



Universidad Católica Argentina

Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

Trabajo final de graduación para optar el grado de Ingeniero Agrónomo

**Evaluación de la calidad de semillas de festuca alta
provenientes de plantas tratadas con fungicida para
eliminar el hongo endófito *Epichloë coenophiala***

Estudiante: **Ignacio Olarra**

Tutor: **Ing. Agr. Lucas R. Petigrosso, M. Sc.**

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS	5
RESUMEN.....	6
AGRADECIMIENTOS.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1. Definición del problema	8
1.2. Hipótesis	11
1.3. Objetivos	11
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
2.1. Obtención del material experimental y determinaciones previas.....	12
2.2. Diseño y conducción del experimento.....	15
2.3. Determinaciones	15
2.4. Análisis estadístico	18
3. RESULTADOS	19
3.1. Peso de mil semillas.....	19
3.2. Energía germinativa	20
3.3. Poder germinativo	20
3.4. Longitud de radícula.....	21
3.5. Longitud de coleóptilo.....	22
4. DISCUSIÓN	24
5. CONCLUSIÓN	26
6. BIBLIOGRAFÍA	27

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Pastura de festuca alta muestreada en un establecimiento del Partido de General Guido (a). Plantas madres (“matas”) recolectadas para su posterior fraccionamiento en macollos (c) para la realización del experimento. Extraída de Girado Smart (2024)..... 12
- Figura 2.** Vista de algunas macetas con plantas de festuca alta infectadas (E+) de distintos genotipos, en estado vegetativo (a, b, c), sobre las cuales se realizó la aplicación de distintos tratamientos de un fungicida; en estado reproductivo (d) y, cosecha manual de semillas de las panojas (e, f). Extraído de Girado Smart (2024)..... 14
- Figura 3.** Determinación del peso de semillas en balanza analítica (a). Siembra de semillas de festuca alta en rollos de papel embebidos con agua destilada (b, c). Determinación de energía germinativa a los 7 días de sembrados los rollos (d). Cámara de germinación donde se ubicaron los rollos sembrados (e)..... 16
- Figura 4.** Clasificación de semillas y plántulas según normas ISTA (2020)..... 17
- Figura 5.** Detalle de plántulas de festuca alta al final del experimento para realizar la medición de longitud de radícula y coleóptilo (a). Plántulas separadas al azar de cada rollo para realizar las mediciones (b). Momento de la medición del coleóptilo y radícula de cada plántula de festuca alta (c)..... 18

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores promedio ($\pm$ error estándar del modelo = 0,103) de peso de mil semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2. Letras minúsculas iguales, por fila, indican diferencias no significativas entre genotipos dentro de un determinado tratamiento con fungicida, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$). Letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$) entre los tratamientos con fungicida y entre genotipos, respectivamente.....19

Tabla 2. Valores promedio ($\pm$ error estándar) de la energía germinativa de semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2.....20

Tabla 3. Valores promedio ($\pm$ error estándar) del poder germinativo de semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2.....21

Tabla 4. Valores promedio ($\pm$ error estándar del modelo = 0,499) de la longitud de radícula de plántulas originadas de semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2. Letras minúsculas iguales, por fila, indican diferencias no significativas entre genotipos dentro de un determinado tratamiento con fungicida, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$). Letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$) entre los tratamientos con fungicida y entre genotipos, respectivamente.....22

Tabla 5. Valores promedio ($\pm$ error estándar del modelo = 0,444) de la longitud de coleóptilo de plántulas originadas de semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2. Letras minúsculas iguales, por fila, indican diferencias no significativas entre genotipos dentro de un determinado tratamiento con fungicida, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$). Letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$) entre los tratamientos con fungicida y entre genotipos, respectivamente.....23

RESUMEN

El objetivo de la presente Tesis fue evaluar el posible efecto fitotóxico de distintos tratamientos con fungicida sobre la calidad de semillas provenientes de plantas de distintos genotipos de festuca alta, tratadas experimentalmente para eliminar el hongo endófito *Epichloë coenophiala*, en variables asociadas a la germinación y emergencia. Este experimento es complementario al realizado por el estudiante Carlos Girado Smart en el marco de Trabajo Final de Graduación. El experimento se realizó en una cámara de germinación de la Unidad Integrada Balcarce. Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones en el tiempo (tandas), con un arreglo factorial. Se sembraron 50 semillas de cada una de las plantas, en rollos de papel, embebidos en agua destilada. Una vez formados los rollos, se trasladaron a una cámara de germinación donde permanecieron 14 días a 20°C con un fotoperiodo de 8 h para que germinen. En total se sembrarán 84 rollos (7 tratamientos con fungicida x 4 repeticiones x 3 genotipos de festuca alta). Para determinar el posible efecto fitotóxico del fungicida sobre las semillas y plántulas, se determinaron las siguientes variables: peso de mil semillas, energía germinativa, poder germinativo, longitud de radícula y coleóptilo de las plántulas. Bajo nuestras condiciones experimentales, se observó que los tratamientos con fungicida influyeron sobre el peso de mil semillas, pero no afectaron la energía germinativa ni poder germinativo de las mismas. Al analizar la longitud de radícula y de coleóptilo de las plántulas, se observó que los tratamientos con fungicida provocaron una disminución de los valores de ambas variables respuesta, pero dicha disminución no fue superior al 20%, respecto al tratamiento control. Los resultados obtenidos en el marco de esta Tesis son alentadores en la temática en cuestión, dado que, por un lado, los tratamientos con fungicidas evaluados serían eficaces para frenar la transmisión del endófito a las semillas (resultados de la Tesis del estudiante Carlos Girado Smart), y por otro, no afectarían la calidad de las semillas, dado que la germinación en promedio fue alta (superior al 80%).

Palabras clave: *Festuca arundinacea*, *Epichloë coenophiala*, fungicida, calidad de semillas, germinación, emergencia.

AGRADECIMIENTOS

A mi director, Ing. Agr. Lucas Petigrosso, por su dedicación, predisposición y supervisión durante todo el desarrollo de la Tesis.

A mis padres, por apoyarme siempre, darme la oportunidad de estudiar una carrera universitaria y brindarme en todo tiempo lo que estuvo a su alcance.

A mi novia, por su incondicional compañía en esta etapa de mi vida.

A mis amigos, por su gran apoyo durante el transcurso de toda la carrera universitaria.

Al estudio Casa de Campo S.A., por permitirme priorizar mis estudios durante mis años de cursada.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición del problema

Festuca alta, *Festuca arundinacea* Schreb., es una gramínea forrajera, de metabolismo C₃ y crecimiento otoño-inverno-primaveral, muy difundida en varios países del mundo (Gibson y Newman, 2001). Es una especie perenne que tolera niveles moderados de salinidad y alcalinidad, y es capaz de adaptarse a un amplio rango de condiciones climáticas y edáficas (Scheneiter *et al.*, 2016). Es muy valorada en los sistemas extensivos de producción ganadera por su rusticidad, plasticidad fenotípica y calidad (Lattanzi *et al.*, 2007; Milne, 2009; Scheneiter *et al.*, 2016; Petigrosso *et al.*, 2019a).

En Argentina, esta especie es una de las gramíneas más sembradas, tanto pura como en mezcla (Castaño, 2005; Lattanzi *et al.*, 2007; Milne, 2009; Scheneiter *et al.*, 2016). Si bien es de ciclo otoño-invierno-primaveral, no detiene totalmente su crecimiento en verano, es decir, no tiene latencia estival, y, es una especie largamente perenne. El rebrote de otoño es temprano, al igual que el de fines de invierno. Presenta hábito de crecimiento cespitoso, formando matas densas con rizomas cortos. Se caracteriza por presentar un número variable de tallos reproductivos o varas, numerosas hojas anchas de color verde intenso y un sistema radical bien desarrollado y distribuido en profundidad (Muslera Pardo y Ratera García, 1991; Maddaloni y Ferrari, 2005). Su inflorescencia es una panoja laxa o algo contraída, multiflora, de entre 20 a 50 cm de longitud. El peso de mil semillas varía entre 1,5 y 2,2 g (Maddaloni y Ferrari, 2005). Actualmente, crece espontáneamente en las comunidades vegetales A (pradera de mesófitas, loma) y B (pradera húmeda de mesófitas, media loma), de los pastizales de la Pampa Deprimida (Roitman y Preliasco, 2018), y se la utiliza en intersembras en pasturas degradadas (Principi *et al.*, 2011).

Al igual que otras gramíneas C₃, *festuca alta* puede establecer una relación simbiótica con hongos endófitos asexuales de transmisión vertical, es decir, a través de semillas infectadas (Clay y Schardl, 2002; Petigrosso *et al.*, 2019a). El hongo endófito que infecta las plantas de *festuca alta*, *Epichloë coenophiala* (Leuchtmann *et al.*, 2014) no se dispersa por esporas ni por el polen de plantas infectadas, y no produce síntomas de enfermedad visibles desde el exterior como tampoco forma estructuras reproductivas externas (Clay y Schardl, 2002; Roberts *et al.*, 2005). En el caso de *festuca alta* se ha registrado generalmente una alta tasa de trasmisión vertical (> 90%). Sin embargo, hay variación en la proporción de semillas infectadas que producen las plantas infectadas debido a las condiciones ambientales (Hill *et al.*, 2009) y prácticas de manejo, como la

aplicación de herbicidas y frecuencia de corte (Vila-Aiub *et al.*, 2003; García Parisi *et al.*, 2012).

La asociación endófito-gramínea generalmente es del tipo simbiótica-mutualista (White y Torres, 2009; Petigrosso *et al.*, 2019a). El hongo se beneficia por el suministro de nutrientes, y la vía de diseminación es a través de las semillas que aporta la planta, mientras que ésta se beneficia por una mayor resistencia a herbívoros y patógenos, y una mayor tolerancia a diversos factores de estreses, bióticos y abióticos (Malinowski y Belesky, 2000; Omacini *et al.*, 2013; Petigrosso *et al.*, 2019a; Manzur *et al.*, 2022). Además, debido a que las plantas infectadas presentan mayor habilidad competitiva que las plantas libres de endófito, este mutualismo puede reducir la diversidad de especies vegetales (Petigrosso *et al.*, 2019a). Si bien las plantas infectadas se benefician con la presencia del hongo, se ha observado una pobre performance animal debido a la presencia de alcaloides de origen fúngico que causan diversos síndromes (*festucosis*), que provocan importantes pérdidas económicas en la producción ganadera (Hoveland, 1993; Strickland *et al.*, 2011).

Los principales alcaloides generados por la interacción de la planta y el endófito son los ergoalcaloides, como indol diterpenos, lolinas y peraminas (Porter, 1995). Aunque estos compuestos pueden ser benéficos porque protegen a la planta de insectos, nematodos y otros patógenos (Thompson *et al.*, 2001), es bien conocido el efecto negativo de los ergoalcaloides (Bacon *et al.*, 1977). Entre los ergoalcaloides producidos por las diferentes especies, la ergovalina ha sido caracterizada como el principal alcaloide producido por *E. coenophiala*, en términos tanto de intensidad como de duración del efecto tóxico en animales (Strickland *et al.*, 2011).

Como consecuencia de los efectos perjudiciales en animales ocasionados por la presencia del endófito en las plantas de festuca, en establecimientos ganaderos se busca reducir al mínimo la presencia del hongo en las pasturas (Penrose *et al.*, 1997; Petigrosso *et al.*, 2019a). En Argentina existen investigaciones sobre el manejo y control de pasturas de festuca alta infectadas con endófito (*e.g.*, Petigrosso *et al.*, 2018; 2019b; 2020), sin embargo, existe un creciente nivel de informes de casos de intoxicación por *festucosis* en la Cuenca del Salado (Elizalde y Riffel, 2016; García *et al.*, 2017; Petigrosso, com. personal). Esto se condice con datos que muestran que las poblaciones de festuca alta presentan cerca de un 100% de infección (Petigrosso *et al.*, 2013; Lacoste *et al.*, 2020).

Existe información, aunque escasa y no reciente, que muestra resultados positivos en el control del hongo endófito en semillas por medio de fungicidas sistémicos, siendo el triadimenol el ingrediente activo utilizado con más éxito (Siegel *et al.*, 1984; Williams *et al.*,

1984; Costa y De Batista, 1988; Maddaloni *et al.*, 1989). En estos trabajos se ha señalado que algunos de los fungicidas producen cierto grado de fitotoxicidad sobre la calidad de las semillas, que se expresa en una disminución de la energía y/o del poder germinativo de la semilla, menor crecimiento y deformación de las plántulas. Sin embargo, son pocos los estudios que han investigado los efectos de la aplicación de fungicidas sistémicos en la remoción del hongo endófito en plántulas y plantas de gramíneas, posiblemente porque los antecedentes registrados, indican que estos tratamientos no han sido efectivos (Latch y Christensen, 1988, Dernoeden *et al.*, 1990; Hill y Brown, 2000; Petigrosso *et al.*, 2012).

La evaluación de la calidad de la semilla que se va a sembrar es fundamental para conseguir un buen establecimiento de plantas y, es el primer paso para lograr un cultivo óptimo (Peretti, 1994; Terenti, 2004; Borrajo, 2006). Es recomendable utilizar semilla que logre una rápida y uniforme germinación en el campo, para conseguir que la emergencia y cobertura del suelo se obtenga lo antes posible, evitando así la competencia con malezas y minimizando las pérdidas de semilla por depredadores. Para ello, se realizan tests de germinación que brindan información sobre la cantidad de semillas que podrían producir una planta en el campo (Peretti, 1994; Terenti, 2004; Borrajo, 2006). Entre ellos, encontramos: a) el Poder Germinativo (%PG), que es el porcentaje de semillas que germinó y desarrolló una plántula normal cuando se coloca en condiciones ambientales óptimas para su crecimiento, y b) la Energía Germinativa (%EG) que nos da una idea del vigor de la semilla y, representa la velocidad de germinación y la rapidez de la semilla para desarrollar una plántula normal. Es un parámetro muy útil porque brinda una idea de la cantidad de semillas que rápidamente emergerá en el campo, minimizando las pérdidas de semilla por depredadores.

En base a los antecedentes antes mencionados y, considerando que son escasos los experimentos que analizan la eliminación de hongos endófitos del género *Epichloë* en plantas de festuca alta mediante el uso de fungicidas sistémicos, el Ing. Agr. Lucas Petigrosso (FCA-UNMdP) junto con su Grupo de Investigación, llevó a cabo un experimento para evaluar la eficacia de distintos tratamientos con un fungicida sobre la eliminación del hongo endófito *Epichloë coenophiala* en distintos genotipos de plantas de festuca alta infectadas. En el marco de ese experimento, la evaluación de la presencia del hongo endófito en las semillas producidas por las plantas tratadas con fungicida y el análisis de la viabilidad del hongo endófito en plántulas originadas de la siembra de dichas semillas, fue llevada a cabo por el estudiante Sr. Carlos Girado Smart (Tesis de Graduación, titulada:

“Eliminación del hongo endófito *Epichloë coenophiala* en plantas de festuca alta mediante el uso de un fungicida”). Sin embargo, la información obtenida de esa Tesis, debe ser complementada con el análisis de la calidad de las semillas cosechadas de las plantas tratadas. Dicha temática, es la considerada en el desarrollo de este experimento.

1.2. Hipótesis

H. La calidad de semillas de festuca alta provenientes de plantas tratadas con fungicida para eliminar el hongo endófito, depende de la dosis de fungicida y del número de aplicaciones, independientemente del genotipo de la planta.

1.3. Objetivo General

Evaluar el posible efecto fitotóxico de distintos tratamientos con fungicida sobre la calidad de semillas provenientes de plantas de distintos genotipos de festuca alta, tratadas experimentalmente para eliminar el hongo endófito *Epichloë coenophiala*, en variables asociadas a la germinación y emergencia.

Objetivos Específicos

- Determinar los posibles efectos fitotóxicos sobre el peso, la energía y el poder germinativo de semillas provenientes de plantas de distintos genotipos de festuca alta, tratadas con fungicida para eliminar el hongo endófito *Epichloë coenophiala*.
- Determinar los posibles efectos fitotóxicos sobre la longitud del coleóptilo y de la radícula de plántulas obtenidas de semillas provenientes de plantas de distintos genotipos de festuca alta, tratadas con fungicida para eliminar el hongo endófito *Epichloë coenophiala*.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Obtención del material experimental y determinaciones previas

Durante el año 2023, el Ing. Agr. Lucas Petigrosso y su Grupo de Investigación, realizaron un experimento bajo condiciones controladas en un invernáculo de la Unidad Integrada Balcarce: Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP – EEA Balcarce, INTA (latitud: 37° 45' 48" S; longitud: 58° 17' 51" O; altitud: 130 m.s.n.m.). Se colectaron en el campo 3 “matas” (plantas madres, genotipos) de festuca alta en una pastura naturalizada (más de 10 años de implantación) en un establecimiento dedicado a la cría y recría vacuna, ubicado en el Partido de General Guido, Buenos Aires (Figura 3). Se corroboró la condición de infección (en adelante, E+) de las “matas” colectadas mediante el análisis microscópico en macollos (Belanger, 1996). De esas matas E+ se extrajo la mayor cantidad posible de macollos (Figura 1), los que se acondicionaron en bandejas plantineras conteniendo sustrato 3:1 (tierra: enmienda orgánica). Después de un periodo de 30 días de aclimatación de los macollos al ambiente, se realizó el trasplante a una maceta más grande (de 3 L; Figura 4). Las macetas se mantuvieron libres de malezas y sin restricciones hídricas ni nutricionales durante el período experimental.

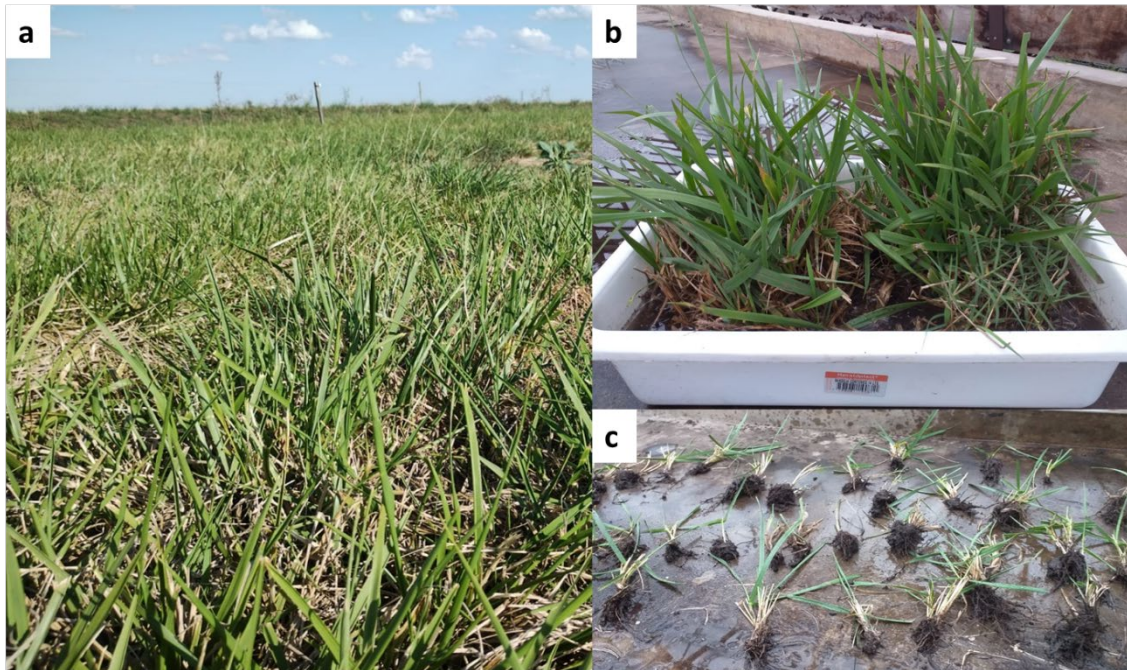


Figura 1. Pastura de festuca alta muestreada en un establecimiento del Partido de General Guido (a). Plantas madres (“matas”) recolectadas para su posterior fraccionamiento en macollos (c) para la realización del experimento. Extraída de Girado Smart (2024).

Cuando cada planta de festuca alta E+ tenía ≈ 10 macollos, se aplicaron distintos tratamientos de un fungicida para eliminar el hongo (Figura 2). Se utilizó un fungicida comercial de acuerdo con ensayos previos (Petigrosso *et al.*, 2019b), cuyos grupos químicos eran: triazol (1,6%), metoxiacrilato (0,96%), imidazol (45%) más un coadyuvante (20%). Se probaron siete tratamientos: T1 (testigo); T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2. Siendo D1 = 25 ml/planta y D2, el doble de la misma. Los tratamientos fueron aplicados con la ayuda de rociador sobre la planta. En total se utilizaron 84 macetas (7 tratamientos x 4 repeticiones x 3 genotipos de festuca alta). Las macetas se mantuvieron libres de malezas y sin restricciones hídricas ni nutricionales durante el período experimental. Las plantas se cultivaron hasta completar el ciclo reproductivo y, durante diciembre de 2023, se cosecharon las semillas de cada planta (Figura 2).

La evaluación de la presencia del hongo endófito en las semillas cosechadas de las plantas tratadas con fungicida y el análisis de la viabilidad del hongo endófito en plántulas originadas a partir de la siembra de dichas semillas, fue llevada a cabo por el estudiante Sr. Carlos Girado Smart (**ver Introducción**). Sin embargo, como fue mencionado anteriormente, en esta Tesis se analizará el posible efecto fitotóxico de los distintos tratamientos con fungicida sobre la calidad de las semillas provenientes de las plantas tratadas experimentalmente, en variables asociadas a la germinación y emergencia.

A continuación, se describirá el diseño experimental y variables determinadas en el marco de esta Tesis.

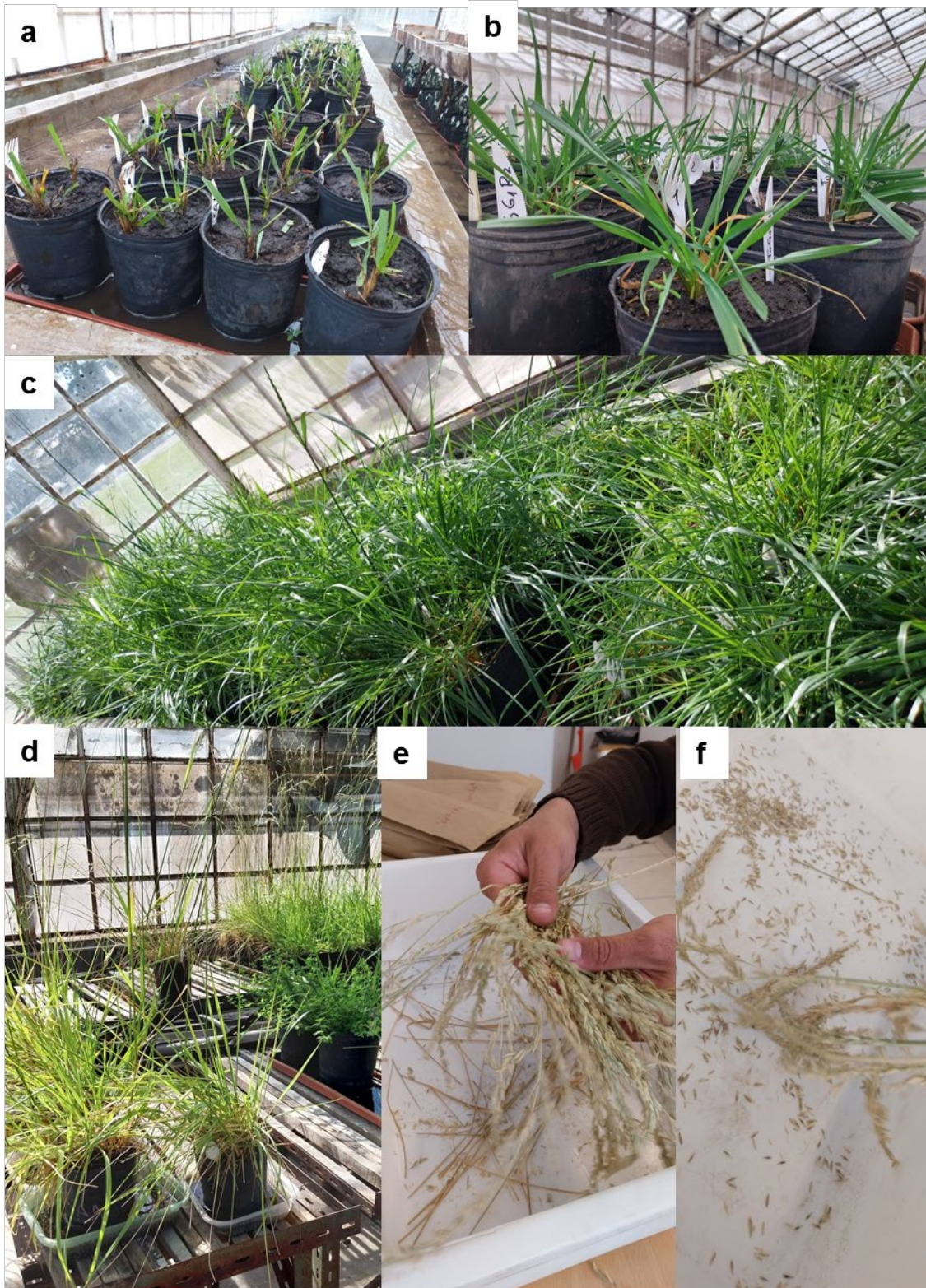


Figura 2. Vista de algunas macetas con plantas de festuca alta infectadas (E+) de distintos genotipos, en estado vegetativo (a, b, c), sobre las cuales se realizó la aplicación de distintos tratamientos de un fungicida; en estado reproductivo (d) y, cosecha manual de semillas de las panojas (e, f). Extraído de Girado Smart (2024).

2.2. Diseño y conducción del experimento

Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones en el tiempo (tandas), con un arreglo factorial. Se sembraron 50 semillas de cada una de las plantas, en rollos de papel (Maguire, 1962), embebidos en agua destilada (25 ml aplicados con rociador, Figura 3). Una vez formados los rollos, se trasladaron a una cámara de germinación donde permanecieron 14 días a 20 °C con un fotoperiodo de 8 h para que germinen (Figura 3). En total se sembraron 84 rollos (7 tratamientos con fungicida x 4 repeticiones x 3 genotipos de festuca alta).

2.3. Determinaciones

Para determinar el posible efecto fitotóxico del fungicida sobre las semillas y plántulas, se midieron las siguientes variables:

-*Peso de 1000 semillas*: A partir de tres submuestras de 100 semillas, se estimó el peso promedio de esas 100 semillas y, con este dato, se calculó el peso de mil semillas por planta (Figura 3).

- *Energía germinativa (%EG)*: a los 7 días se abrieron los rollos y se contaron las semillas germinadas (ISTA, 2020). Las semillas se consideraron germinadas cuando la radícula presentó una longitud igual o mayor a 2 mm (Figura 3).

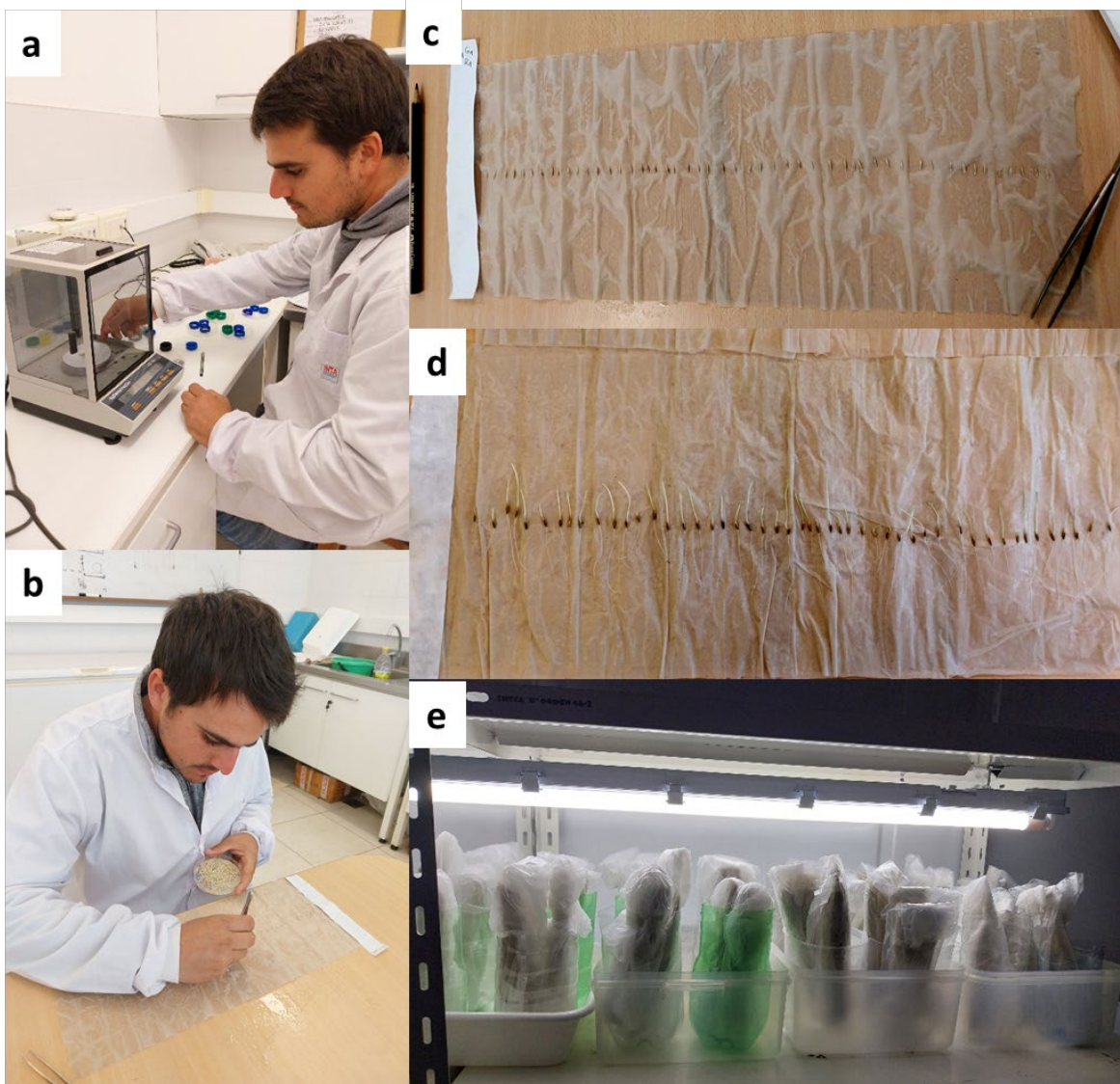


Figura 3. Determinación del peso de semillas en balanza analítica (a). Siembra de semillas de festuca alta en rollos de papel embebidos con agua destilada (b, c). Determinación de energía germinativa a los 7 días de sembrados los rollos (d). Cámara de germinación donde se ubicaron los rollos sembrados (e)

- *Poder germinativo* (%PG): a los 14 días se abrieron los rollos y se contaron las semillas germinadas. En este recuento, las semillas y plántulas se clasificaron en plántulas normales, plántulas anormales, semillas frescas no germinadas y semillas muertas (Figura 4), según las reglas ISTA (2020). Los protocolos del ISTA definen como *plántulas normales* aquellas que muestran el potencial para un desarrollo continuo hacia plantas satisfactorias cuando crecen en suelo de buena calidad y bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. Se diferencian tres categorías de plántulas normales: 1)

plántulas enteras; 2) plántulas ligeramente defectuosas y 3) plántulas infectadas secundariamente. Todas las partes esenciales de una plántula *entera* son: bien desarrolladas; completas; proporcionadas las unas con las otras; sanas. *Plántulas anormales* son aquellas “plántulas que no muestran potencialidad para un desarrollo continuo hacia plantas satisfactorias cuando crecen en suelo de buena calidad y bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y luz”. Las plántulas anormales pueden ser: plántulas dañadas, con alguna estructura esencial ausente o dañada irreparablemente; plántulas deformes o desequilibradas, con desarrollo débil o disturbios fisiológicos y/o; plántulas decaídas, con alguna estructura esencial enferma o decaída por infección primaria.

El poder germinativo se determinó como el porcentaje (% PG) de plántulas normales desarrolladas con respecto al total de semillas sembradas (50).

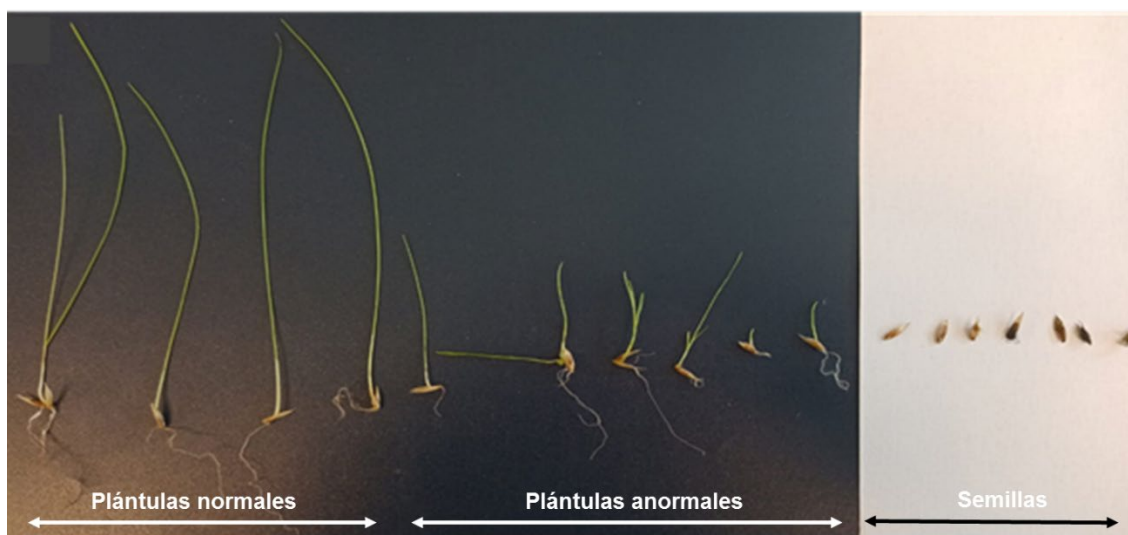


Figura 4. Clasificación de semillas y plántulas según normas ISTA (2020).

- *Longitud de radícula y coleoptilo:* el mismo día del recuento del %PG, se midió, con una regla milimetrada, la longitud de la radícula (LR) y del coleoptilo (LC) de una de una muestra aleatoria de 10 plántulas (Figura 5).

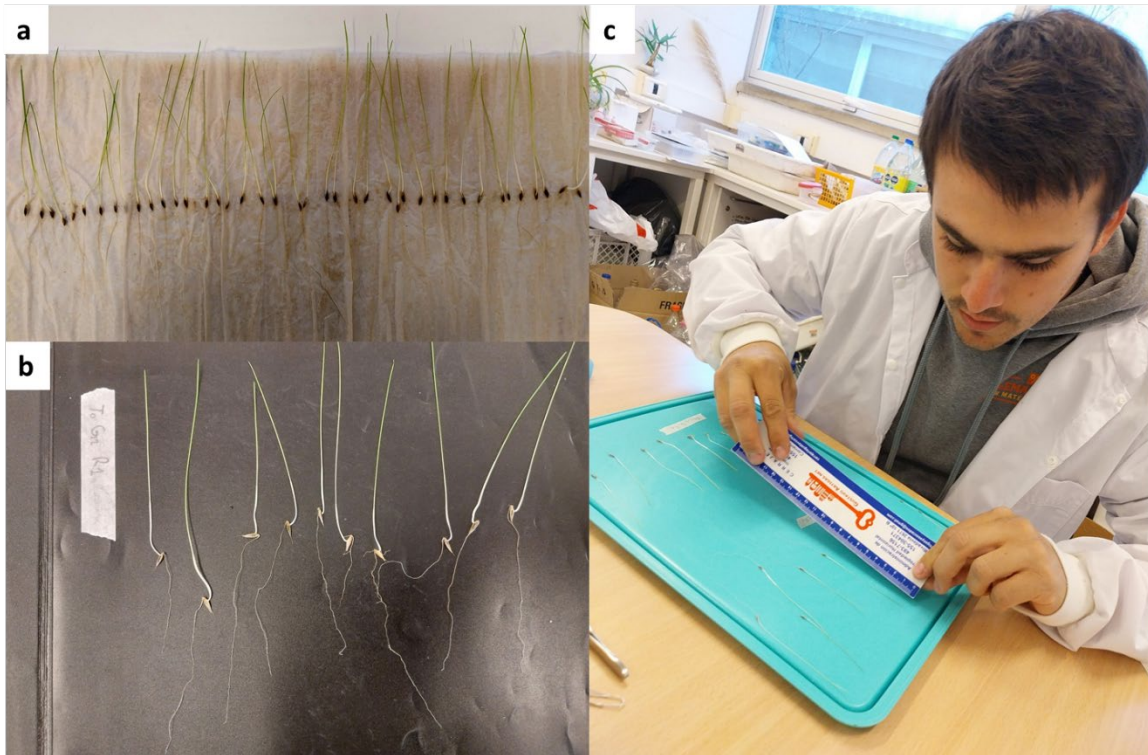


Figura 5. Detalle de plántulas de festuca alta al final del experimento para realizar la medición de longitud de radícula y coleóptilo (a). Plántulas separadas al azar de cada rollo para realizar las mediciones (b). Momento de la medición del coleóptilo y radícula de cada plántula de festuca alta (c).

2.4. Análisis estadísticos

Los valores de las variables medidas en los diferentes tratamientos fueron sometidos al análisis de varianza y ante diferencias significativas entre tratamientos ($\alpha=0,05$) las medias se compararon mediante el test de mínima diferencia significativa (MDS, $p<0,05$). Todos los análisis se realizaron empleando el software estadístico R (R Development Core Team, 2020).

3. RESULTADOS

3.1. Peso de mil semillas

Bajo nuestras condiciones experimentales, se registró interacción significativa entre el tratamiento con fungicida aplicado y el genotipo de festuca alta ($F_{12} = 6,497$; $p < 0,0001$) sobre el peso de mil semillas. Al comparar el peso de mil semillas de los tres genotipos dentro de cada tratamiento con fungicida (Tabla 3), se observó que el genotipo 1 fue superior en los tratamientos T1 (control) y T5 (una sola aplicación de Dosis 2); y que el genotipo 2 fue superior en el tratamiento T6 (dos aplicaciones de D2). En el resto de los tratamientos no hubo diferencias significativas entre genotipos (Tabla 1). Por otro lado, al analizar los promedios de esta variable para los tratamientos con fungicida, se observó que, los tratamientos T1, T5 y T7 fueron los tratamientos que presentaron semillas más pesadas y que no difirieron entre sí (Tabla 1). De la misma manera, las semillas del genotipo 1, presentaron mayor peso de mil, aunque no difirió significativamente del genotipo 2 (Tabla 1).

Tabla 1. Valores promedio ($\pm$ error estándar del modelo = 0,103) de peso de mil semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2. Letras minúsculas iguales, por fila, indican diferencias no significativas entre genotipos dentro de un determinado tratamiento con fungicida, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$). Letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$) entre los tratamientos con fungicida y entre genotipos, respectivamente.

Tratamiento	Peso de mil semillas (g)			
	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3	Promedio
T1	2,18 a	1,46 b	1,60 b	1,75 A
T2	1,65 a	1,58 a	1,52 a	1,58 B
T3	1,42 a	1,60 a	1,59 a	1,54 B
T4	1,56 a	1,39 a	1,66 a	1,53 B
T5	2,12 a	1,65 b	1,28 b	1,68 AB
T6	1,37 b	1,92 a	1,44 b	1,57 B
T7	1,59 a	1,73 a	1,73 a	1,68 AB
Promedio	1,70 A	1,62 AB	1,55 B	

3.2. Energía germinativa

Bajo nuestras condiciones experimentales, no se halló interacción significativa entre el tratamiento con fungicida aplicado y el genotipo de festuca alta ($F_{12} = 1,058$; $p = 0,411$) sobre el porcentaje de energía germinativa. Tampoco se registró efecto simple del genotipo ($F_2 = 0,657$; $p = 0,522$) ni del tratamiento con fungicida ($F_6 = 0,454$; $p = 0,969$). A los 7 días de incubación, independientemente del genotipo de festuca alta y del tratamiento con fungicida aplicado, germinaron $\approx 88\%$ de las semillas. En la Tabla 2 se presentan los valores promedios y errores estándar de energía germinativa de las semillas para los distintos tratamientos.

Tabla 2. Valores promedio ($\pm$ error estándar) de la energía germinativa de semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2.

Tratamiento	Energía germinativa (%)		
	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3
T1	93,5 $\pm$ 0,50	78,5 $\pm$ 8,02	89,5 $\pm$ 4,19
T2	79,5 $\pm$ 13,3	86,5 $\pm$ 5,06	87,5 $\pm$ 1,71
T3	84,5 $\pm$ 6,30	95,5 $\pm$ 3,20	87,0 $\pm$ 4,12
T4	86,5 $\pm$ 7,54	84,0 $\pm$ 5,40	91,0 $\pm$ 4,99
T5	93,0 $\pm$ 1,73	91,5 $\pm$ 2,06	95,5 $\pm$ 1,50
T6	79,0 $\pm$ 7,72	87,5 $\pm$ 2,50	86,0 $\pm$ 3,75
T7	81,5 $\pm$ 7,35	89,5 $\pm$ 8,01	89,5 $\pm$ 4,20

3.3. Poder germinativo

Bajo nuestras condiciones experimentales, al igual que la variable anterior, no se halló interacción significativa entre el tratamiento con fungicida aplicado y el genotipo de festuca alta ($F_{12} = 1,249$; $p = 0,274$) sobre el porcentaje de poder germinativo. Tampoco se registró efecto simple del genotipo de festuca alta ($F_2 = 0,452$; $p = 0,639$) ni del tratamiento con fungicida ($F_6 = 0,944$; $p = 0,471$). A los 14 días de incubación, independientemente del genotipo de festuca alta y del tratamiento con fungicida aplicado, $\approx 83\%$ de las semillas dieron origen a plántulas normales. En la Tabla 3 se presentan los valores promedios y errores estándar del poder germinativo de las semillas para los distintos tratamientos.

Tabla 3. Valores promedio ($\pm$ error estándar) del poder germinativo de semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2.

Tratamiento	Poder germinativo (%)		
	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3
T1	93,0 $\pm$ 3,70	72,0 $\pm$ 8,30	89,5 $\pm$ 2,80
T2	76,5 $\pm$ 11,7	82,5 $\pm$ 7,95	80,5 $\pm$ 4,80
T3	82,0 $\pm$ 9,70	91,5 $\pm$ 2,85	84,5 $\pm$ 4,78
T4	85,0 $\pm$ 7,00	77,5 $\pm$ 5,60	84,0 $\pm$ 3,50
T5	85,5 $\pm$ 1,90	85,5 $\pm$ 4,20	88,0 $\pm$ 3,91
T6	69,5 $\pm$ 11,9	85,5 $\pm$ 3,70	77,5 $\pm$ 5,70
T7	77,5 $\pm$ 6,25	88,0 $\pm$ 2,95	85,5 $\pm$ 3,45

3.4. Longitud de radícula

Bajo nuestras condiciones experimentales, se registró interacción significativa entre el tratamiento con fungicida aplicado y el genotipo de festuca alta ($F_{12} = 3,621$; $p < 0,0001$) sobre la longitud de radícula de las plántulas de festuca alta. En este sentido, al comparar los genotipos de festuca alta dentro de cada tratamiento con fungicida (Tabla 4), se observó que el genotipo 1 fue superior en los tratamientos T1 (control) y T4 (tres aplicaciones de D1); y que el genotipo 2 fue superior en el tratamiento T6 (dos aplicaciones de D2). En el resto de los tratamientos no hubo diferencias significativas entre genotipos (Tabla 4). Por otro lado, al analizar los promedios de esta variable para los tratamientos con fungicida, se observó que, en el tratamiento control (T1) las plántulas presentaban mayor longitud de radícula que el resto de los tratamientos (Tabla 4). De la misma manera, las plántulas originadas de semillas del genotipo 1, presentaron mayor longitud de radícula, aunque no difirió significativamente del genotipo 2 (Tabla 4).

Tabla 4. Valores promedio ($\pm$ error estándar del modelo = 0,499) de la longitud de radícula de plántulas originadas de semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2. Letras minúsculas iguales, por fila, indican diferencias no significativas entre genotipos dentro de un determinado tratamiento con fungicida, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$). Letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$) entre los tratamientos con fungicida y entre genotipos, respectivamente.

Tratamiento	Longitud de radícula (cm)			
	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3	Promedio
T1	10,36 a	7,03 b	7,58 b	8,32 A
T2	6,79 a	6,42 a	6,78 a	6,66 B
T3	7,42 a	7,54 a	7,34 a	7,43 B
T4	8,80 a	6,76 b	6,74 b	7,42 B
T5	7,76 a	6,80 a	6,85 a	7,13 B
T6	6,26 b	8,01 a	6,79 b	7,02 B
T7	6,30 a	7,67 a	7,06 a	7,01 B
Promedio	7,67 A	7,17 AB	7,01 B	

3.5. Longitud de coleóptilo

Bajo nuestras condiciones experimentales, se registró interacción significativa entre el tratamiento con fungicida aplicado y el genotipo de festuca alta ($F_{12} = 4,008$; $p < 0,0001$) sobre la longitud de coleóptilo de las plántulas. En este sentido, al comparar los genotipos de festuca alta dentro de cada tratamiento con fungicida (Tabla 3), se observó que la longitud del coleóptilo del genotipo 2 fue inferior en el tratamiento T1 (control) respecto al resto de los genotipos, que el genotipo 1 fue superior en los tratamientos T4 (tres aplicaciones de D1) y T5 (una sola aplicación de Dosis 2); y que el genotipo 1 fue inferior en el tratamiento T6 (dos aplicaciones de D2). En el resto de los tratamientos no hubo diferencias significativas entre genotipos (Tabla 5). Por otro lado, al analizar los promedios de esta variable entre los tratamientos con fungicida, se observó que, en el tratamiento control (T1), las plántulas presentaron mayor longitud de coleóptilo que el resto de los tratamientos (Tabla 5).

Tabla 5. Valores promedio ($\pm$ error estándar del modelo = 0,444) de la longitud de coleóptilo de plántulas originadas de semillas provenientes de plantas de tres genotipos de festuca alta tratadas con fungicida. T1: testigo; T2: una sola aplicación de Dosis 1 (D1); T3: dos aplicaciones de D1; T4: tres aplicaciones de D1; T5: una sola aplicación de Dosis 2 (D2); T6: dos aplicaciones de D2; T7: tres aplicaciones de D2. Letras minúsculas iguales, por fila, indican diferencias no significativas entre genotipos dentro de un determinado tratamiento con fungicida, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$). Letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$) entre los tratamientos con fungicida y entre genotipos, respectivamente.

Tratamiento	Longitud de coleóptilo (cm)			
	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3	Promedio
T1	7,88 a	5,49 b	8,09 a	7,15 A
T2	5,75 a	5,55 a	5,69 a	5,66 C
T3	5,74 a	6,81 a	6,42 a	6,32 BC
T4	7,62 a	5,72 b	5,64 b	6,33 BC
T5	7,19 a	5,85 b	6,22 b	6,42 B
T6	4,84 b	6,47 a	6,29 a	5,86 BC
T7	6,00 a	6,35 a	6,28 a	6,21 BC
Promedio	6,43 A	6,37 A	6,04 A	

4. DISCUSIÓN

Como fue mencionado anteriormente (**ver Introducción**), los resultados de este Experimento son complementarios a los presentados por el estudiante Carlos Girado Smart en el marco de su Tesis Final de Graduación. En este sentido, Girado Smart (2024) evaluó la eficacia sobre la eliminación del hongo endófito *Epichloë coenophiala* en tres genotipos de plantas de festuca alta infectadas de distintos tratamientos con un fungicida, cuyos grupos químicos eran triazol (1,6%), metoxiacrilato (0,96%), imidazol (45%) más un coadyuvante (20%). Según este autor, los tratamientos con fungicida evaluados fueron eficaces en la eliminación del endófito y, la eficacia de los tratamientos dependió de la dosis y del número de aplicaciones. Así, los porcentajes de eliminación del endófito fueron más altos cuando se aplicó una dosis mayor y se realizaron más de una aplicación.

Bajo nuestras condiciones experimentales, al analizar la calidad de las semillas cosechadas, se observó que los tratamientos con fungicida, influyeron sobre el peso de mil semillas (Tabla 1) pero no afectaron la energía germinativa (Tabla 2) ni poder germinativo de las mismas (Tabla 3). Estos resultados coinciden con los hallados por Petigrosso *et al.* (2019b). Estos autores, al comparar la eficacia y fitotoxicidad de dos fungicidas sistémicos [Amistar® (Azoxistrobina) y Almagor® (Tebuconazole + Azoxistrobina + Procloraz)] aplicados en plantas de festuca alta, hallaron que el poder germinativo de las semillas obtenidas de plantas tratadas con ambos fungicidas, no disminuyó como resultados de los tratamientos evaluados.

Por otro lado, si bien los tratamientos con fungicida fueron aplicados en plantas en estado vegetativo y no directamente en semillas, la ausencia de fitotoxicidad bajo nuestras condiciones experimentales, no coincide con lo reportado por otros estudios, en los que se ha observado una reducción del poder germinativo de las semillas como resultados de la aplicación de fungicidas para la eliminación del endófito (Siegel *et al.*, 1984; Williams *et al.*, 1984; Costa y De Battista, 1988; Ramírez *et al.*, 1988; Maddaloni *et al.*, 1989).

Al analizar la longitud de radícula (Tabla 4) y de coleóptilo (Tabla 5) de las plántulas, se registró un efecto detrimental de los tratamientos con fungicida, que dependió del genotipo. Sin embargo, la disminución observada en dichas variables, no fue tan drástica. En otras palabras, los mayores valores de longitud de radícula y de coleóptilo se registraron en el tratamiento control (T1) y luego, con la aplicación de fungicida (de T2 a T7), los valores tendieron a ser menores, pero dicha disminución no fue superior al 20%.

Comentarios finales

El desarrollo de esta Tesis apuntó a proveer conocimientos sobre el posible efecto fitotóxico de distintos tratamientos con fungicida sobre la calidad de semillas provenientes de plantas de distintos genotipos de festuca alta, tratadas experimentalmente para eliminar el hongo endófito *Epichloë coenophiala*, en variables asociadas a la germinación y emergencia. La información generada es de gran importancia agronómica, debido a que en los últimos años se ha observado un incremento en el número de casos de intoxicación por consumo de festuca infectada en la Pampa Deprimida argentina. Es por esto que resulta necesario conocer e implementar estrategias de manejo de pasturas infectadas, con el fin de controlar y reducir la infección con el paso del tiempo (Petigrosso *et al.*, 2021).

Los resultados obtenidos en el marco de esta Tesis son alentadores en la temática en cuestión, dado que, por un lado, los tratamientos con fungicidas evaluados, serían eficaces para frenar la transmisión del endófito desde las plantas madres a las semillas (Girado Smart, 2024), y por otro, no afectarían la calidad de las semillas, dado que la germinación en promedio fue alta (superior al 80%). De todas maneras, los resultados registrados deberán corroborarse en un mayor número de genotipos y bajo condiciones de campo. Esto se debe a que, las respuestas de los endófitos a las condiciones ambientales suelen ser específicas del genotipo de la planta (Belesky *et al.*, 1989; Belesky y Fedders, 1996); y por otro, existen antecedentes que los resultados obtenidos en condiciones controladas no son extrapolables a condiciones de campo. Por ejemplo, Williams *et al.* (1984) detectaron reducciones del poder germinativo (del orden del 30%) cuando evaluaron la efectividad de un fungicida (triadimenol, dosis de 4,8 g. p.a/kg) en semillas de festuca alta ubicadas en cajas de Petri. Sin embargo, estos autores no observaron estos resultados en siembras a campo. Es probable que, en condiciones de campo, la dilución y arrastre del fungicida por el agua de riego o por la lluvia, junto a características del suelo (tales como: pH, contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico) sean responsables de estas respuestas diferenciales (Costa y De Battista, 1991).

5. CONCLUSIONES

En función de los resultados obtenidos para nuestras condiciones experimentales, y en base a la hipótesis planteada, podemos concluir que:

- Se rechaza la Hipótesis, *“La calidad de semillas de festuca alta provenientes de plantas tratadas con fungicida para eliminar el hongo endófito, depende de la dosis de fungicida y del número de aplicaciones, independientemente del genotipo de la planta.*

Esto se fundamenta en que, si bien para el caso de las variables peso de mil semillas, longitud de radícula y de coleóptilo, se registró interacción entre en genotipo y el tratamiento con fungicida (combinación de dosis y número de aplicaciones), para las variables energía y poder germinativo, no fue así. En este último caso, no se registró efecto de ningún factor experimental.

6. BIBLIOGRAFIA

- 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.
- Belanger, F.C. 1996. A rapid seedling screening method for determination of fungal endophyte viability. Crop Sci. 36: 460-462.
- Belesky, D.P.; Stringer, W.C.; Hill, S. 1989. Influence of endophyte and water regimen upon tall fescue accessions. I. Growth characteristics. Ann. Bot. 63:495- 503.
- Belesky, D. P.; Fedders, J.M. 1996. Does endophyte influence regrowth of tall fescue? Ann. Bot. 78: 499- 505.
- Borrajo, C. 2006. Importancia de la calidad de semillas. Reconquista, Argentina. Curso Internacional en Ganadería Bovina Subtropical. Sitio Argentino de Producción Animal. https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_cultivadas_megatermicas/78-borrajo.pdf
- Castañó, J. 2005. Producción de semilla de gramíneas forrajeras en el sudeste bonaerense. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. Materiales Didácticos N° 10. 77 p.
- Clay, K.; Schardl, C. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. Am. Nat. 160: 99-127.
- Costa, M.C.; De Battista, J.P. 1988. Tratamiento de semillas para control de *Acremonium coenophialum* en *Festuca arundinacea*. Rev. Arg. Prod. Anim. 8:289-294.
- Costa, M.C.; De Battista, J.P. 1991. Fitotoxicidad y eficiencia de fungicidas utilizados para el control del hongo endofítico en semilla de festuca. INTA EEA C. del Uruguay. Producción Animal. Inf. Técnica N°3. pp. 20-27.
- Dernoeden, P.H.; Krusberg, L.R.; Sardanelli, S. 1990. Fungicide effects on *Acremonium* endophyte, plant parasitic nematodes, and thatch in Kentucky bluegrass and perennial ryegrass. Plant Dis. 74:879-881.
- Elizalde, J.; Riffel, S. 2016. Alertan sobre *festucosis* en la Cuenca del Salado [en línea] <<http://www.valorcarne.com.ar/alertan-sobre-festucosis-en-la-cuenca-del-salado/>>. [consulta: 15 de junio de 2018].

- García, J.A.; Cantón, J.C.; García, B.L.; Micheloud, J.F.; Campero, C.M.; Spath, E.J.A.; Odrizola, E.R. 2017. Retrospective analysis of cattle poisoning in Argentina (2000-2013). *Rev. Pesq. Vet. Bras.* 37:210-214.
- 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.
- Gibson, D.J.; Newman, J.A. 2001. Biological Flora of the British Isles: *Festuca arundinacea* Schreb. (*F. elatior* subsp. *arundinacea* (Schreb.) Hackel). *J. Ecol.* 89: 304-324.
- Girado Smart, C. 2024. Eliminación del hongo endófito *Epichloë coenophiala* en plantas de festuca alta mediante el uso de un fungicida. Tesis de grado. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. 31p.
- Hill, N.S.; Brown, E. 2000. Endophyte viability in seedling tall fescue treated with fungicides. *Crop Sci.* 40(5): 1490-1491.
- Hill, N. S.; Roach, P. K. 2009. Endophyte survival during seed storage: endophyte–host interactions and heritability. *Crop Sci.* 49(4): 1425-1430.
- Hoveland, C.S. 1993. Economic importance of *Acremonium* endophytes. *Agr. Ecosyst. Environ.* 44: 3-12.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2020. International Rules for Seed Testing. ISTA. Bassersdorf, 280 p.
- Lacoste, L.; Petigrosso, L.; Jaimes F.; Borrajo, C.; Castaño, J.; Colabelli, Ml. 2020. ¿Podemos a través de imágenes satelitales detectar pasturas de festuca alta infectadas con endófito? Una propuesta para mapear la vulnerabilidad a la *festucosis* en el sudeste bonaerense. *Visión Rural*. Año XXVII N° 135. E.E.A. Balcarce, INTA. pp. 8-14.
- Latch, G.C.M.; Christensen, M.J. 1988. Effects of myclobutanil and propiconazole on endophyte and rust fungi in ryegrass. *Proc. 41 st N.Z. Weed and Pest Control Conference*. pp. 126-128.
- 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. *Aust. J. Agric. Res.* 58: 203-213.
- Leuchtman, 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.

- Maddaloni, J.; Ferrari, L. 2005. *Festuca alta*. En: Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina (Forage species and pastures of the humid temperate ecosystem of Argentina), Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina. pp. 165 –182.
- Maddaloni, J.; Sala, M.; Carletti, S. 1989. Viabilidad del hongo endófito (*Acremonium conophialum*, Morgan-Jones y Gams) en semilla de festuca (*Festuca arundinacea*, Schreb.) INTA EEA Pergamino. Buenos Aires, Argentina. Informe Técnico N° 224. 12 p.
- Maguire, J. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2: 176-177.
- 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.
- Manzur, M.E.; Garelo, F.A.; Omacini, M.; Schnyder, H.; Sutka, M.R.; García-Parisi, P.A. 2022. Endophytic fungi and drought tolerance: ecophysiological adjustment in shoot and root of an annual mesophytic host grass. *Funct. Plant Biol.* 49(3): 272-282.
- Milne, G.D. 2009. Management in New Zealand, Australia and South America. In: Fribourg, H.A.; Hannaway, D.B.; West, C.P. (eds.). Tall fescue for the Twenty-first Century. Agron. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. Monogr. 53. pp. 101-118.
- Muslera Pardo, E.; Ratera García, C. 1991. Las gramíneas. En: Muslera Pardo, E.; Ratera García, C. (eds.). Praderas y forrajes: producción y aprovechamiento. Mundi-Prensa, Madrid. España pp. 29-114.
- Omacini, M., Gundel, P.; Semmartin M. G. 2013. Huellas de la simbiosis pasto-endófito en el agroecosistema. En: García de Salamone, I.E.; Vázquez, S.; Penna, C.; Cassan, F. (eds.). Rizósfera, biodiversidad y agricultura sustentable. División de Microbiología Agrícola y Ambiental, Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina. 73 p.
- Penrose, C.D.; Bartholomew, H.M.; Sulc, R.M.; Vollborn, E.M. 1997. Establishment vigor of endophyte free and endophyte infected tall fescue cultivars in Southern Ohio. In: Proceedings XVIII International Grassland Congress. Session 22. Saskatoon, Canada, June 1997. N° 1294. pp. 131–132.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Hemisferio Sur, Buenos Aires. Argentina. pp. 150-185.
- Petigrosso, L.R.; Fernández, O.N.; Colabelli, M.N. 2012. Inhibición del endófito en macollos

de festuca infectada mediante fungicidas. 7º Encuentro de Biólogos en Red. FCEyN-UNMDP. Mar del Plata. pp. 68.

- 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.
- Petigrosso, L.R.; Vignolio, O.R.; Damiano, I.; Echeverria, M.; Colabelli, M.N.; Gundel, P.E. 2019b. Eradication of the fungus *Epichloë coenophiala* from *Schedonorus arundinaceus* (tall fescue) seeds by interrupting the vertical transmission process. *Ecología Austral.* 29: 055-062.
- Petigrosso, L.R. Gundel, P.; Colabelli, M.N.; Fernández, O.N.; Assuero, S.G. 2019a. Hongos endófitos en festuca alta: del problema a las soluciones. *RIA* 45(2): 292-303.
- Petigrosso, L. R.; García, M.; Vignolio, O.R.; Salvat, A.; Cristos, D.; Castaño, J. 2020. Plant interaction and ergovaline concentration in mixture of *Lotus tenuis* and infected *Schedonorus arundinaceus*. *Ecología Austral.* 30: 165-174.
- Petigrosso, L.R.; Vignolio, O.R.; Assuero, S.G. 2021. Manejo de festuca infectada con endófito. 3p. [en línea] <http://fca.mdp.edu.ar/sitio/ide/>
- Porter, J. K. 1995. Analysis of endophyte toxins: fescue and other grasses toxic to livestock. *J. Anim. Sci.* 73(3): 871-880.
- Principi, M.A.; Mattana, R.R.; Cardinali, O.P.; Colodro, J.L. 2011. Diseño y prestaciones de un prototipo de siembra directa para interseembra de pasturas. *RIA* 37: 54-61.
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [en línea]. <URL <https://www.R-project.org/>> [consulta: 23 agosto 2020].
- Roitman, G.; Preliasco, P. 2018. Guía de reconocimiento de herbáceas de la Pampa Deprimida. Buenas prácticas para una ganadería sustentable de pastizal. Características para su manejo. Disponible en: https://www.avesargentinas.org.ar/sites/default/files/kit_pampas_guia_de_reconocimiento_de_herbaceas_de_la_pampa_deprimida_segunda_edicion.pdf. [consulta: 10 de marzo de 2021].

- Roberts, C.A.; West, C.P.; Spiers, D.E. 2005. *Neotyphodium* in cool-season Grasses. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. pp. 271-290.
- Scheneiter, J.O.; Kaufmann, I.I. 2016. La zona óptima de productividad forrajera de festuca alta en la región pampeana. RTA. 10 (31): 38-42.
- Siegel, M.R.; Johnson, M.C.; Varney, D.R.; Nesmith, W.C.; Buckner, R.C.; Bush, L.P.; Burrus, P.B.; Jones, T.A.; Boiling, J.A. 1984. A fungal endophyte of tall fescue: incidence and dissemination. Phytopathol. 74: 932-937.
- Strickland, J.R.; Looper, M.L.; Matthews, J.C.; Rosenkrans, C.F.; Flythe, M.D. Jr.; Brown, K.R. 2011. St. Anthony's fire in livestock: Causes, mechanisms, and potential solutions. J. Anim. Sci. 89: 1603-1626. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3478>
- Terenti, O. 2004. Calidad de semilla, ¿qué implica y cómo evaluarla? Sitio Argentino de Producción Animal. https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/27-calidad_semillas.pdf
- Thompson, F. N.; Stuedemann, J. A.; Hill, N. S. 2001. Anti-quality factors associated with alkaloids in eastern temperate pasture. J. Range Manage. Arch. 54(4): 474-489.
- Vila-Aiub, M. M.; Martinez-Ghersa, M. A.; Ghersa, C. M. 2003. Evolution of herbicide resistance in weeds: vertically transmitted fungal endophytes as genetic entities. Evol. Ecol. 17: 441-456.
- White, J.F. Jr.; Torres, M. 2009. Defensive mutualism in microbial symbiosis. CRC Press. Boca Raton, FL. pp. 333-334.
- Williams, M.J.; Backman, P.A.; Crawford, M.A.; Schmidt, S.P.; King, C.C. Jr., 1984. Chemical control of the tall fescue endophyte and its relationship to cattle performance. N. Z. J. Exp. Agr. 12: 165-171.