

## IMPACTO DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DE REMOCIÓN DE LA VEGETACIÓN EN PASTURAS DE FESTUCA ALTA INFECTADA CON ENDÓFITO ASEXUAL

*Impact of different vegetation removal treatments on tall fescue pastures infected with asexual endophyte*

**Petigrosso, L.R.<sup>1</sup>, Laboranti, M.A.<sup>1</sup>, Vignolio, O.R.<sup>1</sup>, Echeverría, M.M.<sup>1</sup> y Castaño, J.A.<sup>1,2</sup>**

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.  
INTA, Centro Regional Buenos Aires Sur, EEA Balcarce, Argentina.

### RESUMEN

El objetivo de este experimento fue analizar en microcosmos de pasturas de festuca alta infectadas con *Epichloë coenophiala* a) el impacto de diferentes tratamientos de remoción de la vegetación, desarraigo manual y tratamientos químicos con dos herbicidas; b) el establecimiento de plántulas de festuca y otras especies de la comunidad vegetal a partir de las semillas presentes en el banco del suelo; c) la viabilidad del endófito en las plántulas de festuca emergidas y d) la producción de semillas de festuca de las plántulas emergidas y/o de las plantas que sobrevivieron al tratamiento y la transmisión vertical del endófito en las semillas. Se extrajeron y acondicionaron 24 microcosmos de una pastura en estado vegetativo de más de 15 años de implantación, dominada por festuca. Se aplicaron 8 niveles de remoción de la vegetación: 1. testigo con corte mecánico a 80 mm de altura (T); 2. desarraigo manual de plantas (Rem); 3 y 4. herbicida glifosato (3 l/ha) con y sin posterior eliminación de la vegetación superficial, HGRem y HG, respectivamente; 5 y 6. herbicida metsulfuron (5 g/ha) con y sin eliminación de la vegetación superficial, HMRem y HM, respectivamente; 7 y 8. ambos herbicidas con y sin posterior eliminación de la vegetación superficial, HGMRem y HGM, respectivamente. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con 3 repeticiones. Con remoción manual de la vegetación hubo mayor establecimiento de plántulas de festuca desde el banco de semillas respecto a aquellos con tratamientos químicos. Las plántulas de festuca originadas del banco conservan la viabilidad del endófito. En los tratamientos HM, HMRem, HG y HGRem se observó una modificación sustancial de la riqueza de especies durante el avance del tiempo y se registró la pérdida de leguminosas forrajeras como *Lotus tenuis*, *Trifolium repens* y *T. subterraneum*. La remoción química disminuyó la producción de semillas por planta respecto a la remoción manual. Las semillas cosechadas en los tratamientos T, Rem, HM y HMRem fueron positivas al diagnóstico de endófito, es decir, no se registraron fallas en la transmisión del endófito. En los tratamientos HG, HGRem, HGM y HGMRem se registró una falla total en la transmisión del endófito por semillas, dado que directamente no hubo producción de semillas. En base a estos resultados, es posible que la erradicación de plantas de festuca infectadas no sea efectiva con los métodos de manejo propuestos si no se tiene presente el tamaño del banco de semillas del suelo de dicha especie y/o la regeneración de las plantas infectadas que sobrevivieron al tratamiento.

**Palabras clave.** *Schedonorus arundinaceus*, *Epichloë coenophiala*, glifosato, metsulfuron, banco de semillas.

### SUMMARY

The objective of this experiment was to analyze, in microcosms of tall fescue pastures infected with *Epichloë coenophiala* a) the impact of different treatments of vegetation removal, manual uprooting and chemical treatments with two herbicides; b) the establishment of tall fescue seedlings and other species of the plant community from the seeds in the soil bank; c) the viability of the endophyte in the emerged fescue seedlings and d) the production of fescue seeds from emerging seedlings and / or plants that survived the treatment and vertical transmission of the endophyte in the seeds.. Twenty four microcosms were extracted and conditioned from a pasture in a vegetative state of more than 15 years old of implantation, dominated by tall fescue. Eight levels of vegetation removal were applied: 1, control, cutting with hand scissors to 80 mm above ground level (T); 2, handheld uprooting of all plants species (Rem); 3 and 4, glyphosate herbicide (3 l/ha) with and

Recibido: octubre de 2018

Aceptado: diciembre de 2019

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Ruta 226 km 73,5, 7620 Balcarce, Argentina.

E-mail: [lpetigrosso@mdp.edu.ar](mailto:lpetigrosso@mdp.edu.ar)

<sup>2</sup> INTA, Centro Regional Buenos Aires Sur, EEA Balcarce, Ruta 226 km 73,5, 7620-Balcarce, Argentina.

without later elimination of dead plant cover, HGRem and HG, respectively; 5 and 6, metsulfuron herbicide (5 g/ha) with and without removal of dead plant cover, HMRem and HM, respectively; 7 and 8, both herbicides with and without removal of dead plant cover, HGMRem and HGM; respectively. The experimental design was completely randomized with 3 repetitions. With manual removal of the vegetation there was a bigger establishment of tall fescue seedlings from the soil seed bank compared to those with chemical treatments. The fescue seedlings originated conserve the viability of the endophyte. In the HM, HMRem, HG and HGRem treatments a substantial modification of the species richness was observed during the advance of time and the loss of forage legumes such as *Lotus tenuis*, *Trifolium repens* and *T. subterraneum* was recorded. The chemical removal reduced the production of seeds per plant respect to the manual removal. The seeds harvested in the T, Rem, HM and HMRem treatments were positive for the diagnosis of endophyte, that is, no failures were recorded in the transmission of the endophyte. In the treatments HG, HGRem, HGM and HGMRem there was a total failure in the transmission of the endophyte by seeds, since directly there was no seed production. Based on these results, it is possible that the eradication of infected fescue plants will not be effective with the proposed management methods if the size of the soil seed bank of this species is not considered and / or plant regeneration infected which survived the treatment.

**Key words.** *Schedonorus arundinaceus*, *Epichloë coenophiala*, glyphosate, metsulfuron, seed bank.

## Introducción

Festuca alta es una forrajera de clima templado muy valorada por su rusticidad y plasticidad fenotípica, en los sistemas de producción extensivos ganaderos en varios lugares del mundo (Mazzanti et al, 1992; Hannaway et al, 1999; Gibson y Newman, 2001; Lattanzi et al, 2007). Esta especie se propaga por semillas y, al igual que otras gramíneas C<sub>3</sub>, puede establecer una relación simbiótica con hongos endófitos asexuales de transmisión vertical a través de semillas infectadas, en adelante E+ (Clay y Schardl, 2002). La importancia agronómica de esta asociación está dada, por un lado, por los efectos beneficiosos observados en la gramínea, sobre su crecimiento y la tolerancia a estreses bióticos y abióticos (Malinowski y Belesky, 2000; White y Torres, 2009; Omacini et al, 2013). Por otro lado, la importancia de dicha asociación se debe a la toxicidad provocada en el ganado que consume plantas infectadas, ocasionando la patología denominada *festucosis* (Bacon et al, 1977; Hoveland, 1993; De Battista et al, 1995). En tal sentido, en los establecimientos ganaderos, se busca reducir la presencia del hongo en las pasturas (Bacon et al, 1977; Stuedemann et al, 1988; Odrizola et al, 2002; Strickland et al, 2011).

En Argentina existen investigaciones sobre el manejo y control de pasturas de festuca alta infectada con endófito (Battista et al, 1997; Elizalde y Riffel, 2015; Petigrosso et al, 2018, 2019), sin embargo, en los últimos años se ha registrado un creciente número de reportes de casos de intoxicación con festuca infectada en la Depresión del Salado (Elizalde y Riffel, 2015; Cantón et al, 2016; García et al, 2017). En este sentido, pasturas de festuca alta sembradas con semilla libre de endófito son susceptibles a la invasión por plantas infectadas procedentes de la resiembra natural y, por consiguiente, el porcentaje de infección se incrementa con el avance del tiempo (Shelby y Dalrymple, 1993). Así, se ha relevado que poblaciones de festuca alta establecida en pasturas, pastizales y banquinas de rutas de la Depresión del Salado presentan cerca de un 100% de infección (Colabelli et al, 2006; Petigrosso et al, 2013).

Investigaciones recientes (Israel et al, 2016) se han centrado en limitar la formación de inflorescencias y producción de semillas en pasturas de festuca infectadas, mediante el uso de herbicidas como el metsulfuron (herbicida selectivo post-emergente). Por otro lado, algunos autores encontraron resultados transitorios en la erradicación de pasturas de festuca tóxicas usando glifosato (herbicida total de amplio espectro), solo o combinado con otros herbicidas, variando las épocas de aplicación y dosis (Hoveland et al, 1986; Bagegni et al, 1994; Hill et al, 2010). Estas prácticas resultaron a largo plazo ineficientes debido a que la población de festuca se restableció, tanto en la pastura como en el pastizal (Defelice y Henning, 1990). En tal sentido, es posible hipotetizar que la persistencia de la población de festuca guarda relación con el banco de semillas presentes en el suelo. Así, Fernández et al (2007) encontraron que la remoción del horizonte superficial (0 a 5 cm) del suelo a través del desarraigo del material vegetal en pasturas infectadas, promueve la germinación y emergencia de plántulas de festuca que conservan la viabilidad del endófito.

Frente a la incertidumbre de erradicación por método químico de las poblaciones de festuca E+ establecidas en pastizales y pasturas y el impacto del control sobre la estructura y el funcionamiento de la vegetación (*i.e.* disminución o eliminación total de algunas especies según Rodríguez y Jacobo, 2012), surge la necesidad de realizar estudios básicos que permitan evaluar el efecto de diferentes prácticas de manejo que realizan los productores ganaderos para erradicar plantas de festuca alta E+, y saber cuál es el rol del banco de semillas del suelo. El objetivo del presente trabajo fue analizar en microcosmos de pasturas de festuca alta infectadas con *Epichloë coenophiala*: a) el impacto de diferentes tratamientos de remoción de la vegetación, desarraigo manual y tratamientos químicos con dos herbicidas; b) el establecimiento de plántulas de festuca y otras especies de la comunidad vegetal a partir de las semillas presentes en el banco del suelo; c) la viabilidad del endófito en las plántulas de festuca emergidas y d) la

producción de semillas de festuca de las plántulas emergidas y/o de las plantas que sobrevivieron al tratamiento y la transmisión vertical del endófito en las semillas. Finalmente, los resultados se discuten teniendo presente el impacto que tienen las distintas prácticas de manejo sobre la población de festuca E+.

## Materiales y Métodos

### Instalación del experimento

Se identificó una pastura en estado vegetativo de más de 15 años de implantación, dominada por festuca alta, *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort [sinónimos: *Festuca arundinacea* Schreb., *Lolium arundinaceum* (Schreb.) S.J. Darbyshire, *Schedonorus phoenix* (Scop.) Holub], 100% infectada con hongo endófito *Epichloë coenophiala* (Leuchtmann et al, 2014), anteriormente clasificado como *Neotyphodium* Glenn, Bacon & Hanlin (Glenn et al, 1996). La pastura está ubicada sobre un relieve de media loma, en el establecimiento ganadero "San Alberto" del partido de Lobería (latitud: 38° 9'14" S; longitud: 58° 25'28" O, altitud: 68 m.s.n.m.). Para ello, previamente se realizó un muestreo de plantas de festuca en la pastura según la metodología propuesta por Peretti y Crenovich (1992). En el laboratorio se corroboró la presencia del hongo en las plantas de festuca mediante el análisis microscópico en las vainas de los macollos según la técnica de Belanger (1996). El 22/06/2017 se extrajeron 24 microcosmos (prismas de suelo y vegetación intactos de 0,50 m de largo x 0,30 m de ancho x 0,20 m de profundidad) de dicha pastura. Una vez acondicionados, los microcosmos fueron ubicados en contenedores (unidades experimentales) en un predio 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.). El 5/07/2017 se realizó un corte de limpieza de la vegetación de los microcosmos para homogeneizar todas las unidades experimentales a 80 mm desde el nivel del suelo y se registró que en promedio ( $\bar{x} \pm$  error estándar) los microcosmos tenían  $36 \pm 6$  plantas de festuca alta antes de la aplicación de los tratamientos. Las unidades experimentales fueron mantenidas libres de ataques de herbívoros y regadas durante el período experimental.

### Tratamientos experimentales

El 21/07/2017 se aplicaron los tratamientos de remoción de la vegetación sobre los microcosmos. Se simuló las prácticas realizadas por los productores ganaderos para erradicar poblaciones de festuca E+ en los pastizales y pasturas de la Pampa Deprimida. En total se evaluaron 8 tratamientos: 1) **T**, testigo con corte mecánico (con tijera) a 80 mm; 2) **Rem**, remoción manual (desarraigo) de toda la cobertura vegetal y disturbio de los primeros 50 mm de suelo (remoción superficial); 3) **HG**, tratamiento químico con

herbicida total (glifosato 48% ia, en solución al 5%; equivalente a 3 l/ha.), sin disturbio del suelo y sin posterior eliminación la cobertura vegetal; 4) **HGRem**, tratamiento químico con herbicida total (glifosato) sin disturbio del suelo con posterior eliminación de la cobertura vegetal (corte al ras del suelo); 5) **HM**, tratamiento químico con herbicida selectivo (metsulfuron, equivalente a 5 g/ha, sin disturbio del suelo y sin posterior remoción de la cobertura vegetal); 6) **HMRem**, tratamiento químico con herbicida selectivo (metsulfuron) sin disturbio del suelo y con posterior eliminación de la cobertura vegetal (corte al ras del suelo); 7) **HGM**, tratamiento químico con mezcla de herbicida (glifosato, 3 l/ha y metsulfuron, 5 g/ha) sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; 8) **HGMRem**, tratamiento químico con mezcla de herbicida (glifosato, 3 l/ha y metsulfuron, 5 g/ha) con posterior eliminación de la cobertura vegetal (corte al ras del suelo). El glifosato es un herbicida no selectivo utilizado para el control post-emergente de malezas anuales y perennes y pre-emergencia del cultivo. Es de acción sistémica, absorbido por hojas y tallos verdes y traslocado hacia las raíces y órganos vegetativos subterráneos, ocasionando la muerte total de las malezas emergidas. Actúa sobre la síntesis de los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptófano, inhibiendo la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS). Los efectos son lentos, sobre todo en las especies perennes, donde después de transcurridos 4-5 días desde la aplicación comienza una clorosis y marchitamiento de hojas y tallos que culminan con la muerte total de las malezas sin dejar efectos residuales (CASAFE, 2005; Manual Fitosanitario, 2016). Por su parte, el metsulfuron es un herbicida selectivo post-emergente utilizado para el control de malezas latifoliadas en cereales de invierno. Está formulado a base de metsulfuron metil como gránulos dispersables al 60%, perteneciente al grupo de las sulfonilureas. La selectividad está dada porque en los cultivos no sensibles, el producto se metaboliza en compuestos inactivos. Se absorbe por raíz y hoja. Actúa afectando la síntesis de aminoácidos alifáticos de cadena ramificada, debido a la inhibición de la enzima acetolactato sintetasa (ALS). Inhibe la división y el crecimiento celular de las plantas. Este efecto es rápido en los puntos de crecimiento de las raíces y tallos de las especies sensibles. Los síntomas (clorosis y enrojecimiento internerval) no son apreciados hasta 1-3 semanas después de su aplicación, dependiendo de las condiciones de crecimiento de la maleza y la susceptibilidad. La residualidad de metsulfuron se prolonga por 2-3 semanas, lo que permite proteger al cultivo de la germinación de nuevas malezas (CASAFE, 2005; Manual Fitosanitario, 2016).

En los microcosmos con tratamientos químicos y con posterior eliminación de la cobertura vegetal, la remoción de la vegetación seca se realizó el 13/09/2017, a los 53 días de aplicados los herbicidas. Se procuró no disturbar el suelo.

### Determinaciones

*-Riqueza de especies vegetales y establecimiento de plántulas de festuca.* Se realizó el relevamiento de especies en cuatro momentos del período experimental: antes de la aplicación de los tratamientos (día 0), a los 45 (3/09/2017), 120 (21/11/2017) y 210 (21/02/2018) días desde la aplicación de los tratamientos. Las especies registradas se compararon con las identificadas antes de aplicar los tratamientos (riqueza inicial). Se utilizaron claves y se determinó la familia botánica y ciclo de vida de las especies (Cabrera, 1970; Montes et al, 2007). Además, en cada momento de muestreo, se contaron las plántulas emergidas de festuca desde el banco.

*-Presencia del endófito en las plántulas emergidas.* Después de 60 días de desarrollo vegetativo de las plántulas emergidas del banco de semillas, se realizó al análisis microscópico de endófito en un macollo extraído de cada planta según la técnica de Belanger (1996). Se consideró que el control sobre la viabilidad del hongo fuese a) efectivo: si el análisis daba libre de endófito (E-) y b) no efectivo (sin control) si el hongo aún permanecía en la planta (E+).

*-Cobertura vegetal.* Se tomaron fotografías con una cámara digital cada 15 días de cada microcosmo para analizar la cobertura vegetal verde. Las fotos fueron analizadas con el programa Cobcal (Ferrari et al, 2009). En total se tomaron 240 fotos durante 10 fechas (3 fotos para cada uno de los 8 tratamientos).

*-Producción de semillas y eficiencia de transmisión vertical del endófito.* Las plantas fueron cultivadas en los mismos microcosmos y se dejaron que lleguen a estado reproductivo para cosechar semillas, y así, registrar la producción de las mismas por planta. Luego, sobre estas semillas se determinó la presencia del endófito. La cosecha se realizó entre el 30/11/2017 y el 5/12/2017. Se tomaron al azar 5 plantas de cada microcosmo y se analizaron 20 semillas/pl mediante la técnica de Saha et al (1988).

### Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente aleatorizado con 3 repeticiones (en total 24 microcosmos = 8 tratamientos de remoción de la vegetación \* 3 repeticiones). Los efectos de factores experimentales y su posible interacción sobre la variación de las variables respuesta consideradas se analizaron mediante ANOVA. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza fueron verificados. Todos los análisis se realizaron empleando el software estadístico R (R Development Core Team, 2017).

## RESULTADOS

### Riqueza de especies vegetales

La riqueza de especies en los microcosmos antes de la aplicación de los tratamientos presentó un rango de 2 a 9 especies y varió en el tiempo según el tipo de remoción aplicado (Cuadro 1, anexo). En los tratamientos con

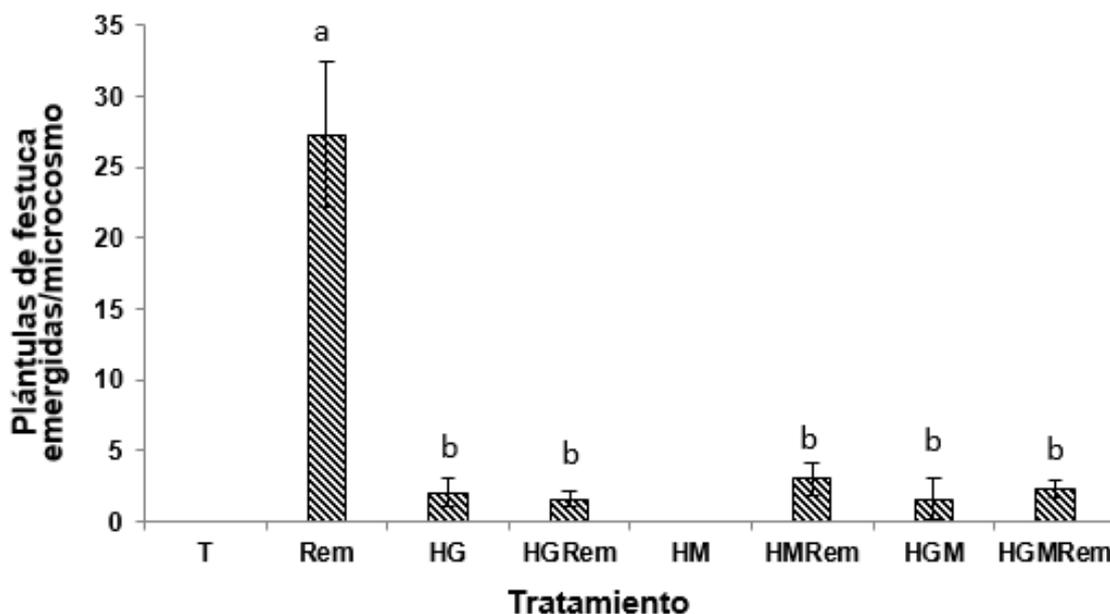
herbicidas (HM, HMRem, HG y HGRem) se observó una modificación sustancial de la riqueza de especies durante el avance del tiempo, pero no eliminó a la población de festuca alta infectada, sino que ésta se mantuvo, ya sea por regeneración o por restablecimiento a partir del banco de semillas del suelo. En estos tratamientos se registró la pérdida de leguminosas forrajeras valiosas como *Lotus tenuis*, *Trifolium repens* y *T. subterraneum*, y la aparición de otras especies (anuales y/o perennes) provenientes del banco de semillas del suelo, principalmente en aquellos tratamientos donde hubo remoción posterior de la cobertura vegetal (Cuadro 1, anexo). La riqueza a los 210 días de aplicados los tratamientos experimentales presentó un rango entre 3 y 7 especies, siendo el valor más bajo en aquellos tratamientos donde se aplicó herbicida metsulfuron o la mezcla de herbicidas con posterior eliminación de la cobertura vegetal (HM, HMRem, HMGRRem).

### Establecimiento de plántulas de festuca y presencia del endófito en las plántulas emergidas

La emergencia de plántulas de festuca se registró en casi todos los tratamientos de remoción, menos en los aquellos con metsulfuron y sin remoción de la cobertura vegetal (HM). En este último tratamiento, sobrevivieron todas las plantas presentes al inicio de la aplicación y por ende, no tuvo lugar la emergencia de nuevas plantas de festuca. En promedio (Figura 1), aparecieron más plántulas de festuca en los tratamientos **Rem** que en los tratamientos químicos ( $p < 0,00001$ ). Así, aproximadamente aparecieron 14 veces más plántulas de festuca en el tratamiento testigo en relación a los microcosmos tratados (27 vs 2 plántulas, respectivamente). Bajo tratamiento químico (glifosato) se registró un retraso en la emergencia de las plántulas de festuca. Las primeras plántulas se registraron a los 210 días de aplicado el tratamiento. En el tratamiento T (testigo) no hubo emergencia de plántulas de festuca. Todas las plántulas de festuca emergidas, independientemente del tratamiento, fueron E+ (100% de infección).

### Cobertura vegetal

La dinámica de la cobertura vegetal varió según el tipo de tratamiento de remoción de la vegetación aplicado sobre los microcosmos (Figura 2). En los tratamientos **Rem** la cobertura comenzó a aumentar por el establecimiento de plántulas, principalmente de festuca y de otras especies (Cuadro 1, anexo). En los tratamientos con remoción química se observó que, con la aplicación de herbicida total (**HG** y **HGRem**), la cobertura vegetal verde comenzó a disminuir gradualmente por efecto del glifosato. Luego, la cobertura vegetal verde aumentó por el establecimiento de plántulas de diferentes especies, desde el banco del suelo, principalmente cuando se eliminó la cobertura superficial. Con la aplicación del herbicida (**HM** y **HMRem**), la cobertura también disminuyó, pero dado que el metsulfuron es selectivo (control de malezas latifoliadas), su efecto no fue



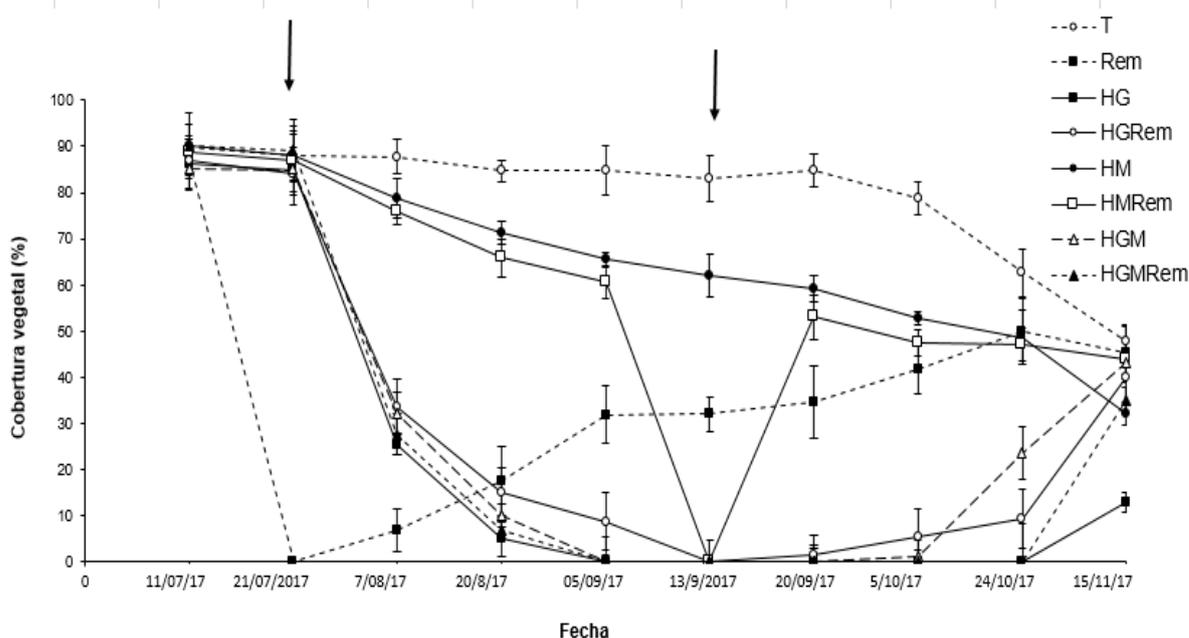
**Figura 1.** Promedio de plántulas de festuca alta emergidas desde el banco de semillas del suelo por microcosmo. En los tratamientos sin barra no se registraron plántulas emergidas. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ( $\alpha=0,05$ ). Referencia: **T**, testigo con corte mecánico a 80 mm; **Rem**, remoción manual de toda la cobertura vegetal y disturbio de los primeros 50 mm de suelo (remoción superficial); **HG**, tratamiento químico con herbicida total sin disturbio del suelo y sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGRem**, tratamiento químico con herbicida total sin disturbio del suelo con posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HM**, tratamiento químico con herbicida parcial sin disturbio del suelo y sin posterior remoción de la cobertura vegetal; **HMRem**, tratamiento químico con herbicida parcial sin disturbio del suelo y con posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGM**, tratamiento químico con mezcla de herbicida sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGMRRem**, tratamiento químico con mezcla de herbicida con posterior eliminación de la cobertura vegetal.

**Figure 1.** Average of tall fescue seedlings emerged from the soil seed bank of microcosm. There were not registered emerged seedling in the treatments without bars. Different lowercase letters indicate significant differences ( $\alpha=0.05$ ). References: **T**, control with mechanical cutting at 80 mm; **Rem**, manual removal of all plant cover and disturbance of the first 50 mm of soil (surface removal); **HG**, chemical treatment with total herbicide without disturbance of the soil and without subsequent elimination of the vegetal cover; **HGRem**, chemical treatment with total herbicide without disturbance of the soil with subsequent elimination of the vegetal cover; **HM**, chemical treatment with partial herbicide without disturbance of the soil and without subsequent removal of the vegetation cover; **HMRem**, chemical treatment with partial herbicide without disturbance of the soil and with subsequent elimination of the vegetal cover; **HGM**, chemical treatment with herbicide mixture without subsequent removal of the plant cover; **HGMRRem**, chemical treatment with herbicide mixture with subsequent elimination of the vegetal cover.

tan marcado como el glifosato y, por ende, los valores de cobertura se mantuvieron relativamente estables hasta el momento en que en algunas plantas comenzó a observarse la senescencia de sus láminas foliares o la elongación de los tallos por el pasaje al estado reproductivo. En los tratamientos con la aplicación de la mezcla de herbicidas (**HGM** y **HGMRRem**), se observó que la cobertura vegetal disminuyó y luego, al igual que en los anteriores tratamientos, aumentó por el establecimiento de plántulas luego de la eliminación de la cobertura superficial senescente. En los tratamientos control (**T**), la cobertura se mantuvo relativamente estable hasta el momento que se observó la senescencia de las láminas foliares de las plantas de festuca y del resto de las especies.

#### Producción de semillas y eficiencia de la transmisión vertical del endófito

Al analizar el número de semillas/planta se registró un efecto significativo del tipo de remoción de la vegetación ( $p<0,0001$ ). En este sentido, se observó que en los tratamientos **HG**, **HGRem**, **HGM** y **HGMRRem** si bien se observaron plantas de festuca (Cuadro 1, anexo) que sobrevivieron a la aplicación química y otras que emergieron a los 210 días de aplicados los tratamientos, éstas no llegaron a estado reproductivo y, por ende, no se cosecharon semillas (Figura 3). En los tratamientos **Rem** se registró la mayor producción de semillas/planta, pero ésta no difirió significativamente con el testigo (**T**) (Figura 3). La producción de semillas no difirió entre los tratamientos **HM**

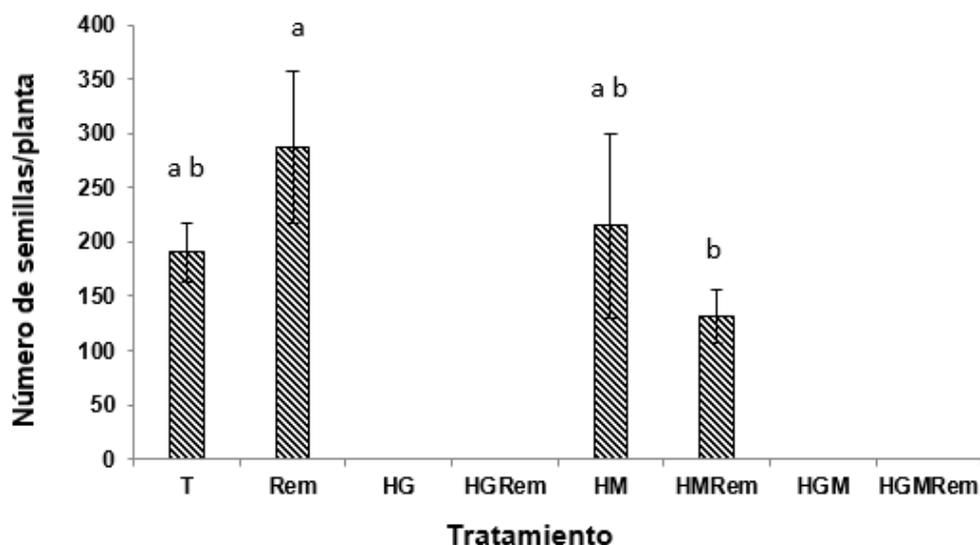


**Figura 2.** Porcentaje de cobertura vegetal verde de microcosmos de festuca alta infectada con endófito bajo distintos tratamientos de remoción de la vegetación. Referencias: **T**, testigo con corte mecánico a 80 mm; **Rem**, remoción manual de toda la cobertura vegetal y disturbio de los primeros 50 mm de suelo (remoción superficial); **HG**, tratamiento químico con herbicida total sin disturbio del suelo y sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGRem**, tratamiento químico con herbicida total sin disturbio del suelo con posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HM**, tratamiento químico con herbicida parcial sin disturbio del suelo y sin posterior remoción de la cobertura vegetal; **HMRem**, tratamiento químico con herbicida parcial sin disturbio del suelo y con posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGM**, tratamiento químico con mezcla de herbicida sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGMRem**, tratamiento químico con mezcla de herbicida con posterior eliminación de la cobertura vegetal. Las flechas en la parte superior indican: a) la primera el momento en que se realizó el desarraigo de plantas de festuca para los tratamientos Rem y b) la segunda el momento en que se realizó la remoción de la cobertura superficial en los tratamientos con remoción química (**HGRem**, **HMRem**, **HGMRem**).

**Figure 2.** Green plant cover percentage of tall fescue microcosm infected with endophyte under different vegetation removal treatments. References: **T**, control with mechanical cutting at 80 mm; **Rem**, manual removal of all plant cover and disturbance of the first 5 cm of soil (surface removal); **HG**, chemical treatment with total herbicide without disturbance of the soil and without subsequent elimination of the vegetal cover; **HGRem**, chemical treatment with total herbicide without disturbance of the soil with subsequent elimination of the vegetal cover; **HM**, chemical treatment with partial herbicide without disturbance of the soil and without subsequent removal of the vegetation cover; **HMRem**, chemical treatment with partial herbicide without disturbance of the soil and with subsequent elimination of the vegetal cover; **HGM**, chemical treatment with herbicide mixture without subsequent removal of the plant cover; **HGMRem**, chemical treatment with herbicide mixture with subsequent elimination of the vegetal cover. The arrows in the upper part indicate: a) the first, when the fescue plants were uprooted for the Rem treatments and b) the second, when the removal of the superficial cover in the treatments with chemical removal was carried out (**HGRem**, **HMRem**, **HGMRem**).

y **HMRem** y fue similar al tratamiento testigo (Figura 3). Las semillas cosechadas en los tratamientos **T**, **Rem**, **HM** y **HMRem** fueron positivas al diagnóstico de endófito (100% de infección), es decir, no se registraron fallas en la transmisión del endófito por efecto de los tratamientos de

remoción de la vegetación. En los tratamientos **HG**, **HGRem**, **HGM** y **HGMRem** se registró una falla total en la transmisión del endófito por semillas, dado que directamente no hubo producción de semillas por efecto de la aplicación del herbicida.



**Figura 3.** Número de semillas por planta (media  $\pm$  EE) registrados microcosmos de festuca alta bajo distintos tratamientos de remoción de la vegetación. En los tratamientos sin barras no hubo producción de semillas. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ( $\alpha=0,05$ ). Referencias: **T**, testigo con corte mecánico a 80 mm; **Rem**, remoción manual de toda la cobertura vegetal y disturbio de los primeros 50 mm de suelo (remoción superficial); **HG**, tratamiento químico con herbicida total sin disturbio del suelo y sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGRem**, tratamiento químico con herbicida total sin disturbio del suelo, con posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HM**, tratamiento químico con herbicida parcial sin disturbio del suelo y sin posterior remoción de la cobertura vegetal; **HMRem**, tratamiento químico con herbicida parcial sin disturbio del suelo y con posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGM**, tratamiento químico con mezcla de herbicida sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGMRem**, tratamiento químico con mezcla de herbicida con posterior eliminación de la cobertura vegetal.

**Figure 3.** Seed number per plant (mean  $\pm$  SE) registered in tall fescue microcosms under different vegetation removal treatments. There were not registered seed production in the treatments without bars. Different lowercase letters indicate significant differences ( $\alpha=0.05$ ). References: **T**, control with mechanical cutting at 80 mm; **Rem**, manual removal of all plant cover and disturbance of the first 50 mm of soil (surface removal); **HG**, chemical treatment with total herbicide without disturbance of the soil and without subsequent elimination of the vegetal cover; **HGRem**, chemical treatment with total herbicide without disturbance of the soil with subsequent elimination of the vegetal cover; **HM**, chemical treatment with partial herbicide without disturbance of the soil and without subsequent removal of the vegetation cover; **HMRem**, chemical treatment with partial herbicide without disturbance of the soil and with subsequent elimination of the vegetal cover; **HGM**, chemical treatment with herbicide mixture without subsequent removal of the plant cover; **HGMRem**, chemical treatment with herbicide mixture with subsequent elimination of the vegetal cover.

## Discusión

Bajo nuestras condiciones experimentales, en promedio, emergieron más plántulas de festuca en el tratamiento Rem que en los tratamientos químicos con o sin remoción (Figura 1). El glifosato retrasó la emergencia de plántulas, y en los tratamientos con metsulfuron y sin remoción de la cobertura (HM) no se observó el establecimiento de nuevas plántulas de festuca porque sobrevivieron todas las plantas presentes al inicio de la aplicación, ejerciendo un efecto de competencia. Solamente aparecieron nuevas plántulas en los tratamientos con metsulfuron cuando se realizó la remoción de la vegetación (HMRem) dado que la presencia de la cobertura vegetal, viva o muerta, actuaría como una barrera física para la emergencia de plántulas a partir de las semillas presentes en el banco del suelo (Grime, 1989; De Souza et al. 2006). En este sentido, en el tratamiento T, también la biomasa en pie tuvo un efecto de competencia que no

permitió el establecimiento de nuevas plántulas de festuca. En el caso del glifosato, existen antecedentes sobre la eficacia variable del mismo sobre el control de festuca alta infectada, según la dosis aplicada, el momento de aplicación y las condiciones ambientales (Smith, 1989). Además, en general existen antecedentes que el glifosato retardaría la etapa de emergencia de plántulas (Civeira, 2012), lo cual podría explicar la aparición tardía de plántulas de festuca alta hallada en este experimento (Cuadro 1, en Anexo).

Todas las plántulas emergidas, independientemente del tratamiento aplicado, estaban infectadas. Estos resultados apoyan lo hallado por Fernández et al (2007) sobre la viabilidad del endófito en las semillas del banco del suelo. Según nuestros resultados, el uso de glifosato para la erradicación de pasturas de festuca infectada tendría una repuesta transitoria, porque no logró reducir los niveles de infección endofítica en los microcosmos, dado que las

plantas originadas desde el banco de semillas del suelo presentaban el endófito. En tal sentido, es posible hipotetizar que al eliminar con el herbicida a las plantas de la comunidad vegetal, se reduce la competencia, facilitando el establecimiento de nuevas plántulas de festuca (Madison, 1994; Washburn y Barnes, 2000). En la bibliografía existen antecedentes de resultados positivos del uso de glifosato sólo o combinado con otros herbicidas, variando el momento de aplicación y dosis, sobre el control de poblaciones de festuca infectadas (Defelice y Henning, 1990; Babegni et al. 1994; Hill et al. 2010), sin embargo, en ninguno de estos experimentos se brinda información sobre el posible aumento del número de plantas de festuca infectadas provenientes del banco de semillas. Según Washburn et al (2000), al comparar la efectividad de los herbicidas imazapic y glifosato en la erradicación de poblaciones de festuca en diferentes regiones de Estados Unidos, observaron que imazapic fue más efectivo que el glifosato en el control de festuca alta, posiblemente por su efecto residual de 40 a 45 días y porque la absorción ocurre a través de las hojas y las raíces (Shaner y O'Conner 1991); mientras que el glifosato es un herbicida de acción foliar sin efecto residual (Grossbard y Atkinson 1985). Sin embargo, en este trabajo, el glifosato fue más efectivo que el metsulfuron a pesar de tener efecto residual de 2-3 semanas. La dinámica de la cobertura vegetal varió según el tratamiento aplicado (Figura 2). En los tratamientos con glifosato la cobertura verde disminuyó gradualmente por efecto del herbicida y luego, aumentó por el establecimiento de plántulas desde el banco de semillas del suelo, principalmente cuando se removió la cobertura superficial senescente (Cuadro 1, anexo). Estos resultados coinciden con los publicados por Madison (1994) y Washburn et al (2000). La disminución en la cobertura vegetal no fue tan marcada con el herbicida metsulfuron debido a su espectro de acción (CASAFE, 2005). En nuestro país, especialistas de la Estación Experimental del INTA Cuenca del Salado, han llevado a cabo experimentos para la renovación de pasturas de festuca alta E+ mediante la aplicación combinada de 2,4 l/ha de glifosato junto con 0,3 l/ha de 2,4DB en primavera y otoño, seguidos de siembra directa de raigrás (de la Vega, 2014). Según este autor, la presencia de festuca en la composición vegetal se redujo en un 48%. La primera aplicación de herbicida en primavera interrumpió la floración y producción de semillas de festuca y la segunda pulverización en otoño, retrasó el rebrote de ésta especie, permitiendo la implantación de otra forrajera como el raigrás.

La remoción química mediante herbicidas, con o sin posterior eliminación de la cobertura vegetal senescente, disminuyó la producción de semillas por planta (Figura 3), tanto en las tratadas como las que se originaron desde las semillas presentes en el banco, respecto a la remoción manual. Los resultados hallados para el herbicida metsulfuron corroboran lo registrado por Goff et al. (2012),

Sather et al. (2013) e Israel et al (2016), dado que, si bien con este herbicida sobrevivieron las plantas de festuca presentes al inicio del experimento, el uso del metsulfuron redujo la producción de semillas de festuca por planta (Figura 3). En este experimento sólo se consideró la producción de semillas por planta, sin embargo, otros estudios demostraron que el metsulfuron produjo una disminución en la altura, en la producción de biomasa aérea y en el número de macollos reproductivos en plantas de festuca infectadas (Aiken et al. 2012; Moraes et al. 2015). Así, también se ha registrado que novillos pastoreando pasturas tratadas con metsulfuron han logrado un aumento en la ganancia de peso, una reducción de la temperatura corporal y un aumento de los niveles de prolactina al reducir este herbicida el número de panojas y de semillas que contienen altas concentraciones de ergovalina (Turner et al. 1990; Aiken et al. 2012; Aiken y Strickland 2013). Sin embargo, es necesario considerar que, este herbicida puede reducir la disponibilidad de forraje hasta en un 51% (Turner et al. 1990) y en consiguiente, ocasionar una reducción de la carga animal para esa pastura y/o pastizal.

Además, se debería considerar el costo e impacto de los tratamientos químicos sobre el medio ambiente y los servicios ecosistémicos. Por ejemplo, Rodríguez y Jacobo (2012) describieron los cambios de la vegetación en un pastizal de la Pampa Deprimida cuando las lomas y medias lomas eran o no pulverizadas con glifosato a fin de verano. Según estos autores, la aplicación del herbicida provocó una drástica disminución o eliminación total de algunas especies que se encontraban florecidas, fructificando o sembrando al momento de la pulverización con glifosato, y una importante disminución del banco de semillas al interrumpir la formación de semillas. Muchas de estas especies eliminadas eran pastos perennes invernales autóctonos con gran importancia estratégica como forraje de invierno, como las flechillas y lágrima (*Nasella* sp., *Piptochaetium* sp., *Briza* sp.) y hasta festuca alta, y también pastos estivales de alto valor forrajero como el pasto miel y *Lotus* sp. Así, bajo nuestras condiciones experimentales, se observó la eliminación de especies de valor forrajero, como *Lotus tenuis*, *Trifolium repens*, *T. subteraneum* luego de la aplicación de herbicida (Cuadro 1 en Anexo). Estas prácticas con herbicidas en procura de eliminar las poblaciones de festuca E+, no repararían en el impacto sobre los diferentes servicios ecosistémicos que brindan los pastizales, como especies de valor forrajero, estético, medicinal, refugio de fauna, secuestro de carbono, entre otros (Sala y Paruelo, 1997; Littera et al. 2011).

En base a los resultados del presente experimento, es posible que la erradicación de plantas de festuca E+ no sea efectiva con los distintos métodos de manejo propuestos sino se tiene presente el banco de semillas del suelo de dicha especie. La aplicación del herbicida metsulfuron podría usarse como una medida de control para reducir la

emergencia de plántulas de festuca y la producción de semillas infectadas por planta, sin embargo, este herbicida podría reducir la disponibilidad de biomasa aérea como mencionan los antecedentes bibliográficos. En el caso del glifosato, si bien el herbicida provocó una falla total de la transmisión del endófito porque las plantas no produjeron semillas, es necesario tener presente que la población de festuca E+ se reestableció y que este herbicida provocó la pérdida de especies forrajeras valiosas. La persistencia de un banco de semillas de festuca alta E+, aun luego de la aplicación de herbicidas y posterior siembra con festuca libre de endófito, explicaría el desplazamiento de esta última y el aumento del porcentaje de infección actualmente observado en pasturas y pastizales.

### Conclusión

En función de los resultados obtenidos para nuestras condiciones experimentales, podemos concluir que:

- En los tratamientos con remoción manual de la vegetación hubo mayor establecimiento de plántulas de festuca alta desde el banco de semillas del suelo, respecto a aquellos con tratamientos químicos.
- Las plántulas de festuca originadas desde el banco de semillas fueron positivas al diagnóstico microscópico de endófito. En tal sentido, las semillas presentes en el banco del suelo conservan la viabilidad del endófito *Epichloë coenophiala*.
- Con la aplicación de glifosato se registró una emergencia tardía de plántulas de festuca desde las semillas en el banco, mientras que en los tratamientos con metsulfuron y sin remoción de la cobertura vegetal, no hubo emergencia de nuevas plántulas de festuca (hasta el momento en que se dio por finalizado el experimento).
- La remoción química, con o sin posterior eliminación de la cobertura vegetal, disminuyó la producción de semillas por planta respecto a la remoción manual. La remoción química con glifosato o combinado con metsulfuron, con o sin posterior eliminación de la cobertura vegetal, en los microcosmos de festuca infectadas con *Epichloë coenophiala*, provocó una falla total en la transmisión del endófito dado que no hubo producción de semillas.

### Agradecimientos

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

### Bibliografía

- AIKEN, G.E., GOFF, B.M., WITT, W.W., KAGAN, I.A., SLEUGH, B.B., BURCH, B.L. and SCHRICK, F.N. 2012. Steer and Plant Responses to Chemical Suppression of Seedhead Emergence in Toxic Endophyte-Infected Tall Fescue. *Crop Sci.* 52:960-969.
- AIKEN, G.E. and STRICKLAND, J.R. 2013. Managing the tall fescue–fungal endophyte symbiosis for optimum forage–animal production. *J. Anim. Sci.* 2013.91:2369–2378.
- ALEXANDER, H. M. and SCHRAG, A. M. 2003. Role of soil seed banks and newly dispersed seeds in population dynamics of the annual sunflower, *Helianthus annuus*. *J. Ecol.* 91: 987-998.
- BACON, C.W., PORTER, J.K., ROBBINS, J.D. and LUTTRELL, E.S. 1977. *Epichloë typhina* from toxic tall fescue grasses. *App. Environ. Microbiol.* 34:576-581.
- BAGEGNI, A.M., KERR, H.D. and SIEPER, D.A. 1994. Herbicides with crop competition replace endophytic tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Weed Technol.* 8 (4): 689-695.
- BEDMAR, F. 2006. Comportamiento ambiental de los herbicidas en el suelo: conceptos y resultados regionales. Seminario de Actualización Técnica “Manejo de malezas”. INIA La Estanzuela. Serie de Actividades de Difusión N° 464 pp:39-65.
- BELANGER, F.C. 1996. A rapid seedling screening method for determination of fungal endophyte viability. *Crop Sci.* 36: 460-462.
- CABRERA, A. 1970. Flora de la Provincia de Buenos Aires. Tomo 4, Parte 2a. INTA: Buenos Aires, Argentina. 624 p.
- CAMACHO VALDEZ, V. and RUIZ LUNA, A. 2012. Marco conceptual y clasificación de los servicios ecosistémicos. *Revista Bio-Ciencia.* 4: 3-15.
- CANTÓN, G.J., BENCE, A.R., OLMOS, L., LLADA, I., MAZZANTI, M., MIGLIAVACCA, J.I., ARMENDANO, J.I. y ODRIÓZOLA, E.R. 2016. Porcentaje de infestación con endófito en festucas (*Lolium arundinaceum*) analizadas en INTA EEA Balcarce. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 36 (Supl. 1): 34.
- CASAFE, 2005. Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina: insecticidas, fungicidas, productos varios v.1 12ª ed. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes: Buenos Aires 992 p.
- CIVEIRA, G. 2012. Recopilación sobre los efectos del Glifosato en agroecosistemas. Instituto de Suelos - INTA Castelar [en línea] <  
[http://www.suelos.org.ar/adjuntos/glifosato\\_en\\_agroecosistemas.pdf](http://www.suelos.org.ar/adjuntos/glifosato_en_agroecosistemas.pdf)> [consulta: 20 julio 2017].
- CLAY, K. and SCHARDL, C. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *Am. Nat.* 160: 99-127.

- COLABELLI, M.N., SALOMONE, L., FERNÁNDEZ, F. y SAN MARTINO, S. 2006. Niveles de infección de *Neotyphodium coenophialum* en poblaciones de festuca naturalizadas en el sudeste bonaerense. 29º Congreso AAPA. Mar del Plata, octubre 2006. pp. 239-240.
- DE BATTISTA, J., PERETTI, A, CARLETTI, S., RAMIREZ, A., COSTA, M. y SCHULTZ, L. 1995. Evolución de la incidencia de la infección de *Acremonium coenophialum* en la oferta de semilla de festuca alta en Argentina. Período 1987-1994. Rev. Arg. Prod. Anim. 15: 300-302.
- DE BATTISTA, J., ALTIER, N., GALDAMES, D.R. and DALL'AGNOL, M. 1997. Significance of endophyte toxicosis and current practices in dealing with the problema in South America. In: Bacon, C.W., Hill, N.S. (eds.) *Neotyphodium/Grass Interactions*. Plenum Press: New York. pp. 383-388.
- DEDOMENICI, A. C., LEVERATTO, D., RINGUELET, J. y PASSARELLI, L. 2011. Variaciones en la flora apícola de una región de la Depresión del Salado (Buenos Aires, Argentina) referidas a cambios ambientales asociados con humedales. Implicancia económica. Bot. Complut. 35: 141-145.
- DEFELICE, M.S. y HENNING, J.C. 1990. Renovation of endophyte (*Acremonium coenophialum*) infected tall fescue (*Festuca arundinacea*) pastures with herbicides. Weed Sci. 38: 628-633.
- DE LA VEGA, M. 2014. Renovación de festuca infectada. [en línea] Sitio Argentino de Producción Animal. E.E.A Cuenca del Salado INTA Informa N° 23. <[http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad intoxicaciones metabolicos/intoxicaciones/198-Renovacion\\_festuca\\_infectada.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad intoxicaciones metabolicos/intoxicaciones/198-Renovacion_festuca_infectada.pdf)> [consulta: 20 enero 2011].
- ELIZALDE, J. y RIFFEL, S. 2015. Alertan sobre festucosis en la Cuenca del Salado. [en línea] <<http://www.valorcarne.com.ar/alertan-sobre-festucosis-en-la-cuenca-del-salado/>> [consulta: 20 de febrero de 2015].
- FERNÁNDEZ, O.N., COLABELLI, M.N., PETIGROSSO, L. y CAUHÉPÉ, M. 2007. Persistencia del endosimbionte *Neotyphodium coenophialum* en el banco de semillas de festuca. Rev. Arg. Prod. Anim. 27 (Supl. I): 142-143.
- FERRARI, D. M., POZZOLO, O. R. y FERRARI, H. J. 2009. Desarrollo de un software para estimación de cobertura vegetal. EEA INTA Concepción del Uruguay. [en línea] [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_y\\_manejo\\_pasturas/pastoreo](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pastoreo) [consulta: 20 de febrero de 2016].
- GARCIA, J.A., CANTON, J.C., GARCIA, B.L., MICHELOUD, J.F., CAMPERO, C.M., SPATH, E.J.A. and ODRIZOLA, E.R. 2017. Retrospective analysis of cattle poisoning in Argentina (2000-2013). Rev. Pesq. Vet. Bras. 37:210-214.
- GIBSON, D.J. and NEWMAN, J.A. 2001. Biological floral of the British Isles: *Festuca arundinacea* Schreb. (*F. elatior* subsp. *arundinacea* (Schreb.) Hackel). J. Ecol. 89: 304-324.
- GLENN, A.E., BACON, C.W., PRICE, R. and HANDIL, R.T. 1996. Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications. Mycología 88: 369-383.
- GOFF, B.M., AIKEN, G.E., WITT, W.W., SLEUGH, B.B. and BURCH, P.L. 2012. Steer consumption and ergovaline recovery from *in vitro* digested residues of tall fescue seedheads. Crop Sci. 52:1437-1440.
- GRIME, J.P. 1989. Seed banks in ecological perspective. In: Leck, M.A.; Parker V.T.; Simpson, R.L. (eds.). Ecology of soil seed banks. Academic Press: San Diego, California. pp. 15-22.
- GROSSBARD, E. and ATKINSON, D. 1985. The Herbicide glyphosate. Butherworths, London. 490 p.
- HANNAWAY, D., FRANSEN, S., CROPPER, J., TEEL, M., CHANEY, M., GRIGGS, T., HALSE, R., HART, J., CHEEKE, P., HANSEN, D., KLINGER, R. and LANE, W. 1999. Tall fescue Oregon State University. Oregon. U.S.A. PNW 504: 1-20.
- HILL, N.S., ANDRAE, J.G., DURHAM, R.G. and HANCOCK, D.W. 2010. Herbicide treatments to renovate toxic endophyte infected tall fescue pastures with 'Jesup' MaxQ. Crop Sci. 50 (3): 1086-109.
- HOVELAND, C.S., ALLISON, M.W., DURHAM, R.G., WORLEY, P.C., WORLEY, E.E., DOBSON, J.W. Jr., NEWSOME, J.F. and CALVERT, G.V. 1986. Suppression of tall fescue sod with herbicides for planting of endophyte free seed. Georgia Agric. Res. Rep. N° 516. 9 p.
- HOVELAND, C.S. 1993. Economic importance of *Acremonium* endophytes. Agr. Ecosyst. Environ. 44: 3-12.
- ISRAEL, T.D., BATES, G.E., MUELLER, C.T., WALLER, J.C. and RHODES, G.N. JR. 2016. Effects of Aminocyclopyrachlor Plus Metsulfuron on tall fescue yield, forage quality, and ergot alkaloid concentration. Weed Technol. 30(1):171-180.
- LATERRA, P., JOBBÁGY, E. y PARUELO, J. 2011. Valoración de servicios ecosistémicos. Conceptos, herramientas y aplicaciones para el ordenamiento territorial. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. 740 p.
- LATTANZI, F.A., MAZZANTI, A. and WADE, M.H. 2007. Seasonal animal production of temperature and Mediterranean tall fescue cultivars under continuous variable stocking with close control of sward state. Aust. J. Agric. Res. 58: 203-213.
- LEUCHTMANN, A., BACON, C.W., SCHARDL, C.L., WHITE, J.F. and TADYCH, M. 2014. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. Mycol. 106: 202-215.
- MADISON, L.A., BARNES, T.G. and SOLE, J.D. 1994. Effectiveness of fire, disking, and herbicide to renovate tall fescue fields to northern bobwhite habitat. Wildl. Soc. Bull. 29: 706-712.
- MALINOWSKI, D. and 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.
- MANUAL FITOSANITARIO, 2016. Consulta Agro. [en línea] <<http://www.manualfitosanitario.com/>>. [consulta: 15 de marzo de 2016].
- MAZZANTI, A., CASTAÑO, J., SEVILLA, C. y ORBEA, J. 1992. Características agronómicas de especies y cultivares de gramíneas y leguminosas forrajeras adaptadas al sudeste de la Provincia de Buenos Aires. INTA. EEA Balcarce, Argentina. 73p.
- MONTES, L., ALONSO, S.I., NUCIARI, M.C., CLAUSEN, A.M., GUMA, I.R. y ECHARTE, A.M. 2007. Flora espontánea del sudeste bonaerense. Clave ilustrada para la identificación de las principales dicotiledóneas herbáceas por sus caracteres vegetativos. UNMdP. Facultad de Ciencias Agrarias, INTA. EEA Balcarce, Buenos Aires, AR. 102 p.
- MORAES, P.D.V., WITT, W.W., PHILLIPS, T.D., ROSSI, P. and PANOZZO, L.E. 2015. Impact of pasture herbicides on the seedling growth response of three tall fescue varieties. *Afr. J. Agric. Res.* 10(51): 4653-4465.
- ODRIOZOLA, E., IRAGUEN PAGATE I., LLOBERAS, M. M., COSENTINO, I, PORTEY R. y OROMÍ, J. 2002. Festuca tóxica. Su efecto en diferentes razas bovinas. *Rev. Vet. Arg.* 19:12-21.
- OMACINI, M., GUNDEL, P. y SEMMARTIN, M. G. 2013. Huellas de la simbiosis pasto-endófito en el agroecosistema. *In: García de Salamone, I.E., Vázquez, S., Penna, C., Cassan, F. (eds.). Rizósfera, biodiversidad y agricultura sustentable. División de Microbiología Agrícola y Ambiental, Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina. 73 p.*
- PERETTI, A. y CRENOVICH, H. 1992. Servicio de diagnóstico de toxicidad en festuca. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce INTA. 5 p.
- PETIGROSSO, L.R., COLABELLI, M.N., FERNÁNDEZ, O.N., ISPIZÚA, V. and CENDOYA, M.G. 2013. Incidence of the endophyte fungus *Neotyphodium coenophialum* in pastures of tall fescue differing in age and soil characteristics. *Afr. J. Agric. Res.* 8 (22): 2655-2662.
- PETIGROSSO, L.R., ASSUERO, S.G., VIGNOLIO, O.R., ROMANO, Y., COLABELLI, M.N., SALVAT, A. y CRISTOS, D. 2018. Interacción entre festuca alta infectada con endófito y *Lotus tenuis* bajo dos frecuencias de defoliación. *RIA.* 44(1):41-48.
- PETIGROSSO, L.R., NAVARRO, D., ASSUERO, S.G., VIGNOLIO, O.R., CASTAÑO, J.A. y COLABELLI, M.N. 2019. 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.* En prensa.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [en línea] <<http://www.R-project.org/>> [consulta: 15 de Junio de 2017].
- RODRÍGUEZ, A. y JACOBO, E. 2012. Manejo de pastizales naturales para una ganadería sustentable en la Pampa Deprimida. Buenas prácticas para una ganadería sustentable del pastizal. Fundación Vida Silvestre Argentina, Aves Argentinas, 1ª ed. Buenos Aires. Argentina 104 p.
- SAHA, C.D., JACKSON, M.A. and JOHNSON-CICALESE, J.M. 1988. A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grass. *Phytopathology* 78: 237-239.
- SALA, O.E. and PARUELO, J.M. 1997. Ecosystem services in grasslands. *In: Daily, G.C. (ed.), Nature's services: societal dependence on natural ecosystems. Island Press, Washington, DC, USA. pp. 237-251*
- SATHER, B.C, ROBERTS, C.A. and BRADLEY, K.W. 2013. Influence of metsulfuron containing herbicides and application timings on tall fescue seedhead production and forage yield. *Weed Technol.* 27:34-40.
- SHANER, D.L. and O'CONNOR, S.L. 1991. The Imidazolinone Herbicides. Boca Raton Imprint CRC Press. 300 p.
- SHELBY, R.A. and DALRYMPLE, L.W. 1987. Incidence and distribution of the tall fescue endophyte in the United States. *Plant Dis.* 71: 783-786.
- SMITH, A.E. 1989. Herbicides for killing tall fescue (*Festuca arundinacea*) infected with fescue endophyte (*Acremonium coenophialum*). *Weed Technol.* 3:485-489.
- SMITH, A.E. 1992. Herbicides for killing tall fescue (*Festuca arundinacea*) infected with fescue endophyte (*Acremonium coenophialum*). *Weed Technol.* 3: 485-489.
- STRICKLAND, J.R., LOOPER, M.L., MATTHEWS, J.C., ROSENKRANS, C.F., FLYTHE, M.D. JR. and BROWN, K.R. 2011. St. Anthony's fire in livestock: Causes, mechanisms, and potential solutions. *J. Anim. Sci.* 89: 1603-1626.
- STUEDEMANN, J.A. and HOVELAND, C.S. 1988. Fescue endophyte: History and impact on animal agriculture. *J. Prod. Agr.* 1: 39-44.
- TURNER, K.E., PATERSON, J.A., KERLEY, J.S. and FORWOOD, J.R. 1990. Mefl uidide treatment of tall fescue pastures: Intake and animal performance. *J. Anim. Sci.* 68:3399-3405.
- WASHBURN, B.E., BARNES, T.G. and SOLE, J.D. 2000. Improving northern bobwhite habitat by converting tall fescue fields to native warm-season grasses. *Wildl. Soc. Bull.* 28(1)97-104.
- WHITE, J.F. JR. and TORRES, M. 2009. Defensive mutualism in microbial symbiosis. CRC Press. Boca Raton, FL. pp. 333-334.

**ANEXO**

**Cuadro 1.** Especies relevadas en los microcosmos de festuca alta antes de la aplicación de los tratamientos (día 0), a los 45, 120 y 210 días después de la aplicación de los diferentes tratamientos de remoción de la vegetación, indicando familia botánica y ciclo de vida. Referencias: **T**, testigo con corte mecánico a 80 mm; **Rem**, remoción manual de toda la cobertura vegetal y disturbio de los primeros 5 cm de suelo (remoción superficial); **HG**, tratamiento químico con herbicida total sin disturbio del suelo y sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGRem**, tratamiento químico con herbicida total sin disturbio del suelo con posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HM**, tratamiento químico con herbicida parcial sin disturbio del suelo y sin posterior remoción de la cobertura vegetal; **HMRem**, tratamiento químico con herbicida parcial sin disturbio del suelo y con posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGM**, tratamiento químico con mezcla de herbicida sin posterior eliminación de la cobertura vegetal; **HGMRem**, tratamiento químico con mezcla de herbicida con posterior eliminación de la cobertura vegetal.

**Table 1.** Species surveyed in the tall fescue microcosms before the application of the treatments (day 0), at 45, 120 and 210 days after the application of the different vegetation removal treatments, indicating botanical family and cycle of life. Reference: **T**, control with mechanical cutting at 80 mm; **Rem**, manual removal of all plant cover and disturbance of the first 50 mm of soil (surface removal); **HG**, chemical treatment with total herbicide without disturbance of the soil and without subsequent elimination of the vegetal cover; **HGRem**, chemical treatment with total herbicide without disturbance of the soil with subsequent elimination of the vegetal cover; **HM**, chemical treatment with partial herbicide without disturbance of the soil and without subsequent removal of the vegetation cover; **HMRem**, chemical treatment with partial herbicide without disturbance of the soil and with subsequent elimination of the vegetal cover; **HGM**, chemical treatment with herbicide mixture without subsequent removal of the plant cover; **HGMRem**, chemical treatment with herbicide mixture with subsequent elimination of the vegetal cover.

Tratamiento	Especies relevadas/microcosmo				Familia botánica	Ciclo de vida
	Inicial (21/07/2017)	45 días (3/09/2017)	120 días (21/11/2017)	210 días (21/02/2018)		
<b>T</b>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	Poáceas	Perenne
	<i>Lolium multiflorum</i>	<i>Lolium multiflorum</i>	<i>Lolium multiflorum</i>	<i>Lolium multiflorum</i>	Poáceas	Annual
	<i>Trifolium subterraneum</i>	<i>Trifolium subterraneum</i>	<i>Trifolium subterraneum</i>	<i>Trifolium subterraneum</i>	Leguminosas	Annual
	<i>Eryngium</i> sp.	<i>Eryngium</i> sp.	<i>Eryngium</i> sp.	<i>Eryngium</i> sp.	Umbelíferas	Perenne
	<i>Medicago polymorpha</i>	<i>Medicago polymorpha</i>			Leguminosas	Annual
	<i>Hypochoeris tweediei</i>	<i>Hypochoeris tweediei</i>			Compuestas	Perenne
	<i>Lotus tenuis</i>	<i>Lotus tenuis</i>	<i>Lotus tenuis</i>	<i>Lotus tenuis</i>	Leguminosas	Perenne
		<i>Bowlesia tenerea</i>			Umbelíferas	Annual
		<i>Geranium mole</i>			Geramiáceas	Annual
		<i>Oxalis chrysantha</i>			Oxalidáceas	Annual
	<i>Dactylis glomerata</i>	<i>Dactylis glomerata</i>	<i>Dactylis glomerata</i>	Poáceas	Annual	
	<i>Crepis capilaris</i>			Compuestas	Annual	
	<i>Echium plantagium</i>	<i>Echium plantagium</i>		Borragináceas	Annual/bienal	
		<i>Trifolium repens</i>	<i>Trifolium repens</i>	Leguminosas	Annual	
<b>Rem</b>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	Poáceas	Perenne
	<i>Eryngium</i> sp.	<i>Eryngium</i> sp.	<i>Eryngium</i> sp.	<i>Eryngium</i> sp.	Umbelíferas	Perenne
		<i>Lolium multiflorum</i>			Poáceas	Annual
		<i>Lotus tenuis</i>	<i>Lotus tenuis</i>	<i>Lotus tenuis</i>	Leguminosas	Perenne
	<i>Oxalis chrysantha</i>		<i>Anagalis arvensis</i>	<i>Anagalis arvensis</i>	Primuláceas	Annual
	<i>Trifolium subterraneum</i>	<i>Trifolium subterraneum</i>	<i>Oxalis chrysantha</i>	<i>Oxalis chrysantha</i>	Oxalidáceas	Annual
	<i>Gamochaeta spicata</i>	<i>Gamochaeta spicata</i>			Leguminosas	Annual
	<i>Bowlesia tenerea</i>	<i>Bowlesia tenerea</i>			Compuestas	Perenne
		<i>Crepis capilaris</i>			Umbelíferas	Annual
		<i>Capsela bursa pastoris</i>			Compuestas	Annual
	<i>Cirsium vulgare</i>	<i>Cirsium vulgare</i>	<i>Cirsium vulgare</i>	Crucíferas	Annual	
				Compuestas	Annual	
<b>HG</b>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Festuca arundinacea</i> *		<i>Festuca arundinacea</i>	Poáceas	Perenne
	<i>Lolium multiflorum</i>				Poáceas	Annual
	<i>Eryngium</i> sp.				Umbelíferas	Perenne
	<i>Medicago polymorpha</i>			<i>Medicago polymorpha</i>	Leguminosas	Annual
	<i>Bowlesia tenerea</i>			<i>Bowlesia tenerea</i>	Umbelíferas	Annual
	<i>Trifolium subterraneum</i>				Leguminosas	Annual
			<i>Digitaria sanguinalis</i>	<i>Digitaria sanguinalis</i>	Poáceas	Annual
		<i>Dactylis glomerata</i>	<i>Dactylis glomerata</i>	Poáceas	Annual	
			<i>Paspalum dilatatum</i>	Poáceas	Annual	
			<i>Stipa brachychaeta</i>	Poáceas	Perenne	
	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Festuca arundinacea</i> *		<i>Festuca arundinacea</i>	Poáceas	Perenne

<b>HGRem</b>	<i>Lolium multiflorum</i>  <i>Oxalis chrysantha</i> <i>Eryngium</i> sp.  <i>Lotus tenuis</i>		<i>Cirsium vulgare</i> <i>Picris echioides</i> <i>Dactylis glomerata</i>	<i>Dactylis glomerata</i>  <i>Eryngium</i> sp. <i>Paspalum dilatatum</i>	Poáceas Compuestas Compuestas Poáceas Oxalidáceas Umbelíferas Poáceas Leguminosas	Anual Anual Anual Anual Perenne Perenne Perenne
<b>HM</b>	<i>Festuca arundinacea</i> <i>Lolium multiflorum</i> <i>Trifolium subterraneum</i>  <i>Trifolium repens</i>  <i>Dichondra microcalyx</i> <i>Eryngium</i> spp	<i>Festuca arundinacea</i> * <i>Lolium multiflorum</i>  <i>Bowlesia tenerea</i>  <i>Echium plantagium</i> <i>Dichondra microcalyx</i> <i>Eryngium</i> spp <i>Oxalis chrysantha</i> <i>Crepis capilaris</i> <i>Anagalis arvensis</i>	<i>Festuca arundinacea</i> * <i>Lolium multiflorum</i>  <i>Echium plantagium</i>	<i>Festuca arundinacea</i> * <i>Lolium multiflorum</i>     <i>Oxalis chrysantha</i>	Poáceas Poáceas Leguminosas Umbelíferas Leguminosas Borragináceas Convolvuláceas Umbelíferas Oxalidáceas Compuestas Primuláceas	Perenne Anual Anual Anual Perenne Anual Perenne Perenne Anual Anual Anual
<b>HMRem</b>	<i>Festuca arundinacea</i> <i>Lolium multiflorum</i>	<i>Festuca arundinacea</i> * <i>Lolium multiflorum</i> <i>Eryngium</i> sp. <i>Bowlesia tenerea</i> <i>Juncus</i> sp <i>Trifolium subterraneum</i> <i>Hypochoeris tweediei</i> <i>Lotus tenuis</i> <i>Veronica</i> sp.	<i>Festuca arundinacea</i> *  <i>Eryngium</i> sp.  <i>Juncus</i> sp	<i>Festuca arundinacea</i> *  <i>Eryngium</i> sp.    <i>Hypochoeris tweediei</i>	Poáceas Poáceas Umbelíferas Umbelíferas Juncáceas Leguminosas Compuestas Leguminosas Escrofulariáceas	Perenne Anual Perenne Anual Anual Anual Perenne Perenne Anual
<b>HGM</b>	<i>Festuca arundinacea</i> <i>Lotus tenuis</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Trifolium subterraneum</i> <i>Eryngium</i> spp <i>Gamochaeta spicata</i> <i>Lolium multiflorum</i>	<i>Festuca arundinacea</i> * <i>Lotus tenuis</i> <i>Trifolium repens</i>   <i>Lolium multiflorum</i>	     <i>Echinochloa crus-galli</i> <i>Cirsium vulgare</i> <i>Juncus</i> sp.	<i>Festuca arundinacea</i>      <i>Dactylis glomerata</i> <i>Stipa brachychaeta</i> <i>Geranium mole</i>	Poáceas Leguminosas Leguminosas Leguminosas Umbelíferas Compuestas Poáceas Poáceas Compuestas Juncáceas Poáceas Poáceas Geramiáceas	Perenne Perenne Perenne Anual Perenne Anual Anual Anual Anual Anual/Perenne Anual Perenne Anual
<b>HGMRem</b>	<i>Festuca arundinacea</i> <i>Lolium multiflorum</i> <i>Trifolium subterraneum</i>    <i>Dichondra microcalyx</i>	      <i>Eryngium</i> spp <i>Oxalis chrysantha</i>   <i>Bowlesia tenerea</i>	      <i>Echinochloa crusgalli</i> <i>Digitaria sanguinalis</i>	<i>Festuca arundinacea</i>         <i>Paspalum dilatatum</i> <i>Dactylis glomerata</i>	Poáceas Poáceas Leguminosa Umbelíferas Oxalidáceas Convolvuláceas Umbelíferas Poáceas Poáceas Poáceas Poáceas	Perenne Anual Anual Perenne Annual Perenne Anual Anual Anual Perenne Anual

\*plantas de festuca alta que sobrevivieron a la aplicación del tratamiento químico de remoción