Respuesta de *Schedonorus arundinaceus* libre e infectada con endófito y de otro cultivar libre de endófito en pasturas puras y en mezcla con leguminosas bajo dos frecuencias de defoliación

Lucas Ricardo Petigrosso¹ ✉ María Irastorza ✉ Osvaldo Ramón Vignolio ✉

Silvina San Martino ✉ Mabel Noemí Colabelli ✉ Silvia Graciela Assuero ✉

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata,

Ruta 226 km 73,5, 7620 Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Response of *Schedonorus arundinaceus* free and infected with endophyte in pure pastures and in mixture with legumes under two frequencies of defoliation

Abstract. The objectives of the present work were to compare the effect of two defoliation frequencies on the aerial biomass accumulation of a) pure stands of two types of *Schedonorus arundinaceus* (tall fescue), one from seed harvested from randomly selected individual plants of a natural pasture infected with wild endophyte *Epichloë coenophiala* (FNE+) and another from a commercial endophyte-free cultivar (FCE-) (Experiment 1) and b) mixed stands of FCE- and FNE+ with legumes (*Lotus tenuis* and *Trifolium repens*) (Experiment 2); and c) tall fescue root biomass production in pure and mixed stands above. Two field experiments were carried out. The experiments were conducted in a completely randomized design with a factorial arrangement of two factors: type of tall fescue (FNE+ and FCE-) and frequency of defoliation (AF: high; BF: low), with three replicates. Five and 9 cuts were carried out in BF and AF treatments, respectively (cutting height 70 mm from the ground level). Immediately after the last aerial biomass harvest, tall fescue root biomass was determined in both experiments. Along the experimental period total accumulated aerial biomass production of tall fescue stands (both in pure and mixed stands) was not affected ($p > 0.05$) by the frequency of defoliation nor the type of tall fescue. No significant effects ($p > 0.05$) of the frequency of defoliation and type of tall fescue were detected on root biomass of tall fescue, neither in pure nor in mixed stands.

Keywords: *Festuca*, *Epichloë coenophiala*, *Lotus tenuis*, *Trifolium repens*, dilution effect.

Resumen. Los objetivos del presente trabajo fueron comparar el efecto de dos frecuencias de defoliación sobre la producción de biomasa aérea de a) pasturas puras de *Schedonorus arundinaceus* (festuca alta) infectadas con endófito silvestre *Epichloë coenophiala* proveniente de semilla de plantas aleatoriamente seleccionadas de un pastizal natural (FNE+) o de un cultivar comercial libre de endófito (FCE-) (Experimento 1), b) pasturas mezcla de FCE- y FNE+ con leguminosas (*Lotus tenuis* y *Trifolium repens*) (Experimento 2); y c) evaluar la producción de biomasa subterránea de festuca alta en pasturas puras y mezclas sometidas a dos frecuencias de defoliación. Se llevaron a cabo dos experimentos a campo. El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado con arreglo factorial de dos factores: tipo de festuca alta (FNE+ y FCE-) y frecuencia de defoliación (alta: AF; baja: BF), con tres repeticiones. Se realizaron 5 cortes a 70 mm de altura desde el nivel del suelo en los tratamientos de BF y 9 en los de AF. Una vez finalizada la última cosecha de biomasa aérea, se determinó la biomasa de raíces de festuca en ambos experimentos. La producción de biomasa aérea total acumulada en las pasturas de festuca (tanto pura como en mezcla), durante todo el periodo experimental, no fue afectada ($p > 0.05$) por la frecuencia de defoliación ni por el tipo de pastura. No se detectó un efecto significativo ($p > 0.05$) de la frecuencia de defoliación ni del tipo de festuca alta sobre la biomasa de raíces de festuca alta, ni en las pasturas puras ni en las mezclas.

Palabras clave: *Festuca*, *Epichloë coenophiala*, *Lotus tenuis*, *Trifolium repens*, efecto de dilución.

Introducción

Festuca alta, *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort [sinónimo: *Festuca arundinacea* Schreb.] es una especie forrajera C₃ muy valorada por los productores ganaderos de la Pampa Deprimida, Buenos Aires, Argentina (Scheneiter et al., 2015). Esta especie puede establecer una relación simbiótica con el hongo endófito *Epichloë coenophiala* (Leuchtman et al., 2014), ex *Neotyphodium coenophialum* Glenn, Bacon & Hanlin (Glenn et al., 1996), que es asintomático y su dispersión se limita a través de semillas infectadas (Clay y Schardl, 2002). El hongo le proporciona a la planta protección contra los herbívoros, mayor habilidad competitiva y tolerancia a estreses ambientales (Malinowski y Belesky, 2000; White y Torres, 2009), mientras que el endófito se beneficia por tener asegurada su nutrición, dispersión y supervivencia (Siegel et al., 1987).

En los últimos años, numerosos trabajos hacen referencia al avance de festuca alta infectada en la región Pampeana de Argentina (Elizalde y Riffel, 2015; García et al., 2017). En este sentido, la mayor capacidad de las plantas de festuca infectada para sobrellevar los efectos adversos bióticos y abióticos, con respecto a las libres de endófito, contribuiría a explicar su expansión en diferentes ambientes como pasturas, pastizales y banquinas de las rutas (Shelby y Dalrymple, 1987; Petigrosso et al., 2013). El endófito sintetiza alcaloides extremadamente tóxicos para los animales que consumen el forraje y las semillas de las plantas infectadas (Evans et al., 2004; Schardl et al., 2013). Dicha toxicidad puede atenuarse ("efecto de dilución") si esta especie se siembra en mezcla con

leguminosas herbáceas forrajeras (Manzini, 1991; Petigrosso et al., 2018) y/o con gramíneas libres de endófito (Evans et al., 2012). Sin embargo, con el tiempo, las proporciones iniciales de las especies en las pasturas mezcla tienden a cambiar debido a la habilidad competitiva, que difiere entre especies, a las condiciones climáticas y a las respuestas a la frecuencia e intensidad de defoliación (Hoveland et al., 1999; Stuedemann y Seman, 2005). A su vez, la defoliación puede incidir sobre el crecimiento de los tejidos aéreos y subterráneos (Dawson et al., 2000; Ferraro y Oesterheld, 2002) y, consecuentemente, modificar la habilidad competitiva de las especies de la mezcla (Salminen y Grewal, 2002; Salminen et al., 2003).

Por lo expuesto anteriormente, surge la necesidad de identificar frecuencias de defoliación de pasturas mezcla de festuca alta y leguminosas que disminuyan la toxicidad del forraje de esas pasturas. Para ello se llevaron a cabo dos experimentos a campo cuyos objetivos específicos fueron: a) comparar el efecto de dos frecuencias de defoliación sobre la producción de materia seca aérea de pasturas puras de festuca alta infectadas con endófito silvestre proveniente de un pastizal natural (FNE+) o de un cultivar comercial libre de endófito (FCE-), b) evaluar el efecto de dichas frecuencias de defoliación sobre la producción aérea de pasturas mezcla de FCE- y FNE+ con leguminosas (*Lotus tenuis* Waldst. & Kit. ex Willd. y *Trifolium repens* L.), y c) evaluar la producción de biomasa subterránea de festuca alta en pasturas puras y mezclas sometidas a dos frecuencias de defoliación.

Materials and Methods

Lugar y conducción del experimento

El trabajo se realizó en el campo experimental de la Unidad Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Mar del Plata - Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Balcarce, Buenos Aires, Argentina) (37°45' S, 58°17' W, 130 m s.n.m). Se establecieron dos experimentos en un suelo Argiudol típico, con aptitud agrícola (pH = 6.6; MO = 5.9%; 28.1 mg P g⁻¹ y 33.3 mg NO₃-N g⁻¹, en los primeros 15 cm de profundidad). Las parcelas experimentales se sembraron el 27 de abril de 2015. Los experimentos contaron con diferentes especies componentes de la pastura. En ambos casos, el diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado con arreglo factorial de dos factores: tipo de festuca alta (FNE+ y FCE-) y frecuencia de defoliación (alta: AF; baja: BF), con tres

repeticiones. En el Experimento 1 se implantaron dos pasturas puras de festuca alta a partir de semilla proveniente de un pastizal del Partido de Mar Chiquita (37°32' S; 57°55' O) (FNE+, 100 % de infección con endófito silvestre, poder germinativo = 86 %), y otra a partir de semilla del cultivar comercial Continental LE 14-84 AURORA (FCE-, libre de endófito, poder germinativo = 92%). En el Experimento 2 se implantaron pasturas mezcla conformadas por cada una de las festucas del Experimento 1 y las leguminosas (L) *Lotus tenuis* (cv. Chajá, poder germinativo = 75%) y trébol blanco (*Trifolium repens*) proveniente del banco de semillas del suelo, obteniéndose las pasturas mezcla LFNE+ y LFCE-. El trébol blanco, cuya densidad media ($\pm$ error estándar) fue similar en todas las parcelas (26 $\pm$ 2 plantas m⁻²), se incluyó debido a la dificultad que implicaba eliminarlo sin generar disturbios que afectaran a las plantas de *L. tenuis*. Dado que el suelo

fue preparado mediante un disquero y el uso de un rastrillo que permitió eliminar todo resto vegetal de las parcelas, el establecimiento de trébol fue de semillas, es decir que al momento de determinar la densidad aún no teníamos estolones. El nivel de infección endofítica en la semilla de festuca alta se determinó según la técnica de Saha et al. (1988). Previo a la siembra, la semilla de *L. tenuis* se escarificó con papel de lija e inoculó con *Rhizobium loti* (cepa 733).

Las 12 parcelas experimentales de cada experimento fueron de 3 m de largo x 1.4 m de ancho, separadas entre sí con caminos de 0.5 m de ancho. En ambos experimentos, la festuca alta se sembró a chorrillo en 4 surcos distanciados 0.35 m entre sí (Figura 1). En el Experimento 2, en los entresurcos de la gramínea, se sembró *L. tenuis* empleando la misma técnica. Una vez emergidas las plántulas, 50 días después de la siembra, la densidad se ajustó por raleo a aproximadamente 200 plantas de festuca alta m⁻² en ambos experimentos y 20 plantas de *L. tenuis* m⁻² en el Experimento 2, en función de lo recomendado por Vignolio et al. (2017). El

24/08/16 se llevó a cabo un corte de limpieza a 70 mm del nivel del suelo para uniformar las pasturas. A partir de esa fecha, se realizaron 5 cortes a la altura mencionada en los tratamientos de baja frecuencia de defoliación (BF) y 9 en los de alta frecuencia (AF). En la Tabla 1 se muestran las fechas de corte y el tiempo térmico acumulado desde el corte de limpieza para ambas frecuencias de defoliación. En ambos experimentos los cortes se realizaron, en promedio ($\pm$ desvío estándar), a 414 ± 128.6 °Cd y 746 ± 230.23 °Cd, para AF y BF, respectivamente. En la AF los intervalos de defoliación se establecieron considerando el tiempo térmico acumulado (TT, Temperatura base = 4 °C) entre defoliaciones sugerido por Agnusdei y Mazzanti (2001) y Borrajo (2015), ajustado en función de la precipitación y la altura de las plantas. En la BF los cortes se efectuaron cada dos cortes en AF. En ambos experimentos la altura de las plantas previo a la defoliación fue, en promedio, 32.82 ± 1.06 cm y 40.37 ± 1.09 cm en AF y BF, respectivamente. Las frecuencias de defoliación aplicadas impidieron la producción de semilla en todas las especies.

Figura 1. Esquema de los arreglos de las especies en las parcelas experimentales compuestas por A) mezcla de *Schedonorus arundinaceus*, *Trifolium repens* y *Lotus tenuis* (Experimento 2) y B) *Schedonorus arundinaceus* puro (Experimento 1). Referencias: líneas negras corresponden a surcos de *Schedonorus arundinaceus*, líneas grises quebradas, a surcos de las leguminosas y el rectángulo punteado de negro es la superficie de muestreo.

Determinaciones en ambos experimentos

Producción de biomasa aérea

La producción de la biomasa aérea se determinó sobre los dos surcos centrales de festuca alta de cada parcela, cortando con tijera de mano una superficie de 1 m² (0.70 m x 1.42 m) a 70 mm del nivel del suelo. En el Experimento 2 la superficie cosechada incluía dos surcos de festuca alta y dos de *L. tenuis*, y las plantas de *T. repens* contenidas en dicha superficie.

Posteriormente, se cortó el resto de la parcela para uniformizar la altura del canopeo. Las muestras se guardaron en bolsas de papel rotuladas y, en el laboratorio, se llevó a cabo la separación botánica de festuca alta y malezas en el Experimento 1, y de festuca alta, leguminosas (*L. tenuis* y *T. repens*) y malezas que escaparon al control manual en el Experimento 2. Todos los componentes se secaron en estufa de aire forzado a 60 °C hasta peso constante y se determinó el peso seco.

Tabla 1. Fechas de corte y tiempo térmico acumulado (TT, temperatura base = 4 °C) desde el corte de limpieza efectuado el 24/08/16 para dos frecuencias de defoliación (alta: AF; baja: BF). Fecha de siembra 27/04/15.

Frecuencia de defoliación	Fecha de corte	TT (°Cd)
AF	30/09/16	292
BF	21/10/16	494
AF	11/11/16	743
BF y AF	06/12/16	1114
AF	09/01/17	1732
BF y AF	31/01/17	2141
AF	03/03/17	2713
BF y AF	30/03/17	3092
AF	05/05/17	3530
BF y AF	06/06/17	3730

Biomasa de raíces de festuca alta

El 13/06/17, una vez finalizada la cosecha de la biomasa aérea, se determinó la biomasa de raíces de festuca alta en ambos experimentos. Sobre uno de los surcos centrales de festuca, se enterró a 0.15 m de profundidad un cilindro de PVC de 0.20 m de diámetro (4712.39 cm³). Se ha determinado que a dicha

profundidad se encuentra aproximadamente el 80 % de la biomasa de las raíces de festuca alta (Dawson et al., 2000; Formoso, 2010). Las muestras de suelo se lavaron con agua corriente sobre un tamiz de 1 mm y las raíces recuperadas se secaron en estufa de aire forzado a 60 °C hasta peso seco constante. Se asumió que todas las raíces cosechadas eran de festuca alta.

Datos meteorológicos

Los valores promedio diarios de las temperaturas máximas y mínimas del aire, de la precipitación acumulada y de la evapotranspiración potencial Penman-Monteith (ETP; Allen et al., 1998) para los meses en que se desarrollaron los experimentos se obtuvieron a partir de los datos registrados en la Estación Agrometeorológica de la EEA Balcarce del INTA, ubicada aproximadamente a 500 m del sitio experimental (Tabla 2). Durante el período experimental, las precipitaciones fueron escasas en los meses de primavera del año 2016 – verano del año 2017 (Tabla 2). En términos generales, durante el período experimental, la evapotranspiración acumulada fue superior a las precipitaciones acumuladas.

Tabla 2. Variables meteorológicas registradas durante el período experimental.

Año Mes	2015				2016				2017			
	Tmáx. (°C)	Tmín. (°C)	PP (mm)	ETP (mm)	Tmáx. (°C)	Tmín. (°C)	PP (mm)	ETP (mm)	Tmáx. (°C)	Tmín. (°C)	PP (mm)	ETP (mm)
Ene.					29.9	14.4	77.6	163.6	30.5	13.9	98.7	185.1
Feb.					29.3	15.4	136.9	131.2	27.3	16.9	82.8	107.5
Mar.					25.6	10.9	52.5	104.6	23.7	13.2	87.7	92.8
Abr.					19.6	9.5	81.8	55.9	20.5	10.7	249.0	56.5
May.	20.2	8.6	24.5	47.4	14.2	5.9	73.5	26.9	17.4	7.3	36.2	32.6
Jun.	15.8	5.1	37.5	41.4	12.9	4.0	32.8	22.7	14.2	5.2	84.7	27.0
Jul.	14.9	4.0	49.8	34.6	13.2	4.2	52.1	27.1				
Ago.	16.3	6.0	175.5	49.3	17.3	4.1	3.5	56.4				
Sep.	17.5	3.9	23.3	74.7	17.6	5.5	75.6	67.8				
Oct.	17.4	5.7	86.2	81.2	19.9	8.0	51.5	89.6				
Nov.	25.0	9.7	81.3	130.3	25.3	9.4	38.4	143.8				
Dic.	29.7	13.2	10.5	169.5	31.0	13.8	43.8	201.3				

Temperatura máxima (Tmáx.) y mínima (Tmín.) del aire, precipitaciones (PP) y evapotranspiración potencial Penman-Monteith (ETP). Datos de la Estación Agrometeorológica de la EEA Balcarce del INTA.

Análisis estadístico

Debido a la diferencia en el número de cortes entre ambos niveles de frecuencia de defoliación desde el corte de limpieza al corte final (i.e. 5 y 9 para BF y AF, respectivamente), se analizó la biomasa aérea total acumulada en cada uno los 4 períodos comprendidos entre las fechas de corte en que ambas frecuencias coincidieron (i.e. 24/08/16, 06/12/16, 31/01/17,

30/03/17 y 06/06/17, Tabla 1) mediante modelos que consideraron medidas repetidas en el tiempo y distinta variabilidad según el período. Además, se analizó la biomasa aérea total acumulada entre el 24/08/16 y el 06/06/17 y la biomasa subterránea mediante un ANOVA. Para las comparaciones de medias se utilizó la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). Todos los análisis se realizaron empleando el software estadístico R (R Development Core Team, 2018).

Resultados y Discusión

El presente experimento comparó la respuesta a dos frecuencias de defoliación de plantas de festuca alta provenientes de semilla mejorada libre de endófito (FCE-) y de una población naturalizada infectada con endófito silvestre (FNE+) en pasturas puras y en mezcla con las leguminosas *Lotus tenuis* y *Trifolium repens*. Bajo nuestras condiciones experimentales no fue posible evaluar el efecto aislado del endófito debido a las diferencias genotípicas existentes entre las poblaciones utilizadas (Hill et al., 1990; Saikkonen et al., 2004). Sin embargo, la finalidad de este experimento fue avanzar en el conocimiento de las interacciones entre las especies mencionadas y evaluar los efectos de la frecuencia de defoliación sobre el crecimiento de las mismas.

Producción de biomasa aérea

Experimento 1

Cuando se analizó la biomasa total acumulada en los cuatro períodos comprendidos entre fechas de corte

coincidentes, se detectó interacción frecuencia de defoliación x período ($p = 0.005$). Ello se debió a que en el período 4 la biomasa acumulada en BF fue significativamente superior a la de AF, mientras que, en los otros períodos, no hubo diferencias (Figura 2). En ambas frecuencias de defoliación las menores acumulaciones se registraron en los períodos 2 y 4. No se halló efecto principal del tipo de festuca alta ($p = 0.617$).

En el caso de la biomasa total acumulada durante el período experimental, no se detectó interacción entre tipo de festuca alta y frecuencia de defoliación ($p = 0.288$), ni diferencias debidas al tipo festuca alta ($p = 0.527$) ni a la frecuencia de defoliación ($p = 0.76$). Las medias estimadas para cada tratamiento fueron: FNE+BF = 755.2 g MS m⁻², FNE+AF = 624.8 g MS m⁻², FCE-BF = 593.9 g MS m⁻², FCE-AF = 667.6 g MS m⁻².

Figura 2. Biomasa aérea acumulada (g MS/m²) en pasturas puras de festuca alta sometidas a dos frecuencias de defoliación (alta: AF, y baja: BF). Se muestran los resultados para la biomasa aérea acumulada en cuatro períodos: del 24/08/16 al 5/12/16, del 6/12/16 al 30/01/17; del 31/01/17 al 29/03/17, y del 30/03/17 al 6/06/17 (Experimento 1). Los círculos negros indican las medias y los segmentos grises los intervalos de confianza al 95 %. Las flechas permiten la comparación de los tratamientos de frecuencia de defoliación dentro de cada período evaluado. Si la flecha de la media de un grupo se superpone con la del otro dentro del mismo período, la diferencia no es significativa (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Experimento 2

Cuando se analizó la biomasa total acumulada en los cuatro períodos comprendidos entre fechas de corte coincidentes, la interacción frecuencia de defoliación x período fue significativa ($p < 0.001$). En los períodos 1 y 3 no hubo diferencia significativa en la acumulación de biomasa entre ambas frecuencias de defoliación, mientras que en el período 2, las pasturas sometidas a AF produjeron más biomasa y lo contrario ocurrió en el período 4 (Figura 3). Por otro lado, en BF la menor acumulación se registró en el período 2 mientras que en AF, en el período 4. No se halló efecto principal del tipo de pastura mezcla ($p = 0.287$).

Para la biomasa total acumulada durante el período experimental, no se detectó interacción entre tipo de pastura mezcla y frecuencia de defoliación ($p = 0.6381$), ni diferencias entre tipos de pastura mezcla ($p = 0.1201$) ni entre frecuencias de defoliación ($p =$

0.5344). Las medias estimadas para cada tratamiento fueron: FNE+BF = 991.75 g MS m^{-2} , FNE+AF = 976.16 g MS m^{-2} , FCE-BF = 870.13 g MS m^{-2} , FCE-AF = 759.49 g MS m^{-2} .

Tanto para la producción de biomasa total acumulada de festuca alta como de leguminosas en las mezclas no se detectaron interacciones ($p = 0.5304$ y $p = 0.8758$, respectivamente) ni efecto de la frecuencia de defoliación ($p = 0.3143$ y $p = 0.4899$, respectivamente) ni del tipo de pastura mezcla ($p = 0.1365$ y $p = 0.9975$, respectivamente). Festuca alta tuvo un mayor aporte de biomasa que las leguminosas (Figura 4). Durante el período experimental se acumularon, en promedio, 740.12 g MS de festuca alta/ m^2 y 101.65 g MS leguminosa/ m^2 . La biomasa de las malezas representó aproximadamente el 5 % de la biomasa total y estuvo representada por *Brassica* spp, *Bromus catharticus*, *Cirsium* spp. y *Lolium* spp.

Figura 3. Biomasa aérea acumulada (g MS/ m^2) en pasturas mezcla de festuca alta y leguminosas (*Lotus tenuis* y *Trifolium repens*) sometidas a dos frecuencias de defoliación (alta: AF, y baja: BF). Se muestran los resultados para la biomasa aérea acumulada en cuatro períodos: del 24/08/16 al 5/12/16, del 6/12/16 al 30/01/17; del 31/01/17 al 29/03/17, y del 30/03/17 al 6/06/17 (Experimento 2). Los círculos negros indican las medias y los segmentos grises los intervalos de confianza al 95 %. Las flechas permiten la comparación de los tratamientos de frecuencia de defoliación dentro de cada período evaluado. Si la flecha para un grupo se superpone con la del otro dentro del mismo período, la diferencia no es significativa (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Figura 4. Composición porcentual de la biomasa total acumulada en pasturas mezcla de festuca alta y leguminosas (*Lotus tenuis* y *Trifolium repens*) sometidas a dos frecuencias de defoliación (alta: AF, y baja: BF). Se muestran los resultados para la biomasa aérea acumulada en cuatro periodos: del 24/08/16 al 5/12/16, del 6/12/16 al 30/01/17; del 31/01/17 al 29/03/17, y del 30/03/17 al 6/06/17 (Experimento 2). Referencias: festuca leguminosa y malezas. LFNE+: pasturas mezclas de leguminosas y festuca alta infectada con endófito silvestre. LFCE-: pasturas mezclas de leguminosas y festuca alta libre de endófito.

La falta de diferencias halladas en la producción de biomasa total, tanto en las pasturas puras como en las mezclas, podría deberse a las condiciones de déficit hídrico observadas en el periodo experimental. El déficit hídrico podría haber afectado negativamente la producción de biomasa del tipo de festuca alta infectada, ya que se ha demostrado que la misma se reduce en favor de ajustes fisiológicos que aseguran la supervivencia de las plantas (Assuero et al., 2006). En la bibliografía se encuentran resultados dispares sobre el efecto de la frecuencia de defoliación de festuca alta sobre la producción de materia seca aérea, probablemente debido a diferencias en los intervalos de defoliación, la altura de corte y las condiciones ambientales. Por ejemplo, Kerrisk y Thomson (1990) encontraron que el rendimiento de festuca alta fue mayor cuando la pastura fue defoliada a intervalos más cortos (15 días vs. 30 días). Sin embargo, Kerrisk y Thomson (1990) no coinciden con los reportados por Bell (1985) para una pastura mixta, ya que festuca alta produjo más materia seca cuando fue sometida a una baja frecuencia de defoliación (intervalo de defoliación de 63 días vs. 21 días). Por su parte, Schiller y Lazemby (1975) mostraron que la producción total de materia seca en pasturas de festuca alta de 2 años de implantación fue mayor con baja que con alta frecuencia de defoliación (intervalos de defoliación de 16 y 2 semanas, respectivamente). Petigrosso et al. (2018) compararon la producción de biomasa aérea de pasturas de festuca alta infectada con endófito en

monocultivo y en mezcla con *Lotus tenuis* bajo dos frecuencias de defoliación (alta: cada 7-9 y baja: 14-21 días, variando el intervalo con la estación del año). Estos autores encontraron que la biomasa aérea total acumulada fue similar en el monocultivo y en la mezcla, aunque en el monocultivo tendió a ser menor con alta frecuencia de defoliación en comparación con las demás combinaciones de tratamientos. Por otro lado, la biomasa producida por las leguminosas fue muy baja respecto a la de festuca alta (Figura 3). Evidentemente, las plantas de festuca alta presentaron mayor capacidad competitiva y/o tolerancia a crecer en condiciones de bajas precipitaciones (Turner et al., 2012). En ese sentido, se ha sugerido que, en verano, el déficit hídrico y las altas temperaturas tienen un efecto más negativo que el régimen de defoliación sobre la productividad de trébol blanco en mezcla con festuca alta (García et al., 2010).

Biomasa de raíces de festuca alta

En ambos experimentos, no se detectó interacción, ni efecto del tipo de festuca alta o de pastura, ni de la frecuencia de defoliación ($p > 0.05$). Los valores promedio de biomasa de raíces fueron 3.76 ± 1.23 mg MS/cm³ y 3.11 ± 0.85 mg MS/cm³ para los Experimento 1 y 2, respectivamente. La falta de diferencias significativas en la biomasa de las raíces de festuca alta al final del periodo experimental, bajo las frecuencias de defoliación estudiadas, difiere de lo

reportado por Formoso (2010) quien encontró que la biomasa de raíces de esta especie disminuyó con el incremento de la frecuencia de defoliación (e.g. con cuatro defoliaciones la biomasa de raíces fue un 50 % menor que la registrada con una sola). Por otro lado, la producción de raíces puede diferir entre especies manejadas bajo un mismo tratamiento de corte. Así, por ejemplo, Dawson et al., (2000) cultivaron plantas de *Festuca ovina*, *F. rubra*, *Agrostis capillari* y *Poa trivialis* durante un año bajo tres niveles de cortes (sin cortes, cortadas cada cuatro semanas a 4 cm de altura y cada ocho semanas a la misma altura. En *Poa ligulari*, una

especie de la estepa graminosa de la Patagonia argentina, la biomasa de raíces no fue afectada por diferentes frecuencias de corte mecánico de la biomasa aérea (Gittins et al., 2010). La gran variabilidad en los resultados reportados en la bibliografía pone en evidencia que la biomasa de raíces de gramíneas no sólo es afectada por la frecuencia de defoliación, sino que las respuestas difieren entre especies, y que varían dependiendo de la altura de defoliación, del momento del año y las condiciones experimentales (Dawson et al., 2000).

Conclusiones

Para nuestras condiciones experimentales no se detectó efecto de la frecuencia de defoliación sobre la producción de biomasa acumulada durante todo el periodo experimental de las pasturas, puras ni en mezcla con leguminosas, de festuca silvestre infectada

ni de la comercial libre de endófito. La biomasa de raíces de festuca alta no varió con la frecuencia de defoliación, el tipo de festuca alta ni la presencia de leguminosas.

Reconocimientos

El presente estudio se desarrolló en el marco del Proyecto 15/A542, AGR540/17 de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar

del Plata. Los autores agradecen a la empresa KWS Balcarce por el suministro de la semilla empleada.

Conflicto de interés: Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Literature Cited

- Agnusdei M.G. and A. Mazzanti. 2001. Frequency of defoliation of native and naturalized species of the Flooding Pampas (Argentina). *Grass and Forage Science* 56: 344-351. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2494.2001.00283.x>
- Allen, R.G., L.S. Pereira, D. Raes and M. Smith. 1998. Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements-FAO Irrigation and drainage paper 56. FAO, Roma, vol. 300, no 9, p. D05109. <https://cutt.ly/hQkqt9O>
- Assuero, S.G., J.A. Tognetti, M.R. Colabelli, M. G. Agnusdei, E. C. Petroni and M. A. Posse. 2006. Endophyte infection accelerates morpho-physiological responses to water deficit in tall fescue. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 49: 359-370. <https://doi.org/10.1080/00288233.2006.9513726>
- Bell, C.C. 1985. Effect of defoliation frequency on simulated swards of ryegrass, tall fescue, and a 50/50 mixture of the two species. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 28: 307-312. <https://doi.org/10.1080/00288233.1985.10430432>
- Borrajó, C. I. 2015. Implantación de cultivares de festuca en la Cuenca del Salado. Recuperado de <https://inta.gob.ar/documentos/implantacion-de-cultivares-de-festuca-en-la-cuenca-del-salado>
- Clay, K. and C. Schardl. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist* 160: 99-127. <https://doi.org/10.1086/342161>
- Dawson, L.A., S.J. Grayston and E. Paterson. 2000. Effects of grazing on the roots and rhizosphere of grasses CAB International 2000. En: Lemaire, G. et al. (Eds.) *Grassland ecophysiology and grazing ecology* (pp. 61-84). CABI Publishing, New York.
- Elizalde, J. y Riffel, S. 2015. Alerta sobre festucosis en la Cuenca del Salado. [en línea] <http://www.valorcarne.com.ar/alerta-sobre-festucosis-en-la-cuenca-del-salado/> [consulta: 20 de febrero de 2015].
- Evans, T.J., G.E. Rottinghaus and S.W. Casteel. 2004. Ergot. En: Plumlee, K.H. (Ed.) *Clinical Veterinary Toxicology* (pp. 239-243). Mosby, St. Louis, MO.
- Evans, T.J., D.J. Blodgett and G. E. Rottinghaus. 2012. Fescue toxicosis. En: Gupta, R.C. (Ed.) *Veterinary toxicology*. (pp. 1166-1180). Academic Press, San Diego, CA.
- Ferraro, D.O. and M. Oosterheld. 2002. Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos* 98: 125-133. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600->

- Formoso, F. 2010. *Festuca arundinacea*, manejo para producción de forraje y semillas. Programa Nacional de Pasturas y Forrajes. INIA La Estanzuela. 200 p.
- García, J.A., G. Piñeiro, S. Arana and F. H. Santiñaque. 2010. Moisture Deficit and Defoliation Effects on White Clover Yield and Demography. *Crop Ecology, Management & Quality* 50 (5): 2009-2020. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.10.0614>
- García, J.A., J.C. Canton, B.L. García, J.F. Micheloud, C.M. Campero, E.J.A. Spath and E.R. Odrizola. 2017. Retrospective analysis of cattle poisoning in Argentina (2000-2013). *Revista Pesquisa Veterinária Brasileira* 37: 210-214. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000300002>
- Gittins, C.; C.A. Busso, G. Becker, L. Ghermandi, G. Siffredi, G. 2010. Defoliation frequency affects morphophysiological traits in the bunchgrass *Poa ligularis*. *International Journal of Experimental Botany* 79: 55-68. <https://doi.org/10.32604/phyton.2010.79.055>
- Glenn, A.E., C.W. Bacon, R. Price and R.T. Handil. 1996. Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications. *Mycologia* 88: 369-383. <https://doi.org/10.1080/00275514.1996.12026664>
- Hill, N.S., W.C. Stringer, G.E. Rottinghaus, D.P. Belesky, W.A. Partot and D.D. Pope. 1990. Growth, morphological and chemical component responses of tall fescue to *Acremonium coenophialum*. *Crop Science* 30: 156-161. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X00300010034x>
- Hoveland, C.S., J.H. Bouton and R.G. Durham. 1999. Fungal endophyte effects on production of legumes in association with tall fescue. *Agronomy Journal* 91: 897-903. <https://doi.org/10.2134/agronj1999.916897x>
- Kerrisk, J.J. and N.A. Thomson. 1990. Effect of intensity and frequency of defoliation on growth of ryegrass, tall fescue and phalaris. *Proceedings New Zealand Grasslands Association* 51: 135-138. <https://doi.org/10.33584/jnzg.1990.51.1902>
- Leuchtmann, A., C.W. Bacon, C.L. Schardl, J.F. Jr. White and M. Tadych. 2014. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycology* 106: 202-215. <https://doi.org/10.3852/13-251>
- Malinowski, D. and D. Belesky. 2000. Adaptations of endophyte infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science* 40: 923-940. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.404923x>
- Manzini, N.A. 1991. Estudios sobre *Acremonium* sp. en *festuca*. INIA. Unidad de Difusión e Información Tecnológica. Montevideo-Uruguay. Serie Técnica N° 8. 16 p.
- Petigrosso, L.R., M.N. Colabelli, O.N. Fernández, V. Ispizúa and M.G. Cendoya. 2013. Incidence of the endophyte fungus *Neotyphodium coenophialum* in pastures of tall fescue differing in age and soil characteristics. *African Journal of Agricultural Research* 8: 2655-2662. <https://doi.org/10.5897/AJAR12.2106>
- Petigrosso, L.R., S.G. Assuero, O.R. Vignolio, Y. Romano, M.N. Colabelli, A. Salvat and D. Cristos. 2018. Interacción entre *festuca* alta infectada con endófito y *Lotus tenuis* bajo dos frecuencias de defoliación. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 44(1): 41-48. <http://ria.inta.gob.ar/sites/default/files/trabajosnprensa/petigrosso-castellano-2.pdf>
- R. Development Core Team. 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.Rproject.org>
- Saha, C.D., M.A. Jackson and J.M. Johnson-Cicalese. 1988. A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grass. *Phytopathology* 78: 237-239. <https://doi.org/10.1094/Phyto-78-237>
- Saikkonen, K., P. Wali, M. Helander and S.H. Faeth. 2004. Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends Plant Science* 9: 275-280. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.04.005>
- Salminen, S.O. and P.S. Grewal 2002. Does decreased mowing frequency enhance alkaloid production in endophytic tall fescue and perennial ryegrass? *Journal of Chemical Ecology* 28: 939-950. <https://doi.org/10.1023/a:1015201616013>
- Salminen, S.O., P.S. Grewal and M. F. Quigley. 2003. Does mowing height influence alkaloid production in endophytic tall fescue and perennial ryegrass? *Journal of Chemical Ecology* 29: 6-10. <https://doi.org/10.1023/A:1024253117649>
- Schardl, C.L., C.A. Young, J. Pan, S. Florea, J.E. Takach, D.G. Panaccione, M. Farman, J. Webb, J. Jaromczyk, N. Charlton, P. Nagabhyru, L. Chen, C. Shi and A. Leuchtmann. 2013. Currencies of mutualisms: sources of alkaloid genes in vertically transmitted *Epichloë*. *Toxins* 5: 1064-1088. <https://doi.org/10.3390/toxins5061064>

- Scheneiter, J.O., I.I. Kaufmann, A.R. Ferreyra and R.T. Llorente. 2015. The herbage productivity of tall fescue in the Pampas region of Argentina is correlated to its ecological niche. *Grass Forage Science* 71: 403-412. <https://doi.org/10.1111/gfs.12184>
- Schiller, J.M.A. and A. Lazenby. 1975. Yield performance of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) population on the Northern Tablelands of New South Wales. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 15: 391-397. <https://doi.org/10.1071/EA9750391>
- Shelby, R.A. and L.W. Dalrymple. 1987. Incidence and distribution of the tall fescue endophyte in the United States. *Plant Disease* 71: 783-786. <https://doi.org/10.1094/PD-71-0783>
- Siegel, M.R., G.C.M. Latch and M. C. Johnson. 1987. Fungal endophytes of grasses. *Annual Review of Phytopathology* 25: 193-315. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.21.110190.001423>
- Stuedemann, J.A. and D.H. Seman. 2005. Integrating genetics, environment, and management to minimize animal toxicoses. En: Roberts, C.A., West, C.P., Spiers, D.E. (Eds). *Neotyphodium in Cool-Season Grasses*. (pp. 305-324). Blackwell, Oxford, UK.
- Turner, L.R., M.M. Holloway-Phillips, R.P. Rawnsley, D.J. Donaghy and K.G. Pembleton. 2012. The morphological and physiological responses of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) and tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb, syn. *Schedonorus phoenix* Scop.) to variable water availability. *Grass Forage Science* 67: 507-518. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00866.x>
- Vignolio, O.R., L. Petigrosso, I. Rodríguez and N. Murillo. 2017. Effects of temperature, photoperiod and defoliation on flowering time of *Lotus tenuis* (Fabaceae) in Buenos Aires, Argentina. *Experimental Agriculture* 54: 417-427. <https://doi.org/10.1017/S0014479717000126>
- White, J.F. Jr. and M.S. Torres. 2009. *Defensive mutualism in microbial symbiosis*. CRC Press. Boca Raton, FL. 430 p. <https://doi.org/10.1201/9781420069327>