



Universidad Católica Argentina

Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

Trabajo final de graduación para optar el grado de Ingeniero Agrónomo

***Efectos maternos en respuesta a la sumersión parcial
sobre la germinación de semillas de festuca alta, con y
sin hongo endófito***

Estudiante: **Medina, Joaquín**

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

INDICE GENERAL

Sección	Pág.
INDICE DE FIGURAS	4
INDICE DE TABLAS	6
RESUMEN	7
AGRADECIMIENTOS	8
1. INTRODUCCION	9
1.1. Definición del problema	9
1.2. Hipótesis (H) y Predicción (P)	13
1.3. Objetivo general	13
2. MATERIALES Y METODOS	15
2.1. Obtención del material experimental y determinaciones previas.....	15
2.2. Diseño y conducción del experimento	18
2.3. Determinaciones	18
2.4. Análisis estadísticos	21
3. RESULTADOS	22
3.1. Análisis estadístico	22
3.2. Poder germinativo (%PG)	23
3.3. Longitud de radícula (LR)	23
3.4. Longitud de coleóptilo (LC)	24
3.5. Peso fresco (g/10 plántulas)	24
4. DISCUSION	26
5. CONCLUSIÓN	28
6. BIBLIOGRAFÍA	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
<p>Figura 1. Vista de las macetas ubicadas en bandejas para asegurar un contenido de agua cercano a CC mediante una lámina de agua de 20 mm (A). Macetas bajo tratamiento con sumersión parcial al estado de 5 hojas expandidas y a capacidad de campo (B). Macetas con plantas de festuca alta en estado vegetativo (C y D) y reproductivo (E). Estado de las panojas al momento de la cosecha de semillas (F). Extraídas de Petigrosso (2024).</p>	16
<p>Figura 2. Esquema experimental y orden cronológico de los principales eventos desde la siembra hasta la cosecha de las plantas de cuatro materiales de festuca alta: una población naturalizada con (PE+) y sin (PE-) endófito silvestre y el cv. Taita con (TE+) y sin (TE-) endófito seguro AR584; sometidos a dos tratamientos hídricos: capacidad de campo (CC) y sumersión parcial (SP) en dos etapas de desarrollo (5 hojas expandidas: Z15; inicio de elongación de entrenudos: Z30-Z32).....</p>	17
<p>Figura 3. Siembra de semillas de festuca alta en rollos de papel embebidos con agua destilada (a, b). Cámara de germinación donde se ubicaron los rollos sembrados (c).....</p>	18
<p>Figura 4. Determinación de energía germinativa a los 7 días de sembrados los rollos (a). Detalle de plántulas de festuca alta al final del experimento para realizar la medición del poder germinativo y longitud de radícula y coleóptilo a los 14 días (b). Clasificación de semillas y plántulas según normas ISTA (2020) (c). Momento de la medición del coleóptilo y radícula de cada plántula de festuca alta (d). Determinación del peso fresco de las plántulas seleccionadas en balanza analítica (e).....</p>	20
<p>Figura 5. Longitud de radícula (cm, promedio \pm EE) de plántulas de cuatro materiales de festuca alta (PE- y PE+: población naturalizada libre e infectada con endófito silvestre, respectivamente, TE- y TE+: cv. Taita libre e infectado con el endófito seguro AR584, respectivamente), sometidas a dos condiciones de sumersión al inicio de elongación de entrenudos: sumersión parcial y capacidad de campo. Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$).....</p>	23
<p>Figura 6. Longitud de coleóptilo (cm, promedio \pm EE) de plántulas de cuatro materiales de festuca alta (PE- y PE+: población naturalizada libre e infectada con endófito silvestre, respectivamente, TE- y TE+: cv. Taita libre e infectado con el endófito seguro AR584, respectivamente), sometidas a dos condiciones de sumersión al inicio de elongación de entrenudos:</p>	24

sumersión parcial y capacidad de campo. Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$).....

Figura 7. Peso fresco (g/10 plántulas, promedio \pm EE) de plántulas de cuatro materiales de festuca alta (PE- y PE+: población naturalizada libre e infectada con endófito silvestre, respectivamente, TE- y TE+: cv. Taita libre e infectado con el endófito seguro AR584, respectivamente). Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$).....

25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Pág.
Tabla 1. ANOVA de las variables respuesta determinadas en el Experimento. EG: energía germinativa. PG: poder germinativo. LR: longitud de radícula. LC: longitud de coleóptilo. PF: peso fresco.	22

RESUMEN

El objetivo de la presente Tesis fue evaluar los efectos maternos en respuesta a la sumersión parcial sobre la calidad de semillas de festuca alta originadas por plantas madres libres e infectadas con hongo endófito *Epichloë coenophiala* que fueron sometidas a sumersión parcial en dos etapas de desarrollo ontogénico. Este experimento fue complementario al desarrollado por Petigrosso *et al.* (2024). En el mismo, se cultivaron plantas de festuca alta de una población naturalizada libre (PE-) e infectada (PE+) con endófito silvestre y del cv. Taita libre (TE-) e infectado (TE+) con el endófito seguro AR584. En los estados de 5 hojas expandidas e inicio de la elongación de entrenudos, las plantas fueron sometidas a dos tratamientos hídricos: capacidad de campo y sumersión parcial por un período de 14 días. Posteriormente, todas las macetas se mantuvieron a capacidad de campo hasta completar el ciclo reproductivo, momento en el que se realizó la cosecha de las plantas. Las panojas se cosecharon cuando el raquis presentaba un color amarillento y las semillas se trillaron de sus respectivas panojas y fueron almacenadas en heladera a 5°C. Luego, se seleccionaron al azar tres bloques (repeticiones) del experimento y se trabajó con las semillas de los mismos. Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con tres 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. En total se sembraron 48 rollos = 16 macetas/bloque x 3 bloques. Se determinaron las siguientes variables: energía germinativa (EG) y poder germinativo (PG) de las semillas, longitud de radícula (LR) y coleóptilo (LC) y peso fresco (PF) de plántulas. Bajo nuestras condiciones experimentales, no se registró interacción significativa entre los factores experimentales ($p \geq 0,05$). Es decir, la exposición de la planta madre al exceso de agua en las dos etapas de desarrollo ontogénico no resultó en un mayor desempeño de la progenie medido a través de la emergencia y poder germinativo de las semillas como en la longitud de la radícula y del coleóptilo como en el peso fresco de las plántulas.

Palabras clave: *Festuca arundinacea*, *Epichloë coenophiala*, sumersión, efecto materno, simbiosis, efecto memoria.

AGRADECIMIENTOS

A mi director, Dr. Lucas Petigrosso, por su dedicación, gran 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 mis hermanos, por acompañarme en el día a día de mis años como estudiante.

A mis amigos, por su gran apoyo incondicional durante el transcurso de toda la carrera universitaria y ser indispensables para cada logro obtenido.

A la UCA, por brindarme las herramientas necesarias para el desarrollo de mi carrera durante mis años de cursada.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición del problema

Festuca alta [*Festuca arundinacea* Schreb., sinónimos: *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort, *Lolium arundinaceum* (Schreb.) S.J. Darbyshire, *Schedonorus phoenix* (Scop.) Holub] es una gramínea C₃ perenne cespitosa de crecimiento otoño-inverno-primaveral, cultivada para uso forrajero en ambientes templado-húmedos y sub-húmedos de todo el mundo (Mazzanti *et al.*, 1992; Gibson y Newman, 2001; Young *et al.*, 2013). En la actualidad se encuentra ampliamente difundida ya que ha sido comercialmente introducida en América del Norte y del Sur, y en Oceanía (Hannaway *et al.*, 1999; Fribourg y Hannaway, 2007). En Argentina, es uno de los componentes más importantes de los pastizales (Roitman y Preliasco, 2018) y una de las gramíneas más utilizadas en la siembra de pasturas, abarcando más del 30% del total del área implantada (3.500.000 ha). Similarmente ocupa más del 70% de las 500.000 ha dedicadas a la ganadería en Uruguay (Milne, 2009). No sólo crece espontáneamente en las comunidades A (pradera de mesófitas, loma) y B (pradera húmeda de mesófitas, media loma) de la Región Pampeana (Colabelli *et al.*, 2006; Roitman y Preliasco, 2018), sino que se está expandiendo aceleradamente y es capaz de desplazar a la mayoría de las especies nativas, debido a su mayor habilidad competitiva. Además, actualmente se realizan intersiembras de festuca alta en pasturas degradadas (Principi *et al.*, 2011).

Entre las principales cualidades agronómicas de festuca alta se destacan su alta productividad, especialmente en invierno, alta palatabilidad en comparación con la mayoría de los pastos nativos, perennidad y plasticidad adaptativa frente a un amplio rango de condiciones climáticas y edáficas (Mazzanti *et al.*, 1992). Sin embargo, festuca alta puede presentar un factor anti-calidad que afecta negativamente la productividad de los sistemas ganaderos. Esta condición se debe a que generalmente establece una asociación simbiótica con hongos endófitos del género *Epichloë* (Bacon *et al.*, 1977; Odriozola *et al.*, 2002; Leuchtman *et al.*, 2014).

El hongo *Epichloë coenophiala* (Morgan-Jones & W. Gams) C.W. Bacon & Schardl, comb. nov. = *Acremonium coenophialum* Morgan-Jones & W. Gams = *Neotyphodium coenophialum* (Morgan-Jones & W. Gams) Glenn, C.W. Bacon & Hanlin (Leuchtman *et al.*, 2014) es específico de festuca alta. Desarrolla su ciclo de vida dentro de la planta hospedante y no produce síntomas de enfermedad ni forma estructuras reproductivas externas (Clay y Schardl, 2002; Roberts *et al.*, 2005). Es un hongo que se transmite

únicamente a través de la semilla de su hospedante (*i.e.*, transmisión vertical) y no se dispersa por esporas ni por el polen de las plantas infectadas (White *et al.*, 1993; Clay y Schardl, 2002). El hongo endófito se localiza intercelularmente y crece en el apoplasto y se nutre de los azúcares y compuestos nitrogenados que allí se encuentran (Bacon, 1993).

Desde el punto de vista agronómico, la asociación entre festuca alta y el hongo endófito tiene características deseables e indeseables (Petigrosso *et al.*, 2019). Por un lado, las plantas colonizadas con endófitos suelen mostrar mayor crecimiento y tolerancia a estreses bióticos y abióticos (Malinowski y Belesky, 2000; Kuldau y Bacon, 2008; Decunta *et al.*, 2021). Por otro lado, los endófitos silvestres asociados a festuca alta pueden producir ergocalcoides que son tóxicos para los mamíferos (Bacon *et al.*, 1977; Evans *et al.*, 2012; Guerre, 2015; Bastias *et al.*, 2017).

En la ganadería bovina se han identificado tres tipos de síndromes relacionados con el consumo de forraje o semillas de festuca alta con hongo endófito: “*síndrome gangrenoso o pie de festuca*” en invierno (Jacobson *et al.*, 1969; Yates *et al.*, 1979; Schmidt y Osborn, 1993; Haschek y Voss, 2013), “*necrosis grasa del bovino*” (Stuedemann y Hoveland, 1988; Haschek y Voss, 2013) y “*asoleamiento o síndrome distérmico*” en primavera-verano, siendo este último el que más pérdidas económicas ocasiona (Schmidt y Osborn, 1993; De Battista *et al.*, 1995; Strickland *et al.*, 2011; Haschek y Voss, 2013). Durante el síndrome de primavera-verano se observa en los animales una cobertura de pelo áspero que no se desprende desde el invierno, por lo cual el sol decolora el pelo durante el verano. En consecuencia, la temperatura corporal se eleva, se produce salivación excesiva y el ganado pasa más tiempo en la sombra o dentro del agua durante el día y menos tiempo consumiendo forraje (Stuedemann y Hoveland, 1988; Tor-Agbidye *et al.*, 2001). Otros signos que pueden observarse incluyen nerviosismo, frecuencia respiratoria aumentada, retraso en la pubertad y disminución en las tasas de concepción, derivados de efectos adversos en los machos, así como también en las hembras (Strickland *et al.*, 2011).

Las estrategias para reducir dicha toxicidad en el ganado en consumo, incluyen la selección de cultivares de festuca alta libres de endófitos o el uso de plantas cultivadas que hayan sido inoculadas con endófitos no tóxicos (Bouton *et al.*, 2002; De Battista, 2005; Gundel *et al.*, 2013; Lugtenberg *et al.*, 2016; Caradus y Johnson, 2020). Estos últimos se caracterizan por producir alcaloides de la familia de las lolinas y peraminas, pero no alcaloides tóxicos para el ganado (Schardl, 2009; Gundel *et al.*, 2013; Johnson *et al.*, 2013). Por ejemplo, los cultivares infectados con el endófito seguro AR542 y AR584 han mostrado un buen desempeño agronómico sin generar problemas de toxicidad (Hopkins *et al.*, 2010;

Lugtenberg *et al.*, 2016). Estos materiales se comercializan en Estados Unidos, Nueva Zelanda y Australia (Lugtenberg *et al.*, 2016; Caradus y Johnson, 2020). En Argentina, es posible disponer de semilla del cv. Taita infectado con el endófito seguro AR584 a través de la empresa Gentos S.A. El cv. Taita, es uno de los cultivares comerciales más utilizados en la región debido a que presenta un amplio rango de adaptabilidad y una estructura de planta densa con alto vigor de implantación y excelente producción de biomasa (Gentos, s.f.).

La Pampa Deprimida de la Región Pampeana argentina se caracteriza por una topografía muy plana y la ocurrencia de sequías e inundaciones durante todo el año (Kuppel *et al.*, 2015; Di Bella *et al.*, 2016). Curiosamente, en esta región se ha observado que, las poblaciones de festuca alta suelen presentar una elevada frecuencia de plantas infectadas por endófitos silvestres (De Battista, 2005; Gundel *et al.*, 2009; Petigrosso *et al.*, 2013; Graff *et al.*, 2020) lo que sugiere que la simbiosis impulsa beneficios relacionados con el *fitness* de las plantas, bajo las condiciones ambientales locales. Sin embargo, si bien existe abundante información que muestra cómo los hongos endófitos afectan las respuestas de las plantas de festuca alta al déficit hídrico (Malinowski y Belesky, 2000; Decunta *et al.*, 2021), es escasa la información con relación al exceso de agua (Bastías *et al.*, 2023).

La inundación es una condición ambiental caracterizada por un exceso de agua que puede causar niveles variables de estrés en las plantas al privar a las raíces de oxígeno, que dependen del grado de saturación del suelo y la duración de la misma (Colmer y Voeselek, 2009; Sasidharan *et al.*, 2017). Las inundaciones pueden alterar la estructura y la productividad de las comunidades vegetales, dependiendo de las respuestas diferenciales entre especies “sensibles” y “tolerantes” a las inundaciones (Insausti *et al.*, 2005; Di Bella *et al.*, 2016). A nivel individual, el estrés provocado por el exceso de agua puede afectar el metabolismo, la fisiología y el crecimiento de las plantas (Kozlowski, 1984; Striker y Colmer, 2017; Di Bella *et al.*, 2022). Recientemente, investigaciones han mostrado que el hongo endófito no le brindaría mayor tolerancia a la inundación a festuca alta en diferentes estados fenológicos, semillas, plántula y planta con más de 4 hojas, es decir, que, en los atributos analizados, germinación y crecimiento, no se encontraron diferencias significativas entre los genotipos de festuca alta infectados y libres (Petigrosso *et al.*, 2023; 2024). Sin embargo, los efectos del exceso de agua se extienden más allá de la ontogenia de las plantas y afectan también a la descendencia. Por ejemplo, el estrés oxidativo inducido por el exceso de agua no solo disminuye la producción de semillas, sino que también

compromete su calidad, afectando probablemente su longevidad (Striker, 2012; Lukic *et al.*, 2023).

Se ha sugerido que las respuestas plásticas de un individuo a un determinado estrés ambiental estarían moduladas por las condiciones a las que el mismo individuo fue expuesto en etapas tempranas de su desarrollo (efecto “memoria”, Weinig y Delph, 2001; Huber *et al.*, 2012). Por otro lado, los organismos parentales podrían transmitir a su descendencia adaptaciones fenotípicas que les otorgarán una mayor tolerancia a estreses a los que ellos han sido sometidos (efecto “materno”, Lundgren y Sultan, 2005; Duncan *et al.*, 2014). Así, por ejemplo, si las plantas madre experimentan diferentes condiciones de luz, nutrientes o agua, estas variables ambientales pueden dar lugar a respuestas fenotípicas en la descendencia en términos de cambios morfológicos, fisiológicos, de crecimiento y reproducción (Latzel *et al.*, 2013).

Existen tres tipos de mecanismos que permiten la expresión de los efectos maternos (Roach y Wulff, 1987). El primero de ellos es genético-citoplasmático, donde las organelas (*e.g.*, plástidos y mitocondrias) se transfieren del progenitor femenino (planta materna) a la descendencia cuando se está formando y desarrollando el embrión (Roach y Wulff, 1987). El segundo de ellos, guarda relación con el endosperma, que constituye uno de los componentes de la semilla en desarrollo, como lo son las enzimas y nutrientes claves para el desarrollo del embrión (Roach y Wulff, 1987; Singh *et al.*, 2017). El tercero, es fenotípico e involucra cambios en la estructura o fisiología de la semilla, puesto que los tejidos y endosperma que rodean al embrión son todos de origen maternos (Roach y Wulff, 1987).

Los efectos maternos pueden considerarse adaptativos, resultando en un mayor *fitness* o desempeño en la descendencia (Mousseau y Fox, 1998). Por ejemplo, en un estudio con la especie *Amaranthus palmeri* (perteneciente a la familia Amaranthaceae), se sometieron a plantas madres a diferentes tratamientos de sequía (*i.e.*, estrés hídrico) para evaluar si este factor tenía alguna influencia sobre la producción de semillas de la progenie (Matzrafi *et al.*, 2021). Los resultados indicaron que las plantas (maternas) sometidas a estrés hídrico producían semillas más grandes y con mayor tolerancia a la sequía, lo cual aumentaba la tasa de germinación y originaban plántulas más competitivas y vigorosas bajo estrés hídrico, en comparación a la progenie de plantas sometidas al tratamiento control (Matzrafi *et al.*, 2021). Sin embargo, los efectos maternos también pueden ser “no adaptativos” cuando tienen consecuencias negativas en el desempeño biológico de la progenie (Herman y Sultan, 2011). En el caso de la especie *Persicaria hydropiper* (planta de la familia Polygonaceae) se pudo observar que las plantas madres expuestas a estrés

hídrico produjeron plántulas más pequeñas, con un desarrollo radicular más lento y una biomasa reducida en comparación con la descendencia de las plantas madres que recibieron una mayor cantidad de agua (Sultan *et al.*, 2009).

Los efectos maternos pueden permitir y facilitar la adaptación de especies invasoras a ambientes caracterizados por estreses abióticos (Sultan *et al.*, 2009). En especies exóticas ya establecidas, como en el caso de festuca alta, estos efectos podrían proporcionar una forma eficiente para aprovisionar a la progenie y aumentar su desempeño en ambientes estresantes los cuales se caracterizan por tener una menor disponibilidad de recursos (Dyer *et al.*, 2010).

1.2. Hipótesis (H) y Predicción (P)

- H.** La calidad de las semillas provenientes de plantas de festuca alta sometidas a sumersión parcial al comienzo de la elongación de entrenudos es mayor en las plantas con endófito que en las plantas sin endófito y, a su vez, mayores en plantas con historia previa de sumersión.
- P.** La energía germinativa y el poder germinativo de las semillas, la longitud de radícula y de coleóptilo y el peso fresco de las plántulas será mayor en las semillas cosechadas de plantas de festuca infectadas con endófito que sufrieron sumersión en el estado de 5 hojas e inicio de elongación de entrenudos, respecto a aquellas libres de endófito.

1.3. Objetivo general

Evaluar los efectos maternos en respuesta a la sumersión parcial sobre la calidad de semillas de festuca alta originadas por plantas madres libres e infectadas con hongo endófito *Epichloë coenophiala* que fueron sometidas a sumersión parcial en dos etapas de desarrollo ontogénico.

Objetivos específicos

- ✓ Determinar los posibles efectos maternos de la sumersión parcial sobre la energía y el poder germinativo de semillas provenientes de plantas de festuca alta libres e infectadas con hongo endófito *Epichloë coenophiala* que fueron sometidas a sumersión parcial en dos etapas de desarrollo ontogénico: 5 hojas completamente expandidas e inicio de la elongación de entrenudos.

- ✓ Determinar los posibles efectos maternos de la sumersión parcial sobre la longitud del coleóptilo y de la radícula y peso fresco de plántulas obtenidas de semillas provenientes plantas de festuca alta libres e infectadas con hongo endófito *Epichloë coenophiala* que fueron sometidas a sumersión parcial en dos etapas de desarrollo ontogénico: 5 hojas completamente expandidas e inicio de la elongación de entrenudos.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Obtención del material experimental y determinaciones previas

El Dr. Lucas Petigrosso realizó 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.). En el mismo, se cultivaron plantas de festuca alta de una población naturalizada libre (PE-) e infectada (PE+) con endófito silvestre y del cv. Taita (GENTOS S.A.) libre (TE-) e infectado (TE+) con el endófito seguro AR584 (Petigrosso *et al.*, 2024). Se sembraron 3 semillas de festuca alta y a los 15 días se efectuó un raleo dejando una plántula por maceta (unidad experimental). En los estados de 5 hojas expandidas (5H) e inicio de la elongación de entrenudos (EE), correspondientes a los estados Z15 y Z30-Z32, en la escala de Zadoks, respectivamente (Zadoks *et al.*, 1974), las plantas fueron sometidas a dos tratamientos hídricos: capacidad de campo (CC) y sumersión parcial (SP), es decir, una lámina de agua de 50 mm sobre el nivel del suelo que correspondía, aproximadamente, a la mitad de la altura inicial de las plantas) por un período de 14 días (Petigrosso *et al.*, 2024; Figura 1). Para ello cada una de las macetas correspondientes al nivel de SP se ubicó dentro de dos bolsas de polietileno negro, y todo el conjunto a su vez, dentro de otra maceta del mismo volumen a fin de evitar la pérdida de agua por la base y brindar la contención necesaria para mantener el nivel de agua prefijado. En el estado de inicio de elongación de entrenudos, la mitad de las plantas anteriormente sometidas a cada tratamiento de sumersión en 5 hojas fueron asignadas al mismo tratamiento previo y la mitad restante al otro tratamiento. Posteriormente, todas las macetas se mantuvieron a CC hasta completar el ciclo reproductivo, momento en el que se realizó la cosecha de las plantas (Petigrosso *et al.*, 2024; Figura 1).

Las panojas se cosecharon cuando el raquis presentaba un color amarillento (Petigrosso *et al.*, 2024; Figura 1). Las semillas se trillaron de sus respectivas panojas y fueron almacenadas en heladera a 5°C. El diseño empleado fue en bloques completos aleatorizados con 10 repeticiones. Cada bloque conformado por 16 macetas.



Figura 1. Vista de las macetas ubicadas en bandejas para asegurar un contenido de agua cercano a CC mediante una lámina de agua de 20 mm (A). Macetas bajo tratamiento con sumersión parcial al estado de 5 hojas expandidas y a capacidad de campo (B). Macetas con plantas de festuca alta en estado vegetativo (C y D) y reproductivo (E). Estado de las panojas al momento de la cosecha de semillas (F). Extraídas de Petigrosso (2024).

En la Figura 2 se presentan el esquema experimental y el orden cronológico de las actividades desarrolladas desde la siembra hasta la cosecha de las plantas (Petigrosso *et al.*, 2024):

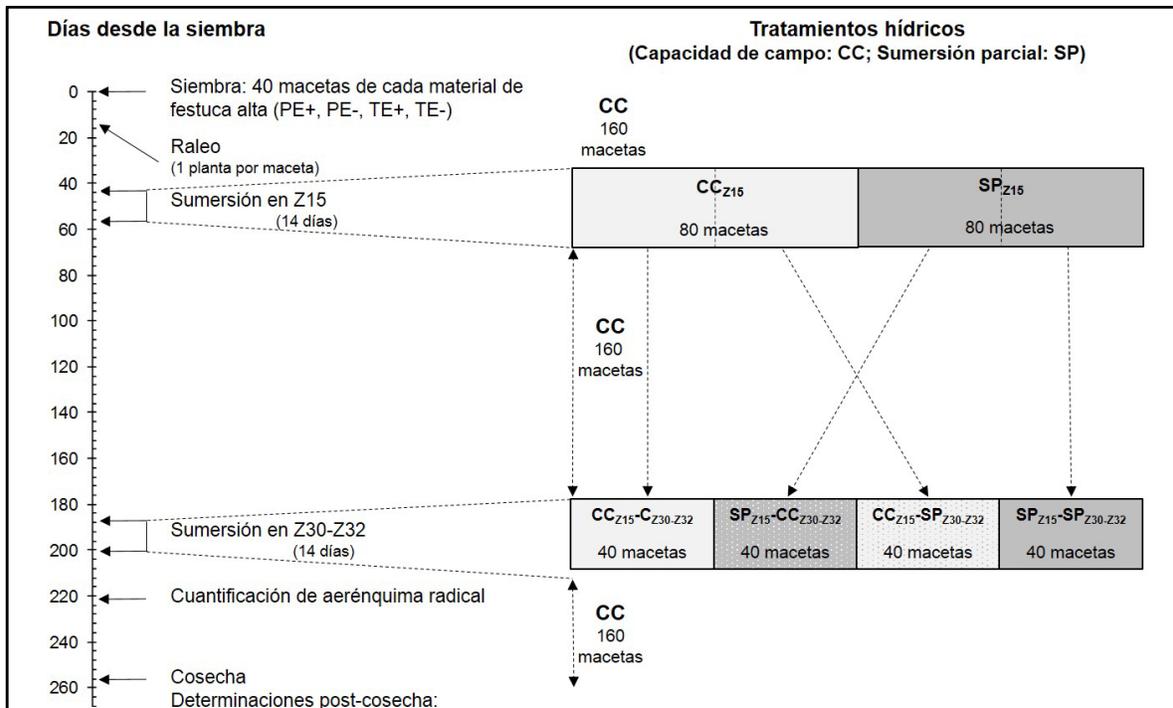


Figura 2. Esquema experimental y orden cronológico de los principales eventos desde la siembra hasta la cosecha de las plantas de cuatro materiales de festuca alta: una población naturalizada con (PE+) y sin (PE-) endófito silvestre y el cv. Taita con (TE+) y sin (TE-) endófito seguro AR584; sometidos a dos tratamientos hídricos: capacidad de campo (CC) y sumersión parcial (SP) en dos etapas de desarrollo (5 hojas expandidas: Z15; inicio de elongación de entrenudos: Z30-Z32).

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 de dichas semillas, fue llevada a cabo por el Dr. Lucas Petigrosso (Petigrosso *et al.*, 2024). Sin embargo, como fue mencionado anteriormente, en esta Tesis se analizó el efecto de la sumersión parcial a través de los efectos maternos sobre la calidad de las semillas y plántulas de festuca alta originadas por plantas madres libres e infectadas con hongo endófito *Epichloë coenophiala* que fueron sometidas a sumersión parcial en dos etapas de desarrollo ontogénico.

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

2.2. Diseño y conducción del experimento

Se seleccionaron al azar tres bloques (repeticiones) del experimento y se trabajó con las semillas de los mismos. Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con tres 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; Figura 3), embebidos en agua destilada (25 ml aplicados con rociador). 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 48 rollos = 16 macetas/bloque x 3 bloques.

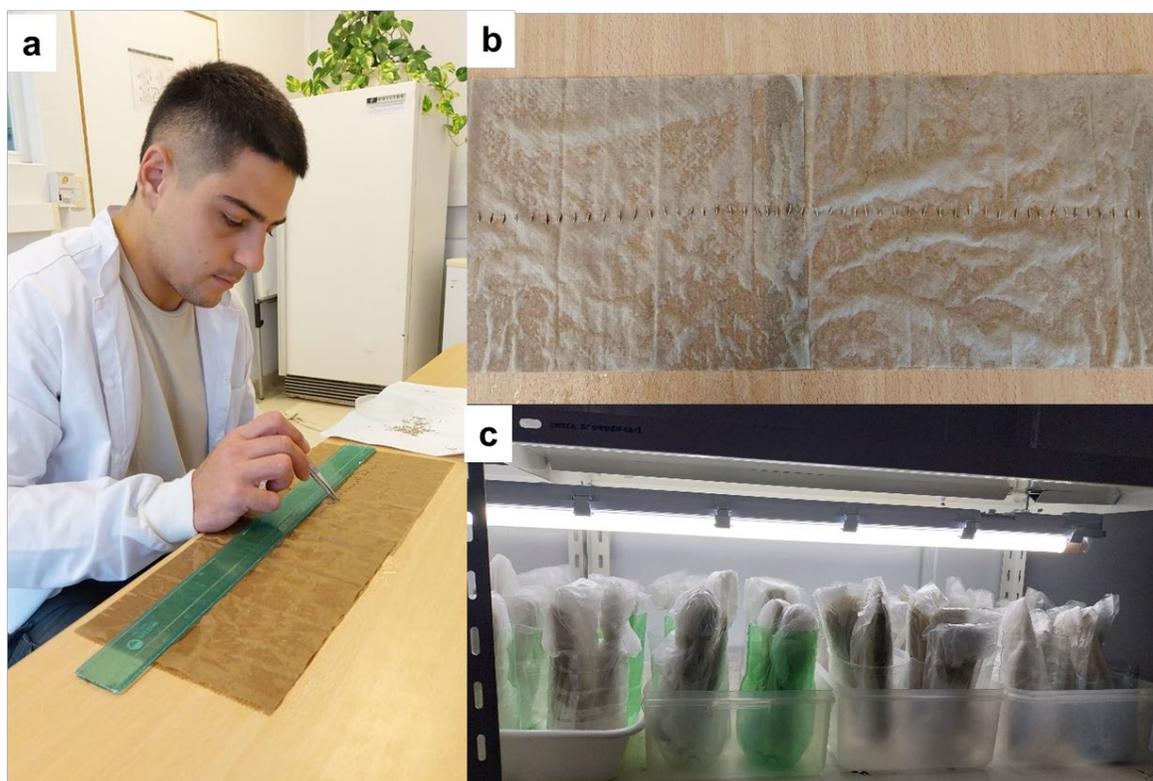


Figura 3. Siembra de semillas de festuca alta en rollos de papel embebidos con agua destilada (a, b). Cámara de germinación donde se ubicaron los rollos sembrados (c).

2.3. Determinaciones

Para determinar el posible efecto de la sumersión parcial a través de los efectos maternos sobre la calidad de las semillas y plántulas de festuca alta, se midieron las siguientes variables:

- *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 4). Este test 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.

- *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).

- *Longitud de radícula y coleóptilo*: el mismo día del recuento del %PG, se midió, con una regla milimetrada, la longitud de la radícula (LR) y del coleóptilo (LC) de una de una muestra aleatoria de 10 plántulas (Figura 4).

-*Peso fresco de las plántulas*: las 10 plántulas de cada repetición se pesaron en conjunto en una balanza analítica para obtener el peso fresco (PF; Figura 4).

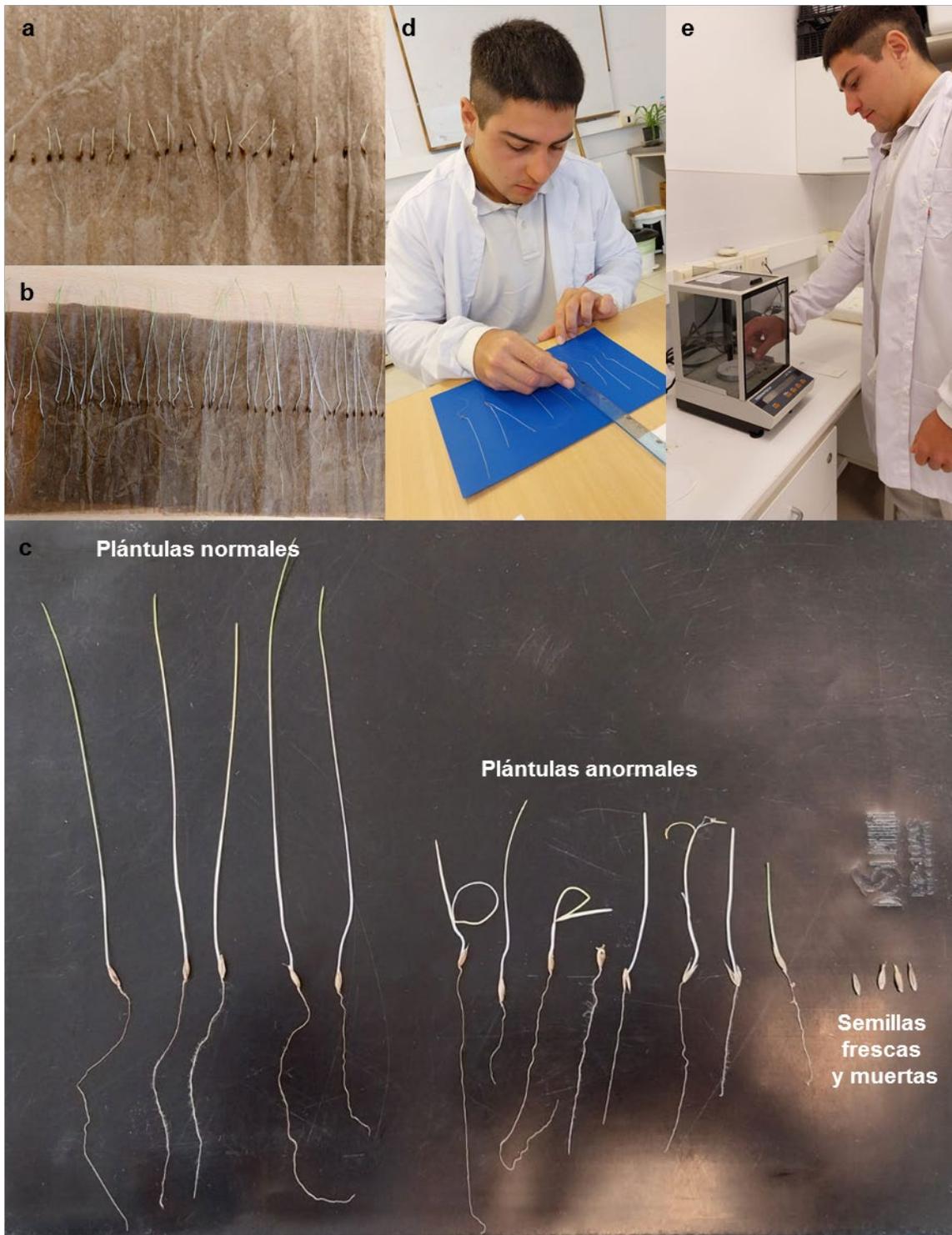


Figura 4. Determinación de energía germinativa a los 7 días de sembrados los rollos (a). Detalle de plántulas de festuca alta al final del experimento para realizar la medición del poder germinativo y longitud de radícula y coleóptilo a los 14 días (b). Clasificación de semillas y plántulas según normas ISTA (2020) (c). Momento de la medición del coleóptilo y radícula de cada plántula de festuca alta (d). Determinación del peso fresco de las plántulas seleccionadas en balanza analítica (e).

2.4. Análisis estadísticos

Los efectos de los factores experimentales (sumersión al estado de 5 hojas, sumersión al inicio de elongación de entrenudos y material de festuca alta) y sus posibles interacciones sobre las variables respuesta consideradas se analizaron mediante ANOVA. Cuando se detectó heterogeneidad de varianza en los errores, ésta se incorporó al modelo de análisis y, cuando fue necesario, las medias se compararon con la prueba de mínimas diferencias significativas ($\alpha= 0,05$). Se analizó el efecto del endófito silvestre dentro de la población naturalizada y del endófito seguro AR584 dentro del cv. Taita mediante contrastes específicos. Todos los análisis se realizaron empleando el programa estadístico R (R Core Team, 2020).

3. RESULTADOS

Las interacciones triples no fueron significativas ($p > 0,05$) en todas las variables evaluadas (Tabla 1). Lo mismo ocurrió con las interacciones dobles ($p > 0,05$), salvo para las variables longitud de radícula y de coleóptilo ($p < 0,05$, Tabla 1). Los efectos hallados para cada variable se describen a continuación conjuntamente con los resultados de los contrastes realizados dentro de cada material de festuca alta entre plantas infectadas y libres de endófito, silvestre o seguro AR584, según corresponda.

Tabla 1. ANOVA de las variables respuesta determinadas en el Experimento. EG: energía germinativa. PG: poder germinativo. LR: longitud de radícula. LC: longitud de coleóptilo. PF: peso fresco.

Fuente de variación	p - valor				
	EG (%)	PG (%)	LR	LC	PF (g/10pl)
Sumersión Z30-Z32	0,424	0,158	0,553	0,864	0,963
Sumersión Z15	0,001	0,004	0,792	0,737	0,889
Material de festuca	0,168	0,612	0,001	0,470	0,001
Sumersión Z15 x Sumersión Z30-Z32	0,913	0,711	0,767	0,137	0,458
Material de festuca x Sumersión Z30-Z32	0,318	0,220	0,042	0,032	0,185
Material de festuca x Sumersión Z15	0,912	0,543	0,914	0,186	0,283
Material de festuca x Sumersión Z15 x Sumersión Z30-Z32	0,227	0,204	0,492	0,521	0,594

3.1. Energía germinativa (%EG)

El %EG fue similar en todos los materiales de festuca alta ($p = 0,168$), pero fue afectada por el nivel de sumersión de la planta madre en el estado de 5 hojas expandidas ($p = 0,001$). Las plantas que fueron sometidas a sumersión en 5 hojas produjeron semillas con menor energía germinativa ($\downarrow 14,6\%$) que aquellas que permanecieron a capacidad de campo ($77,75 \pm 7,0\%$ vs $91,00 \pm 8,92\%$). No hubo efecto del nivel de sumersión en el estadio de elongación de entrenudos ($p = 0,424$). Tampoco fue significativo el efecto del endófito ni en la población naturalizada ni en el cv. Taita ($p > 0,05$).

3.2. Poder germinativo (%PG)

El %PG fue similar en todos los materiales de festuca alta ($p = 0,612$), pero fue afectado, al igual que la variable anterior, por el nivel de sumersión de la planta madre en

el estado de 5 hojas expandidas ($p=0,004$). Las plantas que fueron sometidas a sumersión en 5 hojas produjeron semillas con menor poder germinativo ($\downarrow 13,7\%$) que aquellas que permanecieron a capacidad de campo ($70,25\pm 6,1\%$ vs $81,41\pm 8,78\%$). No hubo efecto del nivel de sumersión en el estadio de elongación de entrenudos ($p=0,158$). Tampoco fue significativo el efecto del endófito ni en la población naturalizada ni en el cv. Taita ($p>0,05$).

3.3. Longitud de radícula (LR)

La LR de las plántulas fue afectada por la interacción significativa entre el material de festuca alta y el nivel de sumersión en inicio de elongación de entrenudos ($p=0,042$). Al abrir esta interacción se observó que las plantas madres TE+ sometidas a sumersión en inicio de elongación de entrenudos presentaron menor LR que el resto de los materiales (Figura 5). No se registraron diferencias en esta variable entre materiales cuando las plantas madres se mantuvieron a capacidad de campo en inicio de elongación de entrenudos (Figura 5). La presencia del endófito seguro AR584 redujo $\approx 21\%$ la LR respecto a las libres del mismo endófito ($p<0,05$) cuando las plantas madres fueron sometidas a inundación en inicio de elongación de entrenudos. La presencia del endófito silvestre en la población naturalizada no afectó esta variable ($p>0,05$).

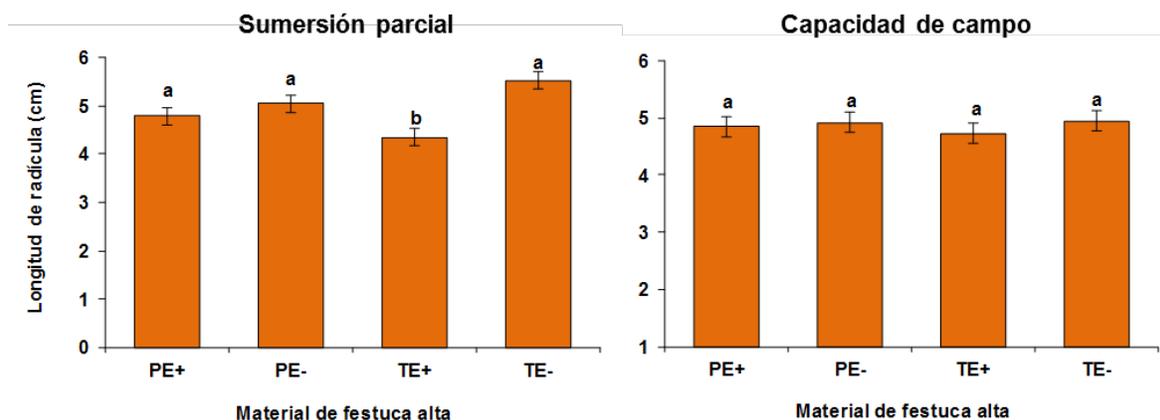


Figura 5. Longitud de radícula (cm, promedio \pm EE) de plántulas de cuatro materiales de festuca alta (PE- y PE+: población naturalizada libre e infectada con endófito silvestre, respectivamente, TE- y TE+: cv. Taita libre e infectado con el endófito seguro AR584, respectivamente), sometidas a dos condiciones de sumersión al inicio de elongación de entrenudos: sumersión parcial y capacidad de campo. Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$).

3.4. Longitud de coleóptilo (LC)

La LC de las plántulas fue afectada por la interacción significativa entre el material de festuca alta y el nivel de sumersión en inicio de elongación de entrenudos ($p=0,032$). Al abrir esta interacción se observó que las plantas madres TE+ sometidas a sumersión en inicio de elongación de entrenudos presentaron menor LC que el resto de los materiales (Figura 6). No se registraron diferencias en esta variable entre materiales cuando las plantas madres se mantuvieron a capacidad de campo en inicio de elongación de entrenudos (Figura 6). La presencia del endófito seguro AR584 redujo $\approx 28\%$ la LC respecto a las libres del mismo endófito ($p<0,05$) cuando las plantas madres fueron sometidas a inundación en inicio de elongación de entrenudos. La presencia del endófito silvestre en la población naturalizada no afectó esta variable ($p>0,05$).

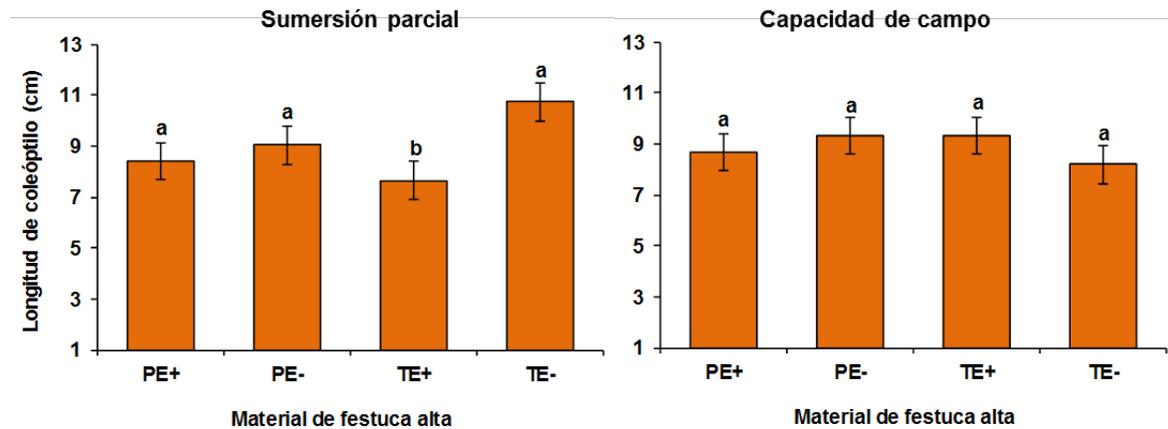


Figura 6. Longitud de coleóptilo (cm, promedio \pm EE) de plántulas de cuatro materiales de festuca alta (PE- y PE+: población naturalizada libre e infectada con endófito silvestre, respectivamente, TE- y TE+: cv. Taita libre e infectado con el endófito seguro AR584, respectivamente), sometidas a dos condiciones de sumersión al inicio de elongación de entrenudos: sumersión parcial y capacidad de campo. Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$).

3.5. Peso fresco (g/10 plántulas)

El peso fresco de las plántulas no fue afectado por el nivel de sumersión de la planta madre en el estado de 5 hojas expandidas ($p=0,889$) ni en el estado de elongación de entrenudos ($p=0,963$). Sin embargo, esta variable varió según el material de festuca alta ($p=0,001$). Así, independientemente del nivel de sumersión en ambos estadios, las plántulas provenientes de las plantas madres TE+ pesaban menos que aquellas originadas de los materiales restantes (Figura 7). La presencia del endófito seguro AR584 redujo $\approx 17\%$

el peso fresco respecto a las libres del mismo endófito ($p < 0,05$). La presencia del endófito silvestre en la población naturalizada no afectó esta variable ($p > 0,05$).

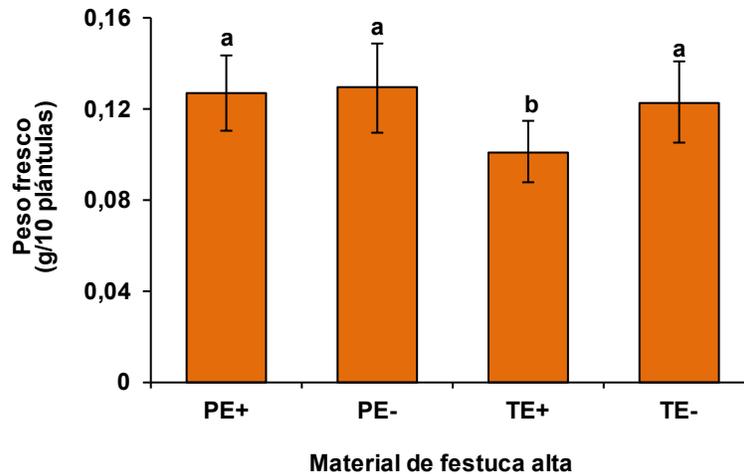


Figura 7. Peso fresco (g/10 plántulas, promedio \pm EE) de plántulas de cuatro materiales de festuca alta (PE- y PE+: población naturalizada libre e infectada con endófito silvestre, respectivamente, TE- y TE+: cv. Taita libre e infectado con el endófito seguro AR584, respectivamente). Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

4. DISCUSIÓN

Una revisión publicada sobre la tolerancia a la inundación de gramíneas forrajeras ampliamente utilizadas, mostró que festuca alta es una especie altamente tolerante a las inundaciones (Di Bella *et al.*, 2022). Sin embargo, existe una gran variabilidad en la tolerancia a la sumersión según los cultivares (Menon-Martínez *et al.*, 2021). Además, se sabe que la presencia del hongo endófito *Epichloë* en festuca alta estimula el crecimiento y la capacidad competitiva de las plantas en condiciones de estrés tanto biótico como abiótico (Marks *et al.*, 1991; Hill *et al.*, 1998; Rho *et al.*, 2018). Sin embargo, recientemente Petigrosso *et al.* (2024) observaron que la asociación con los endófitos *Epichloë* no mejoró el crecimiento vegetativo ni reproductivo de las plantas de festuca alta a los tratamientos de sumersión parcial ni que el exceso de agua afectó la transmisión de endófitos desde las plantas madres a las semillas.

Por otro lado, se ha observado que las plantas que han sufrido algún evento de estrés, pueden mostrar una mayor tolerancia a futuras exposiciones al mismo factor de estrés (Bruce *et al.*, 2007). Los estudios de los mecanismos subyacentes a estas respuestas de “memoria”, apuntan recientemente a la epigenética (Kinoshita y Seki, 2014; Crisp *et al.*, 2016; Lämke y Bäurle, 2017). Existen numerosos antecedentes de “memoria” en plantas superiores en respuesta a factores de estrés como la sequía, la salinidad, exceso de luz, y las temperaturas bajas (Conrath, 2011; Virlovet y Fromm, 2015). En este sentido, además de los efectos directos sobre los rasgos ecofisiológicos de las semillas, los endófitos también pueden mediar los efectos maternos inducidos por factores ambientales (Gundel *et al.*, 2017).

Bajo nuestras condiciones experimentales, esperábamos que la calidad de las semillas provenientes de plantas de festuca alta sometidas a sumersión parcial al comienzo de la elongación de entrenudos fuese mayor en las plantas con endófito que en las plantas sin endófito (efecto de la simbiosis) y, a su vez, mayores en plantas con historia previa de sumersión (efecto de memoria), sin embargo, esto no fue así (*i.e.*, no se registró interacción significativa entre los tres factores experimentales). Es decir, el impacto de la exposición de la planta materna al exceso de agua en las dos etapas de desarrollo ontogénico no resultó en un mayor desempeño de la progenie medido a través de la emergencia y poder germinativo de las semillas como en la longitud de la radícula y del coleóptilo y peso fresco de las plántulas. Sin embargo, el menor %EG y %PG registrados en los materiales utilizados, como así también los menores valores de LR y LC del cv. Taita infectado, podrían

estar poniendo en evidencia que la diferencias en los atributos analizados, serían más marcados bajo sumersiones reiteradas de las plantas madre. Además, de acuerdo a los antecedentes mencionados en la Introducción (Matzrafi *et al.*, 2021), restaría evaluar la germinación de estas semillas en condiciones de sumersión, es decir, analizar la respuesta de la progenie cuando son sometidas al mismo estrés que sufrieron sus progenitores.

En este experimento se encontró que las plantas madres que sufrieron sumersión parcial en el estadio de 5 hojas completamente expandidas produjeron semillas con menor energía (relativo al vigor de la semilla) y poder germinativo que aquellas que permanecieron a capacidad de campo, y que esto fue independiente del tratamiento de sumersión al inicio de elongación de entrenudos, del material genético de festuca alta y de la presencia del endófito. Las plantas sometidas a sumersión parcial posiblemente produjeron semillas con menor energía y poder germinativo debido a varios factores fisiológicos y bioquímicos relacionados con el estrés por hipoxia o anoxia. De acuerdo a Petigrosso *et al.* (2024) las plantas en sumersión parcial en 5 hojas, presentaron en promedio una reducción del 17% de la biomasa total, produjeron 34% menos de semillas y tuvieron 22% menos de esfuerzo reproductivo que las que permanecieron a capacidad de campo. Seguramente estos efectos negativos repercutieron sobre la maduración adecuada de las semillas y en una menor acumulación de reservas en las semillas. Por otro lado, si bien, en el experimento de Petigrosso *et al.* (2024) no se midieron los niveles de fitohormonas como etileno, ABA (ácido abscísico) y giberelinas, estas hormonas pueden desencadenar la maduración temprana o deficiente, afectando la viabilidad y vigor de las semillas (Borjas Ventura *et al.*, 2020).

En el caso de la longitud de radícula y coleóptilo, la presencia del endófito seguro AR584 redujo $\approx 21\%$ la LR y $\approx 28\%$ la LC de las plántulas respecto a las libres del mismo endófito cuando las plantas madres fueron sometidas a inundación en inicio de elongación de entrenudos. Estos resultados indicarían que la presencia del endófito seguro AR584 generaría un costo adicional en el genotipo del hospedante, al menos en este momento en la cual la planta fue sometida a sumersión, que luego, finalmente repercutiría en el vigor de las plántulas, y que no ocurrió en las plantas infectadas con hongo endófito silvestre. Es decir, que los efectos de los endófitos sobre la germinación de las semillas no sólo varían según la especie de planta, sino también de acuerdo a la cepa de endófito y las condiciones ambientales (Riveira Rubin *et al.*, 2022; Stefanoni-Rubio *et al.*, 2022). Así, estudios recientes sugieren que el efecto del genotipo podría ser más importante que el generado por el endófito (Krauss *et al.*, 2007; Gundel *et al.*, 2012).

5. CONCLUSIÓN

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 las semillas provenientes de plantas de festuca alta sometidas a sumersión parcial al comienzo de la elongación de entrenudos es mayor en las plantas con endófito que en las plantas sin endófito y, a su vez, mayores en plantas con historia previa de sumersión”*.

Esto se fundamenta en que la energía germinativa y el poder germinativo de las semillas, la longitud de radícula y de coleóptilo y el peso fresco de las plántulas no fue mayor en las semillas cosechadas de plantas de festuca infectadas con endófito que sufrieron sumersión en el estado de 5 hojas e inicio de elongación de entrenudos, respecto a aquellas libres de endófito.

6. BIBLIOGRAFIA

- Bastías, D.A.; Gundel, P.E. 2023. Plant stress responses compromise mutualisms with *Epichloë* endophytes. *J. Exp. Bot.*, 74(1):19–23. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac428>
- Bastías, D.A.; Martínez-Ghersa, M.A.; Ballaré, C.L.; Gundel, P.E. 2017. *Epichloë* fungal endophytes and plant defenses: Not just alkaloids. *Trends Plant Sci.*, 22: 939-948. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.005>
- Bastías, D.A.; Ueno, A.C.; Gundel, P.E. 2023. Global change factors influence plant–*Epichloë* associations. *J. Fungus.*, 9: 446. <https://doi.org/10.3390/jof9040446>
- Borjas-Ventura, R.; Julca-Otiniano, A.; Alvarado-Huamán, L. 2020. Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura. *J. Selva Andina Biosph.* 8(2):150-164.
- Bouton, J.H.; Latch, G.C.M.; Hill, N.S.; Hoveland, C.S.; McCann, M.A.; Watson, R.H.; Parish, J.A.; Hawkins, L.L.; Thompson, F.N. 2002. Reinfection of tall fescue cultivars with non-ergot alkaloid-producing endophytes. *Agron. J.*, 94(3): 567–574. <https://doi.org/10.2134/agronj2002.5670>
- Bruce, T.J.A.; Matthes, M.C.; Napier, J.A.; Pickett, J.A. 2007. Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Sci.*, 173: 603–608. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.09.002>
- Caradus, J.R.; Johnson, L.J. 2020. *Epichloë* fungal endophytes – from a biological curiosity in wild grasses to an essential component of resilient high performing ryegrass and fescue pastures. *J. Fungi* 6(4): 322. <https://doi.org/10.3390/jof6040322>
- Clay, K.; Schardl, C. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *Am. Nat.*, 160:99-127. <https://doi.org/10.1086/342161>
- Colmer, T.D.; Voesenek L.A.C.J. 2009. Flooding tolerance: suites of plant traits in variable environments. *Funct. Plant Biol.*, 36:665-681. <https://doi.org/10.1071/FP09144>
- Conrath, U. 2011. Molecular aspects of defence priming. *Trends Plant Sci.*, 16: 524–531. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.06.004>
- Crisp, P.A.; Ganguly, D.; Eichten, S.R.; Borevitz, J.O.; Pogson, B.J. 2016. Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Sci. Adv.*, 2:e1501340. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501340>
- 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. *In*: C.W. Bacon & N.S. Hill (Eds.). *Neotyphodium/Grass Interactions*. Plenum Press, New York. pp. 383-388. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0271-9_60

- 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.P. 2005. *Neotyphodium* research and application in South America. In: C. Roberts et al. (Eds.). *Neotyphodium* in Cool Season Grasses. Blackwell Publishing. Ames, Iowa, USA. pp. 63-69.
- Decunta, F.A.; Perez, L.I.; Malinowski, D.P.; Molina-Montenegro, M.A.; Gundel, P.E. 2021. A systematic review on the effects of *Epichloë* fungal endophytes on drought tolerance in cool-season grasses. *Front. Plant Sci.*, 12: 644731. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.644731>
- Di Bella, C.E.; Grimoldi, A.A.; Striker, G.G. 2022. A quantitative revision of the waterlogging tolerance of perennial forage grasses. *Crop Pasture Sci.*, 73(10): 1200–1212. <https://doi.org/10.1071/CP21707>
- Di Bella, C.E.; Striker, G.G.; Loreti, J.; Cosentino, D.J.; Grimoldi, A.A. 2016. Soil water regime of grassland communities along subtle topographic gradient in the flooding pampa (Argentina). *Soil Water Res.*, 11:90–96. <http://dx.doi.org/10.17221/282/2014-SWR>
- Di Bella, C.E.; Striker, G.G.; Loreti, J.; Cosentino, D.J.; Grimoldi, A.A. 2016. Soil water regime of grassland communities along subtle topographic gradient in the flooding pampa (Argentina). *Soil Water Res.*, 11:90–96. <http://dx.doi.org/10.17221/282/2014-SWR>
- Duncan, E.J.; Gluckman, P.D.; Dearden, P.K. 2014. Epigenetics, plasticity, and evolution: How do we link epigenetic change to phenotype? *J. Exp. Zool. B: Mol. Dev. Evol.*, 322(4):208–220. <https://doi.org/10.1002/jez.b.22571>
- Dyer, A.R.; Brown, C.S.; Espeland, E. K.; McKay, J.K.; Meimberg, H.; Rice, K.J. 2010. Synthesis: The role of adaptive trans-generational plasticity in biological invasions of plants. *Evolutionary Applications* 3(2): 179–192. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2010.00118.x>
- Evans, T.J.; Blodgett, D.J.; Rottinghaus, G.E. 2012. Fescue toxicosis. *Vet Toxicol.* 87: 1166-1177. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385926-6.00115-0>
- Fribourg, H.A.; Hannaway, D.B. 2007. Tall Fescue. On-line Monograph, Forage Information System. <http://forages.oregonstate.edu/is/tfis/monograph.html>. [consulta: 8 de marzo de 2013].

- Gentos. s.f. Festuca TAITA. [Archivo PDF].Recuperado el 10 de diciembre de 2019 de <https://gentos.com.ar/productos/festuca-taita/>
- Gibson, D.J.; Newman, J.A. 2001. Biological floral of the British Isles: *Festuca arundinacea* Schreb. (*F. elatior* subsp. *arundinacea* (Schreb.) Hackel). *J. Ecol.*, 89: 304-324. <https://www.jstor.org/stable/3072204>
- Graff, P.; Gundel, P.E.; Salvat, A.; Cristos, D.; Chaneton, E.J. 2020. Protection offered by leaf fungal endophytes to an invasive species against native herbivores depends on soil nutrients. *J. Ecol.*, 108(4):1592-1604. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13371>
- Guerre, P. 2015. Ergot alkaloids produced by endophytic fungi of the genus *Epichloë*. *Toxins*, 7(3): 773–790. <https://doi:10.3390/toxins7030773>
- Gundel, P.E.; Garibaldi, L.A.; Tognetti, P.M.; Aragón, R.; Ghersa, C.M.; Omacini, M. 2009a. Imperfect vertical transmission of the endophyte *Neotyphodium* in exotic grasses in grasslands of the Flooding Pampa. *Microbial. Ecol.*, 57: 740-748. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9447-y>
- Gundel, P.E.; Martínez- Ghersa, M.A.; Garibaldi, L.A.; Ghersa, C.M. 2009b. Viability of *Neotyphodium* endophytic fungus and endophyte-infected and noninfected *Lolium multiflorum* seeds. *Botany*, 87: 88-96. <https://doi.org/10.1139/B08-119>
- Gundel, P. E.; Martínez-Ghersa, M. A.; Omacini, M.; Cuyeu, R.; Pagano, E.; Ríos, R.; Ghersa, C. M. 2012. Mutualism effectiveness and vertical transmission of symbiotic fungal endophytes in response to host genetic background. *Evol. Appl.*,5(8): 838-849. <https://doi.org/10.1111%2Fj.1752-4571.2012.00261.x>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.03.003>
- Gundel, P.E.; Rudgers, J. A.; Whitney, K.D. 2017. Vertically transmitted symbionts as mechanisms of transgenerational effects. *Am. J. Bot.*, 104 (5): 787-792. <https://doi.org/10.3732/ajb.1700036>
- 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 Oregon State University. *PNW* 504:1-20. <http://ir.library.oregonstate.edu/jspui/bitstream/1957/17827/1/pnw503.pdf>
- Haschek, W. M.; Voss, K.A. 2013. Mycotoxins. In: Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology. Academic Press. Vol. II. pp. 1187-1258.

- Herman, J. J.; Sultan, S. E. 2011. Adaptive transgenerational plasticity in plants: Case studies, mechanisms, and implications for natural populations. *Front. Plant Sci.* 2: 102. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00102>
- Herman, J.J.; Sultan, S.E. 2011. Adaptive transgenerational plasticity in plants: case studies, mechanisms, and implications for natural populations. *Frontiers in Plant Science* 2. <https://doi:10.3389/fpls.2011.00102>
- Hill, N.S.; Belesky, D.P.; Stringer, W.C. 1998. Encroachment of endophyte-infected on endophyte-free tall fescue. *Ann. Bot.*, 81:483-488. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0583>
- Hopkins, A.A.; Young, C.A.; Panaccione, D.G.; Simpson, W.R.; Mittal, S.; Bouton, J.H. 2010. Agronomic performance and lamb health among several tall fescue novel endophyte combinations in the south-central USA. *Crop Sci.*, 50:1552–1561. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.08.0473>
- Huber, H.; Chen, X.; Hendriks, M.; Keijzers, D., Voeselek, L.A.; Pierik, R.; Poorter, H.; De Kroon, H.; Visser, E.J. 2012. Plasticity as a plastic response: How submergence-induced leaf elongation in *Rumex palustris* depends on light and nutrient availability in its early life stage. *New Phytol.*, 194: 572-582. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04075.x>
- Insausti, P.; Chaneton, E. J.; Grimaldi, A. A. 2005. Las inundaciones modifican la estructura y dinámica de la vegetación en los pastizales de la Pampa Deprimida. *En: M. Oesterheld et al (Eds.). 'La heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas'. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, pp. 253–269.* <https://www.jstor.org/stable/23218953>
- Jacobson, D. R.; Carr, S.B.; Hatton, R.H.; Buckner, R.C.; Graden, A.P.; Dowden, D.R.; Miller, W.M. 1969. Growth physiological responses and evidence of toxicity in yearling dairy cattle grazing different grasses. *J. Dairy Sci.*, 53: 575-587. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(70\)86256-7](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(70)86256-7)
- Johnson, L.; De Bonth, A.; Briggs, L.; Caradus, J.; Finch, S.; Fleetwood, D.; Fletcher, L.; Hume, D.; Johnson, R.; Popay, A.; Tapper, B.; Simpson, W.; Voisey, C.; Card, S. 2013. The exploitation of epichloae endophytes for agricultural benefit. *Fungal Divers.*, 60: 171-188. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0239-4>
- Kinoshita, T.; Seki, M. 2014. Epigenetic Memory for Stress Response and Adaptation in Plants. *Plant Cell Physiol.*, 55(11): 1859–1863. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu125>

- Kozłowski, T. 1984. Plant responses to flooding of soil. *Bioscience*, 34. 162-167. <https://doi.org/10.2307/1309751>
- Krauss, J.; Härril, S. A.; Bush, L.; Husi, R.; Bigler, L.; Power, S. A.; Müller, C. B. 2007. Effects of fertilizer, fungal endophytes and plant cultivar on the performance of insect herbivores and their natural enemies. *Funct. Ecol.*, 21(1):107-116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01216.x>
- Kuldau, G.; Bacon, C. 2008. Clavicipitaceous endophytes: their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biol. Control.*, 46(1):57-71. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.023>
- Kuppel, S.; Houspanossian, J.; Noretto, M.D.; Jobbagy, E.G. 2015. What does it take to flood the Pampas? Lessons from a decade of strong hydrological fluctuations. *Water Resour. Res.*, 51: 2937–2950. <https://doi.org/10.1002/2015WR016966>
- Lämke, J.; Bäurle, I. 2017. Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. *Genome Biol.*, 18:124-135. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1263-6>
- Latzel, V.; Janeček, Š.; Doležal, J.; Klimešová, J.; Bossdorf, O. 2013. Adaptive transgenerational plasticity in the perennial *Plantago lanceolata*. *Oikos* 123(1):41–46. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2013.00537.x>
- 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. <https://doi.org/10.3852/13-251>
- Lugtenberg, B.J.J.; Caradus, J.R.; Johnson, L.J. 2016. Fungal endophytes for sustainable crop production. *Microbiol. Ecol.*, 92:1-17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00267>
- Lukić, N.; Schurr, F. M.; Trifković, T.; Kukavica, B.; Walter, J. 2023. Transgenerational stress memory in plants is mediated by upregulation of the antioxidative system. *Environ. Exp. Bot.*, 205: 105129. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105129>
- Lundgren, M.R.; Sultan, S.E. 2005. Seedling expression of cross-generational plasticity depends on reproductive architecture. *Am. J. Bot.*, 92(2):377–381. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.2.377>
- 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. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.404923x>

- Marks, S.; Clay, K.; Cheplick, G.P. 1991. Effects of fungal endophytes on interspecific and intraspecific competition in the grasses *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne*. *J. Appl. Ecol.*, 28: 194-204. <https://doi.org/10.2307/2404125>
- Matzrafi, M.; Osipitan, O.; Ohadi, S.; Mesgaran, M. 2021. Under pressure: Maternal effects promote drought tolerance in progeny seed of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*). *Weed Science* 69(1): 31-38. <https://doi:10.1017/wsc.2020.75>
- Mazzanti, A.; Castaño J.; Sevilla, C.; Orbea, J. 1992. Características agronómicas de especies y cultivares de gramíneas y leguminosas forrajeras adaptadas al sudeste de la Provincia de Buenos Aires. INTA. CRABAS. EEA Balcarce. 73 p.
- Menon-Martínez, F.E.; Grimoldi A.A.; Striker, G.G.; Di Bella, C.E. 2021. Variability among *Festuca arundinacea* cultivars for tolerance to and recovery from waterlogging, salinity and their combination *Crop Pasture Sci.*, 72: 75-84. <https://doi.org/10.1071/CP20289>
- Milne, G.D. 2009. Management in New Zealand, Australia and South America. In: H.A. Fribourg, et al. (Eds.). Tall fescue for the Twenty-first Century. Agron. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. *Monogr.* 53:101-118. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr53.c7>
- Mousseau, T. A.; Fox, C.W. 1998. The adaptive significance of maternal effects 13(10): 400–407. [https://doi:10.1016/s0169-5347\(98\)01472-4](https://doi:10.1016/s0169-5347(98)01472-4)
- Odrizola, 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.
- Petigrosso, L.R. Vignolio, O.; Gundel, P.; Monterubbianessi, M.G.; Assuero, S.G. 2023. Performance of endophyte-free and endophyte-infected young tall fescue plants under partial and total submergence. *Crop and Pasture Science* 75, CP23061. <https://doi.org/10.1071/CP23061>
- Petigrosso, L.R. Vignolio, O.; Gundel, P.; Monterubbianessi, M.G.; Assuero, S.G. 2024. Response of endophyte-infected and endophyte-free tall fescue plants to partial submergence at two developmental stages. *Austral Ecology* 49, e13545. <https://doi.org/10.1111/aec.13545>
- 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. <https://doi.10.5897/AJAR12.2106>

- Petigrosso, L.R.; Laboranti, M.A.; Vignolio, O.R.; Echeverría, M.M.; Castaño, J.A. 2019c. Impacto de diferentes tratamientos de remoción de la vegetación en pasturas de festuca alta infectada con endófito asexual. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 38(2): 49-61.
- Petigrosso, L.R.; Navarro, D.; Assuero, S.G.; Vignolio, O.R.; Castaño, J.A.; Colabelli, M.N. 2019b. Respuesta a la frecuencia de defoliación de plantas de festuca alta de una población naturalizada infectada con endófito silvestre y un cultivar comercial libre. *RIA 46 (2): 195-202*
- Petigrosso, L.R.; Vignolio, O.R.; Damiano, I.; Echeverria, M.; Colabelli, M.N.; Gundel, P.E. 2019a. Eradication of the fungus *Epichloë coenophiala* from *Schedonorus arundinaceus* (tall fescue) seeds by interrupting the vertical transmission process. *Ecol. Aust.*, 29: 055-062. <https://doi.org/10.25260/EA.19.29.1.0.764>
- Principi, M.A.; Mattana, R.R.; Cardinali, O.P.; Colodro, J.L. 2011. Diseño y prestaciones de un prototipo de siembra directa para intersiembra de pasturas. *RIA 37: 54-61*.
- Rho, H.; Hsieh, M.; Kandel, S.L.; Cantillo, J.; Doty, S.L.; Kim, S.H. 2018. Do endophytes promote growth of host plants under stress? A meta-analysis on plant stress mitigation by endophytes. *Microb.Ecol.*, 75: 407-418. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1054-3>
- Riveira Rubin, M. A.; Ueno, A. C.; Batlla, D.; Iannone, L. J.; Martínez-Ghersa, M. A.; Gundel, P. E. 2022. Seed functional traits in cultivars of tall fescue (*Schedonorus arundinaceus*) are affected by the non-toxic fungal endophyte AR584. *Crop Pasture Sci.*, 73(9): 1085-1096. <https://doi.org/10.1071/CP21736>
- Roach, D.A.; Wulff, R.D. 1987. Maternal effects in plants. *Ann. Rev. Ecol. Sys.*, 18: 209- 235. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.001233>
- Roberts, C.A.; West, C.P.; Spiers, D.E. 2005. *Neotyphodium* in cool-season Grasses. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. 379 p.
- 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. 2ª. ed. Cátedra de Jardinería, Facultad de Agronomía, UBA. Fundación Vida Silvestre Argentina. 128p.
- Sasidharan, R.; Bailey-Serres, J.; Ashikari, M.; Atwell, B.J.; Colmer, T.D.; Fagerstedt, K.; Fukao, T.; Geigenberger, P.; Hebelstrup, K.H.; Hill, R.D.; Holdsworth, M.J.; Ismail, A.M.; Licausi, F.; Mustrup, A.; Nakazono, M.; Pedersen, O.; Perata, P.; Sauter, M.; Shih, M.C.; Sorrell, B.K.; Striker, G.G.; van Dongen, J.T.; Whelan, J.; Xiao, S.; Visser, E.J.W.; Voisenek, L.A.C.J. 2017. Community recommendations on terminology and

- procedures used in flooding and low oxygen stress research. *New Phytol.*, 214(4): 1403-1407. <https://www.jstor.org/stable/90010381>
- Schardl, C.L. 2009. Fungal endophytes in *Lolium* and *Festuca* species. In: T. Yamada & G. Spangenberg (Eds.). *Molecular Breeding of Forage and Turf*. Springer, pp. 285–298. https://doi.org/10.1007/978-0-387-79144-9_26
- Schmidt, S.P.; Osborn, T.G. 1993. Effects of endophyte-infected tall fescue on animal performance. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 44(1-4):233–262. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105206>
- Singh, J.; Clavijo Michelangeli, J. A.; Gezan, S. A.; Lee, H.; Vallejos, C. E. 2017. Maternal effects on seed and seedling phenotypes in reciprocal F1 hybrids of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Frontiers in Plant Science* 8. <https://doi:10.3389/fpls.2017.00042>
- Stefanoni-Rubio, P. J.; Gundel, P. E.; Novas, M. V.; Iannone, L. J. 2022. Ecotype-specific effects of fungal endophytes on germination responses of seeds of the South American wild forage grass *Bromus auleticus*. *Ann. Appl. Biol.* 180(2): 247-258. <https://doi.org/10.1111/aab.12732>
- 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>
- Striker, G.G. 2012. Time is on our side: the importance of considering a recovery period when assessing flooding tolerance in plants. *Ecol. Res.*, 27:983–987. <https://doi.org/10.1007/s11284-012-0978-9>
- Striker, G.G.; Colmer, T.D. 2017. Flooding tolerance of forage legumes. *J. Exp. Bot.*, 68: 1851–1872. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw239>
- Striker, G.G.; Izaguirre, R.F.; Manzur, M.E.; Grimoldi, A.A. 2012. Different strategies of *Lotus japonicus*, *L. corniculatus* and *L. tenuis* to deal with complete submergence at seedling stage. *Plant Biol.*, 14:50–55. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00493.x>
- Stuedemann, J.A.; Hoveland, C.S. 1988. Fescue endophyte: History and impact on animal agriculture. *J. Prod. Agr.* 1: 39-44. <https://doi.org/10.2134/jpa1988.0039>
- Tor-Agbidye, J.; Blythe, L.L.; Craig, A.M. 2001. Correlation of endophyte toxins (ergovaline and lolitrem B) with clinical disease: fescue foot and perennial ryegrass staggers. *Vet. Hum. Toxicol.*, 43: 140–146.

- Virlouvet, L.; Fromm, M. 2015. Physiological and transcriptional memory in guard cells during repetitive dehydration stress. *New Phytol.*, 205:596–607. <https://doi.org/10.1111/nph.13080>
- Weinig, C.; Delph, L.F. 2001. Phenotypic plasticity early in life constrains developmental responses later. *Evolution*, 55:930–936. [https://doi.org/10.1554/0014-3820\(2001\)055\[0930:ppeilc\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1554/0014-3820(2001)055[0930:ppeilc]2.0.co;2)
- White, J.F. Jr.; Morgan-Jones, G.; Morrow, A.C. 1993. Taxonomy, life cycle, reproduction and detection of *Acremonium* endophytes. *Agr. Ecosys. Environ.*, 44:13-37. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(93\)90037-P](https://doi.org/10.1016/0167-8809(93)90037-P)
- Yates, S.G.; Rothfus, J.A.; Garner G.B.; Cornell, C.N. 1979. Videothermometry for assay of fescue foot in cattle. *Amer. J. Vet. Res.*, 40:1192.
- Young, C. A.; Hume, D. E.; Mcculley, R.L. 2013. Forages and pastures symposium: fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: pasture friend or foe? *J. Anim. Sci.*, 91(5): 2379-2394. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5951>
- Zadoks, J.C.; Chang, T. T.; Konzak, C. F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.*, 14:415-421. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x>