

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE FESTUCA ALTA DE DIFERENTES CULTIVARES CON Y SIN ENDÓFITO NO TÓXICO (AR584) BAJO ESTRÉS SALINO

Germination of tall fescue seeds from different cultivars with and without the non-toxic endophyte (AR584) under saline stress

Petigrosso LR^{1,2*}, Morad J¹, Defferrari A¹, Echeverría MM², Crovo V², Miri S³, Gundel P⁴

¹Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina, C.A.B.A., Argentina.

²Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Provincia de Buenos Aires, Argentina

³Área de Investigación y Desarrollo, GENTOS S.A., Pergamino, Buenos Aires, Argentina.

⁴Instituto de Biología Funcional y Biotecnología (BIOLAB)-INBIOTEC-CONICET-CICBA, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Azul, Buenos Aires, Argentina.

*E-mail de contacto: lucaspetigrosso@uca.edu.ar

RESUMEN

La salinidad del suelo constituye una de las principales limitantes para la implantación de pasturas, particularmente en especies forrajeras ampliamente utilizadas como la festuca alta. El objetivo de este trabajo fue evaluar la tolerancia a la salinidad por cloruro de sodio (NaCl) durante la germinación de semillas de dos cultivares comerciales de festuca alta, Malma y Taita, libres e inoculados con el endófito no tóxico AR584. El experimento se realizó en una cámara de germinación mediante un diseño en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones en el tiempo y un arreglo factorial que combinó cultivar, nivel de endófito y seis concentraciones de NaCl (0–200 mM). Se evaluaron variables asociadas a la germinación y al crecimiento inicial de las plántulas. La salinidad redujo significativamente la germinación en ambos cultivares, registrándose los menores valores de energía y poder germinativo en los tratamientos de 160 y 200 mM de NaCl. Asimismo, el índice de germinación indicó inhibición de la germinación a partir de 120 mM, mientras que el índice de crecimiento relativo evidenció inhibición de la elongación radicular únicamente a 200 mM de NaCl, independientemente del nivel de endófito. El efecto del endófito AR584 fue dependiente del cultivar: en el cv. Taita, la infección redujo la germinación y el crecimiento inicial, mientras que en el cv. Malma se observó un aumento de la longitud del coleóptilo a 40 mM de NaCl, lo que podría favorecer la emergencia bajo salinidad moderada. Estos resultados evidencian una marcada variabilidad genotípica en la tolerancia a la salinidad y destacan que la utilidad agronómica de los endófitos no tóxicos en festuca alta depende del genotipo y de las condiciones ambientales.

Palabras clave: *Festuca arundinacea*, *Epichloë coenophiala*, simbiosis, tolerancia a sales, crecimiento inicial.

ABSTRACT

Soil salinity is one of the main constraints to pasture establishment, particularly in widely used forage species such as tall fescue. The aim of this study was to evaluate sodium chloride (NaCl) salinity tolerance during seed germination of two commercial tall fescue cultivars, Malma and Taita, either endophyte-free or inoculated with the non-toxic endophyte AR584. The experiment was conducted in a germination chamber using a randomized complete block design with three temporal replicates and a factorial arrangement combining cultivar, endophyte status, and six NaCl concentrations (0–200 mM). Germination and early seedling growth variables were assessed. Salinity significantly reduced germination in both cultivars, with the lowest germination energy and germination capacity values recorded at 160 and 200 mM NaCl. Furthermore, the germination index indicated inhibition of germination from 120 mM NaCl onwards, whereas the relative growth index revealed inhibition of radicle elongation only at 200 mM NaCl, regardless of endophyte status. The effect of the AR584 endophyte on salinity tolerance was cultivar-dependent. In cv. Taita, endophyte infection reduced germination and early seedling growth, whereas in cv. Malma, endophyte presence increased coleoptile length at 40 mM NaCl, which could favor seedling emergence under moderate salinity. These results highlight marked genotypic variation in salinity tolerance during germination and indicate that the agronomic value of non-toxic endophytes in tall fescue depends on host genotype and environmental conditions.

Key words: *Festuca arundinacea*, *Epichloë coenophiala*, symbiosis, salt tolerance, early growth.

Recibido: abril de 2026

Aceptado: septiembre de 2026

Introducción

El cambio climático constituye uno de los principales desafíos para la producción agropecuaria a nivel global, debido al incremento en la frecuencia e intensidad de eventos climáticos extremos y al aumento en la prevalencia de condiciones ambientales adversas, tales como sequías, temperaturas extremas y procesos de salinización de suelos y aguas (Taleisnik *et al.* 2021; IPCC 2023). Entre los factores de estrés abiótico, la salinidad del suelo representa una de las principales limitantes para la productividad agrícola, afectando aproximadamente al 20% de las tierras cultivadas y más del 30% de las áreas bajo riego a nivel mundial (Taleisnik *et al.* 2021). En Argentina, este problema adquiere particular relevancia en la Región Pampeana, donde extensas superficies presentan restricciones productivas asociadas a la acumulación de sales (Lavado 2008; Lúquez *et al.* 2023). En algunos casos, el riesgo de salinización puede verse incrementado por prácticas de manejo inadecuadas como el sobrepastoreo (Lavado y Taboada 1987).

El estrés salino afecta diversos procesos fisiológicos en las plantas, incluyendo la germinación y el crecimiento inicial, a través de efectos osmóticos y de toxicidad iónica que limitan la absorción de agua y generan desequilibrios nutricionales y metabólicos (Munns 2002; Munns y Tester 2008; Pittaro *et al.* 2015). Durante la germinación, la reducción del potencial osmótico de la solución del suelo y la acumulación y absorción de iones potencialmente tóxicos (principalmente Na^+ y Cl^-) convierten a esta etapa en una de las más sensibles al estrés salino (Francois y Maas 1993; Marcum 2002; Cardamone *et al.* 2018; Safdar *et al.* 2019). En consecuencia, la capacidad de las semillas para germinar y establecer plántulas vigorosas bajo condiciones salinas resulta determinante para el éxito en la implantación de pasturas en ambientes con suelos salinos.

En la Región Pampeana, el desplazamiento de la ganadería hacia suelos con limitaciones edáficas ha incrementado el uso y la promoción de especies forrajeras capaces de tolerar y crecer bajo condiciones de estrés (Roitman y Preliasco 2018). En este contexto, la festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb.) se destaca por su rusticidad, plasticidad fenotípica y diversidad ecotípica, lo que ha favorecido su amplia utilización en sistemas ganaderos extensivos (Lattanzi *et al.* 2007; Scheneiter *et al.* 2016). Sin embargo, la tolerancia a la salinidad en esta especie es variable y puede depender tanto del genotipo como de asociaciones simbióticas con hongos endófitos (Kusvuran *et al.* 2014; Safdar *et al.* 2019; Thomas *et al.*, 2022).

La festuca alta puede establecer relaciones simbióticas con hongos endófitos asexuales del género *Epichloë*, los cuales se transmiten verticalmente a través de semillas (Clay y Schardl 2002). El principal endófito asociado a esta especie, *Epichloë coenophiala* (Leuchtmann *et al.* 2014), crece de manera sistémica y asintomática en los tejidos aéreos, y no se dispersa ni por esporas ni por el polen (Clay y Schardl 2002). La asociación es generalmente mutualista (White y Torres 2009; Omacini *et al.* 2013): el hongo obtiene recursos derivados de la fotosíntesis del hospedador, mientras que la planta puede exhibir mayor crecimiento y tolerancia a estreses bióticos y abióticos (Petigrosso *et al.*

2019; Lee *et al.* 2021). Sin embargo, los beneficios de esta asociación no son universales y pueden variar según la combinación hospedante–endófito y las condiciones ambientales, pudiendo incluso registrarse efectos neutros o negativos sobre algunos componentes del desempeño de la planta (Faeth y Sullivan 2003; Cheplick y Faeth 2009).

Si bien los endófitos silvestres asociados a festuca alta han sido asociados a problemas de toxicidad animal (Strickland *et al.* 2011), la identificación y selección de endófitos no tóxicos, como la cepa AR584, desarrollada por Grasslanz Technology Limited (Palmerston North, Nueva Zelanda) dentro de programas de mejoramiento orientados a conservar los beneficios agronómicos de la simbiosis minimizando los riesgos de toxicidad animal (Hopkins *et al.* 2010), ha permitido conservar los beneficios agronómicos de la simbiosis sin efectos negativos sobre el ganado (Bouton *et al.* 2002; Schardl 2009; Hopkins *et al.* 2010). Sin embargo, los efectos de estos endófitos sobre el desempeño de la planta pueden variar según el genotipo hospedante, las condiciones ambientales y las variables evaluadas (Cheplick y Faeth 2009). No obstante, la información disponible sobre el efecto de estos endófitos durante la germinación y el crecimiento inicial bajo condiciones de salinidad es limitada y, en muchos casos, inconsistente, dependiendo del cultivar, del nivel de estrés y del tipo de endófito involucrado (Vázquez de Aldana *et al.* 2011; Koch *et al.* 2017; Soto *et al.* 2022; Thomas *et al.* 2022).

En este marco, se plantea como hipótesis que la salinidad por NaCl reduce la germinación y el crecimiento inicial de plántulas de festuca alta, y que la magnitud de esta respuesta es modulada por la presencia del endófito no tóxico AR584 en función del cultivar. En función de esta hipótesis, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de distintas concentraciones de cloruro de sodio sobre la germinación y el crecimiento inicial de semillas en dos cultivares comerciales de festuca alta, con y sin el endófito AR584, considerando la energía germinativa, el poder germinativo y distintos atributos morfológicos y de crecimiento de plántulas. Se predice que la interacción entre el genotipo y el estado endofítico determinará respuestas diferenciales frente al estrés salino durante las etapas tempranas del desarrollo.

Materiales y métodos

Material experimental y determinaciones previas

Se utilizaron semillas de dos cultivares comerciales de festuca alta provistos por GENTOS S.A. (cv. Malma y cv. Taita), cada uno con sus variantes infectadas (E+) y libres (E-) del endófito no tóxico AR584. La elección de esta cepa respondió a que corresponde al endófito comercial presente en los materiales evaluados. De esta manera, se trabajó con cuatro materiales experimentales: Malma E+, Malma E-, Taita E+ y Taita E-. Previamente al inicio del experimento se determinó la frecuencia de infección de las semillas de cada cultivar a fin de corroborar la asociación con endófito. Para ello, 50 semillas por cultivar fueron analizadas mediante la técnica del “seed squash” (Saha *et al.* 1988; Card *et al.* 2011), observándose bajo microscopio la presencia o ausencia de las conspicuas hifas del endófito. Los resultados

se expresaron como porcentaje de infección, calculado como número de semillas positivas dividido el número total de semillas evaluadas. Por otro parte, se determinó capacidad de germinación de las semillas bajo condiciones óptimas para la especie (ISTA 2020). Para ello, se sembraron cuatro bandejas plásticas por material experimental, cada una con 50 semillas sobre papel filtro humedecido con 5 mL de agua destilada, e incubadas a 20 °C con un fotoperíodo de 8 h. La germinación se expresó como el porcentaje de plántulas normales desarrolladas con respecto al total de semillas sembradas, como el promedio de las cuatro bandejas por cultivar. Además, se determinó el porcentaje de infección

Tabla 1. Porcentaje de infección (%), poder germinativo (%), media $\pm$ EE y peso de mil semillas (g) de los cuatro materiales experimentales utilizados en el experimento: cv. Taita infectado (E+) y libre (E-) de endófito no tóxico AR584, y cv. Malma infectado (E+) y libre (E-) de endófito no tóxico AR584. Letras iguales, indican diferencias no significativas según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$).

Table 1. Infection percentage (%), germination capacity (%), mean $\pm$ SE, and thousand-seed weight (g) of four experimental tall fescue materials used in the experiment: cv. Taita and cv. Malma, each with (E+) and without (E-) the non-toxic endophyte AR584. Means followed by the same letter are not significantly different according to the LSD test ($\alpha = 0.05$).

Material de festuca alta	Infección (%)	Poder germinativo (%)	Peso de 1000 semillas (g)
Taita E-	0	90,00 $\pm$ 2,50 a	2,080 $\pm$ 0,035 a
Malma E-	0	92,00 $\pm$ 3,00 a	2,018 $\pm$ 0,041 a
Taita E+	100	92,00 $\pm$ 1,50 a	2,071 $\pm$ 0,076 a
Malma E+	100	94,00 $\pm$ 2,75 a	1,869 $\pm$ 0,026 b

Diseño y conducción del experimento

Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones (tandas experimentales independientes en el tiempo), con un arreglo factorial de los tratamientos. Los factores experimentales fueron: i) cultivar de festuca alta, con dos niveles: cv. Malma y cv. Taita; ii) nivel de endófito no tóxico AR584: con (E+) y sin endófito (E-); y iii) condición salina, con seis niveles: 0 (control), 40, 80, 120, 160 y 200 mM de NaCl. Estas concentraciones se seleccionaron en base a antecedentes que indican ausencia de tolerancia a salinidad moderada (40–80 mM NaCl) en la germinación (Soto *et al.* 2022), y porque representan un gradiente desde condiciones no salinas hasta niveles de estrés moderado–alto comparables con situaciones de campo, incluyendo escenarios potenciales de incremento de salinidad asociados a procesos de degradación y cambio climático. En cada bloque, se sembraron 50 semillas de cada uno de los materiales experimentales, en rollos de papel (Maguire 1962), embebidos en agua o solución salina (25 mL aplicados con rociador). Una vez formados los rollos, se colocaron verticalmente en un frasco de vidrio (15 cm de altura y 12 cm de diámetro) y se llevaron a una incubadora, donde permanecieron 14 días a 20°C con un fotoperíodo de 8 h para la germinación, siguiendo las recomendaciones establecidas por la International Seed Testing Association (ISTA) para ensayos de germinación en esta especie (ISTA 2020). En total se realizaron 72 rollos (unidades experimentales) resultantes de dos cultivares, dos niveles de infección, seis condiciones salinas y tres bloques (repeticiones en el tiempo).

Determinaciones

Se realizaron las siguientes determinaciones:

- Energía germinativa (%): a los 7 días se abrieron los rollos y se contaron las semillas germinadas. Las semillas se consideraron germinadas cuando la radícula tenía una

endofítica, el peso de 1000 semillas por material experimental. Para ello, a partir de diez 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 material experimental (Tabla 1). Asimismo, se confirmó la condición endofítica de los materiales experimentales, registrándose 100 % de infección en los materiales E+ y 0 % en los materiales E- (Tabla 1). Así, el poder germinativo inicial de las semillas fue similar y varió entre 90 % y 94 % (Tabla 1) y los pesos de 1000 semillas oscilaron entre 1,869 g y 2,080 g (Tabla 1).

longitud igual o mayor a 2 mm. La energía germinativa se determinó como el porcentaje de semillas germinadas con respecto al total de semillas sembradas.

- Poder germinativo (%): a los 14 días se volvieron a abrir los rollos y se contaron las semillas germinadas. En este recuento, las semillas y plántulas se clasificaron en plántulas normales (*i.e.* sistema radicular bien desarrollado y coleóptilo intacto sin daño), plántulas anormales (*i.e.* plántulas que no mostraron capacidad para continuar desarrollándose debido a que son 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), semillas frescas (*i.e.* semillas no germinadas durante el ensayo, aunque permanecen en estado latente con potencial para germinar y desarrollar una plántula normal) y semillas muertas (*i.e.* semillas en pudrición con presencia de moho), según las reglas ISTA (2020). El poder germinativo se determinó como el cociente de plántulas normales desarrolladas con respecto al total de semillas sembradas.

- Longitud de coleóptilo y radícula: a los 14 días se midieron la longitud de coleóptilo y de radícula con una regla milimetrada en una muestra aleatoria de 10 plántulas por unidad experimental.

- Peso fresco de las plántulas: las mismas 10 plántulas en las que se efectuaron las mediciones de longitud, fueron pesadas en balanza analítica para obtener el peso fresco.

- Índice de crecimiento relativo (ICR): se calculó utilizando la longitud de radícula de los tratamientos salinos (LRS) y del control (LRC), de acuerdo con la siguiente fórmula (Alvarenga *et al.* 2007):

$$ICR = \frac{LRS}{LRC}$$

Los valores de ICR entre 0 y 0,8 se clasifican como “inhibición de la elongación radicular”, los valores >0,8 y <1,2 como “sin efecto significativo”, y los valores >1,2 como “estimulación de la elongación radicular” (Alvarenga *et al.* 2007).

- Índice de germinación (IG): se calculó utilizando el número de semillas germinadas a los catorce días (plántulas normales) de los tratamientos salinos (SGS) y del control (SGC) y la longitud de elongación de la radícula, de acuerdo a la siguiente fórmula (Zucconi *et al.* 1981):

$$IG (\%) = \frac{LRS}{LRC} \times \frac{SGS}{SGC} \times 100$$

Se consideró que valores de IG inferiores al 80% indican inhibición de la germinación (Zucconi *et al.* 1981; Tiquia *et al.* 1996).

- Viabilidad del endófito en plantas jóvenes: Se seleccionaron al azar 15 plántulas de cada tratamiento y se trasplantaron a bandejas plantineras conteniendo tierra: enmienda orgánica (3:1 v/v). Las plantas se mantuvieron en cultivo hasta alcanzar el estado de 2–3 macollos, momento en el cual se evaluó la viabilidad del endófito (*grow-out test*). Se seleccionaron 10 plantas y se determinó la viabilidad del endófito mediante la observación microscópica de hifas entre las células parenquimáticas en las vainas de las hojas mediante coloración directa (Belanger 1996). Primeramente, se extrajo cada planta de festuca alta de su respectiva celda, manteniendo su identificación. Luego, se raspó el tejido parenquimático de los primeros 10 mm de la base de la vaina sobre un portaobjeto. Se agregó colorante rosa de bengala, se cubrió la muestra con el cubreobjeto y se observó al microscopio óptico (400x). Se consideraron macollos E+ aquellos que presentaron hifas del hongo endófito entre las células parenquimáticas de la vaina foliar.

Análisis estadístico

Los efectos de los factores experimentales y sus interacciones sobre las variables de respuesta se analizaron mediante modelos lineales mixtos. Los modelos incluyeron como efectos fijos el cultivar, el endófito (E+ y E-) y la concentración de NaCl, así como todas sus interacciones. El bloque (tanda experimental) se incorporó como efecto aleatorio para contemplar la variabilidad asociada a la realización del experimento en tres tandas en la cámara de crecimiento, cada una de las cuales incluyó todas las combinaciones de tratamientos.

La significancia de los efectos se evaluó mediante ANOVA y las comparaciones múltiples entre medias se realizaron mediante la prueba de la Mínima Diferencia Significativa (MDS, $P < 0,05$). Previamente, se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los residuales y homogeneidad de varianzas. El efecto del endófito dentro

de cada cultivar se evaluó mediante contrastes específicos. Todos los análisis se realizaron utilizando el software R (R Development Core Team 2021).

Resultados

Energía germinativa

La interacción entre los cultivares de festuca alta, el nivel de endófito AR584 y la condición salina no resultó significativa ($P > 0,05$). Asimismo, las interacciones entre los cultivares de festuca alta y la condición salina, y entre el nivel de endófito AR584 y la condición salina, tampoco fueron significativas ($P > 0,05$). En cambio, se detectó una interacción significativa entre el cultivar de festuca alta y la presencia del endófito AR584 sobre la energía germinativa ($P = 0,002$), lo que indica que el efecto de un factor dependió del nivel del otro. En el cv. Taita, las semillas E- presentaron mayor energía germinativa que las semillas E+, mientras que en el cv. Malma no se observaron diferencias en la energía germinativa asociadas al nivel de endófito. En el cv. Taita, la presencia del endófito AR584 redujo la energía germinativa ≈25% (Figura 1a). Asimismo, la energía germinativa fue afectada por la condición salina ($P < 0,0001$; Figura 1b). Los tratamientos con 160 y 200 mM de NaCl presentaron los menores valores de energía germinativa respecto del resto de los tratamientos salinos, los cuales no difirieron entre sí (Figura 1b).

Poder germinativo

La interacción entre los cultivares de festuca alta, el nivel de endófito AR584 y la condición salina no resultó significativa ($P > 0,05$). Asimismo, las interacciones entre los cultivares de festuca alta y la condición salina, y entre el nivel de endófito AR584 y la condición salina, tampoco fueron significativas ($P > 0,05$). Sin embargo, el poder germinativo fue influenciado por la interacción entre los cultivares de festuca alta y el nivel de endófito AR584 ($P = 0,004$). En el cv. Taita, las semillas E- presentaron mayores valores de poder germinativo que las semillas E+, mientras que en el cv. Malma no se registraron diferencias en función del nivel de endófito (Figura 2a). La presencia del endófito AR584 en el cv. Taita redujo el poder germinativo ≈25% (Figura 2a). Por otra parte, el poder germinativo respondió significativamente a la condición salina ($P < 0,0001$; Figura 2b). Así, el poder germinativo disminuyó progresivamente con el incremento de la salinidad. Los tratamientos 0 y 40 mM de NaCl presentaron los mayores valores de poder germinativo y no difirieron entre sí, mientras que los tratamientos 80 y 120 mM mostraron valores intermedios. Por su parte, las concentraciones 160 y 200 mM de NaCl presentaron los menores valores de poder germinativo, sin diferencias entre ellas (Figura 2b).

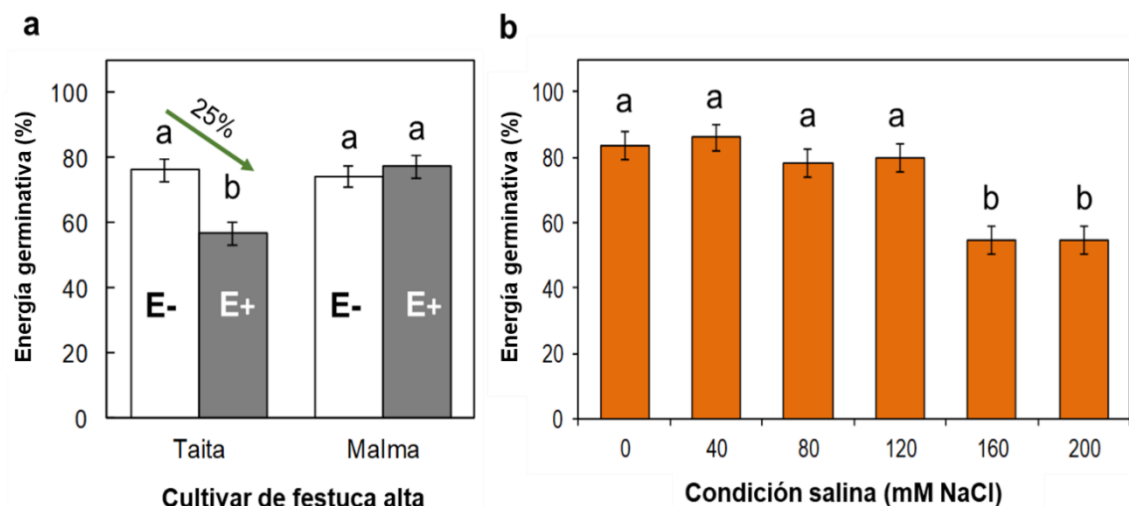


Figura 1. Energía germinativa (% media $\pm$ EE) de semillas de festuca alta en función del cultivar (Taita y Malma), con (E+) y sin (E-) endófito AR584 (a), y de la concentración salina del medio (0, 40, 80, 120, 160 y 200 mM de NaCl) (b). Letras distintas indican diferencias significativas entre medias de acuerdo con la prueba de MDS ($\alpha=0,05$).

Figure 1. Germination energy (% mean $\pm$ SE) of tall fescue seeds as a function of cultivar (Taita and Malma), with (E+) and without (E-) the endophyte AR584 (a), and of the salinity level of the medium (0, 40, 80, 120, 160 and 200 mM NaCl) (b). Different letters indicate significant differences among means according to the LSD test ($\alpha = 0.05$).

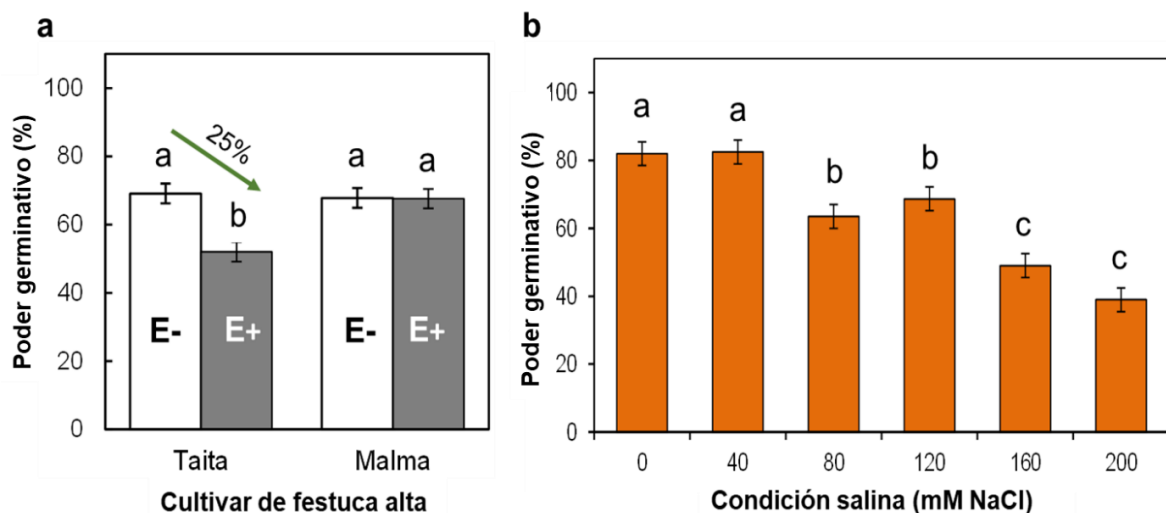


Figura 2. (a) Poder germinativo (% media $\pm$ EE): de semillas de dos cultivares de festuca alta (Taita y Malma) según el nivel de endófito AR584: libres (E-) e infectados (E+). Los valores corresponden al promedio de las seis condiciones salinas evaluadas. b) Poder germinativo (% media $\pm$ EE) de semillas de festuca alta sometidas a seis condiciones salinas: 0, 40, 80, 120, 160 y 200 mM de NaCl. Los valores corresponden al promedio de los dos cultivares evaluados y ambos niveles de infección de endófito AR584. Letras iguales indican diferencias no significativas según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$).

Figure 2. (a) Germination capacity (% mean $\pm$ SE) of seeds from two tall fescue cultivars (Taita and Malma) according to the presence of the endophyte AR584: with (E+) and without (E-) the endophyte. Values correspond to the average across the six salinity conditions evaluated. (b) Germination capacity (% mean $\pm$ SE) of tall fescue seeds subjected to six salinity levels: 0, 40, 80, 120, 160, and 200 mM NaCl. Values correspond to the average of both cultivars and both levels of endophyte presence (AR584). Means sharing the same letter are not significantly different according to the LSD test ($\alpha = 0.05$).

Longitud de radícula

Se observó una interacción significativa entre los cultivares de festuca alta, la presencia del endófito AR584 y la condición salina sobre la longitud de radícula ($P = 0,005$). El análisis del efecto del endófito dentro de cada cultivar y condición salina, indicó que la presencia del endófito redujo la longitud de radícula de las plántulas del cv. Taita $\approx 33\%$, $\approx 24\%$ y $\approx 18\%$ en los tratamientos 0, 40 y 120 mM de NaCl, respectivamente (Figura 3).

Longitud de coleóptilo

Se observó una interacción significativa entre los cultivares de festuca alta, la presencia del endófito AR584 y la condición salina sobre la longitud del coleóptilo ($P = 0,0003$). En el cv. Taita, la presencia del endófito redujo la longitud de coleóptilo de las plántulas en la mayoría de las condiciones salinas evaluadas, excepto en 200 mM de NaCl, donde no se registraron diferencias entre niveles de endófito

(Figura 4). En el cv. Malma, la presencia del endófito incrementó la longitud del coleóptilo de las plántulas en el tratamiento 40 mM de NaCl, mientras que la redujo en los tratamientos 0 y 200 mM de NaCl (Figura 4).

Peso fresco de plántulas

Se observó una interacción significativa entre los cultivares de festuca alta, la presencia del endófito AR584 y la condición salina sobre el peso fresco de las plántulas ($P = 0,046$). En el cv. Taita, la presencia del endófito redujo el peso fresco de las plántulas $\approx 19\%$ y $\approx 28\%$ en los tratamientos 0 y 120 mM de NaCl, respectivamente (Figura 5). En el cv. Malma, el endófito disminuyó el peso fresco de las plántulas $\approx 24\%$ en el tratamiento 200 mM de NaCl (Figura 5).

Índice de crecimiento relativo e índice de germinación

La interacción entre los cultivares de festuca alta, el nivel de endófito AR584 y la condición salina no resultó significativa

($P > 0,05$) para el índice de crecimiento relativo (ICR) ni para el índice de germinación (IG). Asimismo, las interacciones entre los cultivares y la condición salina, y entre el nivel de endófito AR584 y la condición salina, tampoco fueron significativas ($P > 0,05$) para ambas variables. Sin embargo, la condición salina ejerció un efecto principal significativo sobre el ICR ($P = 0,004$) y el IG ($P < 0,0001$).

Para el ICR, los mayores valores se registraron en los tratamientos de 40 y 80 mM de NaCl, sin diferencias significativas entre ellos ni respecto al tratamiento de 120 mM (Tabla 2). Los tratamientos de 160 y 200 mM presentaron los menores valores, aunque tampoco difirieron significativamente del tratamiento de 120 mM, que mostró una respuesta intermedia (Tabla 2). De acuerdo con la escala propuesta por Alvarenga *et al.* (2007), únicamente el tratamiento de 200 mM presentó valores de ICR inferiores a 0,8 (Tabla 2), indicando inhibición de la elongación radicular.

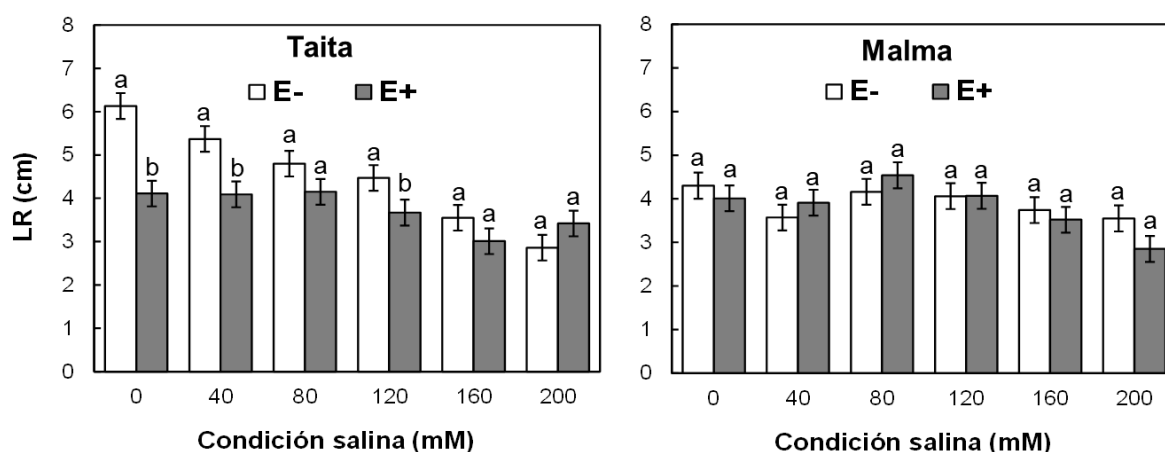


Figura 3. Longitud de radícula (cm, media $\pm$ EE) de plántulas de dos cultivares de festuca alta: Taita (T) y Malma (M) según el nivel de endófito AR584: libres (E-) e infectados (E+), sometidas a seis condiciones salinas (0, 40, 80, 120, 160 y 200 mM de NaCl). Letras iguales indican diferencias no significativas entre niveles de endófito dentro de cada cultivar y condición salina, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$).

Figure 3. Radicle length (cm, mean $\pm$ SE) of seedlings from two tall fescue cultivars: Taita (T) and Malma (M), according to the presence of the endophyte AR584: with (E+) and without (E-) the endophyte, subjected to six salinity levels (0, 40, 80, 120, 160, and 200 mM NaCl). Letters indicate non-significant differences between endophyte levels within each cultivar and salinity condition, according to the LSD test ($\alpha = 0.05$).

En cuanto al IG, el tratamiento de 40 mM presentó el mayor valor y difirió significativamente del resto de los tratamientos (Tabla 2). Los tratamientos de 80 y 120 mM mostraron valores intermedios y no difirieron entre sí, mientras que los tratamientos de 160 y 200 mM registraron los menores valores, sin diferencias significativas entre ellos (Tabla 2). Considerando el criterio de Zucconi *et al.* (1981) y de Tiquia *et al.* (1996), donde los valores de IG inferiores al 80 % indican inhibición de la germinación, los tratamientos de 120, 160 y 200 mM evidenciaron inhibición de este proceso.

Viabilidad del endófito

La evaluación de viabilidad del endófito realizada mediante *grow-out test* confirmó la persistencia de la infección endofítica en las plantas provenientes de materiales

infectados (E+), registrándose la presencia de hifas en el 100 % de las plantas evaluadas. Por el contrario, no se detectaron hifas en las plantas provenientes de materiales libres de endófito (E-), independientemente del cultivar.

Discusión

La respuesta de las gramíneas a la salinidad es altamente variable y depende tanto del genotipo como del ambiente y de las interacciones bióticas asociadas (Ruiz y Terenti 2012). En este estudio, el incremento de la salinidad redujo la germinación y el crecimiento inicial de festuca alta, mientras que los efectos del endófito no tóxico AR584 variaron según el cultivar. En conjunto, los resultados evidencian que la respuesta temprana al estrés salino está condicionada por la interacción entre el genotipo hospedante, el estado endofítico y el ambiente.

Las altas concentraciones de NaCl redujeron significativamente la energía y el poder germinativo, con los menores valores en 160 y 200 mM. Los índices integradores respaldaron esta respuesta: el IG indicó inhibición de la germinación a partir de 120 mM, mientras que el ICR evidenció inhibición de la elongación radicular únicamente a 200 mM. En conjunto, estos resultados sugieren que la germinación fue más sensible al estrés salino que el crecimiento radicular inicial, que se mantuvo próximo al rango considerado sin efecto significativo hasta concentraciones más elevadas de NaCl. Esta respuesta coincide con antecedentes en festuca alta y otras gramíneas forrajeras, donde el incremento de la salinidad reduce progresivamente la germinación y el crecimiento inicial (Kusvuran *et al.* 2014; Safdar *et al.* 2019; Soto *et al.* 2022; Thomas *et al.* 2022). La reducción de la germinación puede atribuirse a las limitaciones en la absorción de agua impuestas por el bajo potencial hídrico del medio salino, que interfieren con procesos metabólicos clave, como la activación enzimática y la movilización de reservas (Wu *et al.* 2015; Morales *et al.* 2017).

Tabla 2. Índice de crecimiento relativo (ICR) e índice de germinación (IG) de semillas de dos cultivares de festuca alta (Taita y Malma), con y sin infección por el endófito AR584, sometidas a distintas condiciones salinas de NaCl (40, 80, 120, 160 y 200 mM). Dado que únicamente la salinidad tuvo un efecto significativo sobre las variables evaluadas, se presentan los valores promedio para cada condición salina. Los valores corresponden a medias $\pm$ desviación estándar. Letras distintas dentro de una misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos salinos según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Table 2. Relative growth index (RGI) and germination index (GI) of tall fescue seeds from two cultivars (Taita and Malma), with and without AR584 endophyte infection, subjected to different NaCl salinity levels (40, 80, 120, 160, and 200 mM). As salinity was the only factor with a significant effect on the evaluated variables, data are presented as means for each salinity level. Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation. Different letters within a column indicate significant differences among salinity treatments according to Tukey's test ($P < 0.05$).

Condición salina (mM NaCl)	ICR	IG (%)
40	1,05 $\pm$ 0,28 a	109,80 $\pm$ 10,23 a
80	1,08 $\pm$ 0,20 a	84,24 $\pm$ 11,93 b
120	0,95 $\pm$ 0,20 ab	79,70 $\pm$ 13,53 b
160	0,84 $\pm$ 0,16 b	50,97 $\pm$ 7,89 c
200	0,76 $\pm$ 0,21 b	35,47 $\pm$ 12,95 c

Además de los efectos directos de la salinidad, la presencia del endófito no tóxico AR584 influyó de manera diferencial sobre la germinación y el crecimiento inicial, dependiendo del cultivar. En el cv. Taita, la asociación con el endófito redujo $\approx$ 25% tanto la energía como el poder germinativo, independientemente de la condición salina, y también disminuyó la longitud de la radícula, la longitud del coleóptilo y el peso fresco de las plántulas en determinadas concentraciones de NaCl. En conjunto con resultados previos en festuca alta, que compararon la germinación en los cultivares Taita e INIA Aurora con y sin AR584 (Riveira Rubin *et al.* 2022), los resultados aquí obtenidos sugieren que, en

este cultivar, la simbiosis con el endófito AR584 implica un costo fisiológico durante las etapas iniciales del desarrollo, particularmente bajo condiciones de estrés. Este costo podría estar asociado a la demanda metabólica del endófito sobre la semilla y la plántula en un momento crítico, en el que los recursos disponibles son limitados. En contraste, en el cv. Malma la germinación fue similar entre E+ o E-, pero varió en las características de crecimiento medidas según la salinidad, donde mostró un efecto negativo del endófito en el control (0 mM) y en 200 mM, y positivo sólo en 40 mM (en longitud del coleóptilo). Este resultado es particularmente relevante, ya que indica que, bajo niveles moderados de salinidad, la asociación endofítica puede conferir ventajas funcionales específicas, aun cuando no se reflejen en mejoras generalizadas del crecimiento o de la germinación.

La mayor longitud del coleóptilo observada en el cv. Malma E+ bajo salinidad moderada podría tener implicancias adaptativas durante la implantación del cultivo. En suelos salinos, donde la concentración de sales puede ser mayor en los primeros centímetros del perfil, un mayor desarrollo del coleóptilo podría contribuir a una emergencia más rápida de las plántulas y a una menor exposición del embrión a condiciones osmóticamente desfavorables (Francois y Maas 1993; Munns y Tester 2008).

Las diferencias observadas entre cultivares, independientemente del nivel de endófito AR584, refuerzan la existencia de una marcada variabilidad genética en la respuesta a la salinidad en festuca alta. En este contexto, observaciones previas del grupo de trabajo indican que el cv. Malma presenta una elevada eficiencia de colonización por el endófito AR584, con mayor presencia y concentración de hifas en semillas y tejidos vegetativos. No obstante, esta mayor colonización no se tradujo en una respuesta consistente en las variables analizadas bajo las condiciones de este estudio. Esto sugiere que los mecanismos de tolerancia a la salinidad están fuertemente condicionados por el genotipo y que la presencia del endófito puede modificar, amplificar o atenuar dichas respuestas según el contexto ambiental. Asimismo, las diferencias entre cultivares pueden estar asociadas a su origen y mejoramiento. El cv. Malma fue desarrollado dentro de una línea de mejoramiento orientada a la adaptación y persistencia en ambientes complejos, caracterizada por una elevada densidad de macollos y plasticidad frente a diferentes condiciones edáficas, mientras que el cv. Taita fue seleccionado por su alta producción y estabilidad productiva a lo largo del año (Gentos 2025). Estas diferencias podrían contribuir a explicar las respuestas contrastantes observadas frente al estrés salino durante las etapas iniciales del desarrollo.

Los antecedentes bibliográficos reportan efectos contrastantes de los endófitos del género *Epichloë* sobre la tolerancia a la salinidad. Mientras que algunos estudios han mostrado beneficios de la asociación endofítica bajo altas concentraciones de NaCl, como incrementos en la germinación y el crecimiento inicial (Song *et al.* 2015; Wang *et al.* 2020), otros trabajos no han encontrado diferencias significativas entre plantas infectadas y no infectadas (Soto *et al.* 2022). En conjunto con nuestros resultados, esta variabilidad sugiere que los efectos del endófito sobre la

tolerancia a la salinidad no son universales, sino que dependen de combinaciones específicas entre el genotipo

del hospedante, el endófito y las condiciones ambientales (Thomas *et al.* 2022).

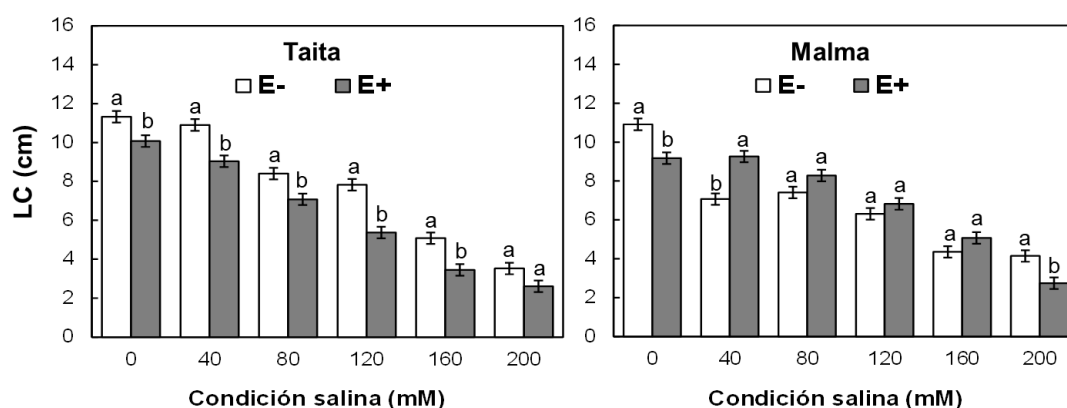


Figura 4. Longitud de coleóptilo (cm, media $\pm$ EE) de plántulas de dos cultivares de festuca alta: Taita (T) y Malma (M) según el nivel de endófito AR584: libres (E-) e infectados (E+), sometidas a seis condiciones salinas (0, 40, 80, 120, 160 y 200 mM de NaCl). Letras iguales indican diferencias no significativas entre niveles de endófito dentro de cada cultivar y condición salina, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$).

Figure 4. Coleoptile length (cm, mean $\pm$ SE) of seedlings from two tall fescue cultivars: Taita (T) and Malma (M), according to the presence of the endophyte AR584: with (E+) and without (E-) the endophyte, subjected to six salinity levels (0, 40, 80, 120, 160, and 200 mM NaCl). Letters indicate non-significant differences between endophyte levels within each cultivar and salinity condition, according to the LSD test ($\alpha = 0.05$).

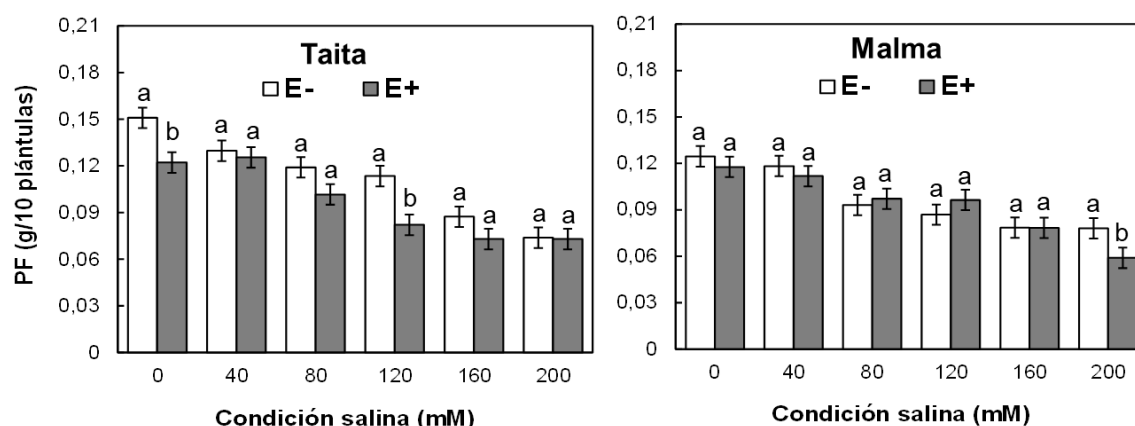


Figura 5. Peso fresco (g/10 plántulas, media $\pm$ EE) de plántulas de dos cultivares de festuca alta Taita (T) y Malma (M) según el nivel de endófito AR584: libres (E-) e infectados (E+), sometidas a seis condiciones salinas (0, 40, 80, 120, 160 y 200 mM de NaCl). Letras iguales indican diferencias no significativas entre niveles de endófito dentro de cada cultivar y condición salina, según la prueba de MDS ($\alpha=0,05$).

Figure 5. Fresh weight (g/10 seedlings, mean $\pm$ SE) of seedlings from two tall fescue cultivars: Taita (T) and Malma (M), according to the presence of the endophyte AR584: with (E+) and without (E-) the endophyte, subjected to six salinity levels (0, 40, 80, 120, 160, and 200 mM NaCl). Letters indicate non-significant differences between endophyte levels within each cultivar and salinity condition, according to the LSD test ($\alpha = 0.05$).

Desde una perspectiva fisiológica, se ha propuesto que los endófitos pueden contribuir a la tolerancia al estrés salino mediante la regulación del balance iónico, particularmente a través del mantenimiento de una relación K^+/Na^+ favorable (Reza Sabzalian y Mirlohi 2010). Asimismo, la mayor tolerancia a la salinidad en plantas infectadas podría vincularse con la capacidad del endófito para disminuir, bajo estrés, la acumulación de osmolitos que restringen el crecimiento (Munns y Tester 2008) y para reducir la generación de especies reactivas de oxígeno (Rodríguez *et al.* 2002). Estos mecanismos fisiológicos incluyen el ajuste osmótico y la regulación del balance iónico y del estrés oxidativo (Bohnert *et al.* 1995; Rodríguez *et al.*

2002; Wang *et al.* 2003). En cualquier caso, los mecanismos mediante los cuales los endófitos incrementan la tolerancia al estrés son complejos y dependen tanto de la genética del hospedante y del propio endófito como de las condiciones ambientales y sus interacciones (Davitt *et al.* 2010).

Desde una perspectiva agronómica, estos resultados aportan información relevante para la implantación de pasturas de festuca alta en ambientes afectados por salinidad, una problemática creciente en la Región Pampeana y en otros sistemas ganaderos de clima templado (Lavado y Taboada 1987; Lavado 2008; Lúquez *et al.* 2023). La marcada reducción de la germinación y del crecimiento inicial a concentraciones elevadas de NaCl indica que la

etapa de implantación constituye una etapa crítica para el establecimiento de la especie, independientemente del cultivar o del nivel de endófito. En este contexto, la selección de cultivares con mayor tolerancia en etapas tempranas y la evaluación cuidadosa del uso de endófitos no tóxicos en función del genotipo hospedante resultan claves para maximizar la persistencia y productividad de las pasturas en suelos con salinidad creciente. Finalmente, en el contexto del cambio climático, donde se prevé un aumento en la frecuencia y extensión de suelos afectados por salinidad (IPCC 2023), será necesario profundizar estos estudios en condiciones de campo y en etapas de desarrollo más avanzadas, incorporando un mayor número de cultivares y variables productivas que permitan evaluar el potencial de la simbiosis endofítica en ambientes salinos.

En conclusión, bajo nuestras condiciones experimentales, la salinidad redujo significativamente la germinación y el crecimiento inicial de festuca alta, particularmente a concentraciones elevadas de NaCl (*i.e.* ≥ 160 mM), lo que confirma la alta sensibilidad de la etapa de implantación al estrés salino. La respuesta varió entre cultivares, lo que evidencia una marcada variabilidad genética en la tolerancia a la salinidad durante los estadios tempranos del desarrollo. En ambos genotipos, la simbiosis redujo significativamente la longitud del coleóptilo en condiciones control (0 mM), evidenciando un costo del endófito en ausencia de estrés salino. En el cv. Taita, además, se vinculó a un menor desempeño germinativo y de crecimiento inicial general, mientras que en el cv. Malma se observaron respuestas dependientes del ambiente. En este último, el endófito promovió un aumento de la longitud del coleóptilo bajo salinidad moderada, pero redujo este rasgo tanto en condiciones de control como de salinidad máxima, sugiriendo una modulación del balance costo-beneficio de la simbiosis en función del nivel de estrés. En conjunto, los resultados indican que el uso de cultivares inoculados con endófitos no tóxicos AR584 debe evaluarse en función del genotipo hospedante y de las condiciones del suelo antes de su adopción en sistemas productivos.

Agradecimientos

El presente estudio se desarrolló en el marco del Proyecto de Investigación “Emergencia y crecimiento de festuca alta de distintos orígenes, libre e infectada con endófito silvestre o seguro, bajo diferentes condiciones experimentales” de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA). Agradecemos a Gentos S.A. y Grasslandz Techonolgy por proveernos la semilla de los cultivares comerciales de festuca alta.

Contribuciones de los autores

Petigrosso LR: formulación de las preguntas/ideas propias de la investigación, escritura protagónica del artículo, ejecución de experimento, obtención de muestras, procesamiento de datos y análisis e interpretación de resultados, responsabilidad por la integridad y coherencia del artículo. **Morad C:** ejecución de experimento, análisis de muestras, procesamiento de datos y análisis e interpretación de resultados. **Defferrari A:** ejecución de experimento, análisis de muestras, procesamiento de datos y análisis e interpretación de resultados. **Echeverría MM:** ejecución de

experimento, análisis e interpretación de resultados. **Crovo V:** ejecución de experimento, análisis e interpretación de resultados. **Miri S:** análisis e interpretación de resultados. **Gundel P:** análisis e interpretación de resultados.

Bibliografía

- Alvarenga P, Palma P, Goncalves AP, Fernandez RM, Cunha-Queda AC, Duarte E, Vallini G (2007) Evaluation of chemical and ecotoxicological characteristics of biodegradable organic residues for application to agricultural land. *Environment International* **33**, 505–513.
- Belanger FC (1996) A rapid seedling screening method for determination of fungal endophyte viability. *Crop Science* **36**, 460–462.
- Bohnert HJ, Nelson DE, Jensen RG (1995) Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell* **7**(7), 1099.
- Bouton JH, Latch GCM, Hill NS, Hoveland CS, McCann MA, Watson RH, Parish JA, Hawkins LL, Thompson FN (2002) Reinfection of tall fescue cultivars with non-ergot alkaloid-producing endophytes. *Agronomy Journal* **94**(3), 567–574.
- Card SD, Rolston MP, Park Z, Cox N, Hume DE (2011) Fungal endophyte detection in pasture grass seed utilising the infection layer and comparison to other detection techniques. *Seed Science and Technology* **39**, 581–592.
- Cardamone L, Cuatrín A, Grunberg K, Tomás MA (2018) Variability for salt tolerance in a collection of *Panicum coloratum* var. makarikariense during early growth stages. *Tropical Grasslands* **6** (3), 134–147.
- Cheplick GP, Faeth SH (2009) The ecology and evolution of the grass-endophyte symbiosis. Oxford University Press.
- Clay K, Schardl C (2002) Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist* **160**, 99–127.
- Davitt AJ, Stansberry M, Rudgers JA (2010) Do the costs and benefits of fungal endophyte symbiosis vary with light availability? *New Phytologist* **188**(3), 824–834.
- Faeth SH, Sullivan TJ (2003) Mutualistic asexual endophytes in a native grass are usually parasitic. *American Naturalist* **161**, 310–325.
- Francois LE, Maas EV (1993) Crops Response and management on salt affected soils. In: M. Pessarakli (Ed.). Plant and Crops Stress (1 ed. pp. 149–181). Univ. of Arizona, Tucson, Arizona.
- Gentos (2025) Catálogo de cultivares Gentos. Gentos S.A. https://www.gentos.com.ar/CatalogoDeCultivares/Gentos-Catalogo_de_cultivares.pdf
- Hopkins AA, Young CA, Panaccione DG, Simpson WR, Mittal S, Bouton JH (2010) Agronomic performance and lamb health among several tall fescue novel endophyte combinations in the south-central USA. *Crop Science* **50**, 1552–1561.
- IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change (2023) Climate Change, Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2023: Synthesis Report* (1 Ed. pp. 1–34). IPCC, Geneva, Switzerland.
- International Seed Testing Association (2020) International Rules for Seed Testing. ISTA. Bassersdorf.

- Koch ED, Honig J, Vaiciunas J, Meyer WA, Bonos SA (2017) Effect of Endophyte on Salinity Tolerance in Perennial Ryegrass. *International Turfgrass Society Research Journal* **13**, 459–465.
- Kusvuran A, Nazli RI, Kusvuran S (2014) Salinity Effects on Seed Germination in Different Tall Fescue (*Festuca arundinaceae* Schreb.) Varieties. *Tarim Bilimieri Arastirma Dergisi* **7**(2), 8-12.
- Lattanzi FA, Mazzanti TLA, Wade MH (2007) Seasonal animal production of temperate and Mediterranean tall fescue cultivars under continuous variable stocking with close control of sward state. *Australian Journal of Agricultural Research* **58**(3), 203-213.
- Lavado RS, Taboada MA (1987) Soil salinization as an effect of grazing in a native grassland soil in the Flooding Pampa of Argentina. *Soil Use and Management* **3**(3), 143–148.
- Lavado R (2008) Visión sintética de la distribución y magnitud de los suelos afectados por salinidad en la Argentina. In: Taleisnik, E., Grunberg, K., Santa María, G. (Eds) *La salinización de suelos en la Argentina: su impacto en la producción agropecuaria* (1 ed, pp.11-15). Córdoba: EDUCC.
- Lee K, Missaoui A, Mahmud K, Presley H, Lonnee M (2021) Interaction between grasses and *Epichloë* endophytes and its significance to biotic and abiotic stress tolerance and the rhizosphere. *Microorganisms* **9**, 2186-2213.
- Leuchtmann A, Bacon CW, Schardl CL, White JF, Tadych M (2014) Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycology* **106**, 202–215.
- Lúquez J, Eyherabide G, Petigrosso L (2023) Tolerancia a la salinidad del suelo en especies de interés agronómico. *Revista Nexos-UNMdP* **34**, 12-19.
- Maguire J (1962) Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* **2**, 176-177.
- Marcum KB (2002) Growth and physiological adaptations of grasses to salinity stress. In: M. Pessaraki (Ed.) *Handbook of Plant and Crop Physiology* (1 Ed. pp. 623-626). Marcel Dekker, New York.
- Morales D, Potlakayala S, Soliman M, Daramola J, Weeden H, Jones A, Kovak E, Lowry E, Patel P, Puthiyaparambil J, Goldman S, Sairam Rudrabhatla S (2017) Effect of biochemical and physiological response to salt stress in *Camelina sativa*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **48**(7), 716-729.
- Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environment* **25**, 239-250.
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* **59**, 651–681.
- Omacini M, Gundel P, Semmartin MG (2013) Huellas de la simbiosis pasto-endófito en el agroecosistema. En: García de Salamone IE, Vázquez S, Penna C, Cassan F (Eds.) *Rizósfera, Biodiversidad y Agricultura Sustentable* (1 Ed. 73p.). Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina.
- Petigrosso LR, Gundel P, Colabelli MN, Fernández ON, Assuero SG (2019) Hongos endófitos en festuca alta: del problema a las soluciones. *Revista de Investigación Agropecuaria* **45**, 292-303.
- Pittaro G, Cáceres L, Bruno C, Tomás A, Bustos D, Monteoliva M, Ortega M; Taleisnik E (2015) Salt tolerance variability among stress-selected *Panicum coloratum* cv. Klein plants. *Grass and Forage Science* **71**, 683–698.
- R Development Core Team (2021) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [En línea] <http://www.R-project.org/>.
- Reza Sabzalian M, Mirlohi A (2010) *Neotyphodium* endophytes trigger salt resistance in tall and meadow fescues. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **173**, 952–957.
- Riveira Rubin M, Ueno A, Batlla D, Iannone L, Martínez-Ghersa MA, Gundel PE (2022) Seed functional traits in cultivars of tall fescue (*Schedonorus arundinaceus*) are affected by the non-toxic fungal endophyte AR584. *Crop & Pasture Science* **73**(9), 1085–1096.
- 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. 128p.). Facultad de Agronomía, UBA. Fundación Vida Silvestre Argentina.
- Rodríguez A, Grunberg K, Taleisnik E (2002) Reactive oxygen species in the elongation zone of maize leaves are necessary for leaf extension. *Plant Physiology* **129**, 1627-1632.
- Ruiz M, Terenti O (2012) Evaluación comparativa de cuatro especies forrajeras bajo condiciones de estrés hídrico y salino durante la germinación. *Agriscientia* **29**, 91-97.
- Safdar H, Amin A, Shafiq Y, Ali A, Yasin R, Shoukat A, Hussan MU, Sarwar MI (2019) A review: Impact of salinity on plant growth. *Natural Science* **17**(1), 34-40.
- Saha CD, Jackson MA, Johnson-Cicalese JM (1988) A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grass. *Phytopathology* **78**, 237-239.
- Schardl CL (2009) Fungal endophytes in *Lolium* and *Festuca* species. In: Yamada T, Spangenberg G (Eds.). *Molecular Breeding of Forage and Turf*. Springer, pp. 285–298.
- Scheneiter JO, Kaufmann II (2016) La zona óptima de productividad forrajera de festuca alta en la región pampeana. *Revista de Tecnología Agropecuaria* **10** (31), 38-42.
- Song ML, Chai Q, Li XZ, Yao X, Li CJ, Christensen MJ, Nan ZB (2015) An asexual *Epichloë* endophyte modifies the nutrient stoichiometry of wild barley (*Hordeum brevisubulatum*) under salt stress. *Plant Soil*, **387**, 153–165.
- Soto MB, Echeverría MM, Lúquez J, San Martino S, Assuero SG, Petigrosso LR (2022) Tolerancia a la salinidad de festuca alta, naturalizada y comercial, libre e infectada con endófitos durante la germinación. *Revista Facultad de Agronomía UNLP* **121** (1), 1-15.
- Strickland JR, Looper ML, Matthews JC, Rosenkrans CF, Flythe MD Jr, Brown KR (2011) St. Anthony's fire in livestock: Causes, mechanisms, and potential solutions. *Journal of Animal Science* **89**, 1603-1626.

- Taleisnik E, Rodríguez AA, Bustos DA, Luna DF (2021) Saline and alkaline soils in Latin America. In: Taleisnik E, Lavado RS (Eds.), *Saline and Alkaline Soils in Latin America. Natural Resources, Management and Productive Alternatives* (1 Ed. pp. 381-397). Springer Nature Switzerland.
- Thomas JI, Petigrosso LR, Echeverría MM, Vignolio OR, Eyherabide G, Lúquez JE (2022) Germinación de semillas de festuca alta libre e infectada con endófito silvestre o seguro en condiciones de salinidad. *Revista Argentina de Producción Animal* **42**(1), 29-36.
- Tiquia SM, Tam NFY, Hodgkiss IJ (1996) Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. *Environment Pollution* **93**, 249–256.
- Vázquez de Aldana BR, Álvarez Martín A, García Ciudad A, Zabalgogezcoa I, García Criado B (2011) El hongo endofítico *Epichloë festucae* y la tolerancia al estrés salino en *Festuca rubra*. En: López Carrasco Fernández C, Rodríguez Rojo MP, San Miguel Ayanz A, Roig González S (Eds.) *Pastos, paisajes culturales entre tradición y nuevos paradigmas del siglo XXI* (1 Ed. pp. 183-188). SEEP, Toledo, España.
- Wang W, Vinocur B, Altman A (2003) Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* **218**, 1-14.
- Wang Z, Li C, White J (2020) Effects of *Epichloë* endophyte infection on growth, physiological properties and seed germination of wild barley under saline conditions. *Journal Agricultural Crop Science* **206**, 43–51.
- White JF Jr, Torres M (2009) Defensive mutualism in microbial symbiosis. CRC Press. Boca Raton, FL. pp. 333-334.
- Wu GQ, Jiao Q, Shui QZ (2015) Effect of salinity on seed germination, seedling growth, and inorganic and organic solutes accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Soil Environment* **61**, 220-226.
- Zucconi F, Pera A, Forte M, De Bertolli M (1981) Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle* **22**, 54–57.