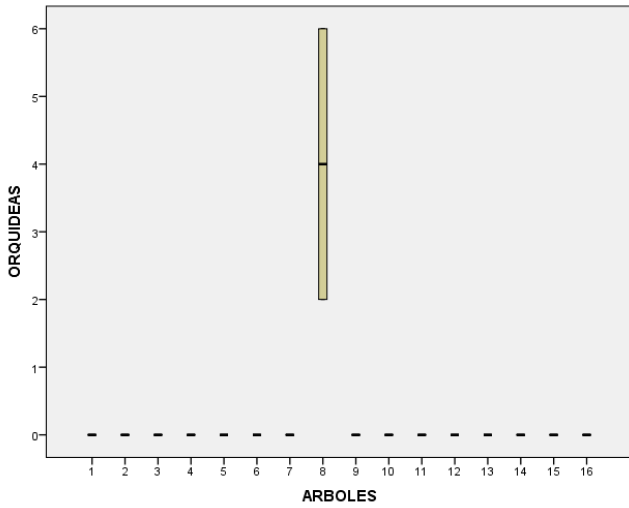
Parcela 4



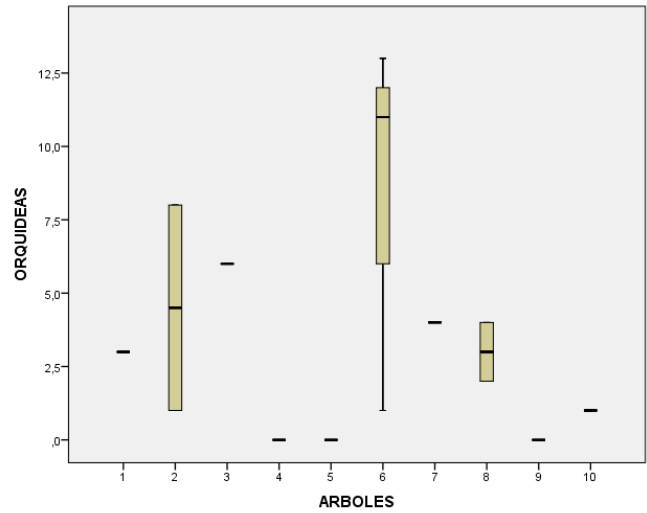
Parcela 5



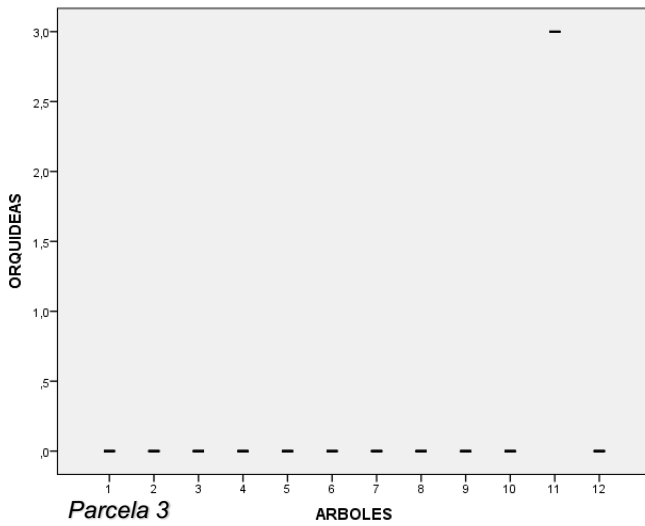
2. Abundancia de orquídeas epífitas por árbol forófito muestreado dentro de cada parcela en el Bosque de Mazán.



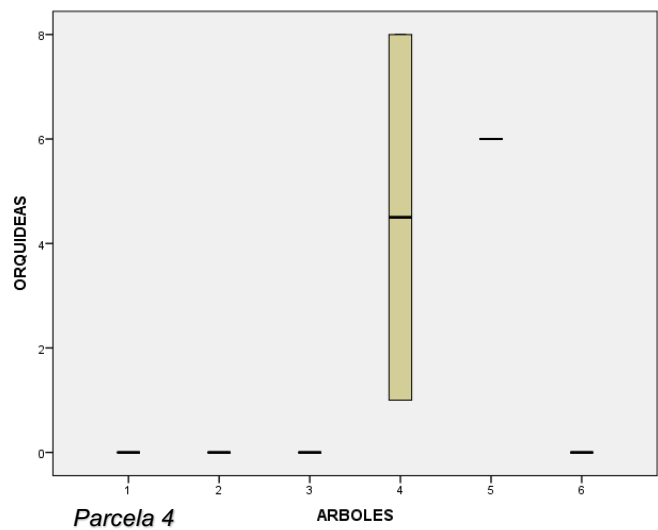
Parcela 1



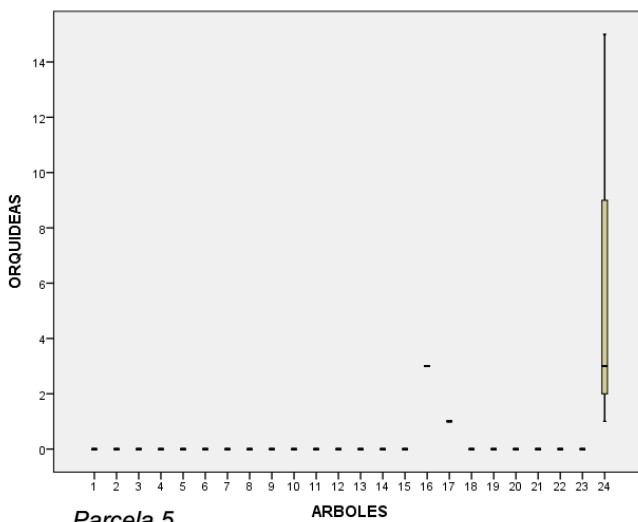
Parcela 2



Parcela 3



Parcela 4



Parcela 5



3. Secuencias con mayor similitud de hongos endófitos en la búsqueda en BLAST

| Codigo | Asignación taxonómica BLAST | Orden | Similitud | Código GenBank |
|---------|----------------------------------|-------------------|-----------|----------------|
| UC-2II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 96% | FJ185160 |
| UC-4II | Fungal endophyte | | 99% | KT291127 |
| UC-5II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-6II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-7II | Fungal endophyte | | 85% | KT291127 |
| UC-8II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-12II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-13II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-15II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-16II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-17II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-18II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-19II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-20II | <i>Penicillium chrysogenum</i> | Eurotiales | 89% | JF834167 |
| UC-23M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-24M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-25M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-26M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-27M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-28M | <i>Trametes sp</i> | Polyporales | 99% | KJ831923 |
| UC-29M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-30M | <i>Fusarium sp</i> | Hypocreales | 99% | KU974301 |
| UC-31M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-32II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-33II | <i>Coprinellus sp</i> | Agaricales | 89% | AB597782 |
| UC-34II | <i>Penicillium rubens</i> | Eurotiales | 98% | LT558978 |
| UC-35II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-36II | <i>Meyerozyma guilliermondii</i> | Saccharomycetales | 99% | KJ451706 |
| UC-37II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-40II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 96% | FJ185160 |
| UC-42II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-43II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-47II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-53II | <i>Trametes sp</i> | Polyporales | 89% | KF578082 |
| UC-55II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-56II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |



| | | | | |
|---------|--------------------------------|----------------|-----|----------|
| UC-59II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-60II | Mycorrhizal Basidiomycete | Agaricales | 94% | AB176570 |
| UC-61II | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-63M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-64M | <i>Botryobasidium sp</i> | Cantharellales | 97% | KU194318 |
| UC-65M | <i>Penicillium chrysogenum</i> | Eurotiales | 99% | KF011475 |
| UC-66M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-68M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-69M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 99% | FJ185160 |
| UC-70M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-75M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-76M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-77M | <i>Lepidotaceae</i> | Agaricales | 75% | AF079745 |
| UC-78M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-80M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-81M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-82M | <i>Coprinellus radians</i> | Agaricales | 98% | FJ185160 |
| UC-83M | <i>Penicillium chrysogenum</i> | Eurotiales | 99% | KF011475 |