

Respuesta a la frecuencia de defoliación de plantas de festuca alta de una población naturalizada infectada con endófito silvestre y un cultivar comercial libre

PETIGROSSO, L.R.¹; NAVARRO, D.¹; ASSUERO, S.G.¹; VIGNOLIO, O.R.¹; CASTAÑO, J.A.^{1,2}; COLABELLI, M.N.¹

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de dos frecuencias de defoliación sobre el crecimiento vegetativo y reproductivo de plantas de festuca alta provenientes de semilla cosechada en una población naturalizada e infectada con *Epichloë coenophiala* (FNE+) y de un cultivar comercial libre de endófito (FCE-, cv. Continental Taita). Además, en las plantas de FNE+ se analizó el efecto de la frecuencia de defoliación sobre la transmisión vertical del endófito a las semillas. La siembra se realizó el 02/05/2016 y la densidad de plantas para todos los tratamientos fue de 200 plantas m⁻². Los factores experimentales fueron: tipo de micropastura de festuca alta (FNE+ y FCE-) y frecuencia de defoliación (AF: alta y BF: baja, defoliaciones cada 450±100°Cd y cada 850±100°Cd, respectivamente, en el período comprendido entre el 20/10/2016 y el 16/08/2017). Se realizaron 8 cortes para el tratamiento AF y 4 cortes para el BF. Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial y 5 repeticiones. Se halló que con AF las plantas de FNE+ presentaron mayor acumulación de biomasa total que las FCE- (168,19±8,84 y 149,12±3,74 g MS m⁻² respectivamente, p=0,009), mientras que con BF la situación fue inversa (FNE+: 104,13±7,07 y FCE-: 120,13±5,79 g MS m⁻², p=0,009). El número de macollos en las plantas de ambos tipos de micropastura fue mayor con AF que con BF (p<0,0001); el promedio fue 2346±302 y 1940±250 macollos m⁻² respectivamente. El número de panojas por planta fue mayor en FNE+ que en FCE- (2,85±0,20 y 1,55±0,34, respectivamente, p=0,002) y no fue afectado por la frecuencia de defoliación (p=0,065). Las plantas de FNE+ tendieron a mostrar mayor esfuerzo reproductivo que las FCE-, aunque la diferencia solo fue significativa en BF. La producción de semillas fue mayor en las plantas de FNE+ que en las de FCE- (316,44±35,03 y 183,53±18,19 semillas/planta, respectivamente, p=0,0033) y no fue afectada por la frecuencia de defoliación (p=0,2581), aunque el aumento de la frecuencia de defoliación tendió a disminuir la producción de semillas en las plantas FNE+. Todas las semillas analizadas producidas por las plantas FNE+ resultaron positivas al diagnóstico de endófito, por lo que no hubo efecto de la frecuencia de defoliación sobre la transmisión de este. En conclusión, a pesar de que la frecuencia de defoliación afectó en forma diferencial la producción de biomasa total por planta en ambos tipos de micropasturas, las plantas de FNE+ siempre mostraron una mejor performance reproductiva. Esta última respuesta y la perfecta transmisión del endófito a las semillas observadas en ambas frecuencias de defoliación contribuirían a explicar el avance de los porcentajes de plantas infectadas comúnmente observado a campo.

Palabras clave: *Festuca arundinacea*, *Epichloë coenophiala*, producción de biomasa, número de macollos por planta, esfuerzo reproductivo, transmisión vertical del endófito.

¹Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Ruta 226 km 73,5, (7620), Balcarce, Argentina. Correo electrónico: lpetigrosso@mdp.edu.ar; diegonavarro@outlook.com; sassuero@mdp.edu.ar; ovignolio@mdp.edu.ar; colabelli.mabel@gmail.com

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Buenos Aires Sur, Estación Experimental Agropecuaria (EEA), Balcarce, Ruta 226 km 73,5, (7620), Balcarce, Argentina. Correo electrónico: castanio.jorge@inta.gov.ar

Recibido 05 de julio de 2018 // Aceptado 15 de marzo de 2019 // Publicado online 09 de septiembre de 2020

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the effect of two defoliation frequencies on the vegetative and reproductive growth of tall fescue plants originated from seed harvested in a naturalized population infected with *Epichloë coenophiala* (FNE+) and from a commercial endophyte-free cultivar (FCE-, cv Continental Taita). In addition, the effect of the defoliation frequencies applied on the vertical transmission of the endophyte to the seeds produced by FNE+ plants was analyzed. On 2 May 2016 seeds were sown in micropastures at a density of 200 plants m⁻². The experimental factors were: type of tall fescue micropasture (FNE+ and FCE-) and frequency of defoliation (AF: high and BF: low, defoliated every 450±100°Cd and every 850±100°Cd, respectively, during the period between 20 October 2016 and 16 August 2017). Eight cuts were carried out in AF and 4 cuts in BF. A completely randomized experimental design with a factorial arrangement and five replicates was used. Under AF, FNE+ plants presented higher accumulation of total biomass than FCE- (168.19±8.84 and 149.12±3.74 g DM m⁻² respectively, p=0.009), while the opposite occurred under BF (FNE+: 104.13±7.07 and FCE-: 120.13±5.79 g DM m⁻², p=0.009). Independently of micropasture type, the number of tillers per plant was higher under AF than under BF (2346±302 and 1940±250 tillers m⁻² respectively, p<0.0001). The number of panicles per plant was higher in FNE+ than in FCE- (2.85±0.20 and 1.55±0.34, respectively, p=0.002) and was not affected by the frequency of defoliation (p=0.065). The FNE+ plants tended to show a greater reproductive effort than FCE-, although the difference was only significant under BF. Seed production was higher in FNE+ than in FCE- plants (316.44±35.03 and 183.53±18.19 seeds/plant, respectively, p=0.0033) and it was not affected by the defoliation frequency (p=0.2581), although the highest frequency of defoliation tended to decrease the seed production of FNE+ plants. All the analyzed seeds produced by FNE+ plants were positive to the endophyte diagnosis, so endophyte transmission was not affected by the frequency of defoliation. In conclusion, despite the fact that the defoliation frequency affected differentially total plant biomass of both types of micropastures, FNE+ plants always showed a better reproductive performance than FCE- plants. The last finding together with the fact that the transmission of the endophyte to the seeds was perfect and not affected by the defoliation frequency, would help to explain the progress of the percentages of infected plants commonly observed in the field.

Keywords: *Festuca arundinacea*, *Epichloë coenophiala*, biomass production, number of tillers per plant, reproductive effort, endophyte vertical transmission.

INTRODUCCIÓN

Festuca alta, *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort [sinónimos: *Festuca arundinacea* Schreb., *Lolium arundinaceum* (Schreb.) S.J. Darbyshire, *Schedonorus phoenix* (Scop.) Holub], es una gramínea C₃ perenne muy valorada en los sistemas de producción ganadera por su adaptación a un amplio rango de condiciones edafoclimáticas y su alto potencial de producción de forraje (Hannaway *et al.*, 1999; Fribourg y Hannaway, 2007; Scheneiter *et al.*, 2015). Al igual que otras gramíneas C₃ puede establecer una relación generalmente simbiótica con hongos endófitos asexuales de transmisión vertical (Saikkonen *et al.*, 1998). El endófito que infecta festuca alta, *Epichloë coenophiala* (Leuchtman *et al.*, 2014) ex *Neotyphodium coenophialum* Glenn, Bacon & Hanlin (= *Acremonium* Link Sección *Albolanosa* Morgan-Jones; Gams) (Glenn *et al.*, 1996), desarrolla su ciclo de vida dentro de la planta hospedante, es asintomático y su dispersión tiene lugar únicamente a través de semillas infectadas, lo que se conoce como "transmisión vertical" (White *et al.*, 1993; Clay y Schardl, 2002). Por un

lado, la importancia agronómica de esta asociación está dada por los efectos positivos inducidos por la simbiosis pasto-hongo sobre el crecimiento y la tolerancia a estreses bióticos y abióticos (Malinowski y Belesky, 2000; White y Torres, 2009; Omacini *et al.*, 2013) y por causar "festucosis". Esta última hace referencia a distintas patologías que los alcaloides tóxicos producidos por el hongo provocan al ganado que consume plantas infectadas (Bacon *et al.*, 1977; Hoveland, 1993; De Battista *et al.*, 1995).

Por otro lado, se ha observado que pasturas de festuca alta sembradas con semilla libre de endófito son susceptibles a la invasión por plantas silvestres infectadas (ej.: resiembra natural); los mecanismos de contaminación son con semillas infectadas presentes en el banco o inmigración desde los bordes o campos aledaños, un factor clave en el avance de la infección endofítica (Shelby *et al.*, 1989; Shelby y Schmidt, 1991; Shelby y Dalrymple, 1993; Barker *et al.*, 2005). Estos mecanismos dependerán del tipo de pastura y del manejo de esta. Por ejemplo, se pueden mencionar el uso de cultivares de festuca libre de endófito

o infectados con endófito amigable (Bouton *et al.*, 2002; Gundel *et al.*, 2013; Lugtenberg *et al.*, 2016), el éxito reproductivo diferencial de plantas infectadas respecto a las libres de endófito (Gundel *et al.*, 2008; 2011), la eficiencia de transmisión del endófito (Gundel *et al.*, 2008; 2011), la aplicación de herbicidas, Defelice y Henning, 1990; Hill *et al.*, 2010; Trevor *et al.*, 2016), la intersiembra con leguminosas o gramíneas libre de endófito (De Battista *et al.*, 1997; Tekeli y Ates, 2005; Petigrosso *et al.*, 2018), el momento e intensidad de pastoreo (Evans *et al.*, 2012) y el movimiento de los animales entre parcelas (Odriozola *et al.*, 2002).

La transmisión vertical del endófito puede ser imperfecta, es decir, que las plantas infectadas pueden producir una proporción variable de semillas no infectadas, dependiendo de la especie o población en estudio y de las condiciones ambientales de crecimiento (Afkhami y Rudgers, 2008; Gundel *et al.*, 2009, 2011; García Parisi *et al.*, 2012). En este sentido, se sabe que la sequía y la aplicación de herbicidas disminuyen la transmisión vertical del endófito (Davitt *et al.*, 2011; Gundel *et al.*, 2011), pero poco se conoce sobre el efecto del pastoreo sobre esta. Por ejemplo, García Parisi *et al.* (2012) analizando el impacto del pastoreo (simulado mediante cortes y pisoteo) sobre la dinámica de transmisión del endófito *E. occultans* en *Lolium multiflorum* Lam. (raigrás anual) en microcosmos bajo diferentes contextos agroecológicos encontraron que la defoliación con pisoteo en dos momentos durante el ciclo de crecimiento (macollaje y encañazón) redujeron la producción de semilla y provocaron fallas en la transmisión del endófito respecto a los tratamientos no defoliados. Sin embargo, es escasa la información acerca de cómo operan los distintos factores ecológicos y de manejo agronómico en la regulación del reemplazo de plantas libres por plantas infectadas con endófito de tipo silvestre, que es común observar en las pasturas de la Cuenca del Salado (Colabelli *et al.*, 2006; Petigrosso *et al.*, 2013).

A partir de lo mencionado, y con la finalidad de desarrollar prácticas de manejo que permitan prevenir o disminuir la invasión de festuca infectada en pasturas libres de endófito, el presente trabajo tuvo como objetivo avanzar en el entendimiento de los factores que regulan dicha invasión. Para ello, se evaluó el efecto de dos frecuencias de defoliación sobre el crecimiento vegetativo y reproductivo de plantas de festuca alta de una población naturalizada e infectada con *Epichloë coenophiala* y de un cultivar comercial libre de endófito. Además, en las plantas infectadas se analizó el efecto de la frecuencia de defoliación sobre la transmisión vertical del endófito a las semillas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio y diseño experimental

El experimento se realizó en la Unidad Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias UNMdP–Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce; 37° 45' S, 58° 17' O, 130 m s. n. m.) en micropasturas (unidades experimentales) establecidas sobre suelo tamizado y homogeneizado

proveniente del horizonte A de un Argiudol típico (53 ppm de P Bray I, 4,3% MO y 30,1 ppm N-NO₃) en contenedores de 0,6 m de largo x 0,4 m de ancho x 0,2 m de profundidad ubicados al aire libre.

Se empleó semilla de festuca alta infectada con endófito silvestre (100% de infección, poder germinativo 82%) proveniente de un pastizal del partido de Mar Chiquita (37° 32' S; 57° 55' O) y semilla de festuca alta cultivar Continental TAITA, libre de infección (0% de infección, poder germinativo 87%), suministrada por GENTOS S.A. Los niveles de infección se corroboraron previo a la siembra empleando la técnica de Saha *et al.* (1988). Para ello, se realizó un pretratamiento que consiste en sumergir las semillas en hidróxido de sodio NaOH al 5% a temperatura ambiente por 12 h. Al cabo de este tiempo las semillas se enjuagaron con agua y se colocaron individualmente sobre un portaobjeto para separar las glumelas y proceder a su tinción (coloración directa) con una gota del colorante rosa de Bengala durante 2-3 minutos. Posteriormente se colocó un cubreobjeto y se observó al microscopio óptico Olympus CHK (400x) la presencia de hifas del hongo entre las células aleuroníferas del endosperma. Así, las semillas que contenían el endófito fueron diagnosticadas como positivas (E+) y las no infectadas como negativas (E-).

La siembra se realizó el 02/05/2016 ubicando 13 semillas a 5 mm de profundidad en cada uno de cuatro surcos distanciados 12 cm entre sí (52 plantas por contenedor, ej. 200 pl m⁻²). Las fallas en la emergencia se subsanaron dentro de los 30 días después de la siembra, mediante el trasplante de plántulas extra, de tamaño similar, cultivadas paralelamente en almácigos. La fecha de emergencia promedio de las plántulas en las unidades experimentales fue el 25/05/2016, equivalente a un tiempo térmico desde la siembra de 144°Cd (temperatura base 4 °C; Colabelli *et al.*, 1998; Agnusdei y Mazzanti, 2001).

El 20/10/16 se llevó a cabo un corte de limpieza para uniformar las micropasturas. A partir de esa fecha, se realizaron 8 cortes para los tratamientos con alta frecuencia y

Fecha	Frecuencia de defoliación	AF (°Cd)	BF (°Cd)
23/11/2016	AF	393	-
19/12/2016	AF y BF	833	833
03/01/2017	AF	1119	-
30/01/2017	AF y BF	1645	1645
24/02/2017	AF	2098	-
27/03/2017	AF y BF	2561	2561
10/05/2017	AF	3092	-
16/08/2017	AF y BF	3701	3701

Tabla 1. Fechas de corte y tiempo térmico acumulado desde el corte de limpieza efectuado el 20 de octubre de 2016 (°Cd, temperatura base 4 °C) para dos frecuencias de defoliación: alta (AF, cada 450±100°Cd) y baja (BF, cada 850±100°Cd).

4 cortes para los de baja frecuencia (tabla 1). La frecuencia de defoliación se estableció considerando el tiempo térmico acumulado (frecuencia alta cada $450\pm 100^\circ\text{Cd}$ y baja cada $850\pm 100^\circ\text{Cd}$ respectivamente). Los cortes se realizaron a 70 mm de altura desde el nivel del suelo con tijera de mano. El último corte se efectuó el 16/08/17 con el objetivo de permitir que las plantas pasen a estado reproductivo y evitar el corte de las varas florales.

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial. Los factores experimentales controlados fueron: tipo de pastura de festuca alta (FNE+: naturalizada e infectada con endófito silvestre, y FCE-: comercial libre de endófito) y nivel de frecuencia de defoliación (AF: alta, y BF: baja). En total se establecieron 20 contenedores experimentales: 2 niveles de defoliación x 2 niveles de infección endofítica x 5 repeticiones.

Determinaciones

Producción de biomasa aérea acumulada y número de macollos

Los cortes para alta y baja frecuencia de defoliación se realizaron en promedio a 470°Cd y 950°Cd , respectivamente, durante el período comprendido entre el 20/10/16 y el 16/08/17. La biomasa fresca se secó en estufa de aire forzado a 60°C hasta peso constante y se pesó. En cada micropastura se identificaron 4 plantas de festuca alta en las que se contó el número total de macollos previo a la realización de cada corte.

Número de panojas, esfuerzo reproductivo, peso y número de semillas

En cada una de las 4 plantas marcadas se registró el número de macollos totales (reproductivos y vegetativos) para calcular el esfuerzo reproductivo (ej. panojas/macollos totales). Las panojas se cosecharon entre el 27/11/2017 y el 5/12/2017, cuando el raquis de estas presentaba un color amarillento. Se determinó el peso total de las semillas producidas en cada planta y, a partir de tres submuestras de 100 semillas se estimó el peso promedio de esas 100 semillas y así, con el dato de peso total, obtener el número de semillas por planta.

Determinación de la transmisión vertical del endófito

Se realizó el diagnóstico de la presencia del endófito en 20 semillas de cada una de las cuatro plantas identificada en cada micropastura empleando la técnica de Saha *et al.* (1988) previamente descrita. Con los resultados obtenidos se calculó el porcentaje de semillas infectadas en cada planta.

Datos meteorológicos y mantenimiento de los experimentos

El tiempo térmico acumulado se calculó utilizando los registros de temperatura del aire en casilla meteorológica a 1,50 m de altura de la Estación de Agrometeorología de la EEA Balcarce del INTA, ubicada aproximadamente a

300 m del sitio experimental. Los contenedores se mantuvieron libres de malezas y con adecuada disponibilidad de agua durante el período experimental. Se aplicó nitrógeno ($150\text{ kg N ha}^{-1}\text{ año}^{-1}$ en forma dividida: 50 kg N ha^{-1} a la siembra, 50 kg N ha^{-1} luego del corte limpieza y 50 kg N ha^{-1} después del último corte realizado previo a la encañazón). No se observaron ataques de plagas ni patógenos durante el desarrollo del experimento.

Análisis estadístico

Debido a la diferencia en el número de cortes entre ambos tratamientos de frecuencia de defoliación (ej. 8 y 4 valores para alta y baja frecuencia de defoliación, respectivamente), el cálculo de biomasa aérea acumulada con alta frecuencia de defoliación se efectuó sumando las cantidades cosechadas en cortes sucesivos de manera de obtener el valor de biomasa acumulada correspondiente al mismo período de acumulación de los tratamientos con baja frecuencia (ej. 4 valores en total para cada frecuencia de defoliación). Los efectos de los factores experimentales y su posible interacción se analizaron mediante ANOVA el cual, para las variables biomasa aérea acumulada y número de macollos, se efectuó con medidas repetidas en el tiempo. Se realizaron comparaciones de medias (LSD $p<0,05$) cuando se encontraron diferencias significativas ($\alpha=0,05$). Debido a que de la variable respuesta número de macollo no cumplió con los supuestos de normalidad ni homogeneidad de varianzas debió transformarse (ej. In del número de macollos). Todos los análisis se realizaron empleando el software estadístico R (R Development Core Team, 2016). Los modelos se ajustaron con la función lme del paquete nlme (Pinheiro *et al.*, 2012). En la sección resultados se muestran como media \pm error estándar (EE).

RESULTADOS

Producción de biomasa aérea acumulada y número de macollos

Al analizar la biomasa aérea acumulada de las micropasturas (figura 1) no se detectó interacción significativa entre el tipo de pastura, la frecuencia de defoliación y la fecha de corte ($p=0,117$), pero sí se encontró interacción significativa entre el tipo de pastura y la frecuencia de defoliación ($p=0,009$). En este sentido, se halló que con AF las plantas de FNE+ presentaron mayor acumulación de biomasa total que las de FCE- ($168,19\pm 8,84$ y $149,12\pm 3,74\text{ g MS m}^{-2}$ respectivamente), mientras que con baja frecuencia la situación fue inversa (FNE+: $104,13\pm 7,07$ y FCE-: $120,13\pm 5,79\text{ g MS m}^{-2}$).

El número de macollos en las plantas de ambos tipos de pastura fue mayor con AF que con BF ($p<0,0001$) siendo en promedio 2346 ± 302 y 1940 ± 250 macollos m^{-2} respectivamente. El efecto tipo de pastura no fue significativo ($p=0,061$).

Número de panojas, esfuerzo reproductivo y número de semillas por planta

En la tabla 2 se muestran los resultados de las variables reproductivas. El número de panojas por planta fue ma-

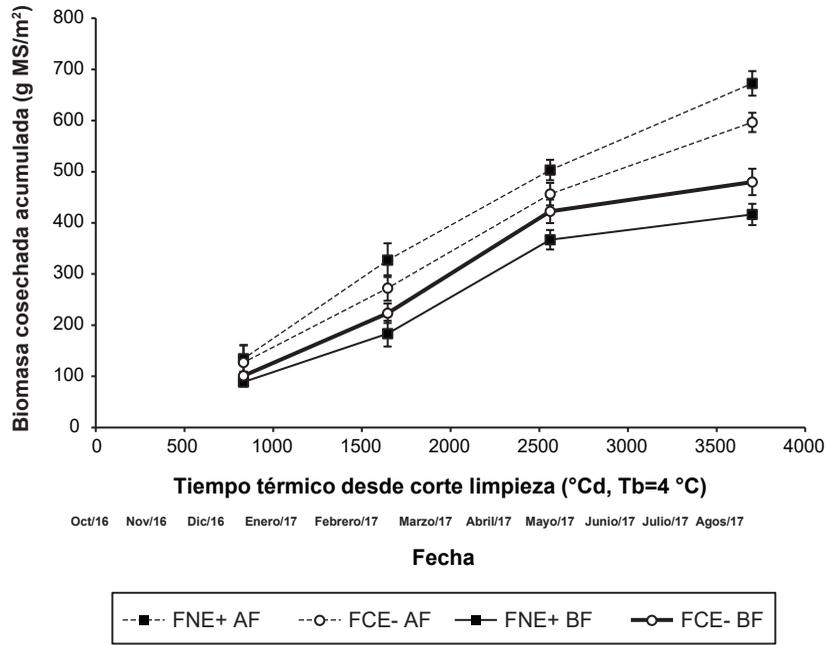


Figura 1. Acumulación de biomasa aérea (g MS m⁻², media ± EE, n=5) en micropasturas de festuca alta naturalizada en infectada con endófito silvestre (FNE+) y de un cultivar comercial libre de endófito (FCE-) bajo dos frecuencias de defoliación: alta (AF, cada 450±100°Cd) y baja (BF, cada 850±100°Cd). Los valores de AF corresponden a suma de dos cortes sucesivos (ver Materiales y métodos).

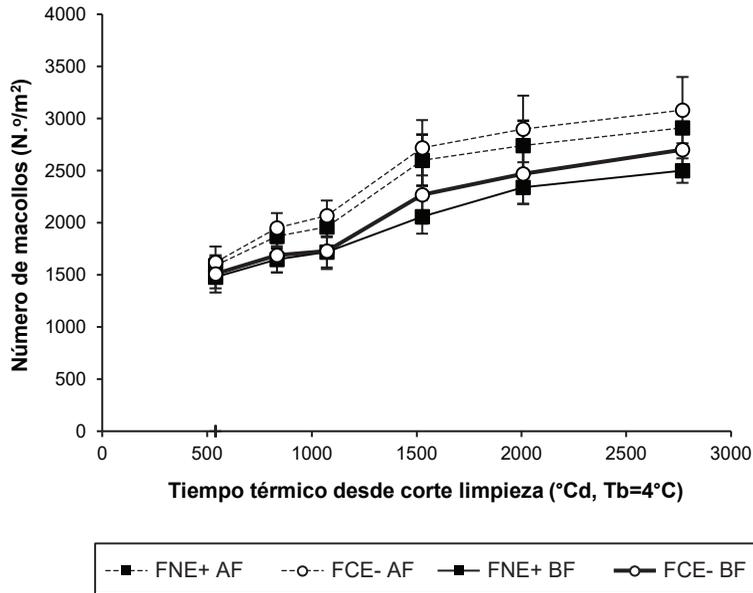


Figura 2. Dinámica del número de macollos por planta (media ± EE, n=5) en micropasturas de festuca alta naturalizada en infectada con endófito silvestre (FNE+) y de un cultivar comercial libre de endófito (FCE-) bajo dos frecuencias de defoliación: alta (AF, cada 450±100°Cd) y baja (BF, cada 850±100°Cd).

yor en FNE+ que en FCE- (2,85±0,20 y 1,55±0,34 panojas/planta, respectivamente, p=0,002) y no fue afectado por la frecuencia de defoliación (p=0,065). Se observó interacción significativa entre el tipo de pastura de festuca y la frecuencia de defoliación (p=0,0278) para el esfuerzo reproductivo. Así, si bien las plantas FNE+ tendieron a mostrar

mayor esfuerzo reproductivo que las FCE-, la diferencia solo fue significativa en BF. Por último, la producción de semillas fue mayor en las plantas FNE+ que en las FCE- (316,44±35,03 y 183,53±18,19 semillas/planta, respectivamente, p=0,0033) y, aunque no fue afectada por la frecuencia de defoliación (p=0,2581), el aumento de esta tendió a

Variable	Nivel de defoliación			
	AF		BF	
	FCE-	FNE+	FCE-	FNE+
Número de varas/planta	1,5±0,33	2,2±0,45	1,6±0,26	3,5±0,32
Esfuerzo reproductivo	0,09±0,02	0,15±0,03	0,12±0,02	0,29±0,01
Número de semillas/planta	184, 31±26,90	270,43±53,36	182,75±27,42	362,44±39,91

Tabla 2. Número de panojas, esfuerzo reproductivo y número de semillas por planta (media ± EE) en festuca alta naturalizada en infectada con endófito silvestre (FNE+) y de un cultivar comercial libre de endófito (FCE-) bajo dos frecuencias de defoliación: alta (AF, cada 450±100°Cd) y baja (BF, cada 850±100°Cd).

disminuir el número de semillas producidas únicamente en las plantas FNE+.

Transmisión vertical del endófito

Todas las semillas analizadas producidas por las plantas FNE+ resultaron positivas al diagnóstico de endófito, por lo que no hubo efecto de la frecuencia de defoliación sobre la transmisión de este.

DISCUSIÓN

El presente experimento compara la respuesta a la frecuencia de defoliación de plantas de festuca alta provenientes de semilla mejorada libre de endófito y de una población naturalizada infectada con endófito silvestre con la finalidad de avanzar en el conocimiento de los mecanismos que explican el avance del porcentaje de infección en pasturas sembradas con semilla libre de endófito en la Cuenca del Salado (Petigrosso *et al.*, 2013). Bajo estas condiciones experimentales no es posible evaluar el efecto aislado del endófito debido a las diferencias genotípicas existentes entre cultivares, poblaciones y aun dentro de la misma población (Hill *et al.*, 1990; Saikkonen *et al.*, 2004).

En nuestras condiciones experimentales se observó que la tendencia del número de macollos registrada (figura 2) coincide con la publicada por Parsons *et al.* (1983) y Chapman y Lemaire (1996) quienes hallaron que pasturas manejadas con alta frecuencia de defoliación desarrollaron una estructura con una mayor densidad de macollos de menor tamaño que aquellas sometidas a bajas frecuencias de defoliación, lo que se explicaría por la ley de compensación tamaño/densidad (Matthew *et al.*, 1995, 2000). Similarmente, Petigrosso *et al.* (2018) encontraron que la densidad de macollos de festuca alta infectada creciendo en micropasturas puras y consociadas con *Lotus tenuis* tendió a ser mayor en alta frecuencia de defoliación que en baja frecuencia (alta: cada 7-9 días, y baja: cada 14-21 días).

Respecto a la transmisión vertical del endófito, a diferencia de los resultados obtenidos por García Parisi *et al.* (2012), no se registraron fallas de transmisión del hongo

de la planta madre a las semillas en ninguna de las frecuencias de defoliación aplicadas en este experimento. Ello podría atribuirse a que los autores antes mencionados trabajaron con una especie anual (*Lolium multiflorum*) infectada con endófito, con pastoreo simulado y sometida a solo dos cortes durante el ciclo de crecimiento en el tratamiento con defoliación. En ese sentido, se ha comprobado que tanto los disturbios directos e indirectos generados por la presencia de herbívoros sobre el suelo como las condiciones ambientales afectan la transmisión del endófito a la semilla (Bardgett *et al.*, 2005; Davitt *et al.*, 2011). Además, resulta interesante destacar que con BF las plantas FNE+ presentaron mayor esfuerzo reproductivo que las FCE- y tendieron a producir menor número de panojas y semillas/planta en AF que en BF (tabla 2). Estos resultados indican que las prácticas de manejo frecuentemente observadas en los festucales infectados de la Cuenca del Salado, que consisten en cerrar los lotes en primavera avanzada no son adecuados ya que favorecen la producción de semilla y la acumulación de esta en el banco del suelo, lo que conlleva a un aumento progresivo de la proporción de plantas infectadas (Castaño J., comunicación personal). Es por ello que una de las estrategias de manejo sugeridas para reducir la severidad de la festucosis consiste en someter a una alta frecuencia de defoliación a las pasturas de festuca alta E+ a fin de mantenerlas en estado vegetativo, que los animales consuman mayoritariamente láminas foliares, las cuales presentan menor contenido de ergocalcoides (White *et al.*, 1993) y, de este modo, disminuir la producción de semilla que es la principal fuente de contaminación y expansión de esta problemática.

Entre los aspectos que se deberían analizar en futuras investigaciones se pueden mencionar: la dinámica de avance de la infección endofítica en pasturas de festuca alta y pastizales en experimentos a campo y de larga duración, la competencia entre plantas infectadas y libres de endófito (con el mismo fondo genético), la dinámica del banco de semillas del suelo, el impacto del consumo preferencial de semillas y plántulas por herbívoros, el establecimiento de plantas infectadas y libres de endófito propagadas a través del excremento del ganado y la posible interacción con otros simbiontes a nivel de la rizósfera.

CONCLUSIONES

En función de los resultados obtenidos podemos concluir que, bajo nuestras condiciones experimentales, la frecuencia de defoliación alta favoreció la producción de biomasa aérea de las plantas de festuca de la población naturalizada e infectada con respecto al cultivar libre de endófito, sin embargo ocurrió lo contrario en las plantas sometidas a la frecuencia de defoliación baja. Independientemente de la frecuencia de defoliación, las plantas de la población naturalizada e infectada tendieron a producir mayor número de panojas y semillas que las del cultivar libre de endófito, aunque la producción de estas últimas tendió a disminuir con el aumento de la frecuencia de defoliación. No se registraron fallas en la transmisión vertical del endófito a la semilla producida por las primeras. Con base en estos resultados, sería recomendable aplicar una frecuencia de defoliación que, sin afectar la supervivencia de las plantas, sea lo suficientemente alta para permitir mantener la pastura en estado vegetativo y disminuir la producción de semilla (principal fuente de contaminación y expansión de festuca E+).

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio se desarrolló en el marco del Proyecto 15/A542, AGR540/17 de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata. Los autores agradecen a la empresa GENTOS S.A. por el suministro de la semilla empleada.

BIBLIOGRAFÍA

AFKHAMI, M.E.; RUDGERS, J.A. 2008. Symbiosis lost: imperfect vertical transmission of fungal endophytes in grasses. *Am. Nat.* 172: 405-416.

AGNUSDEI, M.G.; MAZZANTI, A. 2001. Frequency of defoliation of native and naturalized species of the Flooding Pampas (Argentina). *Grass Forage Sci.* 56:344-351.

BACON, C.W.; PORTER, J.K.; ROBBINS, J.D.; LUTTRELL, E.S. 1977. *Epichloe typhina* from toxic tall fescue grasses. *App. Environ. Microbiol.* 34:576-581.

BARDGETT, R.D.; BOWMAN, W.D.; KAUFMANN, R.; SCHMIDT, S.K. 2005. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends Ecol. Evol.* 20: 634-641.

BARKER, D.J.; SULC, R.M.; BULTEMEIER, T.L.; MC CORMICK, J.S.; LITTLE, R.; PENROSE, C.D.; SAMPLES, D. 2005. Contrasting toxic-endophyte contamination between endophyte-free and nontoxic-endophyte tall fescue pastures. *Crop Sci.* 45: 616-625.

BOUTON, J.R.; GATES, R.; HILL, N.; HOVELAND, C. 2002. Agronomic traits with MaxQ tall fescue. *Proc. Tall Fescue Toxicosis Workshop, SERAIEG-8, Wildersville, TN. Missouri Forage and Grassland Council.* 40-41 pp.

CHAPMAN, D.F.; LEMAIRE, G. 1996. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. *N.Z.J. Agric. Res.* 26: 159-168.

CLAY, K.; SCHARDL, C. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *Am. Nat.* 160: 99-127.

CLAY, K.; HOLAH, J.; RUDGERS, J.R. 2005. Herbivores cause a rapid increase in hereditary symbiosis and alter plant community composition. *PNAS* 102 (35): 12465-12470.

COLABELLI, M.; AGNUSDEI, M.; MAZZANTI, A.; LABREVEUX, M. 1998. El proceso de crecimiento y desarrollo de gramíneas forrajeras como base para el manejo de la defoliación. *Boletín Técnico N.º 148. INTA EEA Balcarce. Buenos Aires, Argentina.* 1-14 pp.

COLABELLI, M.N.; SALOMONE, L.; FERNÁNDEZ, F.; SAN MARTINO, S. 2006. Niveles de infección de *Neotyphodium coenophialum* en poblaciones de festuca naturalizadas en el sudeste bonaerense. 29.º Congreso AAPA. Mar del Plata. 239-240 pp.

DAVITT, A.J.; CHEN, C.; RUDGERS, J.A. 2011. Understanding context-dependency in plant-microbe symbiosis: The influence of abiotic and biotic contexts on host fitness and the rate of symbiont transmission. *Environ. Exp. Bot.* 71: 137-45.

DE BATTISTA, J.; PERETTI, A.; CARLETTI, S.; RAMIREZ, A.; COSTA, M.; SCHULTZ, L. 1995. Evolución de la incidencia de la infección de *Acremonium coenophialum* en la oferta de semilla de festuca alta en Argentina. Período 1987-1994. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 15: 300-302.

DE BATTISTA, J.; ALTIER, N.; GALDAMES, D.R.; DALL'AGNOL, M. 1997. Significance of endophyte toxicosis and current practices in dealing with the problema in South America. En: BACON, C.W.; HILL, N.S. (eds.). *Neotyphodium/Grass Interactions.* Plenum Press: Nueva York. 383-388 pp.

DEFELICE, M.S.; HENNING, J.C. 1990. Renovation of endophyte (*Acremonium coenophialum*) infected tall fescue (*Festuca arundinacea*) pastures with herbicides. *Weed Sci.* 38: 628-633.

FRIBOURG, H.A.; HANNAWAY, D.B. 2007. Tall fescue. on-line monograph, forage information system. (Disponible: <http://forages.oregonstate.edu/is/ffis/monograph.html> verificado: 08 de marzo de 2013).

GARCÍA PARISI, P.A.; CASAS, C.; GUNDEL, P.E.; OMACINI, M. 2012. Consequences of grazing on the vertical transmission of a fungal *Neotyphodium* symbiont in an annual grass population. *Austral Ecol.* 37:620-628.

GLENN, A.E.; BACON, C.W.; PRICE, R.; HANDIL, R.T. 1996. Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications. *Mycologia* 88: 369-383.

GUNDEL, P.E.; PÉREZ, L.I.; HELANDER, M.; SAIKKONEN, K. 2013. Symbiotically modified organisms: nontoxic fungal endophytes in grasses. *Trends Plant Sci.* 18: 420-427.

GUNDEL, P.E.; RUDGERS, J.A.; GHERSA, C.M. 2011. Incorporating the process of vertical transmission into understanding of host symbiont dynamics. *Oikos.* 120: 1121-1128.

GUNDEL, P.E.; GARIBALDI, L.A.; TOGNETTI, P.M.; ARAGÓN, R.; GHERSA, C.M.; OMACINI, M. 2009. Imperfect vertical transmission of the endophyte *Neotyphodium* in exotic grasses in grasslands of the Flooding Pampa. *Microbial. Ecol.* 57: 740-748.

GUNDEL, P.E.; BATISTA, W.H.; TEXEIRA M.; MARTINEZ-GHERSA, M.A.; OMACINI, M.; GHERSA, C.M. 2008. *Neotyphodium* endophyte infection frequency in annual grass populations: relative importance of mutualism and transmission efficiency. *Proceedings of the Royal Society of London.* 275: 897-905.

HANNAWAY, D.; FRANSEN, S.; CROPPER, J.; TEEL, M.; CHANEY, M.; GRIGGS, T.; HALSE, R.; HART, J.; CHEEKE, P.; HANSEN, D.; KLINGER, R.; LANE, W. 1999. Tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). Oregon State University: Oregon. *EUA. PNW* 504: 1-20.

HILL, N.S.; STRINGER, W.C.; ROTTINGHAUS, G.E.; BELESKY, D.P.; PARTOT, W.A.; POPE, D.D. 1990. Growth, morphological and chemical component responses of tall fescue to *Acremonium coenophialum*. *Crop Sci.* 30: 156-161.

HILL, N.S.; ANDRAE, J.G.; DURHAM, R.G.; HANCOCK, D.W. 2010. Herbicide Treatments to Renovate Toxic Endophyte Infec-

- ted Tall Fescue Pastures with 'Jesup' MaxQ. *Crop Sci.* 50 (3): 1086-1089.
- HOVELAND, C.S. 1993. Economic importance of *Acremonium* endophytes. *Agr. Ecosyst. Environ.* 44: 3-12.
- LEUCHTMANN, A.; BACON, C.W.; SCHARDL, C.L.; WHITE, J.F.; TADYCH, M. 2014. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycol.* 106: 202-215.
- LUGTENBERG, B.J.J.; CARADUS, J.R.; JOHNSON, L.J. 2016. Fungal endophytes for sustainable crop production. *Microbiol. Ecol.* 92 (12):1-17.
- MALINOWSKI, D.; BELESKY, D. 2000. Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Sci.* 40: 923-940.
- MATTHEW, C.; ASSUERO, S.G.; BLACK, C.K.; SACKVILLE HAMILTON, N.R. 2000. Tiller dynamics of grazed swards. En: LEMAIRE, G.; HODGSON, J.; DE MORAES, A.; NABINGER, C.; CARVALHO, P.C. DE F. (eds.). *Grassland ecofisiology and grazing ecology*. CABI Publishing, University Press, Cambridge, Reino Unido. 127-151 pp.
- MATTHEW, C.; LEMAIRE, G.; SACKVILLE HAMILTON, R.N. 1995. A modified self-thinning equation to describe size density relationships for defoliation swards. *Ann. Bot.* 76: 579-587.
- ODRIOZOLA, E.; IRAGUEN PAGATE, I.; LLOBERAS, M.M.; COSENTINO, I.; PORTEY, R.; OROMÍ, J. 2002. Festuca tóxica. Su efecto en diferentes razas bovinas. *Rev. Vet. Arg.* 19:12-21.
- PARSONS, A.J.; LEAFE, E.L.; COLLET, B.; STILES, W. 1983. The physiology of grass production under grazing. I. Characteristics of lead and canopy photosynthesis of continuously-grazed swards. *J. Appl. Ecol.* 20: 117-126.
- PETIGROSSO, L.R.; COLABELLI, M.N.; FERNÁNDEZ, O.N.; ISPIZÚA, V.; CENDOYA, M.G. 2013. Incidence of the endophyte fungus *Neotyphodium coenophialum* in pastures of tall fescue differing in age and soil characteristics. *Afr. J. Agric. Res.* 8 (22): 2655-2662.
- PETIGROSSO, L.R.; ASSUERO, S.G.; VIGNOLIO, O.R.; ROMANO, Y.; COLABELLI, M.N.; SALVAT, A.; CRISTOS, D. 2018. Interacción entre festuca alta infectada con endófito y *Lotus tenuis* bajo dos frecuencias de defoliación. *RIA.* 44(1):41-48.
- PINHEIRO, J.; BATES, D.; DEBROY, S.; SARKAR, D. 2012. R Development Core Team. *nlme*: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-103.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (Disponible: <http://www.R-project.org/> verificado: 15 de junio de 2016).
- SAHA, C.D.; JACKSON, M.A.; JOHNSON-CICALESE, J.M. 1988. A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grass. *Phytopathol.* 78: 237-239.
- SAIKKONEN, K.; FAETH, S.H.; HELANDER, M.; SULLIVAN, T.J. 1998. Fungal Endophytes: A Continuum of Interactions with Host Plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29:319-343.
- SAIKKONEN, K.; WALI, P.; HELANDER, M.; FAETH, S.H. 2004. Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends Plant Sci.* 9:275-280.
- SAIKKONEN, K.; LEHTONEN, P.; HELANDER, M.; KORICHEVA, J.; FAETH, S.H. 2006. Model systems in ecology: Dissecting the endophyte-grass literature. *Trends Plant Sci.* 11: 428-433.
- SCHENEITER, J.O.; KAUFMANN, I.I.; FERREYRA, A.R.; LLORENTE, R.T. 2015. The herbage productivity of tall fescue in the Pampas region of Argentina is correlated to its ecological niche. *Grass Forage Sci.* 71: 403-412.
- SHELBY, R.A.; SCHMIDT, S.P.; RUSSELL, R.W.; GREGORY, W.H. 1989. Spread of tall fescue endophyte by cattle. Leaflet 104, Alabama Agric. Exp. Stn.
- SHELBY, R.A.; SCHMIDT, S.P. 1991. Survival of the tall fescue endophyte in the digestive tract of cattle and horses. *Plant Dis.* 75: 776-778.
- SHELBY, R.A.; DALRYMPLE, L.W. 1993. Long-term changes of endophyte infection in tall fescue stands. *Grass Forage Sci.* 48: 356-361.
- TEKELI, A.S.; ATES, E. 2005. Yield potential and mineral composition of white clover (*Trifolium repens* L.) – tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) mixtures. *J. Cent. Eur. Agr.* 6: 27-34.
- TREVOR, D.I.; BATES, G.E.; MUELLER, C.T.; WALLER, J.C.; RHODES, G.N.JR. 2016. Effects of *Aminocyclopyrachlor Plus Metsulfuron* on Tall Fescue Yield, Forage Quality, and Ergot Alkaloid Concentration. *Weed Technol.* 30(1):171-180.
- WHITE, J.F.JR.; MORGAN-JONES, G.; MORROW, A.C. 1993. Taxonomy, life cycle, reproduction and detection of *Acremonium* endophytes. *Agr. Ecosyst. Environ.* 44: 13-37.
- WHITE, J.F.JR.; TORRES, M. 2009. Defensive mutualism in microbial symbiosis. CRC Press: Boca Raton, FL. 333-334 pp.