

EFFECTO DE LA DIVERSIDAD TAXONÓMICA DE HONGOS ENDÓFITOS *EPICHOË* EN LA PRODUCCIÓN DE ALCALOIDES EN *LOLIUM PERENNE*

M.C. Soto-Barajas, I. Zabalgozcoa, A. Álvarez Pascua, B.R. Vázquez de Aldana

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC). Cordel de Merinas 40-52; 37008 Salamanca; España. carlos.soto@irnasa.csic.es

Resumen

Se evaluó el efecto tres grupos taxonómicos de hongos endófitos del genero *Epichloë* en la producción de los alcaloides lolitrem B (tóxico para mamíferos) y peramina (insecticida) en plantas de *Lolium perenne*. Las plantas fueron colectadas de seis localidades con una incidencia promedio de *Epichloë* de 43,9%. El contenido de los alcaloides lolitrem B y peramina se analizó por HPLC en 91 plantas infectadas. El grupo taxonómico al que pertenece el endófito es un factor determinante en la producción y concentración de los alcaloides analizados.

Palabras clave: Raigrás, lolitrem, peramina, metabolitos, pastos.

INTRODUCCIÓN

El raigrás inglés (*Lolium perenne* L.) es una de las gramíneas forrajeras más cultivadas a nivel mundial debido a su amplia adaptabilidad. Es común encontrar plantas de *L. perenne* en simbiosis con hongos endófitos del género *Epichloë* (Leuchtman *et al.*, 2000). La planta hospedadora provee al hongo nutrientes y un medio de dispersión a través de las semillas; y el endófito promueve la síntesis de metabolitos secundarios que confieren protección a la planta contra el herbivorismo (Schardl *et al.*, 2013). En este trabajo se determinó el efecto de la variabilidad taxonómica de estos endófitos sobre el contenido de los alcaloides en plantas de *L. perenne*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo de plantas e identificación de endófitos

En la primavera de 2012 se recogieron 278 plantas silvestres de *L. perenne* en seis localidades ubicados al noroeste de España y se trasplantaron a la finca experimental Muñovela

(Salamanca). En un trabajo anterior (Soto-Barajas *et al.*, 2014) se determinó la incidencia y se clasificaron los endófitos *Epichloë* aquí mencionados (Tabla 1).

Tabla 1. Ubicación y otras características de las localidades de origen de *Lolium perenne*.

Localidad	Provincia	Hábitat	Altitud (msnm)	Numero de plantas colectadas	Incidencia	Morfología		
						M1	M2	M3
						Porcentaje		
Ciudad Rodrigo (CR)	Salamanca	Ribera	625	25	60.0	20.0	40.0	40.0
La Vecilla (LVA)	León	Tierra de cultivo	879	49	42.9	94.7	5.3	0.0
Los Valles (LVE)	Salamanca	Dehesa	813	50	56.0	41.4	41.4	17.2
Porqueriza (POR)	Salamanca	Dehesa	807	50	32.0	40.0	26.7	33.3
Tábara (TAB)	Zamora	Monte de roble	766	51	49.0	46.2	3.8	50.0
Valle Fuentes (VAF)	León	Monte bajo	1133	53	32.1	81.3	0.0	18.8

Análisis de alcaloides

Para el análisis de peramina se utilizaron las condiciones descritas por Barker *et al.* (1993). En la extracción se agregaron 3,0 ml de isopropanol al 30 % a 90 °C durante 30 minutos. El extracto se pasó a través de un cartucho CBA (ácido carboxílico 100 mg, Varian Bond Elut), eluyéndose con 1,0 ml de ácido fórmico al 5 %. La cuantificación se realizó por HPLC con una columna C18 3,9 x 150 mm; 4 µm (Nova Pack) con un detector PDA (matriz de fotodiodos) Waters 2996 a 280 nm. La fase móvil fue isocrática compuesta de acetonitrilo al 18% en tampón de ácido fórmico en carbonato de guanidina (10 mM) con un flujo de inyección 0,7 ml min⁻¹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ninguno de los alcaloides estudiados se produjeron en las plantas E-, y alguno de los dos alcaloides fue detectó en el 90% de las plantas E+ analizadas.

En la Figura 1, es posible identificar endófitos con capacidad para promover la síntesis de niveles altos de peramina (alcaloide con efecto repelente a insectos) sin producción de lolitrem B (responsable del temblor del ballico “raygrass stagger”).

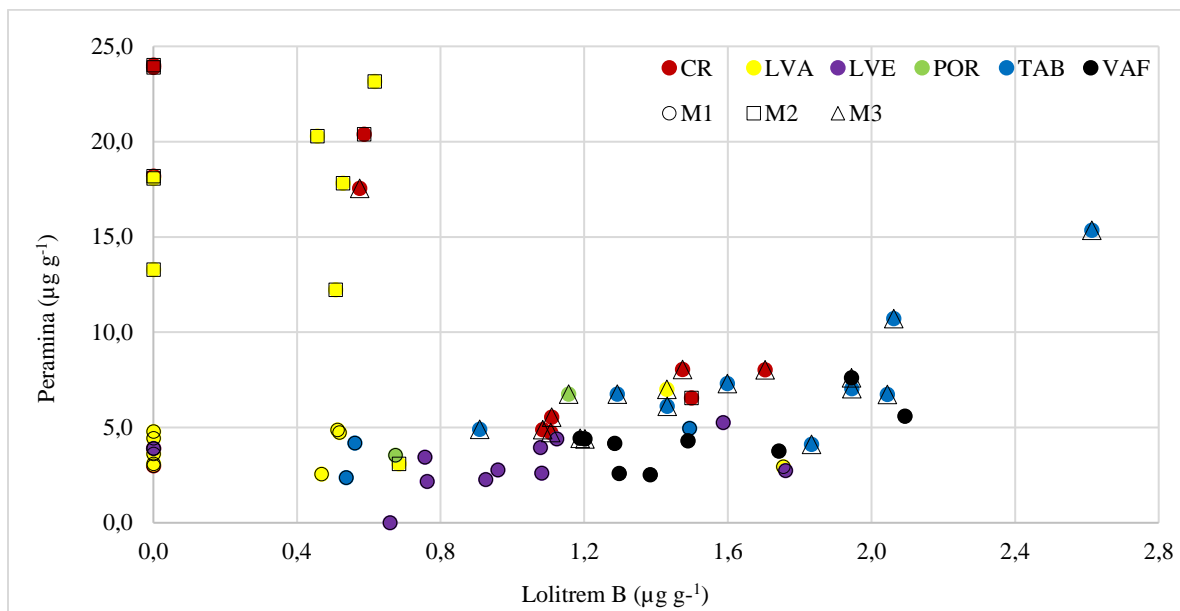


Figura 1. Relación entre la producción de lolitrem B y peramina en plantas de *Lolium perenne*, según población y grupo morfológico del endófito *Epichloë*.

CONCLUSIONES

La producción de lolitrem B y peramina en *L. perenne* está influenciadas por el grupo taxonómico del endófito *Epichloë* que albergan; siendo el grupo morfológico M2 el principal productor de peramina y en las plantas con hongos M3 se encuentran las concentraciones más altas de lolitrem B.

AGRADECIMIENTOS

Investigación parte del proyecto AGL2011-22783 financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad. M.C. Soto-Barajas cuenta con una beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Frame J., Charlton J.F.L. y Laidlaw A.S. (2008) *Temperate forage legumes*. Wallingford, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux.

Reed K.F.M., Walsh J.R., Cross P.A., Mcfarlane N.M. y Sprague M.A. (2005) Ryegrass endophyte (*Neotyphodium lolii*) alkaloids and mineral concentrations in perennial ryegrass (*Lolium perenne*) from southwest Victorian pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44(8), 1185-1194.

Schardl C.L., Florea S., Pan J., Nagabhyru P., Bec S. y Calie P.J. (2013). The epichloae: alkaloid diversity and roles in symbiosis with grasses. *Current opinion in Plant Biology*, 16, 480-488.

Soto-Barajas M.C., Vázquez De Aldana B.R. y Zabalgoceazcoa I. (2014). Diversidad taxonómica de hongos endófitos *Epichloë* en *Lolium perenne* de distintos hábitats. En: Busqué Marcos J. *et al.* (eds). *Pastos y PAC 2014-2020*, pp. 193-200. Potes, Cantabria: SEEP.

Taxonomic diversity of *Epichloë* endophytes affects the alkaloid profile of *Lolium perenne* in natural pastures

Summary

We evaluated the effect of three taxonomic groups of *Epichloë* endophytes (M1, M2 and M3) in the production of the alkaloid lolitrem B (toxic to mammals) and peramine (insecticidal) in *Lolium perenne*. The plants were collected from six locations with average *Epichloë* incidence of 43.9%. The content of lolitrem B and peramine was analyzed by HPLC in 91 infected plants.

Key words: ryegrass, lolitrem B, peramine, grassland, micotoxins.