



EFFECTO DE LA SIMBIOSIS ENTRE *LOLIUM MULTIFLORUM* Y EL
ENDÓFITO *EPICHLÖË OCCULTANS* SOBRE LA CALIDAD
NUTRICIONAL DE LA PASTURA EN UN SUELO ENMENDADO
CON BIOSÓLIDOS

EFFECT OF THE SYMBIOSIS BETWEEN *LOLIUM MULTIFLORUM*
AND THE ENDOPHYTE *EPICHLÖË OCCULTANS* ON
NUTRITIONAL QUALITY OF PASTURE IN BIOSOLIDS' AMENDED
SOIL

Silvana Irene Torri^{1,1}✉, María Mabel Puelles² y Alexis Magalí de las Nieves Ovejero^{1,2}

¹Departamento de Recursos Naturales y Ambiente, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av
San Martín 4453, 1417 DSE Argentina

^{1,1} ✉ torri@agro.uba.ar, ^{1,2} aovejero@agro.uba.ar

²UO Metales, Análisis Inorgánico y Espectrometría de Rayos X, Instituto Nacional de Tecnología Industrial
(INTI). Av. Gral Paz 5445, San Martín, B1650 WAB, Argentina

² puelles@inti.gov.ar

ABSTRACT

Biosolids have a high content of stable organic matter, which may be used for the remediation of marginal non-agricultural soils used for pasture production. In Argentina, the aerial biomass of *Lolium multiflorum* Lam., species is highly infected with the endophyte *Epichloë occultans*. Endophytes establish a symbiotic relationship with host plants, providing protection and resistance against different stress factors. Since land application of biosolids may rise plant stress, the objective of this work was to analyze the growth and concentration of copper (Cu) and zinc (Zn) in aerial biomass of *L. multiflorum* in symbiosis (or not) with the endophyte *E. occultans* on a sandy textured soil amended with biosolids. The association of *L. multiflorum* with the endophyte produced an increase in aerial biomass only in the biosolids' amended soil. However, the presence of the endophyte did not modify the concentration of Cu or Zn in the aerial biomass of the pasture under the experimental conditions.

Key words: amendment, biosolids, edaphic properties, endophyte, ryegrass, soil, symbiosis.

RESUMEN

Los biosólidos presentan un elevado contenido de materia orgánica estable, que pueden utilizarse para la remediación de suelos marginales no agrícolas destinados a la producción de pasturas. En la Argentina, la biomasa aérea de la especie *Lolium multiflorum* Lam., se encuentra altamente infectada con el hongo endófito *Epichloë occultans*. Los hongos endófitos establecen una relación simbiótica con las plantas hospederas, brindándoles protección y resistencia frente a distintos factores de estrés. Dado que la aplicación de biosólidos a los suelos podría originar un factor de estrés vegetal, el objetivo del presente trabajo fue analizar el crecimiento y la concentración de cobre (Cu) y zinc (Zn) en biomasa aérea de *L. multiflorum* en simbiosis (o no) con el endófito *E. occultans* cuando es cultivado en un suelo de textura arenosa enmendado con biosólidos. Se observó que la asociación del *L. multiflorum* con el endófito produjo un incremento en el rendimiento de biomasa aérea solamente en los suelos enmendados con biosólidos. Sin embargo, la presencia del hongo no modificó la concentración de Cu o Zn en la biomasa aérea de la pastura en las condiciones del ensayo.

Palabras clave: biosólidos, endófito, enmienda, propiedades edáficas, raigrás, simbiosis, suelo.

INTRODUCCIÓN

La necesidad de minimizar residuos, así como su disposición adecuada es, en la actualidad, uno de los desafíos más importantes de las grandes urbes. Los biosólidos son un subproducto originado a partir del tratamiento de los efluentes domiciliarios en las plantas depuradoras. Dado el elevado nivel poblacional de la Ciudad de Buenos Aires, Argentina, el destino de estos residuos constituye un serio problema.

Mundialmente, los biosólidos se posicionan como una enmienda orgánica de alto valor agronómico. Debido a su elevado contenido de materia orgánica estable (Torri y Alberti, 2012), su aplicación a los suelos mejora numerosas propiedades edáficas, como la fertilidad física, disminuyendo la densidad aparente, incrementando la macroporosidad, favoreciendo la formación y estabilidad de macroagregados e incrementando la capacidad de retención hídrica (Tejada y Gonzalez, 2007). También mejoran la fertilidad química, debido al aporte de cantidades variables de macronutrientes y micronutrientes (Torri, 2009; Torri y Cabrera, 2017).

Se ha observado un incremento en la actividad microbiana en los suelos enmendados con biosólidos (Cabrera et al., 2011). Sin embargo, la aplicación de biosólidos a suelos agrícolas presenta ciertas restricciones, como la presencia de agentes patógenos y una variada concentración de elementos potencialmente tóxicos (EPT) entre los que se destacan el cobre (Cu) y el cinc (Zn). Ambos elementos se presentan habitualmente en elevada concentración y biodisponibilidad en el biosólido (Torri, 2009), y poseen valor agronómico como micronutrientes. Debido a que estos elementos no se degradan, se acumulan en los agroecosistemas (Torri y Lavado 2008a, b).

Si la biodisponibilidad de ciertos EPT es elevada, podrían generarse condiciones fitotóxicas para ciertas especies sensibles (Oleszczuk, 2010), con posible riesgo de ingreso a la cadena trófica o movilidad vertical hacia la napa freática (Torri y Corrêa, 2012). Por ese motivo, el uso de biosólidos en la agricultura argentina no es una práctica que se lleve a cabo. Una alternativa para su uso constituiría su aplicación como enmienda orgánica a suelos marginales no agrícolas destinados a la producción de pasturas, entre otros (IRAM-29559, 2017).

Lolium multiflorum Lam., es una gramínea forrajera de rápido establecimiento y alto rendimiento en términos de biomasa aérea, que se caracteriza por su elevada palatabilidad y buena calidad nutritiva. Esta especie presenta un sistema radical fibroso, en cabellera, que la hace particularmente apropiada para programas de control de erosión de suelos. Por otro lado, es muy utilizada para la recuperación de suelos degradados (Gunawardana et al., 2010).

En los pastizales naturales de la pradera pampeana, Argentina, la biomasa aérea de *L. multiflorum* se encuentra altamente infectada con el hongo endófito *Epichloë occultans* (Iannone et al., 2010).

Los hongos endófitos son microorganismos que transcurren parte o todo su ciclo de vida colonizando los tejidos de distintas especies vegetales (planta hospedera), sin causar daño o síntomas aparentes de enfermedad (Kusari et al., 2012). Estos hongos se localizan en los espacios intercelulares de los tejidos aéreos vegetales (Strobel y Daisy, 2003). Se establece así una relación simbiótica, en el cual la planta protege y proporciona nutrientes al endófito para que éste complete su ciclo de vida, mientras que el endófito modifica la interacción del hospedante con el ambiente (Douglas, 2010). Esto se debe a que los hongos endófitos pueden producir fitohormonas, que inducen el crecimiento de las plantas hospederas al aumentar su tolerancia al estrés, y una amplia diversidad estructural de metabolitos secundarios, que le brindan a la planta protección y resistencia frente a enfermedades, herbívoros, insectos, nemátodos, bacterias y hongos patógenos (Gao et al., 2010; Kaul et al., 2012).

En los pastizales de la Pampa Deprimida, Argentina, se han registrado poblaciones de *L. multiflorum* con altos niveles de infección de *E. occultans* (Gundel et al., 2009), que presentan una mayor tolerancia al estrés biótico y abiótico con respecto a las plantas no infectadas (Gundel et al., 2006).

La aplicación de biosólidos a los suelos puede originar un factor de estrés vegetal, ya que este residuo incrementa la concentración edáfica de sales, e incorporan una gran variedad de sustancias, como los EPT (Torri y Lavado, 2002). El objetivo del presente trabajo fue analizar el crecimiento y la concentración de Cu y Zn en biomasa aérea de *L. multiflorum* en simbiosis (o no) con el endófito *E. occultans* cuando es cultivado en un suelo de textura arenosa enmendado con biosólidos.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un ensayo en macetas en invernáculo en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Se utilizó el horizonte superficial (0-15cm) de un suelo Hapludol éntico (USDA, 1999) de la localidad de Trenque Lauquen (35°58'S, 62°41'O), provincia de Buenos Aires. Se tomaron muestras compuestas de suelos prístinos (n=10) con implementos adecuados para evitar contaminación. Las muestras se secaron al aire, molieron y tamizaron (<2mm). Una parte se reservó para realizar determinaciones físicas y químicas. El suelo presentó las siguientes características: 67.5% de arena y 7.5% de arcilla; materia orgánica: 210 g kg⁻¹; densidad aparente (DA): 1.16 Mg m⁻³; humedad equivalente (HE): 10.66%.

Las semillas de *L. multiflorum* se recolectaron de poblaciones naturalizadas de la región Pampeana, Argentina (34°06'S, 60°25'O). Dichas semillas presentaron un 95% de asociación con el endófito *E. occultans*. La presencia del endófito se determinó utilizando 100 semillas teñidas con una solución de rosa de Bengala y observadas en microscopio óptico 40x, según la metodología propuesta por Bacon y White (1994). Las semillas no infectadas se generaron a partir del

tratamiento de las semillas infectadas con el fungicida sistémico Triadimenol [(1RS, 2RS, 1RS, 2SR)-1-(4-clorofenoxi)-3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-butan-2-ol].

Las semillas tratadas y no tratadas con fungicida se sembraron en parcelas independientes pero adyacentes (1 m²) en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Se permitió el flujo de polen entre ambas poblaciones con el objetivo de evitar cualquier tipo de divergencia genética entre las mismas (Gundel et al., 2013). Para disminuir cualquier efecto fitotóxico del herbicida utilizado, ambas poblaciones se cultivaron por tres generaciones.

Previo a la utilización de las semillas, se determinó la proporción de asociación con el endófito *E. occultans* utilizando 100 semillas de ambas poblaciones y la metodología propuesta por Bacon y White (1994). Los porcentajes de infección fueron 90% de semillas simbióticas para las no tratadas (E+) y 10% para las tratadas (E-).

El biosólido (B) provino de la planta depuradora de San Fernando, provincia de Buenos Aires. Este material se secó primero al aire, y luego en estufa con circulación de aire a 60 °C hasta peso constante. Posteriormente se molió, tamizó (<2mm) y se homogeneizó cuidadosamente con el suelo en dosis equivalente a 150 t.ha⁻¹. Los biosólidos presentaron las siguientes características: carbono total: 25.1%; nitrógeno total: 1.93%; fósforo total: 0.72%; Ca: 2.25%; Mg: 0.56%; K: 0.14%; CIC: 11.95 cmol_(c)kg⁻¹; pH:5.82. La concentración de Cu y Zn fue 490.57 mg Cu kg⁻¹ y 2500 mg Zn kg⁻¹

Se utilizaron macetas de PVC de 1000 cm³, perforadas en su base para asegurar las condiciones de aireación y drenaje. La mitad de las macetas se llenaron con 1 kg de suelo, mientras que a la otra mitad se incorporó 1 kg de suelo homogeneizado con 62.5g de biosólido. Las macetas se mantuvieron a 80% de capacidad de campo durante 15 días previo de la siembra de las especies vegetales para su estabilización. Posteriormente se sembró *L. multiflorum*, a razón de 1 g de semillas por maceta. Se realizaron los siguientes tratamientos: 1. suelo + *L. multiflorum* sin endófitos (E-); 2. suelo+*L. multiflorum* con endófitos (E+); 3. suelo+B +*L. multiflorum* sin endófitos (BE-); 4. suelo+B+*L. multiflorum* con endófitos (BE+).

Las macetas se dispusieron en el invernáculo según un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. Cada maceta constituyó una unidad experimental. El contenido de humedad se mantuvo por gravimetría a 80% capacidad de campo mediante riegos periódicos con agua destilada. A los 45 días de iniciado el ensayo se realizó un corte de biomasa aérea (3 cm del suelo). El segundo corte se realizó a los 60 días. La biomasa aérea cosechada se secó en estufa a 60 °C con circulación de aire hasta constancia de peso. Se determinó biomasa aérea y se analizó la concentración de cobre (Cu) y cinc (Zn) en ambos cortes a través de una digestión ácida. La concentración de Cu y Zn en los extractos se determinó por absorción atómica en el laboratorio UO Metales, INTI-Química.

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) de un factor, previa comprobación de homogeneidad de varianza utilizando la prueba de Bartlett. La normalidad se analizó con la prueba de Shapiro-Wilk, y la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Se utilizó el programa Statistix (versión 7.0, 2000).

RESULTADOS

La incorporación de biosólidos incrementó significativamente la producción de biomasa aérea en ambos cortes en los tratamientos BE+ y BE- comparado con los respectivos controles (E+ y E- respectivamente) (Fig. 1). En los suelos enmendados con biosólidos, se observó que la biomasa aérea fue significativamente mayor en los tratamientos BE+ con respecto a BE- en ambos cortes. Por otro lado, en el segundo corte se observó un incremento significativo de biomasa aérea con respecto al primer corte solamente en los suelos enmendados; no observándose los mismos resultados para los suelos sin enmendar.

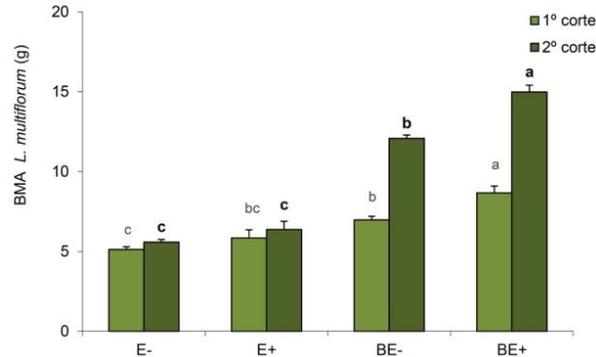


Fig. 1. Producción de biomasa aérea (BMA, base seca) en el primer y segundo corte según los distintos tratamientos. Tratamientos: E-, suelo+*L. multiflorum* sin endófitos; E+, suelo+*L. multiflorum* con endófitos; BE-, suelo+B+*L. multiflorum* sin endófitos; BE+, suelo+B+*L. multiflorum* con endófitos. Letras distintas en el mismo corte indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$). Las barras de error indican \pm DE (desvío estándar).

La concentración de Cu en biomasa aérea de *L. multiflorum* se presenta en la Figura 2 A. En las plantas E-, la concentración de Cu en biomasa aérea no presentó diferencias significativas entre los suelos con o sin biosólidos. Por el contrario, la concentración de Cu en las plantas E+ fue significativamente superior en los suelos con biosólidos con respecto al tratamiento sin enmienda.

En los suelos enmendados, la concentración de Cu fue más elevada en las plantas infectadas con respecto a las no infectadas, aunque las diferencias no fueron significativas.

La concentración de Zn en biomasa aérea de *L. multiflorum* en los suelos enmendados con biosólidos, fue, en todos los casos, significativamente superior a los correspondientes testigos (Fig. 2). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la concentración de Zn en biomasa aérea entre plantas de *L. multiflorum* infectadas y no infectadas, tanto en los suelos sin biosólidos como en los suelos con biosólidos, en el primer y segundo corte.

DISCUSIÓN

El incremento significativo de biomasa aérea observado en los suelos enmendados con biosólidos respecto a los suelos sin enmendar está relacionado con el aumento en la disponibilidad de nutrientes y con la mejora en las propiedades físicas que resulta de la incorporación de dicha enmienda (Torri et al., 2014). La concentración de nitrógeno mineral se incrementa significativamente inmediatamente después de la aplicación de biosólidos a los suelos (Corrêa y da Silva, 2016). Cabe destacar que, según su naturaleza, ciertas fuentes orgánicas de nutrientes pueden presentar una tasa de liberación de nutrientes menor que la demanda vegetal (Boeira y

Maximiliano, 2009). Estudios anteriores indican que los biosólidos utilizados en este ensayo sufren una rápida mineralización durante los 60 días posteriores a su incorporación (Torri et al., 2003), liberando macro y micronutrientes a la solución del suelo, incrementando su biodisponibilidad y, consecuentemente, aumentando el rendimiento de la pastura.

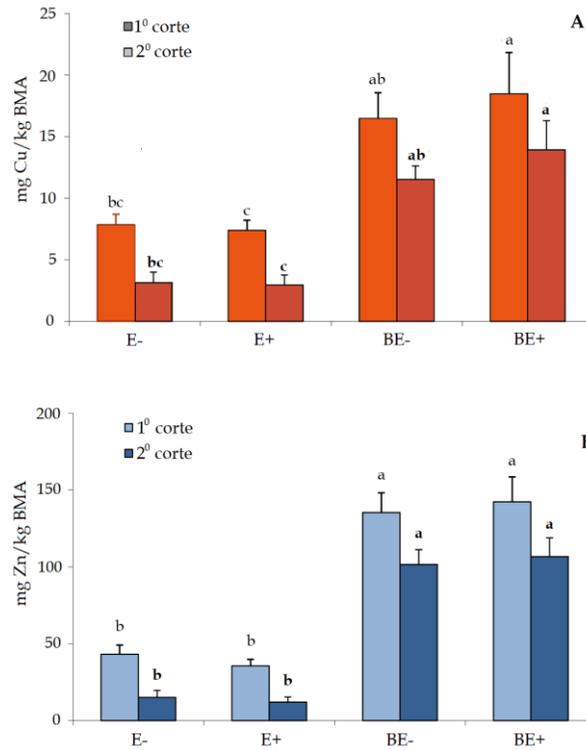


Fig. 2. Concentración de Cu (A) y Zn (B) en biomasa aérea (BMA, base seca) en el primer y segundo corte según los distintos tratamientos: E-, suelo+*L. multiflorum* sin endófitos; E+, suelo+*L. multiflorum* con endófitos; BE-, suelo+B+*L. multiflorum* sin endófitos; BE+, suelo+B+*L. multiflorum* con endófitos. Letras distintas en el mismo corte indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$). Las barras de error indican \pm DE (desvío estándar).

La mayor producción de biomasa aérea en el segundo corte con respecto al primero en los suelos enmendados se debe al efecto residual que presentan los biosólidos en cuanto a la liberación de nutrientes. En ocasiones, este material puede comportarse como un fertilizante de liberación lenta debido a su naturaleza orgánica (Codling, 2014; Shanmugam y Abbott, 2015).

En el primer corte, la infección de *L. multiflorum* por *E. occulta* incrementó ligeramente los valores de biomasa aérea, aunque esta diferencia no llegó a ser significativa. En cambio, en el segundo corte, la infección de *L. multiflorum* por *E. occulta* incrementó significativamente la biomasa aérea. Ciertos trabajos indican que la infección de pasturas con endófitos incrementa el crecimiento y la productividad de las plantas hospederas (Monnet et al., 2001; Omacini et al., 2006). Otros autores observaron un incremento en la biomasa radical de *L. multiflorum* infectadas, y que éstas particionan un 5% más de biomasa a las raíces que las plantas no infectadas (Vila-Aiub et al., 2005).

La concentración de Cu y Zn en biomasa aérea aumentó significativamente (Tukey, $p < 0.05$) en *L. multiflorum* sembrado en los suelos enmendados con biosólidos respecto a los suelos sin enmendar. Estos resultados se deben a la elevada concentración de Cu y Zn que presentan los biosólidos utilizados. La mineralización de la materia orgánica del biosólido favoreció el pasaje de ambos elementos desde formas orgánicas hacia formas solubles o intercambiables, de acuerdo a lo observado en ensayos previos (Torri y Lavado 2008a, b), incrementando la biodisponibilidad de Cu y Zn para la pastura.

Cabe destacar que la concentración de Cu y Zn en biomasa aérea se encontró, en todos los casos, por debajo de los máximos niveles tolerables indicados por el NRC (1980) para *Lolium*, lo que sugiere que el consumo de *L. multiflorum* cultivado en suelos enmendados con biosólidos no plantearía riesgo para los animales si estas pasturas se utilizaran para forraje. Si bien ciertas asociaciones entre pasturas forrajeras y endófitos pueden provocar intoxicaciones sobre el ganado que las consume, no es el caso de *L. multiflorum* con el endofito *E. occultans* (De Battista, 2005). Asimismo, la concentración de Cu y Zn en biomasa aérea de *L. multiflorum* se encontró por debajo del valor umbral tóxico para especies vegetales propuesto por Kabata-Pendias y Pendias (2001). Dichos valores se encuentran en el rango 20–100 mg kg⁻¹ de biomasa base seca (BMA) para Cu y 100–400 mg kg⁻¹ BMA para Zn. Si bien la concentración de Zn en BE-y BE+ fue de 135.45±12.81 mg Zn kg⁻¹ BMS y 142.35±16.23 mg Zn kg⁻¹ BMS respectivamente, no se observaron efectos fitotóxicos durante el período del ensayo.

Si bien el análisis estadístico no indica diferencias en cuanto al efecto de los endófitos sobre la concentración de Cu y Zn, se observa un ligero incremento en dichas concentraciones en las plantas infectadas en los tratamientos con biosólidos. El hecho que no se observaran diferencias significativas entre E+ y E- en la concentración de Cu y Zn en hojas, indicaría que la concentración de ambos elementos no se ve afectada por la presencia de endófitos, al menos en el corto plazo, de acuerdo a lo observado por Monet et al., (2001). El hecho que tampoco se observara este efecto en los suelos sin enmendar indica que la infección de *L. multiflorum* con endófitos no aumenta la biodisponibilidad o no favorece la traslocación de Cu y Zn a parte aérea en las condiciones del ensayo. Es necesario realizar un ensayo más prolongado para corroborar estos resultados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra Marina Omacini por la provisión de las semillas de *L. multiflorum*.

REFERENCIAS

1. Bacon C.W. y J.F.J. White, 1994. Stains, media, and procedures for analyzing endophytes. CRC Press, Boca Raton.
2. Boeira R.C. y V.C.B. Maximiliano, 2009. Organic nitrogen mineralization rate following the fifth sewage sludge application in an Oxisol. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 33: 711-22.
3. Cabrera M., S. Torri y C. Alberti, 2011. Efecto de la incorporación de biosólidos sobre la actividad microbiana de un suelo agrícola. Congreso de Ciencias Ambientales-COPIME 2011, organizado por el Consejo Profesional de Ingeniería Mecánica y Electricista (COPIME), 5-7 de octubre de 2011, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.
4. Codling E.E., 2014. Long-term effects of biosolid-amended soils on phosphorus, copper, manganese, and zinc uptake by wheat. Soil Science, 179(1): 21-27.

5. Corrêa R.S. y D.J. da Silva, 2016. Effectiveness of five biosolids as nitrogen sources to produce single and cumulative ryegrass harvests in two Australian soils. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 40: e0150216
6. De Battista J., 2005. *Neotyphodium* research and application in South America. En: Roberts C, C. West y D. Spiers (Eds.). *Neotyphodium* in Cool Season Grasses. Blackwell Publishing, Iowa, USA.
7. Douglas A., 2010. *The symbiotic habit*. Princeton University press, Princeton, New Jersey.
8. Gao F.K., C.C. Dai y X.Z. Liu, 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 4(13): 1346-1351.
9. Gunawardana B., N. Singhal y A. Johnson, 2010. Amendments and their combined application for enhanced copper, cadmium, lead uptake by *Lolium perenne*. *Plant and Soil*, 329 (1-2): 283-294.
10. Gundel P., M. Helander, C. Casas, C. Hamilton, S. Faeth y K. Saikkonen, 2013. *Neotyphodium* fungal endophyte in tall fescue (*Schedonorus phoenix*): a comparison of three Northern European wild populations and the cultivar Kentucky-31. *Fungal Diversity*, 60: 15-24.
11. Gundel P.E., L.A. Garibaldi, P.M. Tognetti, R. Aragón, C.M. Ghersa y M. Omacini, 2009. Imperfect vertical transmission of the endophyte *Neotyphodium* in exotic grasses in grasslands of the Flooding Pampa. *Microbial Ecology*, 57: 740-748.
12. Gundel P.E., P.H. Maseda, M.M. Vila-Aiub, C.M. Ghersa y R. Benech-Arnold, 2006. Effects of *Neotyphodium* fungi on *Lolium multiflorum* seed germination in relation to water availability. *Annals of Botany*, 97: 571-577.
13. Iannone R., S. Miranda y S. Riemma, 2010. Dynamic calculation of the constrained EOQs for multiple products with space restrictions. *Proceedings of APMS 2010, (Advances in Production Management Systems)*, Cernobbio, Italia.
14. IRAM (Instituto Argentino de Normalización y Certificación), 2017. Norma 29559, Calidad de suelo. Guía metodológica para la utilización de barros o lodos tratados provenientes de plantas de tratamiento de efluentes cloacales.
15. Kabata-Pendias A. y H. Pendias, 2001. *Trace elements in soils and plants*. CRC Press, Boca Raton, FL.
16. Kaul S., S. Gupta, M. Ahmed y M. Dhar, 2012. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. *Phytochemistry*, 11: 487-505.
- Kusari S., C. Hertweck y M. Spiteller, 2012. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chemistry and Biology*, 19: 792-798.
17. Monnet F., N. Vaillant, A. Hitmi, A. Coudret y H. Sallanon, 2001. Endophytic *Neotyphodium lolii* induced tolerance to Zn stress in *Lolium perenne*. *Physiologia Plantarum*, 113: 557-563.
18. NRC (National Research Council), 1980. *Drinking Water and Health*. Vol. 2, The National Academies Press, Washington, DC.

19. Oleszczuk P., 2010. Testing of different plants to determine influence of physico-chemical properties and contaminants content on municipal sewage sludges phytotoxicity . *Environmental Toxicology*, 25: 38-47.
20. Omacini M., T. Eggers, M. Bonkowski, A.C. Gange y T.H. Jones, 2006. Leaf endophytes affect mycorrhizal status and growth of co-infected and neighbouring plants. *Functional Ecology*, 20: 226-232.
21. Shanmugam S. y L.K. Abbott, 2015. Residual effects of lime- and clay-amended biosolids applied to coarse-textured pasture soil. *Applied and Environmental Soil Science*, 2015, Article ID 417192, 9 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/417192>
22. Statistix (versión 7.0, 2000) Analytical Software, Tallahassee, FL 32317.
23. Strobel G.A. y B. Daisy, 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67: 491-502.
24. Tejada M. y J.L. Gonzalez, 2007. Application of different organic wastes on soil properties and wheat yield. *Agronomy Journal*, 99: 1597-1606.
25. Torri S. y M. Cabrera, 2017. The environmental impact of biosolids land application. En: Collins M. (Ed.). *Organic Waste: Management strategies, environmental impact and emerging regulations*. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, New York.
26. Torri S. y R. Lavado, 2002. Distribución y disponibilidad de elementos potencialmente tóxicos en suelos representativos de la provincia de Buenos Aires enmendados con biosólidos. *Ciencia del Suelo*, 20(2): 98-109.
27. Torri S., R. Alvar y R. Lavado, 2003. Mineralization of carbon from sewage sludge in three soils of the Argentine pampas. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 34(13-14): 2035-2043.
28. Torri S.I. y C. Alberti, 2012. Characterization of organic compounds from biosolids of Buenos Aires City, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12: 143-152.
29. Torri S.I. y R.S. Corrêa, 2012. Downward movement of potentially toxic elements in biosolids amended soils. *Applied and Environmental Soil Science*, (2012), Article ID 145724, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2012/145724>
30. Torri S.I., R.S Corrêa, G. Renella, L. Perelomov y A. Valdecantos, 2014. Biosolids soil application: Agronomic and environmental implications 2013. *Applied and Environmental Soil Science*, 2014, Article ID 314730, 3 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/314730>
31. Torri S., 2009. Feasibility of using a mixture of sewage sludge and incinerated sewage sludge as a soil amendment. En: Baily R.E. (Ed.). *Sludge: Types, treatment processes and disposal*. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, New York.
32. Torri S. y R. Lavado, 2008a. Dynamics of Cd, Cu and Pb added to soil through different kinds of sewage sludge. *Waste Management*, 28: 821-832.

33. Torri S. y R. Lavado, 2008b. Zn distribution in soils amended with different kinds of sewage sludge. *Journal of Environmental Management*, 88: 1571-1579.

34. USDA (United States Department of Agriculture), 1999. Soil taxonomy: A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. United States Department of Agriculture, Washington, DC.

35. Vila-Aiub M.M., P.E. Gundel y C.M. Ghera, 2005. Fungal endophyte infection changes growth attributes in *Lolium multiflorum* Lam. *Austral Ecology*, 30(1): 49-57.

BIOCYT Biología, Ciencia y Tecnología, se encuentra actualmente indexada en



alojada en los repositorios



y en bases electrónicas de bibliotecas

