

## INTERACCIÓN ENTRE HONGOS ENDOFITOS Y MICORRIZICOS EN *FESTUCA ARUNDINACEA* EN RESPUESTA A LA FERTILIZACION FOSFATADA

Lucas Ricardo Petigrosso <sup>1\*</sup>, Jacqueline Giselle Commatteo <sup>2,3,4</sup>, Guadalupe Fuertes <sup>1</sup>,  
Fernanda Covacevich <sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.

<sup>2</sup> Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS)-Estación Experimental Balcarce, Argentina.

<sup>3</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

<sup>4</sup> Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología, Argentina

### RESUMEN

Nuestro objetivo fue evaluar la producción y partición de biomasa de plantas de *Festuca arundinacea* (festuca alta) infectadas con el hongo endófito *Epichloë coenophiala* e inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en respuesta a la fertilización fosfatada (P). Para ello, se realizó un experimento en macetas en cámara de crecimiento, a través de un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial con 5 repeticiones. Se evaluó el crecimiento de *F. arundinacea* ante la ausencia o presencia de *E. coenophiala* (SE- y SE+, respectivamente), la inoculación con HMA (HMA+ y HMA-, con y sin inoculación, respectivamente) y la fertilización con fósforo (P15 y P0, con y sin fertilización, respectivamente). Luego de 160 días de crecimiento se registró la biomasa fresca total (BFT) y su partición en biomasa fresca aérea (BFA) y radical (BFR), y el peso seco aéreo (PSA). Además, se cuantificó la colonización micorrízica en raíces de festuca alta. Las plantas HMA+ produjeron menor BFT, BFA y BFR que las HMA- en las condiciones SE- y P0. No se detectaron diferencias en BFT y PSA entre plantas HMA+ y HMA- en P15. En P0, las plantas HMA- presentaron mayor PSA que las HMA+. Las plantas SE- presentaron mayor PSA que las SE+. En las plantas SE+ inoculadas con HMA para la condición P0, se registró abundante micelio extraradical, aunque no se evidenció colonización interradsical ni formación de arbusculos o vesículas. En P15, solamente en una muestra de SE- se observó micelio extraradical alrededor de las raíces (que presentaron menor longitud en relación a las raíces de las plantas sin fertilizar). Bajo las condiciones del presente experimento, no se registraron las respuestas esperadas en producción de biomasa en plantas infectadas con el hongo endófito y la inoculación con HMA ni sinergismo entre ambos simbioses. Además, no se evidenció efecto modulador de la fertilización fosfatada en las respuestas esperadas.

**Palabras clave:** festuca alta, *Epichloë coenophiala*, hongos micorrízicos arbusculares, fósforo.

## INTERACTION BETWEEN ENDOPHYTE AND MICORRHIZAL FUNGI IN *FESTUCA ARUNDINACEA* IN RESPONSE TO PHOSPHATE FERTILIZATION

\* Autor de contacto:  
lpetigrosso@mdp.edu.ar

Recibido:  
17-06-22

Recibido con revisiones:  
07-12-22

Aceptado:  
07-12-22

### SUMMARY

Our objective was to evaluate the biomass production and partitioning of *Festuca arundinacea* (tall fescue) plants infected with endophyte *Epichloë coenophiala* and inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) in response to phosphate fertilization (P). For this, an experiment was carried out in pots in a growth chamber, through a completely randomized design with a factorial arrangement with 5 repetitions. The growth of *F. arundinacea* was evaluated in presence or not of *E. coenophiala* (SE- and SE+, respectively), inoculated with HMA (HMA+ and HMA-, with and without inoculation, respectively) and fertilized with

phosphorus (P15 and P0, with and without fertilization, respectively). After 160 days of growth, the total fresh biomass (TFB) and its partitioning into aboveground (AFB) and belowground (BFB), and air dry weight (ADW) were quantified. Mycorrhizal colonization was quantified in roots. HMA+ plants showed lower BFT, BFA and BFR than HMA- plants in SE- and P0 conditions. No differences in BFT and PSA were detected between HMA+ and HMA- plants at P15. At P0, HMA- plants showed higher PFA than HMA+ plants. SE- plants showed higher PSA than SE+ plants. In SE+ plants inoculated with HMA for the P0 condition, abundant extraradical mycelium was recorded, although there was no evidence of interradical colonization or formation of arbuscules or vesicles. At P15, extraradical mycelium was observed around the roots (which were shorter than the roots of unfertilized plants) in only one sample of SE-. Under the conditions of the present experiment, expected responses in biomass production in plants infected with the endophyte fungus and inoculation with HMA and synergism between both symbionts were not recorded. Furthermore, no modulating effect of phosphate fertilization on the expected responses was found.

**Keywords:** tall fescue, *Epichloë coenophiala*, arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus.

### INTRODUCCION

En la Región Pampeana Argentina, los suelos ocupados por pastizales presentan ambientes edáficos que pueden restringir el crecimiento vegetal, principalmente debido a deficiencias nutricionales, salinidad y déficit o exceso de humedad (Rodríguez y Jacobo, 2012). En este sentido, la producción de pasturas en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires, es altamente dependiente de la disponibilidad de fósforo (P) y nitrógeno (N). Así, en la última década, dado que el contenido de P disponible en los suelos ha disminuido, la fertilización fosfatada constituye una práctica generalizada (Sainz Rozas et al., 2019). Por ello, resulta importante la capacidad de una especie para asociarse con microorganismos simbiotes que puedan mejorar su acceso al P disponible, tales como los hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Varios autores han sugerido a los HMA como indicadores para monitorear los efectos del cambio de uso de la tierra y la salud del suelo (Nogueira et al., 2016; Silva et al., 2017; Šarapatka et al., 2019). Los HMA, a través de la colonización de raíces de las plantas hospedadoras establecen micorrizas, constituyendo el tipo de asociación simbiótica más extendida en la naturaleza entre dichos hongos (subphylum Glomeromycotina) y la mayoría (>72%) de las plantas vasculares (Brundrett y Tedersoo, 2018; Spatafora et al., 2016). Uno de los beneficios de la simbiosis es una mayor absorción de nutrientes (donde los poco móviles como el P resultan de mayor importancia), y consecuentemente en crecimiento, en plantas micorrizadas (Astiz Imaz et al., 2014; Barea et al., 2009). La mayor absorción por plantas micorrizadas es resultado del aumento de volumen de suelo explorado por la raíz micorrizada donde el micelio extraradical de los HMA tienen acceso al P más allá de la zona de agotamiento. La simbiosis es del tipo mutualista y obligada para los HMA dado que reciben fotosintatos por la planta hospedadora al hongo con el consecuente costo para el hospedador que la simbiosis conlleva (Allen et al., 2020). Es conocido que la formación de micorrizas se reduce en suelos con altas concentraciones de P disponible en la mayoría de las condiciones (Grant et al., 2005). Covacevich et al. (2007) establecieron que contenidos de P-Bray hasta 27 mg/kg en suelos del sudeste de la Provincia de Buenos Aires deprimen la colonización micorrícica a razón de 2,8% mg P/kg, y por encima de dicho valor la colonización se estabiliza al 10%. Asimismo, Covacevich et al. (2006) detectaron depresión de la colonización a campo en pasturas de agropiro y festuca alta resultado de la fertilización con fuentes de elevada solubilidad, aspecto que debería ser tomado en cuenta en la planificación de fertilización con fines productivos.

Festuca alta, *Festuca arundinacea* Schreb., es uno de los principales componentes de los pastizales y pasturas de la Pampa Deprimida Argentina (Roitman y Prelasco, 2018; Scheneiter et al., 2016). Se caracteriza por su rusticidad, plasticidad fenotípica y calidad en los sistemas extensivos de producción ganadera (Lattanzi et al., 2007; Mazzanti et al., 1992). Al igual que otras gramíneas C<sub>3</sub> puede establecer una relación simbiótica con hongos endófitos asexuales de transmisión vertical, es decir, a través de las semillas infectadas del hospedante (Clay y Schardl, 2002). El hongo endófito que infecta festuca alta, *Epichloë coenophiala* (Morgan-Jones & W. Gams) C.W. Bacon & Schardl (= *Neotyphodium coenophialum* (Morgan-Jones & W. Gams) Glenn, C.W. Bacon & Hanlin (Leuchtman et al., 2014), crece sistémica y asintóticamente en la parte aérea de la planta (Clay y Schardl, 2002). La asociación es considerada mutualista; por un lado, el endófito obtiene nutrición, dispersión y supervivencia, y por otro, las plantas infectadas se benefician por los alcaloides que produce el endófito (i.e., lolinas y peraminas) que les otorgan resistencia a adversidades bióticas y abióticas en condiciones de estrés (Lee et al., 2021; Malinowski y Belesky, 2000; Omacini et al., 2001). En este sentido, se ha demostrado, entre otros beneficios, que el endófito mejoraría la adaptación

de las plantas hospedantes a la deficiencia de P, desarrollando raíces significativamente más largas y de mayor peso respecto a las producidas por plantas libres (Ren et al., 2007). Sin embargo, algunos de los alcaloides (i.e., ergocalcoides) son tóxicos para el ganado en pastoreo y pueden causar diversos síndromes clínicos y subclínicos que provocan importantes pérdidas económicas en la producción ganadera (Evans et al., 2004). En los últimos años se han registrado valores superiores al 90% de infección endofítica en las plantas de festuca alta muestreadas en campos ganaderos de diferentes partidos de la Pampa Deprimida de la Provincia de Buenos Aires (Petigrosso et al., 2019).

Algunas investigaciones en gramíneas seleccionadas agrónomicamente, han demostrado que la colonización de la raíz por HMA se reduce cuando el hospedante está infectado con endófitos (Antunes et al., 2008; Guo et al., 1992; Keenan & Rudgers, 2008; Liu et al., 2011; Omanici et al., 2006), sin embargo, otros estudios realizados en especies nativas, han registrado un aumento en la colonización (Novas et al., 2005, 2009, 2011; Vignale, 2016). Estos resultados estarían asociados a la especificidad de la asociación dentro de cada simbiosis y a su vez, a la posible interacción entre los endófitos *Epichloë* sp. y los hongos micorrízicos arbusculares sobre la respuesta de la planta hospedante (Vignale, 2016).

Dado que los suelos de la Región Pampeana Argentina presentan baja disponibilidad de P, y que son escasos los trabajos que analizan la respuesta de plantas con endófito al P y su posible interacción con los HMA, el objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de biomasa y su partición en plantas de festuca alta infectadas con endófito *E. coenophiala* e inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en respuesta a la fertilización fosfatada (P). La hipótesis del presente estudio es que, en condiciones de baja oferta de P, las plantas infectadas con el endófito *E. coenophiala* e inoculadas con HMA, presentarán mayor producción de biomasa que aquellas libres de endófito y de HMA. En caso de verificarse este sinergismo, podría explicarse la mayor aptitud ecológica de plantas infectadas con endófito *E. coenophiala* y por consiguiente, su avance en pasturas y pastizales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio y diseño experimental

Se realizó un experimento bajo condiciones controladas en una cámara de germinación de la Unidad Integrada Balcarce, Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP – EEA Balcarce, INTA (37°45' S, 58°17' O, 130 m s.n.m.). Se trabajó con plantas de festuca alta con endófito silvestre *E. coenophiala* (SE+) y libre de endófito (SE-) pertenecientes a la misma población. La semilla original proveniente de la población naturalizada se cosechó en un pastizal del Partido de Mar Chiquita (37° 32' S; 57° 55' O) y se almacenó en heladera a 5°C para mantener la viabilidad del endófito. La semilla libre se obtuvo a partir de la eliminación del endófito mediante el almacenamiento de la semilla infectada a 20°C de temperatura y 52% HR durante 12 meses. El experimento se llevó a cabo con semilla cosechada en el mismo año y con comprobada condición endofítica (Petigrosso et al., 2021).

Se empleó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial con 5 repeticiones. Previo a la siembra, las semillas de festuca alta se esterilizaron y se pusieron a germinar según las reglas International Seed Testing Association [ISTA] (2008). Una vez germinadas las semillas, se trasplantó una plántula de similar porte por cada maceta de 500 cc (unidades experimentales). Las macetas contuvieron sustrato homogéneo (1:2:1 volumen) formado por arena de río, perlita esterilizada y suelo esterilizado con formaldehído a una concentración de 10 µl/g de suelo, de modo de evitar la colonización por HMA nativos según Covačevich & Echeverría (2003). Para la condición micorrízica, se evaluaron dos niveles: con y sin inoculación de HMA (HMA+ y HMA-, respectivamente). Para la condición HMA+, se realizó inoculación de las raíces de las plántulas con esporas de HMA extraídas (empleando el protocolo descrito por el INRA, 2001) de muestras de suelo de los primeros 20 cm de un ensayo de larga duración, con predominio de soja (*Glycine max* L. Merr.) sin fertilización, ubicado en la EEA Balcarce sobre un Argiudol Típico con textura superficial franco limosa (Soil Survey Staff, 2014). Previo a la inoculación se determinó que los HMA mayoritarios en el inóculo estuvieron constituidos por morfotipos glomoides (géneros *Glomus*, *Funneliformis*, *Rhizophagus*). Al momento del trasplante, las plántulas fueron inoculadas con el consorcio de esporas de HMA, extraído antes de la esterilización del suelo (20 esporas/maceta). Además, a los 7 días desde el trasplante, se realizó una re-inoculación con la misma dosis. Para la condición de fertilización con P se partió con un nivel inicial de 15 ppm y se evaluaron dos niveles: con y sin fertilización, es decir, sustrato fertilizado luego del trasplante con el agregado de 15 ppm de P (P15) y sin agregado de P (P0), respectivamente. Las macetas se mantuvieron a 25°C, con fotoperiodo (12 h luz/12 h oscuridad en cámara de crecimiento, durante 160 días donde fueron regadas con agua destilada cada 72 h. En total se usaron 40 macetas, resultantes de la

combinación factorial de: 2 niveles de infección (SE+ y SE-), 2 niveles de inoculación (HMA+ y HMA-) y 2 niveles de fertilización fosfatada (P0 y P15) y 5 repeticiones.

### Determinaciones

Cada vez que aparecieron tres nuevas hojas en las plantas de festuca ( $\approx 550^{\circ}\text{Cd}$ , temperatura base de festuca alta  $4^{\circ}\text{C}$ ) se realizó un corte de la biomasa aérea a 10 cm de altura desde el nivel del suelo. Luego de 160 días, se realizó el descalzado de las macetas y se registró la biomasa fresca total (BFT) por gravimetría. Posteriormente, las plantas fueron fraccionadas, separando la parte aérea de la subterránea. Se determinó la biomasa fresca aérea (BFA) y radical (BFR). Para ello, las raíces se separaron del sustrato, lavándolas y secándolas con papel absorbente antes de pesarse. La fracción aérea, se colocó en bolsas de papel rotuladas para secarse en estufa a  $60^{\circ}\text{C}$  hasta peso constante (PSA). Luego de la cuantificación del BFR, las raíces fueron procesadas para la tinción de acuerdo a INRA (2001) y posteriormente se procedió a la cuantificación de la colonización micorrícica de acuerdo a Trouvelot et al. (1986, descrito en INRA, 2001).

### Análisis estadístico

Se ajustaron modelos lineales que consideraron los efectos principales y de interacción entre los factores experimentales: nivel de infección endofítica, nivel inoculación con HMA y nivel de fertilización fosfatada. Previamente al análisis, realizó la verificación del cumplimiento de los supuestos del ANOVA (normalidad de los residuos y la homogeneidad de varianzas). Las medias se compararon con la prueba de la Mínima Diferencia Significativa (MDS); se consideró significativa toda diferencia con un valor de probabilidad  $p < 0,05$ . Se empleó el software estadístico R (R Development Core Team, 2018).

## RESULTADOS

Al analizar la biomasa fresca total y su partición en aérea y radical, no se halló interacción triple significativa entre los factores experimentales (Tabla 1) pero sí interacciones dobles significativas (Tabla 1) entre el nivel de infección endofítica y el nivel de inoculación con HMA, y entre el nivel de inoculación con HMA y el nivel de fertilización con P. Por un lado, no hubo diferencia significativa entre la producción de biomasa de las plantas HMA+ y HMA- cuando estas eran SE+, pero si, cuando eran SE-, donde las plantas HMA+ produjeron menor BFT, BFA y BFR que las HMA- (Tabla 2). Por otro lado, no se detectaron diferencias significativas en la producción de biomasa entre plantas HMA+ y HMA- cuando fueron fertilizadas (P15) (Tabla 2). Sin embargo, cuando las plantas no recibieron P (P0), las plantas HMA+ produjeron menor BFT, BFA y BFA que las HMA- (Tabla 2).

Al analizar el PSA, no se halló interacción triple significativa entre los factores evaluados (Tabla 1); aunque sí fue significativa la interacción entre el nivel de inoculación con HMA y el nivel de fertilización con P (Tabla 1). También se registró efecto simple del nivel de infección endofítica (Tabla 1). Por un lado, las plantas HMA- presentaron mayor PSA que las HMA+, en el tratamiento sin agregado de P (Tabla 2). Por otro, no se registraron diferencias de PSA entre plantas HMA- y HMA+ en los tratamientos P15 (Tabla 2). Las plantas SE- presentaron mayor PSA que las SE+ (Tabla 2).

**Tabla 1.** Efectos principales e interacciones (ANOVA) entre los factores experimentales: fertilización con fósforo (P), infección endofítica (I), inoculación con hongos micorrícicos arbusculares (HMA), para las variables respuesta evaluadas: biomasa fresca total (BFT) y su partición en aérea (BFA) y radical (BFR) y peso seco aéreo (PSA).

**Table 1.** Main effects and interactions (ANOVA) between the experimental factors: fertilization with phosphorus (P), endophytic infection (I), inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (HMA), for the response variables evaluated: total fresh biomass (BFT) and its partitioning into aboveground (BFA) and belowground (BFR) and air dry weight (PSA).

Variable	Efectos principales						Interacciones							
	P		I		HMA		P x I		P x HMA		I x HMA		P x I x HMA	
	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
<b>BFT</b>	0,764	0,390	0,909	0,345	13,916	0,001	0,938	0,342	16,224	0,001	11,458	0,002	0,846	0,367
<b>BFA</b>	1,629	0,214	7,824	0,010	4,482	0,045	0,222	0,641	14,336	0,001	9,188	0,006	1,038	0,318
<b>BFR</b>	0,102	0,752	7,148	0,013	8,089	0,009	1,194	0,285	5,861	0,023	4,465	0,045	3,605	0,070
<b>PSA</b>	8,810	0,007	6,180	0,020	8,461	0,008	2,798	0,107	5,653	0,026	1,362	0,255	0,945	0,341

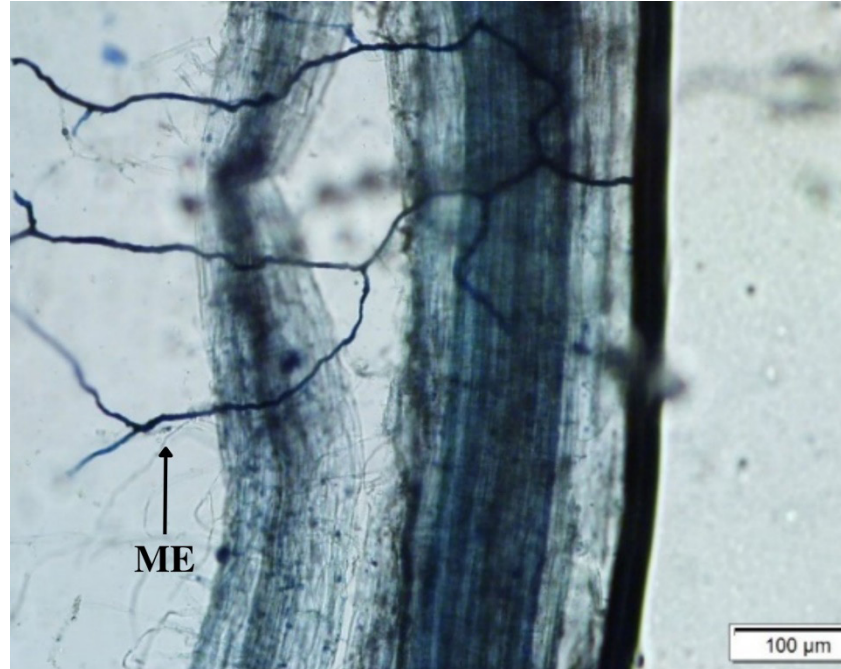


**Tabla 2.** Biomasa fresca total (BFT) y su partición en aérea (BFA) y radical (BFR) y peso seco aéreo (PSA) (media  $\pm$  EE; g/planta; n=5). SE+ = con endófito silvestre; SE- = libre de endófito; HMA+ = con agregado de hongos micorrícicos arbusculares (HMA); HMA- = sin inoculación de HMA; P0 = sin agregado de P; P15 = con agregado de 15 ppm de P. Letras distintas por columna para cada combinación de factores experimentales indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Table 2.** Total fresh biomass (BFT) and its partitioning into aboveground (BFA) and belowground (BFR) and air dry weight (PSA) (mean  $\pm$  ES; g/plant; n=5). SE+ = with wild endophyte; SE- = free of endophyte; HMA+ = with added arbuscular mycorrhizal fungi; HMA- = without HMA inoculation; P0 = without added P; P15 = with added 15 ppm P. Different letters per column for each combination of experimental factors indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

Factor experimental		BFT (g/pl)	BFA (g/pl)	BFR (g/pl)	PSA (g/pl)
SE-	HMA-	3,514 $\pm$ 0,162 a	1,992 $\pm$ 0,095 a	1,522 $\pm$ 0,109 a	0,547 $\pm$ 0,202 a
	HMA+	2,525 $\pm$ 0,085 b	1,599 $\pm$ 0,062 b	0,926 $\pm$ 0,081 b	0,415 $\pm$ 0,040 a
SE+	HMA-	3,176 $\pm$ 0,191 a	1,587 $\pm$ 0,109 a	1,589 $\pm$ 0,127 a	0,429 $\pm$ 0,070 a
	HMA+	3,128 $\pm$ 1,725 a	1,627 $\pm$ 0,054 a	1,501 $\pm$ 0,191 a	0,373 $\pm$ 0,061 a
P0	HMA-	3,716 $\pm$ 0,131 a	1,966 $\pm$ 0,127 a	1,720 $\pm$ 0,081 a	0,574 $\pm$ 0,181 a
	HMA+	2,643 $\pm$ 0,112 b	1,556 $\pm$ 0,058 b	1,087 $\pm$ 0,094 b	0,403 $\pm$ 0,058 b
P15	HMA-	3,005 $\pm$ 0,144 a	1,614 $\pm$ 0,088 a	1,391 $\pm$ 0,119 a	0,401 $\pm$ 0,061 a
	HMA+	3,070 $\pm$ 0,232 a	1,730 $\pm$ 0,037 a	1,340 $\pm$ 0,229 a	0,384 $\pm$ 0,048 a

No se detectó evidencia de colonización micorrícica en las raíces de las plantas no inoculadas con HMA, corroborando la erradicación de HMA antes de la inoculación. Contrariamente a lo esperado, no se registró colonización intraradical en las raíces de las plantas inoculadas con HMA, no evidenciándose arbusculos ni vesículas. En este sentido, la colonización de raíces por HMA en todas las situaciones evaluadas fue del 0%. Solo se detectó micelio extraradical (Figura 1) en tres de las cinco repeticiones para las plantas SE+ HMA+ crecidas bajo la condición de P0 en una intensidad del 10%, 15% y 13%, lo que resultó en un grado de presencia de micelio extraradical para dicha condición del 7,6% (desvío estándar 7,2%). Para la condición de P15 en plantas SE- HMA+ se registró presencia de micelio extraradical solo en una repetición (intensidad de micelio extraradical 14%), lo que correspondió a una intensidad total del micelio externo del 2,8% (desvío estándar 6,3%).



**Figura 1.** Micelio extraradical (ME) de hongos micorrícicos arbusculares en raíces de plantas de festuca alta inoculadas (10X). Foto: Commatteo, J.G.

**Figure 1.** Extraradical mycelium (ME) of arbuscular mycorrhizal fungi on roots of tall fescue inoculated (10X). Photo: Commatteo, J.G.

## DISCUSIÓN

Bajo las condiciones del presente experimento, no se detectaron efectos de presencia de los endófitos *E. coenophiala* (SE+) y de la inoculación con HMA para ninguno de los niveles de fertilización con P en la producción de BFT y su partición en las plantas de festuca alta (Tabla 1). Estos resultados no permitirían aceptar la hipótesis planteada. Era de esperar que una asociación simbiótica como la de HMA con las raíces de las plantas vasculares, fuese promovida o al menos tolerada por los endófitos *Epichloë*, dado que, si bien los endófitos y los HMA obtienen los mismos beneficios de su hospedante (i.e. hidratos de carbono), difieren en su ubicación y en el momento de la colonización (Vignale, 2016). Los endófitos *Epichloë* sp. están localizados en los tejidos foliares (Clay & Schardl, 2002), es decir, en donde se lleva a cabo la fotosíntesis, es por ello que, acceden primero a los fotosintatos; mientras que, los HMA colonizan las raíces de sus hospedantes de manera “horizontal”, después de que las semillas germinan (Vignale, 2016).

Por otro lado, si bien en este estudio no se determinó el contenido de P en el sustrato, es esperable que éste haya sido suficiente dado que no se detectaron efectos en la producción de biomasa por la fertilización fosfatada (Tabla 2). Esto haría suponer que los niveles de P en el sustrato, tanto para la situación P0 como para la P15 podrían haber sido elevados, situación que podría haber conspirado contra la formación de micorrizas en las raíces de las plantas. Covacevich et al. (2006), observaron que la colonización espontánea por HMA en festuca alta fue deprimida por la fertilización con fuentes de P solubles. Por otra parte, Covacevich & Echeverría (2009) determinaron efectos positivos en la producción de biomasa de festuca alta por la inoculación con un aislamiento no nativo (*Glomus claroideum*) de HMA cuando las poblaciones nativas habían sido eliminadas con formaldehído (tal como en este estudio), particularmente oferta de roca fosfórica o cuando las plantas superfosfato triple de calcio; aunque no se detectaron respuestas positivas cuando el aislamiento consistió en propágulos de HMA de la especie *Acaulospora longula*. En este estudio, la inoculación se realizó con un consorcio de esporas de HMA nativas y, en base a la metodología utilizada, no se detectó colonización micorrízica (i.e., arbuscúlos e hifas intraradicales) ni tampoco efecto alguno por la inoculación. Esto indicaría que las plantas hospedantes de esta población de festuca alta, independientemente de su nivel de infección endofítica, fueron capaces de cubrir sus requerimientos de absorción de nutrientes independientemente de la formación de simbiosis micorrízica.

La potencialidad de los HMA en favorecer la microbiota y estructura del suelo, es indiscutible (Gupta, 2020). Sin embargo, la potencialidad de los HMA en favorecer la nutrición y/o crecimiento de plantas, podría depender no solamente de la interacción entre el endófito *E. coenophiala* y la especie de HMA involucrada, sino también, del genotipo de la planta hospedante, debido a los resultados contrastantes hallados en la literatura (e.g., Antunes et al., 2008; Novas et al., 2005). Cabe desatacar que, en todas las condiciones evaluadas se registró micelio extraradical, sin la formación de arbuscúlos, vesículas, ni observación de micelio intraradical, estructuras característica que intervienen durante la simbiosis micorrízica entre las plantas y los HMA (Bagó et al., 2000). El micelio extraradical detectado pero sin formación de arbuscúlos, indicaría que la inoculación se realizó con esporas de HMA viables. Futuros estudios deberán evaluar la respuesta de otros genotipos de festuca alta infectados con el hongo endófito *E. coenophiala* al ser inoculados con diferentes consorcios de HMA. Además, se deberán considerar otras variables que influyen sobre la respuesta a la colonización micorrízica, como son el tipo de suelo, el estado de desarrollo de la planta hospedante y la disponibilidad de P en el suelo y contenido en planta (Smith & Read, 2008). Sería importante, además, considerar un mayor período de evaluación debido a los tiempos que poseen algunas especies de HMA para completar su ciclo de colonización e investigar mecanismos que podrían explicar la influencia de los hongos endófitos sobre la colonización de las plantas por HMA, tales como son la lixiviación y exudación de compuestos químicos producidos por los endófitos (Antunes et al., 2008; Casas et al., 2011; Vignale, 2016).

## CONCLUSIONES

En este estudio, no se registraron las respuestas esperadas en producción de biomasa en plantas infectadas con el hongo endófito y los HMA ni sinergismo entre ambos simbioses, durante el periodo de tiempo contemplado. Además, no se evidenció efecto modulador de la fertilización fosfatada en las respuestas esperadas. Son muy escasos los reportes acerca de la interacción entre el hongo endófito *E. coenophiala* asociados a *F. arundinacea* y los HMA y la modulación por la fertilización fosfatada, que nos permita explicar el motivo por el cual no se registró colonización micorrízica en las plantas de esta población de festuca alta. En este sentido, aun con falta de respuesta, los resultados de este estudio constituyen un aporte original sobre la asociación de dos endosimbiontes en festuca alta ante ofertas variables de P. De este modo, en futuros estudios se deberá evaluar la respuesta de otros genotipos de festuca alta infectados con el hongo endófito *E. coenophiala* a la inoculación con diferentes consorcios de HMA, considerando además un ma-

por periodo experimental y otras variables que influyen sobre la respuesta a la colonización micorrícica.

## REFERENCIAS

- Allen, K., Fisher, J.B., Phillips R.P., Powers, J. S. & Brzostek E.R. (2020). Modeling the carbon cost of plant nitrogen and phosphorus uptake across temperate and tropical forests. *Frontiers in Forests and Global Change*, 3, 43.
- Antunes, P. M.; Miller, J., Carvalho, L. M.; Klironomos, J. N. & Newman, J. A. (2008). Even after death the endophytic fungus of *Schedonorus phoenix* reduces the arbuscular mycorrhizas of other plants. *Functional Ecology*, 22, 912–918.
- Bago, B., Pfeffer, P.E. & Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology*, 124(3), 949-958. <https://doi.org/10.1104/pp.124.3.949>
- Barea, J. M., Mcneil, A. M., Prigent-Combaret, C. & Richardson, A. E. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, 321, 305-339.
- Brundrett, M. C. & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220, 1108–1115.
- Casas, C., Omacini, M., Montecchia, M. S. & Correa, O. S. (2011). Soil microbial community responses to the fungal endophyte *Neotyphodium* in Italian ryegrass. *Plant and Soil*, 340, 347-355.
- Clay, K. & Schardl, C. (2002). Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *The American Naturalist*, 160, 99-127.
- Covacevich, F. y Echeverría, H. E. (2003). Utilización de formaldehído para la erradicación de hongos micorrícicos arbusculares de muestras de suelo. *Ciencia del Suelo*, 21(1), 9-17.
- Covacevich, F., Marino, M. A. & Echeverría, H. E. (2006). The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass. *European Journal of Soil Biology*, 42(3), 127-138.
- Covacevich, F., Echeverría, H. E. & Aguirrezabal, L. (2007). Soil available phosphorus status determines indigenous mycorrhizal colonization into field and glasshouse-grown spring wheat in Argentina. *Applied Soil Ecology*, 35, 1–9.
- Covacevich, F. & Echeverría H. E. (2009). Mycorrhizal occurrence and responsiveness in tall fescue and wheatgrass are affected by the source of phosphorus fertilizer and fungal inoculation. *Journal of Plant Interactions*, 4(2), 101-112.
- Evans, T. J., Rottinghaus, G. E. & Casteel, S. W. (2004). Ergot. In: *Clinical Veterinary Toxicology*, Plumlee KH (ed.). Mosby, St. Louis, MO. pp. 239–243.
- Grant, C., Bittman, S., Montreal, M., Plenchette, C. & Morel, C. (2005). Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(1), 3-13.
- Guo, B., Hendrix, J., An, Z. Q. & Ferriss, R. (1992). Role of *Acremonium* endophyte of fescue on inhibition of colonization and reproduction of mycorrhizal fungi. *Mycologia* 84, 882-885.
- Gupta, M.M. (2020). Arbuscular Mycorrhizal Fungi: The Potential Soil Health Indicators. In *Soil Health* (pp. 183-195). Springer, Cham.
- Imaz, P. A., Barbieri, P. A., Echeverría, H. E., Sainz Rozas, H. R. & Covacevich, F. (2014). Indigenous mycorrhizal fungi from Argentina increase Zn nutrition of maize modulated by Zn fertilization. *Soil and Environment*, 33(1), 23-32.
- INRA. (2001). *Mycorrhiza manual: Arbuscular mycorrhizal fungi in plant production systems: detection, taxonomy, conservation and ecophysiology*.
- International seed testing association. (2008). *International Rules for Seed Testing*. ISTA. Bassersdorf.
- Keenan, M. & Rudgers, J. A. (2008). Balancing multiple mutualists: asymmetric interactions among plants, arbuscular mycorrhizal fungi, and fungal endophytes. *Oikos*, 117, 310-320.
- Lattanzi, F. A., Mazzanti, A. & Wade, M.H. (2007). Seasonal animal production of temperate and Mediterranean tall fescue cultivars under continuous variable stocking with close control of sward state. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58, 203-213.
- Lee, K., Missaoui, A., Mahmud, K., Presley, H. & Lonnee, M. (2021). Interaction between Grasses and *Epichloë* Endophytes and Its Significance to Biotic and Abiotic Stress Tolerance and the Rhizosphere. *Microorganisms*, 9, 2186-2213.
- Leuchtmann, A., Bacon, C. W., Schardl, C. L., White, J. F. & Tadych, M. (2014). Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycology*, 106, 202–215.
- Liu, Q., Parsons, A. J., Xue, H., Fraser, K., Ryan, G. D., Newman, J. A. & Rasmussen, S. (2011). Competition between foliar *Neotyphodium lolii* endophytes and mycorrhizal *Glomus* spp. fungi in *Lolium perenne* depends on resource supply and host carbohydrate content. *Functional Ecology*, 25, 910-920.
- Malinowski, D. & Belesky, D. (2000). Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science*, 40, 923-940.
- Mazzanti, A., Castaño J., Sevilla, C. y Orbea, J. (1992). *Características agronómicas de especies y cultivares de gramíneas y leguminosas forrajeras adaptadas al sudeste de la Provincia de Buenos Aires*. INTA. Centro Regional Buenos Aires Sur. EEA Balcarce. 73p.

- Nogueira, L. R., Silva, C. F., Pereira, M. G., Gaia-Gomes, J. H. & Silva, E. M. R. (2016). Biological properties and organic matter dynamics of soil in pasture and natural regeneration areas in the Atlantic forest biome. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 40, e0150366.
- Novas, M. V., Cabral, D. & Godeas, A. M. (2005). Interaction between grass endophytes and mycorrhizas in *Bromus setifolius* from Patagonia, Argentina. *Symbiosis*, 40, 23–30.
- Novas, M. V., Iannone, L. J., Godeas, A. M. & Cabral, D. (2009). Positive association between mycorrhiza and foliar endophytes in *Poa bonariensis*, a native grass. *Mycological Progress*, 8, 75–81.
- Novas, M. V., Iannone, L. J., Godeas, A. M. & Scervino, J. M. (2011). Evidence for leaf endophyte regulation of root symbionts: effect of *Neotyphodium* endophytes on the pre-infective state of mycorrhizal fungi. *Symbiosis*, 55, 19–28.
- Omacini, M., Chaneton, E. J., Ghersa, C. M. & Müller, C. B. (2001). Symbiotic fungal endophytes control insect host-parasite interaction webs. *Nature*, 409, 78–81.
- Omacini, M., Eggers, T., Bonkowski, M., Gange, A. C. & Jones, T. H. (2006). Leaf endophytes affect mycorrhizal status and growth of co-infected and neighbouring plants. *Functional Ecology*, 20, 226–232.
- Petigrosso, L.R., Gundel, P., Colabelli, M.N., Fernández, O.N. y Assuero, S.G. (2019). Hongos endófitos en festuca alta: del problema a las soluciones. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 45(2), 292–303.
- Petigrosso, L. R.; Spagnuolo, G.; Vignolio, O. R.; Monterubbianessi, M. G. y Assuero, S. G. (2021). Emergencia y crecimiento de festuca alta libre e infectada con endófitos silvestres o seguros. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Plata*, 120(1), 1–11.
- R Core Team. (2018). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Ren, A., Gao Y. & Zhou, F. (2007). Response of *Neotyphodium lolii*-infected perennial ryegrass to phosphorus deficiency. *Plant Soil and Environment*, 53(3), 113–119.
- Rodríguez, A. y Jacobo, E. (2012). *Manejo de pastizales naturales para una ganadería sustentable en la Pampa Deprimida. Buenas prácticas para una ganadería sustentable del pastizal*. Fundación Vida Silvestre Argentina; Aves Argentinas, 1ª Ed. Bs As. Argentina
- Roitman, G. y Preliasco, P. (2018). *Guía de reconocimiento de herbáceas de la Pampa Deprimida. Buenas prácticas para una ganadería sustentable de pastizal. Características para su manejo*.
- Sainz Rozas, H. R., Eyherabide, M., Larrea, G., Martínez Cuesta, N., Angelini, H., Reussi Calvo, N. y Wyngaard, N. (8 y 9 de mayo de 2019). [Presentación de trabajo] *Relevamiento y determinación de propiedades químicas en suelos de aptitud agrícola de la región pampeana*. Proceedings of the Simposio de Fertilidad. Rosario, Argentina.
- Šarapatka, B., Alvarado-Solano, D. P. & Čížmár, D. (2019). Can glomalin content be used as an indicator for erosion damage to soil and related changes in organic matter characteristics and nutrients? *Catena*, 18, 104078.
- Scheneiter, J. O., Kaufmann, I. I., Ferreyra, A. R. & Llorente, R. T. (2016). The herbage productivity of tall fescue in the Pampas region of Argentina is correlated to its ecological niche. *Grass and Forage Science*, 71, 403–412.
- Silva, C. P., Mende Filho, P. F., Gomes, V. F. F., Martins, C. M., Cunha, C. S. M. & Lobato, M. G. R. (2017). Glomalin-Related Soil Protein Content in Areas of Degraded and Revegetated Caatinga in the Municipality of Irauçuba. *Journal of Agricultural Science*, 10, 302–312.
- Smith, S. E. & Read, D. J. (2008) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, New York.
- Soil Survey Staff. (2014). *Keys to Soil Taxonomy*. USDA Natural Resources Conservation Service, Washington, DC, EEUU. 372 p.
- Spatafora, J. W., Chang, Y., Benny, G. L., Lazarus, K., Smith, M. E., Berbee, M. L., Bonito, G., Corradi, N., Grigoriev, I., Gryganskyi, A., James, T. Y., O'Donnell, K., Roberson, R. W., Taylor, T. N., Uehling, J., Vilgalys, R., White, M.M. & Stajich, J. E. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycology*, 108(5), 1028–1046.
- Vignale, M. V. (2016). *Efecto de endófitos Epichloë sobre la micorrización y productividad de gramíneas hospedantes y no hospedantes*. [Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Buenos Aires]. Repositorio: digital.bl.fcen.uba.ar.