

# La evolución de la simbiosis ectomicorrízica desde la perspectiva genómica

## The evolution of ectomycorrhizal symbiosis from the genomic perspective

Rodolfo Ángeles-Argáiz, Roberto Garibay-Orijel

Laboratorio de Sistemática, Ecología y Aprovechamiento de Hongos Ectomicorrízicos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

### RESUMEN

**Antecedentes:** En los genomas de hongos ectomicorrízicos, están las huellas de las interacciones biológicas que los han transformado y les confirieron sus características fisiológicas y ecológicas.

**Objetivos:** Analizar los principales patrones relativos a la evolución y genómica funcional de los hongos ectomicorrízicos.

**Métodos:** Se revisó la bibliografía sobre historia evolutiva, diversificación, genómica funcional y genómica comparativa de hongos ectomicorrízicos.

**Resultados y conclusiones:** Los hongos ectomicorrízicos evolucionaron independientemente a partir de diversos ancestros saprobios con dos picos de diversificación, uno en la transición del Jurásico-Cretácico y el segundo a partir del Paleoceno. La condición ectomicorrízica generó diversificación de especies en muchos géneros que lo adoptaron. La pérdida múltiple e independiente de enzimas degradadoras de pared celular vegetal es una característica común entre estos linajes; mientras que la reinención de la comunicación con la planta a través de nuevos genes huérfanos es característica de algunos linajes. El tamaño de ciertas familias génicas ha aumentado guiado por la actividad de transposones. Diversos estudios evidencian un mosaico evolutivo y funcional desarrollado independientemente en estos hongos. La masificación de la genómica y transcriptómica es necesaria para entender las relaciones entre las presiones ambientales o biológicas y la evolución y función de los hongos.

**Palabras clave:** origen evolutivo, patrones de diversificación, genómica funcional

### ABSTRACT

**Background:** In the ectomycorrhizal fungal genomes we can find the fingerprints of the biological interactions that have transformed them and conferred their physiological and ecological traits.

**Objectives:** To analyze the main functional genomic and evolutionary patterns related to the ectomycorrhizal lifestyle.

**Methods:** We reviewed bibliography on ectomycorrhizal fungi evolutionary history, diversification, functional genomics and comparative genomics.

**Results and conclusions:** Ectomycorrhizal fungi evolved independently from diverse saprotrophic ancestors with two diversification peaks, one in the Jurassic-Cretaceous transition and the second since the Paleocene. The ectomycorrhizal lifestyle generated diversification in many species of the genera that adopted it. The multiple and independent loss of plant cell wall degrading enzymes seems to be the only common evolutionary pattern among these lineages. In contrast, the reinvention of communication with the plant host, through the development of new orphan genes is a trait present just in some lineages. Some gene families have increased in size through transposons activity. Several studies show an evolutionary and functional mosaic developed independently in these fungi. The widespread of genomic and transcriptomic is necessary to understand the effect environmental and biological pressures on fungal evolution and function.

**Keywords:** evolutionary origin, diversification patterns, functional genomics

### ARTICLE HISTORY

Received 09 February 2019 / Accepted 12 December 2019

Published on line: 31 december 2019

### CORRESPONDING AUTHOR

✉ Roberto Garibay-Orijel, rgaribay@ib.unam.mx

ORCID: 0000-0002-6977-6550

## INTRODUCCIÓN

Una de las simbiosis biológicas más relevantes y ampliamente distribuidas en los ecosistemas terrestres es la simbiosis ectomicorrízica. Ésta se presenta entre las hifas y las raíces de un amplio número de linajes fúngicos y vegetales y ha aparecido en más de 80 ocasiones a lo largo de la historia de la vida terrestre (Tedersoo y Smith, 2017). A continuación se hace una revisión de los principales patrones históricos y evolutivos que han moldeado la diversidad genómica actual de los hongos ectomicorrízicos (HEM), y se identifican las características genómicas que les otorgan sus particularidades ecológicas y fisiológicas. Es así como identificamos que la simbiosis ectomicorrízica es un complejo mosaico de diversidad taxonómica y funcional sobre el cual actúan fuerzas genómicas de manera diferencial en linajes fúngicos diversos.

## DIVERSIDAD DE PLANTAS Y HONGOS ECTOMICORRÍZICOS

Aproximadamente 2-3 % de las plantas vasculares terrestres actuales presentan simbiosis ectomicorrízica (Brundrett, 2009; Smith y Read, 2008). Tedersoo y Brundrett (2017) estimaron 6,000-7,000 especies de plantas ectomicorrízicas, en 250-300 géneros, que representan 30 linajes botánicos independientes. La mayor parte son eudicotiledóneas, excepto Pinales, Gnetaceae (coníferas) y *Kobresia* (Liliopsida). Las plantas ectomicorrízicas derivan de ancestros que presentaron una asociación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Glomeromycotina (Brundrett, 2009). La micorriza arbuscular es una característica ancestral de las plantas vasculares terrestres. No obstante, se reconoce que al menos cinco linajes (*Coccoloba*, *Persicaria vivipara*, *Gymnopodium* y *Pisonea* en Caryophyllales y *Kobresia* en Poales) evolucionaron de ancestros facultativos o no-micorrízicos (Tedersoo y Brundrett, 2017). Aunque algunos autores consideran que las plantas no vasculares (e.g. hepáticas) con HEM en sus talos adoptaron la simbiosis recientemente (Tedersoo y Brundrett, 2017), se ha propuesto que la asociación entre HEM en Mucoromycotina pudo ser tan antigua e importante como la de Glomeromycotina y las primeras plantas vasculares (Chang et al., 2019). La familia Pinaceae es el grupo de plantas ectomicorrízicas más antiguo que se conoce a la fecha, ésta di-

vergió hace 320-340 Ma y sus géneros más antiguos con representantes actuales aparecieron hace 175-198 Ma (Tedersoo y Brundrett, 2017). Las pináceas se asocian con la mayoría de los linajes de HEM, ya que suelen ser los principales elementos botánicos de los ecosistemas templados y boreales. En Ericaceae, Fagales y Fabales se desarrollaron ectomicorrizas, micorrizas ericoides, arbutoides, simbiosis actinorrízica y rizobia (Brundrett, 2002; Tedersoo y Brundrett, 2017; Peterson et al., 2004). La mayoría de los linajes restantes de plantas ectomicorrízicas se distribuyen en zonas tropicales o australes, con excepción de la familia Salicaceae (Tedersoo y Brundrett, 2017).

En las familias Pinaceae, Fagaceae y Betulaceae se encuentran árboles particularmente importantes que cubren grandes extensiones forestales del hemisferio norte, mientras que las plantas ectomicorrízicas de las familias Nothofagaceae, Myrtaceae, Dipterocarpaceae y Fabales son dominantes en bosques del hemisferio sur y/o en ecosistemas tropicales. No obstante, sigue aumentando la información sobre nuevas plantas ectomicorrízicas en los trópicos húmedos y secos (Álvarez-Manjarrez et al., 2018), lo que ayuda a comprender la historia evolutiva de la simbiosis ectomicorrízica.

Tedersoo y Smith (2017) reconocen 284 géneros de HEM. De manera conservadora, la riqueza de HEM es de 7,950 especies documentadas y 20,000 estimadas, pertenecientes a los Phyla Ascomycota y Basidiomycota, y al sub-Phylum Mucoromycotina (Comandini et al., 2012).

Con el uso del criterio "duro" (la presencia del órgano ectomicorriza anatómicamente completo) aunado a los criterios "secundarios" (posicionamiento filogenético y perfil de isótopos estables), el conteo de linajes fúngicos ha pasado de 66 (Tedersoo et al., 2010) a 78 (Tedersoo y Smith, 2013) y posteriormente a 86 (Tedersoo y Smith, 2017), esto en menos de 10 años.

En algunos casos una especie, género o familia botánica completa mantienen su estatus trófico; sin embargo, en muchas otras situaciones la cuantificación de géneros o familias no es equiparable al número de ocasiones en que la simbiosis ectomicorrízica evolucionó (Tedersoo et al., 2010). Por ejemplo, mientras Rinaldi et al. (2008) consideraron un sólo origen de la simbiosis ectomicorrízica en Thelephorales, Tedersoo et al. (2010) detectaron cinco orígenes independientes dentro de este grupo. Por estos motivos se usa el término "linaje" como entidad taxonómica discreta (aunque informal).

La simbiosis ectomicorrízica apareció en 34 linajes en Ascomycota, en las Clases Dothideomycetes (1), Eurotiomycetes (1), Leotiomycetes (9), Sordariomycetes (2) y principalmente en Pezizomycetes (21); mientras que en Basidiomycota surgió en 48 linajes: Phragmobasidiomycetes (3), Sebaciales (1), Cantharellales (6), Histerangiales (2), Gomphales (2), Hymenochaetales (1), Agaricales (11), Tricholomatales (3), Russulales (2), Thelephorales (6), Poliporales (6) y Boletales (5). Así mismo, la simbiosis ectomicorrízica evolucionó en 4 ocasiones independientes en Mucoromycotina (Tedersoo y Smith, 2017). Además, es importante destacar que algunos linajes presentan muy alta diversidad, por ejemplo, en *Cortinarius* está representado por más de 2,000 especies y en *Russula* y *Lactarius* con más de 2,500. En contraste, linajes raros como *Meliniomyces* (Leotiales) sólo está representado por 4 especies (Tedersoo et al., 2010).

### EL ORIGEN DE LA SIMBIOSIS ECTOMICORRÍZICA

Los HEM forman un grupo polifilético integrado por 86 linajes fúngicos independientes en Basidiomycota, Ascomycota y Mucoromycota (Tedersoo y Smith, 2017). Este grupo fue denominado así por el órgano de intercambio y comunicación formado por tejido fúngico y vegetal, la ectomicorriza. Este órgano ha sido desarrollado de manera convergente en 30 linajes botánicos (Tedersoo y Brundrett, 2017).

Históricamente se han planteado tres hipótesis sobre el origen evolutivo de la simbiosis ectomicorrízica: 1) Múltiples orígenes filogenéticos con varias reversiones hacia la saprotrofia (Hibbett et al., 2000; James et al., 2006). En este escenario, focalizado en los Homobasidiomycetes, se reconstruye al último ancestro común (UAC) de los Agaricales y Boletales como un HEM. 2) El último ancestro común de los Agaricomycetes fue un HEM, posteriormente hubo cambios hacia la saprotrofia de manera convergente en múltiples linajes (Weiss et al., 2004). Esta hipótesis se basa en el hecho de que uno de los grupos basales de Homobasidiomycetes, los Sebaciales, presentan prácticamente todos los tipos de asociaciones biotróficas, tanto benéficas como perjudiciales, por lo que se postula al UAC de Homobasidiomycetes como biotrófico, con múltiples saltos hacia la saprotrofia mediante el desarrollo de la maquinaria enzimática para la pudrición blanca y marrón. Esta hipótesis encuentra

respaldo en similitudes entre el genoma del endófito *Piriformospora indica* (Sebaciales) y los genomas de HEM, como la reducción de metabolismos secundarios y presencia de péptidos efectores, pero también con los genomas de hongos saprobios, ya que cuenta con expansiones en las enzimas degradadoras de pared celular vegetal (PCWDEs), metaloproteasas y dominios de unión a pared celular (Zuccaro et al., 2011). Se ha postulado que algunos linajes de HEM pasaron por un estado endofítico intermedio durante la transición de saprotrofos a biotrofos (Selosse et al., 2009; van der Heijden et al., 2015). 3) Los UACs fueron saprobios, con múltiples cambios hacia la simbiosis pero sin reversiones al estado anterior. En este escenario se consideran tanto a Basidiomycetes como Ascomycetes y Endogonales (Mucoromycota), proponiendo 86 saltos convergentes hacia la simbiosis ectomicorrízica (Tedersoo et al., 2010; Wolfe et al., 2012).

Tomando en cuenta los eventos de diversificación y el tiempo geológico, las filogenias datadas son una herramienta útil para hacer estimaciones confiables acerca de la historia evolutiva de los grupos biológicos para los que no se cuenta con evidencia fósil, o cuando ésta es muy pobre. Con base en relojes moleculares del marcador ribosomal SSU calibrados con fósiles de ectomicorrizas suilloides (LePage et al., 1997), Bruns et al. (1998) propusieron que la simbiosis ectomicorrízica pudo haber diversificado simultáneamente durante el Eoceno-Oligoceno (65-35 Ma). En ese momento geológico, el clima global comenzaba a enfriarse, abriendo paso a la aparición de grandes extensiones de bosques templados dominados por miembros de Pinaceae y Fagales. Por otra parte, Halling (2001) propuso que la simbiosis evolucionó simultáneamente con Pinaceae desde el periodo Jurásico (180 Ma), con una posterior explosión de diversificación durante el Cretácico (125-65 Ma), en conjunto con la diversificación de las Angiospermas en un planeta más cálido. Posteriormente se rechazaron las hipótesis del UAC de Agaricomycetes como HEM y de estos hongos como los primeros socios de Pinaceae (Hibbett y Matheny 2009; Ryberg y Matheny 2011), por la discordancia encontrada en las edades de los clados de HEM del orden Agaricales, los cuales probablemente aparecieron mucho después del Jurásico, durante el Cretácico y el Paleógeno (entre 100 y 40 Ma) (Hibbett y Matheny, 2009). Sin embargo, grupos de HEM más antiguos como Tuberaceae (Pezizales, Ascomycota),

parecen haber surgido durante el límite Jurásico-Cretácico y diversificado posteriormente durante el Cretácico y el Paleógeno (Bonito *et al.*, 2013; Murat *et al.*, 2018; O'Donnell *et al.*, 2011).

La visión actual, propuesta por Kohler *et al.*, (2015), es la más robusta metodológicamente. Estos autores analizaron 542 genes ortólogos de una copia en los genomas de 49 taxa, donde incluyeron HEM, hongos formadores de micorriza orquidoide, ericoide, endófitos, patógenos de plantas, de animales, hongos saprobios de pudrición blanca, marrón y descomponedores de hojarasca. Los autores detectaron múltiples eventos evolutivos de aparición de la simbiosis ectomicorrízica, la mayoría de los cuales parecen haber ocurrido en el periodo Cenozoico, (incluyendo el antiguo linaje de *Tuber melanosporum*). Sólo un linaje (*Sebacina* spp.) parece haber aparecido antes, a finales del Cretácico. Estos resultados contrastan con los de otros autores que proponen la aparición de la simbiosis ectomicorrízica como un paralelismo a la aparición de las primeras Pinaceae en Laurasia durante el Jurásico medio (Strullu-Derrien *et al.*, 2018).

Kohler *et al.* (2015) proponen, que la clase Agaricomycetes divergió mucho antes, en el Pérmico (300 Ma), por lo que la separación entre Ascomycota y Basidiomycota debió ocurrir antes. Ésto indica que la aparición de ambos grupos es muy antigua y que pasó mucho tiempo hasta el cambio en tipo de nutrición biotrófica (Brundrett y Tedersoo, 2018). En casi todas las hipótesis se propone que el ancestro de cada linaje con simbiosis ectomicorrízica fue saprobio, aunque permanece la discusión sobre un posible evento de reversión en Boletales (Kohler *et al.*, 2015). Esta postura concuerda con la reciente propuesta de "evolución micorrízica en tres olas" (Brundrett y Tedersoo, 2018) donde la segunda y tercera ola de aparición de linajes botánicos ectomicorrízicos pudieron haber ocurrido durante el Cretácico y en el Paleoceno, posiblemente en consecuencia de grandes cambios climáticos globales. Así mismo, la edad de divergencia de Tuberales se ha estimado, recientemente y de manera muy robusta, en el Cretácico temprano (Murat *et al.*, 2018). Kohler *et al.* (2015) no incluyeron datos de Endogonales (Mucoromycota), Heterobasidiomycetes ni de otros linajes en Ascomycota de los que no se contaba con genomas secuenciados. Por otro lado, aunque el origen de Endogonales se ha propuesto tan antiguo como el de Glomeromycotina, durante el Silúrico, el

origen del linaje ectomicorrízico de Endogonaceae se ha fechado en el límite del Pérmico-Triásico. Además, dado que el ancestro de Endogonales ha sido reconstruido como simbiote de plantas criptogámicas (Chang *et al.*, 2019), constituye otro caso en el que el origen de la simbiosis a partir de un ancestro saprobio podría no cumplirse. Investigación similar en Sebaciales deberá aumentar e incluir hongos representantes de distintos estatus tróficos para así modelar el estatus trófico de los ancestros de los HEM en estos linajes. Nuevas investigaciones sobre grupos antiguos podrían resolver el enigma sobre la simbiosis ectomicorrízica en el Triásico y Jurásico por las antiguas Pinaceae y Gnetaceae.

Es así como, con más de diez años de datos genómicos en el estudio de la evolución de la simbiosis ectomicorrízica, no se observa un patrón universal que aplique para todos los linajes. Sin embargo, son pocos los grupos para los que el estado trófico de su ancestro sigue en discusión, mientras que se hacen evidentes dos grandes picos de aparición/diversificación de la simbiosis, en el límite Jurásico-Cretácico y a partir del Paleoceno.

## EVIDENCIA FÓSIL

La evidencia más contundente de la existencia de los organismos del pasado son los fósiles. Las esporas de los hongos suelen ser duras y abundantes, sin embargo, otras estructuras fúngicas son blandas, lo que las hace muy escasas en el registro fósil (Taylor *et al.*, 2015).

En la cantera Princeton, en la Columbia Británica canadiense, fueron encontradas las primeras ectomicorrizas fósiles. Se trata de raíces de *Pinus* permineralizadas, con patrones de ramificación que van desde dicotómicos hasta complejos coraloides, sin vellosidades radicales, manto pseudoparenquimatoso, red de Hartig que se extiende hasta la endodermis, y micelio externo de septo simple. Aunque no se encontraron esporomas, esclerocios ni rizomorfos en la cantera, se asume que las ectomicorrizas fósiles pertenecen a algún hongo cercano al linaje *Suillus-Rhizopogon* de hace unos 50 millones Ma de antigüedad (LePage *et al.*, 1997). Posteriormente, en la mina Tadkeshwar, India, se encontraron raíces de un representante de Dipterocarpaceae preservadas en ámbar. Son sistemas micorrízicos cruciformes a monopodial-pinados,

de coloraciones oscuras, abundante micelio externo melanizado y sin fíbulas. A partir de ellas se propuso el registro de una nueva especie, *Eomelanomyces cenococcoides*, un representante anamórfico extinto de Dothidiomycetes (Ascomycota), de hace 52 Ma (Beimforde et al., 2011).

Estas dos evidencias aseguran que los hongos ectomicorrízicos ancestrales formaron ectomicorrizas en las raíces de coníferas y Angiospermas desde hace al menos 52 Ma. Es importante destacar que estas únicas dos ectomicorrizas fosilizadas pertenecen a paleoambientes tropicales o templado-cálidos (Strullu-Derrien et al., 2018).

### PATRONES BIOGEOGRÁFICOS DE DIVERSIDAD

En biogeografía microbiana “todas las especies están en todos lados” fue un paradigma imperante durante el siglo pasado. Este paradigma cayó, en gran medida, gracias a la secuenciación masiva de muestras ambientales (e.g. Tedersoo et al., 2014).

El gradiente latitudinal de diversidad que muestra un incremento en la riqueza hacia los trópicos es un patrón aceptado a través de todo el árbol de la vida, incluyendo los hongos (Brown, 2014). No obstante para los HEM en particular, el máximo de diversidad se alcanza en latitudes templadas (Tedersoo y Nara, 2010), lo cual no es sorprendente al considerar que el ecosistema mejor explotado por estos hongos se desarrolla en climas templados y fríos (Soudzilovskaia et al., 2017). En latitudes tropicales los HEM presentes son más antiguos, mientras que en los ecosistemas fríos suelen ser de reciente diversificación (Tedersoo et al., 2014).

Este patrón debe ser explicado, desde la perspectiva macroevolutiva, a través de procesos de diversificación, extinción y dispersión sustentados en análisis filogeográficos. Kennedy et al., (2012) detectaron que un clado particular de *Clavulina*, propio de ecosistemas templados presenta una tasa de diversificación 2.6 veces mayor al resto del género, que es principalmente tropical. Este hallazgo fue posteriormente respaldado por Sánchez-Ramírez et al. (2015a) al poner en evidencia que los clados templados del complejo *Amanita caesarea* diversificaron más rápido que los tropicales. Del mismo modo, se detectó una alta tasa de diversificación en los clados templados de *Russula*, junto con posteriores interacciones de dispersión bi-

direccionales entre ecosistemas tropicales y templados (Looney et al., 2018).

### LA CONDICIÓN ECTOMICORRÍZICA COMO MOTOR DE DIVERSIFICACIÓN

La condición ectomicorrízica parece ser una fuente de diversificación para los hongos que la adoptaron. La diversidad de plantas y hongos implicados en este tipo de simbiosis es una de las evidencias más simples. La múltiple e independiente ocurrencia de la simbiosis, a través del tiempo, respalda esta aseveración.

Muchos linajes de HEM son muy diversos, lo cual es aún más evidente al compararlos con clados asimbióticos cercanamente emparentados. En Russulales, la Familia Russulaceae es ectomicorrízica y está integrada por 2,018 especies, en contraste, las familias asimbióticas Auriscalpiaceae (76), Bondarzewiaceae (72), Echinodontiaceae (7), Gloeocystidiellaceae (9) y Stereaceae (290) son menos diversas (Looney et al., 2018). Por otro lado, este patrón no se repite en el otro linaje ectomicorrízico de Russulales, el género *Albatrellus*, con sólo 26 especies. Algo similar ocurre en la Familia Tricholomateaceae (Agaricales), donde el género *Tricholoma* presenta una mayor diversidad que los grupos asimbióticos de la misma familia; sin embargo, *Albomagister* y *Porpoloma*, linajes ectomicorrízicos independientes dentro de Tricholomateaceae, no son tan diversos.

En *Russula*, los saltos de hospedero de coníferas a angiospermas se postulan como importantes motores de la diversificación (Looney et al., 2016). Así mismo, cambios de hospedero de angiospermas a Pinaceae han sido interpretados como fuente de diversificación, como sucede en el complejo *Amanita caesarea* (Sánchez-Ramírez et al., 2015a; 2015b), en Hysterangiales (Hosaka et al., 2008), así como para algunos miembros de Inocybaceae (Matheny et al., 2009), *Laccaria* (Wilson et al., 2017a, 2017b), *Leccinum* (Den Bakker et al., 2004) y Tuberaceae (Bonito et al., 2013).

Wilson et al. (2011) estudiaron los efectos de la gasteromicetización sobre las tasas de diversificación de algunos HEM en Boletales. Encontraron que los clados de HEM gasteroides tienen una tasa de diversificación mayor en comparación con sus parientes agaricoides. Aunque hasta el momento la hipótesis de la simbiosis ectomicorrízica como clave en la diversificación de los hongos no está totalmente sostenida y sigue en

discusión (Looney et al., 2018; Sánchez-García y Matheny, 2017), se continúa acumulando evidencia que da mayor soporte a esta teoría. La investigación sobre los efectos que la especificidad y los cambios de hospedero tienen sobre la diversificación de los HEM ofrece la oportunidad de clarificar el panorama de la historia evolutiva de los mismos. En este sentido, nuestro grupo de investigación ha secuenciado genomas del HEM *Laccaria trichodermophora*, una especie joven de hace unos 6 Ma de divergencia y con una fuerte preferencia por hospederos del género *Pinus*, aunque existen reportes de cambio de hospedero a *Fagus* (Ramos et al., 2017) y *Quercus* (Mueller y Strack, 1992). Ante esta situación ha surgido preguntas como ¿Cuál es o fue el hospedero ancestral de *L. trichodermophora*? ¿Es el genoma de *L. trichodermophora* el de un HEM especialista? y ¿Existen en el genoma de *L. trichodermophora* genes involucrados en la selección de hospedero? Para responder estas preguntas se pueden utilizar aproximaciones de la genómica comparativa y la filogeografía.

## CO-EVOLUCIÓN Y LA HIPÓTESIS DE LA PLANTA PUENTE

Como se ha revisado, hongos y plantas ectomicorrízicas han compartido su historia evolutiva por decenas de millones de años. Procesos co-evolutivos similares se han atribuido a los HMA desde los inicios de la vida vegetal en los ambientes terrestres (450 Ma), con influencia en la alternancia desde gametofitos de talo rastrero hacia esporofitos con raíces. Los esporofitos evolucionaron como un ambiente favorable para estos hongos y el desarrollo de sus funciones (Brundrett, 2002).

La especificidad en la simbiosis es requisito para la co-evolución, y en muchos grupos biológicos que la presentan, ha generado diversificación. Los HEM, al compararlos con los HMA pueden parecer específicos, atendiendo al número de especies botánicas involucradas. Sin embargo, los pocos ejemplos de especificidad que se conocen en la simbiosis ectomicorrízica apenas alcanzan el nivel de género.

Un sólo hospedero ectomicorrízico puede asociarse simultáneamente a un elevado número de especies de HEM, e.g. *Quercus* posee entre 50 a 200 especies de hongos asociados según el continente (García-Guzmán et al., 2017). La excepción la presenta el género *Alnus*, con comunidades de HEM en sus raíces

de entre 15 y 25 especies. Kennedy et al. (2011) compararon las comunidades de HEM de *Alnus* en México con las de otras partes de Norteamérica. Detectaron que a pesar de que la composición de especies fue distinta, la composición de linajes fue similar. Con ello, además de respaldar la hipótesis de co-migración, se sugiere algún tipo de co-evolución difusa. Además, la comunidad restringida de HEM en las raíces de *Alnus* puede estar relacionada con el desarrollo de la simbiosis actinorrízica (Kennedy et al., 2015).

En Ericales, diversos miembros desarrollaron nuevos tipos de micorriza (arbutoide y monotropeide) en asociación con HEM. Estas asociaciones son más específicas que las que se encuentran en la simbiosis ectomicorrízica. *Pterospora* y *Sarcodes* (Ericaceae) únicamente se asocian con algunas especies de *Rhizopogon* (Agaricomycetes, Brundrett, 2002), *Monotropia* se asocia con algunas especies de *Russula* y *Lactarius* (Agaricomycetes, Kong et al., 2016). En estos casos la especialización es sólo por parte de la planta, ya que los HEM deben formar parte de la red micorrízica común para poder mantener a estas plantas aclorofílicas. Es así que son pocos los ejemplos de HEM para los que sí se reconoce cierto grado de especificidad, como *Lactarius* (Geml et al., 2009; Looney et al., 2016) y *Suillus-Rhizopogon* (Nguyen et al., 2016).

Cada vez hay mayor evidencia de que la estructura y composición de las comunidades de HEM están fuertemente segregadas por factores ambientales (tipo de suelo, pH, disponibilidad de P, N, etc.) y no por la identidad taxonómica de los hospederos (e.g. Corrales et al., 2016; Geml et al., 2009; Looney et al., 2016; Truong et al., 2017; Vasco-Palacios et al., 2019). Es así como los HEM colonizan por dispersión ambientes similares en asociación con plantas ectomicorrízicas distintas, como se ha detectado en especies HEM invasivas, según Vellinga et al., (2009). Bajo este esquema, siguiendo la hipótesis de la planta-puente (Looney et al., 2018), un HEM puede saltar desde un hospedero con poblaciones en reducción hacia otro con tamaños poblacionales crecientes. De este modo, HEM asociados a angiospermas tropicales adoptaron a las plantas ectomicorrízicas templadas que avanzaban en terreno y diversidad durante los periodos de enfriamiento ocurridos desde el Paleógeno, lo que podría explicar las explosiones de diversidad de HEM de esa época.

## LA PÉRDIDA CONVERGENTE DEL PODER DEGRADADOR DE LA PARED CELULAR VEGETAL

La limitada capacidad de asimilar compuestos carbonados complejos es una de las características conocidas de los HEM desde la microbiología clásica (Frank, 2005; Hutchison, 1991); sin embargo, no fue hasta la introducción de las herramientas genómicas que se pusieron en evidencia los genes relacionados con estas funciones.

La evolución polifilética en muchos hongos ectomicorrízicos y el cambio en el modo nutricional, de saprobio a biotrófico, se caracteriza por las pérdidas convergentes de genes codificantes para enzimas degradadoras de la pared celular (PCWDEs) y peroxidases ligninoxidativas de clase II (PC2). Las pérdidas son más pronunciadas en genes que codifican PC2, esenciales para la oxidación de lignina, y en exocelulasas que degradan celulosa cristalina. De hecho, la ausencia, casi total, de genes que codifican las celobiohidrolasas GH6 y GH7 en los genomas de Agaricales y Boletales es sobresaliente (Kohler *et al.*, 2015; Kohler y Martin, 2017; Martin *et al.*, 2016).

En Ascomycota, *Tuber melanosporum* tampoco presenta estos genes, aunque *Cenococcum geophilum* los ha retenido (Martin *et al.*, 2010, 2016; Murat *et al.*, 2018; Peter *et al.*, 2016). Reducciones similares se detectaron para los genes codificadores de enzimas degradadoras de hemicelulosa o de pectina (Martin y Selosse, 2008). Todos los HEM analizados retienen al menos un gen para monooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMOs), las cuales cumplen funciones ligno-celulolíticas, aunque en los HEM las LPMOs están más bien involucradas en el crecimiento celular y el desarrollo de pseudoteji-dos mediante la oxidación de la quitina (principal componente de la pared celular fúngica).

Según Hess *et al.* (2014, 2018) *Amanita* evolucionó a partir de un grupo de Agaricales descomponedores de hojarasca. Estos Agaricales no desarrollaron PC2, por lo que ni el genoma de *A. muscaria* ni el de *A. thiersii* (= *Saproamanita thiersii*) presentan PC2. En contraste, algunos HEM como *Hebeloma cylindrosporium*, descendiente de un grupo de pudrición blanca en el que se desarrollaron PC2 (y muchas otras PCWDEs), retuvieron algunas peroxidases (Dore *et al.*, 2015). En *H. cylindrosporium* las PC2 son producto de duplicaciones recientes y las sobreexpresa en la ectomicorriza, lo que sugiere que tienen algún valor

adaptativo relacionado con la colonización de la raíz y el desarrollo de la ectomicorriza (Dore *et al.*, 2015; Kohler y Martin, 2017; Martin *et al.*, 2016). Caso similar ocurrió independientemente en *Cortinarius glaucopus*, el cual presenta un número alto de PC2, comparable con el de hongos de pudrición blanca y expresados en el suelo (Bödeker *et al.*, 2014). En ambos casos, las PC2 son manganeso-peroxidases u otras formas atípicas (carecen de triptófanos expuestos y tienen modificaciones en los módulos de unión a Mn) que no presentan actividad versátil o ligninolítica. *Laccaria bicolor* también tiene 12 PC2, pero estas no se expresan en la ectomicorriza (Pellitier y Zak, 2018).

Los perfiles transcripcionales en simbiosis han mostrado evidencia de que en los grupos analizados se expresa un "núcleo de genes" conservados con los ancestros saprobios. Dichos genes son transportadores de membrana, enzimas asimilativas y oxidoreductasas (Kohler *et al.*, 2015; Kohler y Martin, 2017). En estos genes la evolución parece haber actuado sobre la regulación de su expresión, aunque también podrían haber adquirido nuevas funciones.

En los genomas de HEM se conservaron genes que codifican lacasas y peroxidases decolorantes. Estos mecanismos no son utilizados en la degradación de la pared celular, pero están relacionados con la descomposición de materia orgánica del suelo (MOS, e.g compuestos húmicos).

El conteo y expresión de PCWDEs de los HEM pone en evidencia que estos hongos son dependientes de la planta para la obtención de carbono, pero al mismo tiempo respetan la integridad de la pared celular de la raíz, evitando así ser repelidos y mantener el suministro de nutrientes (Plett y Martin, 2015, 2018).

## BÚSQUEDA Y TRANSPORTE DE NITRÓGENO

Los HEM se desarrollan generalmente en suelos pobres en N (como los bosques templados) y sus poblaciones son sensibles a la fertilización con N. En el suelo, el 95% del N es acumulado y secuestrado por la MOS. El micelio exploratorio de algunos HEM es hidrofóbico, y aunque prolifera en residuos orgánicos puede acceder a compuestos insolubles. Además, los HEM presentan la capacidad de asimilar compuestos orgánicos como urea, poliamidas, aminoácidos y péptidos pequeños (Näsholm *et al.*, 2009; Pena *et al.*, 2016; Read y Pérez-Moreno, 2003).

A pesar de la pérdida paralela de PCWDEs por los HEM en general, varias especies (e.g. *C. glaucopus*, *H. cylindrosporum*, *L. bicolor* y *Piloderma croceum*) conservan algunas PC2, y por tanto conservan la capacidad de oxidar lignina o residuos polifenólicos de la MOS, lo que les da acceso al N secuestrado en los complejos recalcitrantes de difícil acceso. *Paxillus involutus* y otros HEM, son capaces de modificar los biopolímeros de la MOS durante la asimilación de N mediante la excreción de radicales hidroxilo con la reacción Fenton (Rineau *et al.*, 2013). La reacción Fenton es típica de los hongos de pudrición marrón, que no cuentan con la capacidad de descomponer la lignina, cualidad propia de los hongos de pudrición blanca. La vía Fenton es costosa energéticamente y dependiente de glucosa. Otras alternativas para la obtención de N del suelo son las LPMOs que oxidan polisacáridos y otras enzimas como las peroxigenasas aromáticas, hemo-peroxidasas, lacasas y tirosinasas, que oxidan fenoles y peptidasas que actúan sobre proteínas y péptidos (Martin *et al.*, 2016).

Los HEM también presentan transportadores de membrana, selectivos para aminoácidos ricos en N, y transportadores de nitrato; también pueden importar amonio por dos vías enzimáticas distintas. Toda la absorción del N es mediante transportadores activos dependientes de ATP o NADP (Read y Pérez-Moreno, 2003; Talbot *et al.*, 2010). Se ha detectado que distintos HEM presentan preferencia por fuentes de N distintas, así como diferencias en sus capacidades de acceso y asimilación. Esto fue respaldado por la presencia de juegos genéticos distintos en genomas de HEM secuenciados (Näsholm *et al.*, 2019; Pellitier y Zak, 2018).

Los HEM no tienen una actividad muy fuerte en sustratos ricos en carbono, como la lignina de la madera. Esta actividad recae principalmente en hongos saprobios. Sin embargo, los HEM participan en la transformación de estos sustratos para la movilización del N, promoviendo la actividad microbiana al descargar energía fotosintética y depositarla en el suelo ("priming effect" como lo han llamado Lindahl y Tunlid, 2015). Pellitier y Zak (2018) revisaron la literatura referente a este tema y argumentan que todos los estudios presentan evidencia parcial y fragmentada. Para comprobar verazmente la liberación, obtención y transporte de N hacia la planta, un HEM deberá tener genes codificantes para las enzimas (secretadas) y transportadores, además de expresarlos en alguno de

sus tejidos. Estas enzimas/transportadores deberán demostrar su actividad sobre los sustratos y el N del MOS deberá ser transportado hasta la planta. Además, algunos estudios de expresión de transcritos en micelio están realizados con cultivos axénicos *in vitro*, por lo que no se cuenta con el flujo de glucosa de la planta (Pellitier y Zak, 2018).

## EL POTENCIAL SAPROBIO DE LOS HONGOS ECTOMICORRÍZICOS

Desde los inicios del estudio de la simbiosis ectomicorrízica, Frank (1894) sugirió que los HEM participaban en la descomposición de la MOS con el fin de encontrar los nutrientes para la planta. Esta hipótesis fue olvidada durante mucho tiempo y vuelta a retomar en la década de 1980 (Koide *et al.*, 2008). El impacto de los HEM en el ciclo del carbono, a diferentes escalas, es muy claro (Ekblad *et al.*, 2013). Sin embargo, el potencial saprobio de los HEM es un tema aún en discusión (Kohler y Martin, 2017; Lindahl y Tunlid, 2015).

Ya se ha dicho que los HEM derivaron de ancestros saprobios y que perdieron la mayoría de los genes que sintetizan PCWDEs. Los hongos saprobios, han sido funcionalmente clasificados como hongos de pudrición blanca (degradan lignina) o de pudrición marrón (no degradan lignina). La reconstrucción del UAC de Basidiomycota lo describe como un hongo saprobio no ligninolítico, con 4 copias de LPMOs, mientras el de Agaricomycetes como un hongo de pudrición blanca con 27 copias de LPMOs. Se asume que la pudrición café aparece posteriormente de manera polifilética dentro de Agaricomycetes mediante la pérdida de genes celulolíticos y desarrollo de genes de la vía Fenton. Además, los hongos descomponedores del mantillo (sin actividad ligninolítica pero con actividad de otras enzimas sobre compuestos carbonados) parecen haber surgido a partir de ancestros de pudrición blanca (Kohler *et al.*, 2015; Kohler y Martin, 2017). Es decir, los HEM heredarían su remanente de PCWDEs de manera diferencial, atendiendo al estilo de saprotrofia que sus ancestros practicaron.

La mayoría de los HEM con genoma secuenciado parecen utilizar la glucosa vegetal para "financiar" la oxidación de la MOS, aunque no utilizan mucho los productos de esta degradación para cubrir su propia demanda de C. Incluso, se asume que el costo energético de la oxidación de MOS es más elevado que su

ganancia, lo que sugiere que los HEM pueden efectivamente descomponer MOS sin actuar como verdaderos saprotrofos (Lindahl y Tunlid, 2015).

*Paxillus involutus*, cuyo linaje derivó de hongos de pudrición marrón, codifica algunos genes de PCWDEs de la vía Fenton y su efecto sobre los sustratos es típico de un ataque radical hidroxilo. Sin embargo, no codifica para glicosil-hidrolasas como los hongos de pudrición marrón que usan esta vía. Como ya se ha mencionado, HEM como *A. muscaria* o *H. cylindrosporium* retienen muy pocos genes para la degradación de pared celular pero los utilizan principalmente en la organogénesis de la ectomicorriza. Así mismo, los pocos genes de PCWDEs de *L. bicolor*, expresados en el micelio, están relacionados con la obtención de N (Martin et al., 2016).

Cantharellales y Sebaciniales son linajes de Agaricomycetes de temprana divergencia. En los genomas de *Sebacina vermifera* y *Tulasnella calospora*, en contraste con Agaricales y Boletales, se conservan genes de glioxil oxidasas, así como una batería genética que les permite la degradación y asimilación de compuestos carbonados complejos; sin embargo, la asociación simbiótica mutualista que generan es la micorriza orquideoide. Los hongos formadores de micorriza orquideoide efectivamente exploran los sustratos, toman carbohidratos de la celulosa cristalina y los entregan a la planta. En los genomas de *Oidiodendron*, *Meliniomyces* y *Rhizoscyphus* (Helotiales, Ascomycota), hongos de condición trófica dual (biótrofo/saprotrofo) y formadores de micorriza ericoide, no solo retienen un repertorio genético que le da altas capacidades saprotróficas si no que han expandido algunas familias, mismas que sólo son expresadas en el micelio y no en el tejido simbiótico (Kohler et al., 2015; Marino et al., 2018; Perotto et al., 2018). Caso similar es el del endófito *Piriformospora indica*. Aunque se cuenta con una mayor cantidad de genomas de HEM, estos patrones genéticos no se han detectado en ellos (Grelet et al., 2017; Kohler et al., 2015).

Por otro lado, *Phlebobius portentosus* forma sintéticamente ectomicorrizas anatómicamente completas con *Pinus* y *Acacia*. Sin embargo, esta especie ha demostrado su capacidad de obtener el total de sus necesidades nutrimentales y cumplir su ciclo de vida en ausencia de una planta ectomicorrizica (Kumla et al., 2016). Tedersoo y Smith (2017) desconocen a *P. portentosus* como un HEM, aunque lo consideran bio-

trófico. Ellos argumentan que sus ectomicorrizas no se desarrollan de manera natural, que la micorrización sintética fuerza la asociación y que en la planta no se detectan efectos benéficos atribuibles al hongo (Tedersoo y Smith, 2017).

Considerando la evidencia genómica y experimental, las definiciones de HEM y/o de hongo saprobio deben flexibilizarse. El continuo evolutivo y fisio-ecológico que los hongos representan a lo largo de un gradiente de biotrofia/saprotrofia impide su clasificación estricta. La constante transformación de los hongos saprobios en HEM está ocurriendo desde hace por lo menos 60 Ma, y no se detiene. El estudio de los genomas de los hongos podría ayudar a resolver preguntas tales como ¿Cuáles son las características genómicas que predisponen a los hongos saprobios a saltar hacia la biotrofia y formar estructuras tipo ectomicorriza en las distintas plantas? o ¿Son las plantas las que contienen la predisposición de adoptar hongos en sus raíces?

## BIOLOGÍA EFECTORA

Las plantas que colonizaron los suelos primitivos convivieron con microorganismos simbióticos mutualistas al mismo tiempo que con patógenos y saprobios. Las plantas son capaces de percibir a los microorganismos del suelo y reaccionar diferencialmente según el caso (Plett y Martin, 2018). Cuando la planta detecta la presencia de un microorganismo frente a su pared celular reacciona entrando en un "estado hipertenso" que se caracteriza por suprimir el transporte de toxinas, acumular especies reactivas de oxígeno y empaquetar la energía para su transporte. Además, la planta en estado hipertenso, prepara mecanismos de defensa como la vía del jasmonato (JA), del etileno (ET) o del ácido salicílico (AS). Si la planta detecta daño a su pared (como el causado por un microorganismo patógeno) desencadena estos metabolismos de defensa (Plett y Martin, 2018). Los mecanismos de manipulación de la respuesta inmune son muy conocidos en los microorganismos patógenos (Toruño et al., 2016). Los HEM, al carecer de PCWDEs, respetan la integridad de la pared, pero al mismo tiempo inhiben la respuesta inmune, bloqueando molecularmente puntos claves en la señalización, a lo que se le llama "biología efectora" (Toruño et al., 2016).

En la célula de la raíz, la conjugación de jasmonato con isoleucina (JA-Ile) forma una hormona que induce la expresión de genes de defensa de la planta. A bajas con-

centraciones de JA-ILe, el factor de transcripción MYC2 está bloqueado por el complejo JAZ6. El factor MYC2 está asociado al sitio de reconocimiento de los genes de defensa relacionados con JA. Altas concentraciones de JA-ILe (inducidas por la detección de microorganismos) son detectadas por el complejo F-box por lo que COI1 se asocia a JAZ6. COI1 es parte del complejo ubiquitín ligasa SCF<sup>COI1</sup>, por lo que JAZ6 es marcado para degradación por el proteosoma 26S. Esta reacción libera a MYC2, e impide el crecimiento micelial mediante la expresión los genes relacionados a JA.

No obstante, en el escenario de la colonización de la raíz por *Laccaria bicolor*, una vez que se formó la red de Hartig entre las células de las raíces de *Populus trichocarpa*, el HEM percibe flavonoides de la planta, por lo que secreta el péptido efector MiSSP7 (proteína pequeña secretada inducida en micorriza de 7 kDa). MiSSP7 es transportada al núcleo de la célula vegetal, donde interactúa con JAZ6. MiSSP7 se asocia a JAZ6 y evita su reconocimiento por COI1, por lo que no es degradada, el factor MYC2 no se libera y los genes relacionados con JA no se activan (Martin et al., 2016; Plett y Martin, 2012; Plett et al., 2011; 2014; Veneault-Fourrey et al., 2014).

Cuando *L. bicolor* entra en simbiosis con algún hospedero ectomicorrízico expresa una "batería genética núcleo" de regulación, pero también expresa genes específicos atendiendo a la identidad taxonómica del hospedero. Esto ha sido evidenciado en la interacción de *L. bicolor* con *Populus trichocarpa* y *P. deltoides* (Salicaceae, Magnoliophyta) en el estudio de Tschapinski et al. (2014); así como con *Pseudotsuga menziesii* (Pinaceae), según Plett et al. (2015).

Los péptidos efectores, como MiSSP7, son proteínas pequeñas secretadas (SSPs) que actúan sobre otras moléculas activando o reprimiendo su función. Son conocidos en bacterias, hongos, ácaros y nemátodos. *Populus trichocarpa* también secreta SSPs en la ectomicorriza (Plett et al., 2017). Algunas de estas SSPs vegetales entran a la célula fúngica y se ha propuesto que podrían interferir en la regulación del crecimiento y la morfología hifal (Plett et al., 2017).

Un ejemplo distinto es MiSSP8, un péptido de *L. bicolor*, que a pesar de ser expresado durante la asociación, no se considera efector ya que no interactúa con el genoma del simbionte. Se expresa en el esporoma y en las primeras etapas de la formación de la ectomicorriza. El silenciamiento de MiSSP8 con

RNAi, impide el desarrollo del manto y red de Hartig. Además, MiSSP8 comparte dominios conservados con SSPs de hongos saprobios, por lo que se propone que MiSSP8 es un péptido retenido del ancestro saprobio involucrado en el desarrollo tisular (Pellegrin et al., 2019).

El genoma de *Laccaria bicolor* codifica cerca de 200 SSPs con funciones desconocidas (Martin et al., 2008), lo que resulta alto si se compara con el 1 al 2% de los genes de *Amanita muscaria*, *Piloderma croceum*, *Hebeloma cylindrosporum* y *Suillus luteus* que codifican SSPs (Plett y Martin, 2015). Del total de genes expresados en la ectomicorriza, entre 7 y 38 % son genes específicos de una especie de HEM. Incluso dentro de los linajes mejor muestreados (Boletales 6 genomas, *Amanita* 7 genomas) las especies comparten muy pocos genes de SSPs. Por ejemplo, solo un tercio de los genes huérfanos de *L. bicolor* tienen homólogos en su especie hermana *L. amethystina*, la cual divergió del linaje de *L. bicolor* hace alrededor de 20 Ma (Kohler et al., 2015; Wilson et al., 2015a).

En el genoma de *L. bicolor* se han estudiado factores transcripcionales codificados. Entre otras cosas, Daguerre y colaboradores (2017) detectaron una nueva familia de factores transcripcionales con señal de secreción. Ellos propusieron que estos factores transcripcionales secretados podrían asociarse al DNA nuclear en la planta y participar como efectores en la regulación a favor de la simbiosis (Daguerre et al., 2017). Otro mecanismo de regulación y represión de la expresión genética del simbionte es el siRNA. A diferencia de hongos patógenos y plantas, en los HEM aún no se han detectado siRNA secretado en la célula del hospedero (Plett y Martin, 2018).

Aunque Kohler et al. (2015) encontraron como común denominador el gran número de SSPs en los genomas de Basidiomycota, Hess et al. (2018) no encontraron dicho patrón en diferentes especies de *Amanita*. Estos autores identificaron que en las especies ectomicorrízicas de *Amanita* con genomas grandes (*A. brunnescens* y *A. muscaria*) las SSPs presentan expansiones considerables, sin embargo, esta cualidad se presenta también en la especie asimbiótica *A. thiersii* la cual está relacionada con *Volvariella volvacea* y presenta un número aún mayor de SSPs. También detectaron, en concordancia con lo propuesto por Kohler et al. (2015), que la mayor proporción de SSPs representa genes de linaje-específicos; lo que pone en evidencia

una dinámica evolutiva acelerada posterior a la adopción del estilo trófico ectomicorrízico.

La evidencia genómica sugiere que la biología efectiva juega un papel determinante en el establecimiento o mantenimiento de la simbiosis y que cada linaje de HEM ha logrado comunicarse con su hospedero mediante nuevos genes, muchos de ellos codificantes para SSPs. Sin embargo, de manera general, los HEM de Basidiomycota presentan un elevado contenido de SSPs, mientras que Ascomycetes y Endogonales presentan una cantidad mucho menor y relativamente equiparable entre ellos (Chang *et al.*, 2019).

### ACTIVIDAD DE TRANSPOSONES

Los transposones o elementos transponibles (ETs), son fragmentos del DNA que se caracterizan por multiplicarse y moverse “al azar” al interior de un genoma. Mediante el análisis de estos elementos en 1,746 genomas de hongos, Muszewska *et al.* (2017) detectaron patrones relacionados con el estilo de vida de esos hongos y el tamaño de su genoma. Los genomas secuenciados de los HEM son de los más grandes entre los hongos, aunque algunos fitopatógenos también presentan genomas grandes (e.g. saprobios: *Saccharomyces cerevisiae* 12 Mb, *Aspergillus niger* 35 Mb, *Neurospora crassa* 40 Mb, *Agaricus bisporus* 31 Mb; patógenos *Ustilago maydis* 20 Mb, *Puccinia graminis* 116 Mb; HEM: *Laccaria bicolor* 65 Mb, *Amanita muscaria* 54 Mb, *Hebeloma cylindrosporum* 38 Mb, *Tuber melanosporum* 125 Mb y *Cenococcum geophilum* 178 Mb, según NCBI, 17 de marzo del 2018). Los HEM pudieron tener reducciones en el contenido genético codificante para PCWDEs y para procesos metabólicos secundarios, sin embargo, aunque los ETs pueden incrementar el tamaño de las familias génicas, su genoma creció en cuanto a su DNA no codificante (Muszewska *et al.*, 2017).

El contenido de elementos móviles en el genoma es regido por dos fuerzas opuestas: la propia capacidad proliferativa de los ETs y la capacidad de defensa del genoma hospedero para mantener su estabilidad e integridad. Los ETs son eliminados constantemente por recombinación ectópica y por deleciones, aunque los mecanismos para eliminar ETs no están muy estudiados en hongos (Muszewska *et al.*, 2017). Muchos mecanismos para reprimir la proliferación de ETs ocurren en la meiosis, por lo que hongos con reproduc-

ción clonal presentan genomas altamente poblados por ETs. Este podría ser el caso del ectomicorrízico *Cenococcum geophilum* (Ascomycota, Mytilindales, para el cual no se conoce fase sexual), con el genoma fúngico más grande conocido para el momento de su publicación (178 Mb, Peter *et al.*, 2016). Sin embargo, los genes MAT 1-1-1 y otros involucrados en la reproducción sexual están presentes en su genoma. La diversidad genética en esta especie presenta huellas de recombinación, por lo que Peter *et al.* (2016) han propuesto que sí se reproduce sexualmente en la naturaleza. El HMA *Rhizophagus irregularis* se destaca entre todos los hongos por su diversidad y abundancia de ETs en su gran genoma (101 Mpb con más de 80,000 ETs en 16 de las 19 súper familias de ETs analizadas, Muszewska *et al.*, 2017; Tisserant *et al.*, 2013).

Los hongos asociados a plantas presentan la tendencia a acumular TEs lo que propicia incremento en tamaño genómico. Esto es más evidente en hongos biotróficos que patógenos. En contraste, los patógenos de animales poseen genomas compactos y pequeños. Algunos de los ETs encontrados en hongos simbiotes de plantas multiplican RNAi que podrían actuar como mecanismos efectores en la comunicación con la planta hospedera (Hess y Pringle, 2014; Muszewska *et al.*, 2017; Plett y Martin, 2018).

Hess *et al.* (2014) analizaron el contenido de ETs en los genomas de varias especies de *Amanita*, ectomicorrízicas y saprobias encontrando que de manera general las especies de HEM presentan un mayor contenido de ETs (aunque el saprobio *Amanita thiersii* no se ajusta al patrón).

Eventos demográficos como “cuellos de botella” pueden reducir los tamaños poblacionales, disminuyendo la tasa de pérdida de ETs, lo que a su vez propicia que estos elementos se fijen en los genomas. A diferencia de los hongos saprobios, que suelen tener distribuciones muy amplias y transcontinentales, las especies de HEM presentan distribuciones más restringidas. Además, su historia evolutiva relacionada con expansiones y contracciones de los bosques templados, podría contribuir a la acumulación de ETs.

### LA VÍA METABÓLICA SIMBIÓTICA COMÚN

La más antigua de las interacciones simbióticas mutualistas de la rizósfera, la micorriza arbuscular, desarrolló en conjunto con la planta los mecanismos moleculares

de comunicación, mismos que han sido heredados a linajes botánicos actuales. Las plantas liberan estrigolactonas para comunicarse con los hongos y bacterias del suelo. En los HMA, las estrigolactonas desencadenan la germinación de esporas, ramificación hifal, metabolismo mitocondrial, reprogramación traduccional y secreción de lipoquitos-oligosacáridos y quito-oligosacáridos. La planta, percibe éstos y otros "patrones moleculares asociados a microorganismos" mediante varios receptores LysM tipo cinasa. A partir de ahí, se desencadena la traducción de señales proteicas, como los receptores cinasa DMI2 y DMI3, los canales iónicos nucleares CASTOR y POLLUX, y el factor de transcripción IPD3, requeridos para la activación del programa simbiótico de la planta. Después, RAM1, un factor de transcripción GRAS (involucrado en el desarrollo) y RAM2 una glicerol-3-fosfato acil transferasa, permiten el establecimiento de la micorriza arbuscular (Venkateshwaran *et al.*, 2013). A esta cascada de señalización y maquinaria molecular vegetal se le conoce como "la vía metabólica simbiótica común". Estos genes son altamente conservados entre angiospermas y gimnospermas. La pérdida de estos genes en varios linajes se correlaciona con la pérdida de la simbiosis micorrízica-arbuscular (Delaux *et al.*, 2014). Gracias a esta maquinaria genética, algunas plantas desarrollaron la simbiosis con las bacterias fijadoras de N (Parniske, 2008).

Los genomas de los HEM codifican los distintos mecanismos que evolucionaron de manera convergente para formar estructuras y funciones similares (Plett y Martin, 2017). No hay evidencia de que los HEM secreten lipoquitos-oligosacáridos ni quito-oligosacáridos, aunque constantemente liberan derivados de la quitina en su ambiente, así como auxinas, etileno y sesquiterpenos. Las Pinaceae carecen de la mayoría de los genes antes mencionados (excepto RAM2), lo que refuerza la idea de que los HEM en Pinaceae no utilizan la llamada "vía metabólica simbiótica común" (García *et al.*, 2015).

Otras sustancias químicas, hormonales o efectoras secretadas por los HEM podrían estar actuando sobre alguno los genes de la vía metabólica simbiótica común, aunque aún no hay evidencia de esto.

## CONSIDERACIONES FINALES

El nivel de investigación actual ha permitido conocer algunos procesos de la evolución de los HEM, de sus

propiedades genómicas y patrones de diversificación, sin embargo, la mayor parte de la teoría sobre la genómica funcional y sus implicaciones fisiológicas está constituida por una colección de observaciones particulares realizadas en distintos modelos lejanamente emparentados. El continuo saprotrofia-biotrofia en el estatus trófico de una especie, el grado de especificidad hacia hospedero, la co-evolución y la hipótesis de la planta puente como motor de diversificación, son algunos de los temas que siguen en discusión y están siendo investigados mediante genómica funcional y comparativa.

El análisis genómico de organismos no modelo ofrece la oportunidad de comprender a mayor profundidad las generalidades, y particularidades de la simbiosis. Así mismo, la genómica comparativa intraespecífica es aún un campo apenas explorado, pero con un gran potencial, dado que la microbiología clásica demostró la importancia de la identidad de la cepa (variación genética intraespecífica) en muchos aspectos fisiológicos y ecológicos de la interacción micorrízica (Di Battista *et al.*, 1996).

## LITERATURA CITADA

- Álvarez-Manjarrez, J., R. Garibay-Orijel, M.E. Smith, 2018. Caryophyllales are the main hosts of a unique set of ectomycorrhizal fungi in a Neotropical dry forest. *Mycorrhiza* 28: 103-115.
- Beimforde, C., N. Schäfer, H. Dörfelt, P.C. Nascimbene, H. Singh, J. Heinrichs, *et al.*, 2011. Ectomycorrhizas from a Lower Eocene angiosperm forest. *New Phytologist* 192: 988-996.
- Bonito, G., M.E. Smith, M. Nowak, R.A. Healy, G. Guevara, E. Cázares, *et al.*, 2013. Historical biogeography and diversification of truffles in the Tuberaceae and their newly identified southern hemisphere sister lineage. *PloS one* 8: e52765.
- Bödeker, I., K.E. Clemmensen, W. Boer, F. Martin, A. Olson, B.D. Lindahl, 2014. Ectomycorrhizal *Cortinarius* species participate in enzymatic oxidation of humus in northern forest ecosystems. *New Phytologist* 203: 245-256.
- Brown, J.H., 2014. Why are there so many species in the tropics? *Journal of Biogeography* 41: 8-22.
- Brundrett, M.C., 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154: 275-304.
- Brundrett, M.C., 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil* 320: 37-77.
- Brundrett, M.C., L. Tedersoo, 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist* 220: 1108-1115.
- Bruns, T.D., T.M. Szaro, M. Gardes, K.W. Cullings, J. J. Pan, D. L. Taylor, *et al.*, 1998. A sequence database for the identification of

- ectomycorrhizal basidiomycetes by phylogenetic analysis. *Molecular Ecology* 7: 257-272.
- Chang, Y., A. Desirò, H. Na, L. Sandor, A. Lipzen, A. Clum, et al., 2019. Phylogenomics of Endogonaceae and evolution of mycorrhizas within Mucoromycota. *New Phytologist* doi: 10.1111/nph.15613.
- Comandini, O., A.C. Rinaldi, T.W. Kuyper, 2012. Measuring and estimating ectomycorrhizal fungal diversity: a continuous challenge. In: M. Pagano (ed.), *Mycorrhiza: occurrence in natural and restored environments*. Nova Science Publishers, Nueva York. Pp. 165-200.
- Corrales, A., A.E. Arnold, A. Ferrer, B.L. Turner, J.W. Dalling, 2016. Variation in ectomycorrhizal fungal communities associated with *Oreomunnea mexicana* (Juglandaceae) in a Neotropical montane forest. *Mycorrhiza* 26: 1-17.
- Daguerre, Y., E. Levati, J. Ruytinx, E. Tisserant, E. Morin, A. Kohler, et al., 2017. Regulatory networks underlying mycorrhizal development delineated by genome-wide expression profiling and functional analysis of the transcription factor repertoire of the plant symbiotic fungus *Laccaria bicolor*. *BMC Genomics* 18: 737.
- Delaux, P.M., K. Varala, P.P. Edger, G.M. Coruzzi, J.C. Pires, J.M. Ané, 2014. Comparative phylogenomics uncovers the impact of symbiotic associations on host genome evolution. *PLoS Genetics* 10: e1004487.
- Den Bakker, H.C., G.C. Zuccarello, T.H. Kuyper, M.E. Noordeloos, 2004. Evolution and host specificity in the ectomycorrhizal genus *Leccinum*. *New Phytologist* 163: 201-215.
- Di Battista, C., M.A. Selosse, D. Bouchard, E. Stenström, F. Le Tacon, 1996. Variations in symbiotic efficiency, phenotypic characters and ploidy level among different isolates of the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* strain S 238. *Mycological Research* 100: 1315-1324.
- Dore, J., M. Perraud, C. Dieryckx, A. Kohler, E. Morin, B. Henrissat, et al., 2015. Comparative genomics, proteomics and transcriptomics give new insight into the exoproteome of the basidiomycete *Hebeloma cylindrosporium* and its involvement in ectomycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 208: 1169-1187.
- Eklblad, A., H. Wallander, D.L. Godbold, C. Cruz, D. Johnson, P. Baldrian, et al., 2013. The production and turnover of extramatrical mycelium of ectomycorrhizal fungi in forest soils: role in carbon cycling. *Plant and Soil* 366: 1-27.
- Frank, B., 1894. Die bedeutung der mykorrhizapilze für die gemeine Kiefer. *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 16: 185-190.
- Frank, B., 2005. On the nutritional dependence of certain trees on root symbiosis with belowground fungi (an English translation of AB Frank's classic paper of 1885). *Mycorrhiza* 15: 267-275.
- García, K., P.M. Delaux, K.R. Cope, J.M. Ané, 2015. Molecular signals required for the establishment and maintenance of ectomycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 208: 79-87.
- García-Guzmán, O.M., R. Garibay-Orijel, E. Hernández, E. Arellano-Torres, K. Oyama, 2017. Word-wide meta-analysis of *Quercus* forests ectomycorrhizal fungal diversity reveals southwestern Mexico as a hotspot. *Mycorrhiza* 27: 811-822.
- Geml, J., G.A. Laursen, I. Timling, J.M. McFarland, G. Booth, N. Lennon, et al., 2009. Molecular phylogenetic biodiversity assessment of arctic and boreal ectomycorrhizal *Lactarius* Pers. (Russulales; Basidiomycota) in Alaska, based on soil and sporocarp DNA. *Molecular Ecology* 18: 2213-2227.
- Grelet, G., E. Martino, I.A. Dickie, R. Tajuddin, R. Artz, 2017. Ecology of ericoid mycorrhizal fungi: what insight have we gained with molecular tools and what's missing. In: Martin, F. (ed.), *Molecular mycorrhizal symbiosis*. Wiley, Hoboken. Pp. 405-419.
- Halling, R.E., 2001. Ectomycorrhizae: co-evolution, significance, and biogeography. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88: 5-13.
- Hess, J., A. Pringle, 2014. The natural histories of species and their genomes: asymbiotic and ectomycorrhizal *Amanita* fungi. In: Martin, F. (ed.), *Advances in botanical research* Vol. 70. Academic Press, London. Pp. 235-257.
- Hess, J., I. Skrede, M. Chaib De Mares, M. Hainaut, B. Henrissat, A. Pringle, 2018. Rapid divergence of genome architectures following the origin of an ectomycorrhizal symbiosis in the genus *Amanita*. *Molecular Biology and Evolution* 35: 2786-2804.
- Hess, J., I. Skrede, B.E. Wolfe, K. LaButti, R.A. Ohm, I.V. Grigoriev, A. Pringle, 2014. Transposable element dynamics among asymbiotic and ectomycorrhizal *Amanita* fungi. *Genome Biology and Evolution* 6: 1564-1578.
- Hibbett, D.S., L.B. Gilbert, M.J. Donoghue, 2000. Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407: 506-508.
- Hibbett, D.S., P.B. Matheny, 2009. The relative ages of ectomycorrhizal mushrooms and their plant hosts estimated using Bayesian relaxed molecular clock analyses. *BMC Biology* 7: 1-13.
- Hosaka, K., M.A. Castellano, J.W. Spatafora, 2008. Biogeography of Hysterangiales (Phallomycetidae, Basidiomycota). *Mycological Research* 112: 448-462.
- Hutchison, L.J., 1991. Description and identification of cultures of ectomycorrhizal fungi found in North America. *Mycotaxon* 42: 387-504.
- James, T.Y., F. Kauff, C.L. Schoch, P.B. Matheny, V. Hofstetter, C.J. Cox, et al., 2006. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* 443: 818-822.
- Kennedy, P.G., R. Garibay-Orijel, L.M. Higgins, R. Ángeles-Argáiz, 2011. Ectomycorrhizal fungi in Mexican *Alnus* forests support the host co-migration hypothesis and continental-scale patterns in phylogeography. *Mycorrhiza* 21: 559-568.
- Kennedy, P.G., P.B. Matheny, K.M. Ryberg, T.W. Henkel, J.K. Uehling, M.E. Smith, 2012. Scaling up: examining the macroecology of ectomycorrhizal fungi. *Molecular Ecology* 21: 4151-4154.
- Kennedy, P.G., J.K. Walker, L.M. Bogar, 2015. Interspecific mycorrhizal networks and non-networking hosts: exploring the ecology of the host genus *Alnus*. In: Horton, T.R. (ed.), *Mycorrhizal networks*. Springer, Dordrecht. Pp. 227-254.
- Kohler, A., A. Kuo, L.G. Nagy, E. Morin, K.W. Barry, F. Buscot, et al., 2015. Convergent losses of decay mechanisms and rapid turnover of symbiosis genes in mycorrhizal mutualists. *Nature Genetics* 47: 410-415.
- Kohler, A., F. Martin, 2017. The evolution of the mycorrhizal lifestyles—a genomic perspective. In: Martin, F. (ed.), *Molecular mycorrhizal symbiosis*. Wiley, Hoboken. Pp. 89-107.
- Koide, R.T., J.N. Sharda, J.R. Herr, G.M. Malcolm, 2008. Ectomycorrhizal fungi and the biotrophy-saprotrophy continuum. *New Phytologist* 178: 230-233.

- Kong, A., J. Cifuentes, A. Estrada-Torres, L. Guzmán-Dávalos, R. Garibay-Orijel, B. Buyck, 2016. Russulaceae associated with myco-heterotroph *Monotropa uniflora* (Ericaceae) in Tlaxcala, Mexico: a phylogenetic approach. *Cryptogamie Mycologie* 36: 479-513.
- Kumla, J., E.A. Hobbie, N. Suwannarach, S. Lumyong, 2016. The ectomycorrhizal status of a tropical black bolete, *Phlebopus portentosus*, assessed using mycorrhizal synthesis and isotopic analysis. *Mycorrhiza* 26: 333-343.
- LePage, B., R. Currah, R. Stockey, G. Rothwell, 1997. Fossil ectomycorrhizae from the Middle Eocene. *American Journal of Botany* 84: 410-410.
- Lindahl, B.D., A. Tunlid, 2015. Ectomycorrhizal fungi-potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs. *New Phytologist* 205: 1443-1447.
- Looney, B.P., P. Meidl, M.J. Piatek, O. Miettinen, F. Martin, P.B. Matheny, J.L. Labbé, 2018. Russulaceae: a new genomic dataset to study ecosystem function and evolutionary diversification of ectomycorrhizal fungi with their tree associates. *New Phytologist* 218: 54-65.
- Looney, B.P., M. Ryberg, F. Hampe, M. Sánchez-García, P.B. Matheny, 2016. Into and out of the tropics: global diversification patterns in a hyperdiverse clade of ectomycorrhizal fungi. *Molecular Ecology* 25: 630-647.
- Martin, F., A. Aerts, D. Ahrén, A. Brun, E.G.J. Danchin, F. Duchaussoy, et al., 2008. The genome of *Laccaria bicolor* provides insights into mycorrhizal symbiosis. *Nature* 452: 88-92.
- Martin, F., A. Kohler, C. Murat, R. Balestrini, P.M. Coutinho, O. Jaillon, et al., 2010. Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis. *Nature* 464: 1033-1038.
- Martin, F., A. Kohler, C. Murat, C. Veneault-Fourrey, D.S. Hibbett, 2016. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses. *Nature Reviews Microbiology* 14: 760-773.
- Martin, F., M.A. Selosse, 2008. The *Laccaria* genome: a symbiotic blueprint decoded. *New Phytologist* 180: 296-310.
- Perotto, S.D., E.A. Martino, 2018. Ericoid mycorrhizal fungi and their genomes: another side to the mycorrhizal symbiosis? *New Phytologist* 220: 1141-1147.
- Martino, E., E. Morin, G.A. Grelet, A. Kuo, A. Kohler, S. Daghino, S., et al., 2018. Comparative genomics and transcriptomics depict ericoid mycorrhizal fungi as versatile saprotrophs and plant mutualists. *New Phytologist* 217: 1213-1229.
- Matheny, P.B., M.C. Aime, N.L. Bougher, B. Buyck, D.E. Desjardin, E. Horak, et al., 2009. Out of the Palaeotropics? Historical biogeography and diversification of the cosmopolitan ectomycorrhizal mushroom family Inocybaceae. *Journal of Biogeography* 36: 577-592.
- Mueller, G.M., B.A. Strack, 1992. Evidence for a mycorrhizal host shift during migration of *Laccaria trichodermophora* and other agarics into neotropical oak forests. *Mycotaxon* 45: 249-256.
- Murat, C., T. Payen, B. Noel, A. Kuo, E. Morin, J. Chen, et al., 2018. Pezizomycetes genomes reveal the molecular basis of ectomycorrhizal truffle lifestyle. *Nature Ecology and Evolution* 2: 1956-1965.
- Muszevska, A., K. Steczkiewicz, M. Stepniewska-Dziubinska, K. Ginalska, 2017. Cut-and-paste transposons in fungi with diverse lifestyles. *Genome Biology and Evolution* 9: 3463-3477.
- Näsholm, T., K. Kielland, U. Ganeteg, 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist* 182: 31-48.
- Nguyen, N.H., L.J. Williams, J.B. Vincent, A. Stefanski, J. Cavelander-Bares, C. Messier, et al., 2016. Ectomycorrhizal fungal diversity and saprotrophic fungal diversity are linked to different tree community attributes in a field-based tree experiment. *Molecular Ecology* 25: 4032-4046.
- O'Donnell, K., A.P. Rooney, G.L. Mills, M. Kuo, N.S. Weber, S.A. Rehner, 2011. Phylogeny and historical biogeography of true morels (*Morchella*) reveals an early Cretaceous origin and high continental endemism and provincialism in the Holarctic. *Fungal Genetics and Biology* 48: 252-265.
- Parniske, M., 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology* 6: 763-775.
- Pellegrin, C., Y. Daguerre, J. Ruytinx, F. Guinet, M. Kemppainen, M.B. Plourde, et al., 2019. *Laccaria bicolor* MiSSP8 is a small-secreted protein decisive for the establishment of the ectomycorrhizal symbiosis. *Environmental Microbiology* 21: 3765-3779.
- Pellitier, P.T., D.R. Zak, 2018. Ectomycorrhizal fungi and the enzymatic liberation of nitrogen from soil organic matter: why evolutionary history matters. *New Phytologist* 217: 68-73.
- Pena, R., 2016. Nitrogen acquisition in ectomycorrhizal symbiosis. In: Martin, F. (ed.), *Molecular mycorrhizal symbiosis*. Wiley, Hoboken. Pp. 179-196.
- Peter, M., A. Kohler, R.A. Ohm, A. Kuo, J. Krützmann, E. Morin, et al., 2016. Ectomycorrhizal ecology is imprinted in the genome of the dominant symbiotic fungus *Cenococcum geophilum*. *Nature Communications* 7: 12662.
- Peterson, R.L., H.B. Massicotte, L.H. Melville, 2004. *Mycorrhizas: anatomy and cell biology*. NRC Research Press. FALTA CIUDAD.
- Plett, J.M., Y. Daguerre, S. Wittulsky, A. Vayssières, A. Deveau, S. J. Melton, et al., 2014. Effector MiSSP7 of the mutualistic fungus *Laccaria bicolor* stabilizes the *Populus* JAZ6 protein and represses jasmonic acid (JA) responsive genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111: 8299-8304.
- Plett, J.M., M. Kemppainen, S.D. Kale, A. Kohler, V. Legué, A. Brun, et al., 2011. A secreted effector protein of *Laccaria bicolor* is required for symbiosis development. *Current Biology* 21: 1197-1203.
- Plett, J.M., F. Martin, 2011. Blurred boundaries: lifestyle lessons from ectomycorrhizal fungal genomes. *Trends in Genetics* 27: 14-22.
- Plett, J.M., F. Martin, 2012. Poplar root exudates contain compounds that induce the expression of MiSSP7 in *Laccaria bicolor*. *Plant Signaling and Behavior* 7: 12-15.
- Plett, J.M., F. Martin, 2015. Reconsidering mutualistic plant-fungal interactions through the lens of effector biology. *Current Opinion in Plant Biology* 26: 45-50.
- Plett, J.M., F. Martin, 2018. Know your enemy, embrace your friend: using omics to understand how plants respond differently to pathogenic and mutualistic microorganisms. *The Plant Journal* 93: 729-746.
- Plett, J.M., E. Tisserant, A. Brun, E. Morin, I.V. Grigoriev, A. Kuo, et al., 2015. The mutualist *Laccaria bicolor* expresses a core gene regulon during the colonization of diverse host plants and a variable regulon to counteract host-specific defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 28: 261-273.

- Plett, J.M., H. Yin, R. Mewalal, R. Hu, T. Li, P. Ranjan, et al., 2017. *Populus trichocarpa* encodes small, effector-like secreted proteins that are highly induced during mutualistic symbiosis. *Scientific Reports* 7: 382.
- Ramos, A., V.M. Bandala, L. Montoya, 2017. A new species and a new record of *Laccaria* (Fungi, Basidiomycota) found in a relict forest of the endangered *Fagus grandifolia* var. *mexicana*. *MycKeys* 27: 77-94.
- Read, D.J., J. Perez-Moreno, 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems—a journey towards relevance? *New Phytologist* 157: 475-492.
- Rinaldi, A.C., O. Comandini, T.W. Kuyper, 2008. Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. *Fungal Diversity* 33: 1-45.
- Rineau, F., F. Shah, M.M. Smits, P. Persson, T. Johansson, R. Carleer, et al., 2013. Carbon availability triggers the decomposition of plant litter and assimilation of nitrogen by an ectomycorrhizal fungus. *The ISME Journal* 7: 2010-2022.
- Ryberg, M., P.B. Matheny, 2011. Asynchronous origins of ectomycorrhizal clades of Agaricales. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 279: 2003-2011.
- Sánchez-García, M., P.B. Matheny, 2017. Is the switch to an ectomycorrhizal state an evolutionary key innovation in mushroom-forming fungi? A case study in the Tricholomatineae (Agaricales). *Evolution* 71: 51-65.
- Sánchez-Ramírez, S., R.S. Etienne, J.M. Moncalvo, 2015 a. High speciation rate at temperate latitudes explains unusual diversity gradients in a clade of ectomycorrhizal fungi. *Evolution* 69: 2196-2209.
- Sánchez-Ramírez, S., R.E. Tulloss, M. Amalfi, J.M. Moncalvo, 2015 b. Palaeotropical origins, boreotropical distribution and increased rates of diversification in a clade of edible ectomycorrhizal mushrooms (*Amanita* section *Caesareae*). *Journal of Biogeography* 42: 351-363.
- Selosse, M.A., M.P. Dubois, N. Alvarez, 2009. Do Sebaciales commonly associate with plant roots as endophytes? *Mycological Research* 113: 1062-1069.
- Smith, S.E., D.J. Read, 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd. Academic Press, New York.
- Soudzilovskaia, N.A., S. Vaessen, M. van't Zelfde, N. Raes, 2017. Global patterns of mycorrhizal distribution and their environmental drivers. In: Tederloo, L. (ed.), *Biogeography of mycorrhizal symbiosis*. Springer, Cham. Pp. 223-235.
- Strullu-Derrien, C., M.A. Selosse, P. Kenrick, F. Martin, 2018. The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. *New Phytologist* 220: 1012-1030.
- Talbot, J.M., K.K. Treseder, 2010. Controls over mycorrhizal uptake of organic nitrogen. *Pedobiologia* 53: 169-179.
- Tschaplinski, T.J., J. Plett, N.L. Engle, A. Deveau, K.C. Cushman, M.Z. Martin, et al., 2014. *Populus trichocarpa* and *Populus deltoides* exhibit different metabolomic responses to colonization by the symbiotic fungus *Laccaria bicolor*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 27: 546-556.
- Taylor, T.N., M. Krings, E.L. Taylor, 2015. Fungal diversity in the fossil record. In: McLaughlin D., J. Spatafora (eds.), *systematics and evolution*. The Mycota (a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research), vol 7B. Springer, Berlin, Heidelberg. Pp. 259-278.
- Tederloo, L., M. Bahram, S. Pölme, U. Kõljalg, N.S. Yorou, R. Wijesundera, et al., 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346: 1256688.
- Tederloo, L., M.C. Brundrett, 2017. Evolution of ectomycorrhizal symbiosis in plants. In: Tederloo, L. (ed.), *Biogeography of mycorrhizal symbiosis*. Springer, Cham. Pp. 407-467.
- Tederloo, L., K. Nara, 2010. General latitudinal gradient of biodiversity is reversed in ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist* 185: 351-354.
- Tederloo, L., M. Smith, 2013. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biology Reviews* 27: 83-99.
- Tederloo, L., M.E. Smith, 2017. Ectomycorrhizal fungal lineages: detection of four new groups and notes on consistent recognition of ectomycorrhizal taxa in high-throughput sequencing studies. In: Tederloo, L. (ed.), *Biogeography of mycorrhizal symbiosis*. Springer, Cham. Pp. 125-142.
- Tederloo, L., T.W. May, M.E. Smith, 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20: 217-263.
- Tisserant, E., M. Malbreil, A. Kuo, A. Kohler, A. Symeonidi, R. Balestrini, et al., 2013. Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110: 20117-20122.
- Toruño, T.Y., I. Stergiopoulos, G. Coaker, 2016. Plant-pathogen effectors: cellular probes interfering with plant defenses in spatial and temporal manners. *Annual Review of Phytopathology* 54: 419-441.
- Truong, C., S. Sánchez-Ramírez, F. Kuhar, Z. Kaplan, M.E. Smith, 2017. The Gondwanan connection—Southern temperate *Amanita* lineages and the description of the first sequestrate species from the Americas. *Fungal Biology* 121: 638-651.
- van der Heijden, M.G., F.M. Martin, M.A. Selosse, I.R. Sanders, 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist* 205: 1406-1423.
- Vasco-Palacios, A.M., M. Bahram, T. Boekhout, L. Tederloo, 2019. Carbon content and pH as important drivers of fungal community structure in three Amazon forests. *Plant and Soil* 1-21.
- Vellinga, E. C., B. E. Wolfe, A. Pringle, 2009. Global patterns of ectomycorrhizal introductions. *New Phytologist* 181: 960-973.
- Veneault-Fourrey, C., J.M. Plett, F. Martin, 2014. Who is controlling whom within the ectomycorrhizal symbiosis: insights from genomic and functional analyses. In: Bruijn, F.J. (ed.), *Molecular microbial ecology of the rhizosphere: Volume 1 & 2*, Wiley, Hoboken. Pp. 501-512.
- Venkateshwaran, M., J.D. Volkening, M.R. Sussman, J.M. Ané, 2013. Symbiosis and the social network of higher plants. *Current Opinion in Plant Biology* 16: 118-127.
- Weiss, M., M.A. Selosse, K.H. Rexer, A. Urban, F. Oberwinkler, 2004. Sebaciales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. *Mycological Research* 108: 1003-1010.
- Wilson, A.W., M. Binder, D.S. Hibbett, 2011. Effects of gasteroid fruiting body morphology on diversification rates in three indepen-

- dent clades of fungi estimated using binary state speciation and extinction analysis. *Evolution* 65: 1305-1322.
- Wilson, A.W., K., Hosaka, G.M. Mueller, 2017a. Evolution of ectomycorrhizas as a driver of diversification and biogeographic patterns in the model mycorrhizal mushroom genus *Laccaria*. *New Phytologist* 213: 1862-1873.
- Wilson, A.W., T.W. May, G.M. Mueller, 2017b. Biogeography of the ectomycorrhizal mushroom genus *Laccaria*. In: Tedersoo, L. (ed.), *Biogeography of mycorrhizal symbiosis*. Springer, Cham. Pp. 273-297.
- Wolfe, B.E., R.E. Tulloss, A. Pringle, 2012. The irreversible loss of a decomposition pathway marks the single origin of an ectomycorrhizal symbiosis. *PLoS One* 7: e39597.
- Zuccaro, A., U. Lahrman, U. Guldener, G. Langen, S. Pfiffi, D. Biedenkopf, et al., 2011. Endophytic life strategies decoded by genome and transcriptome analyses of the mutualistic root symbiont *Piriformospora indica*. *PLoS pathogens* 7: e1002290.