

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

**EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DEL ENDÓFITO AR584 EN LA PRODUCCIÓN DE *FESTUCA*  
*ARUNDINACEA* Y LA PERFORMANCE ANIMAL ASOCIADA.**

por

**Fabiana Julia PEREYRA GODAY**

TESIS presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de  
Magíster en Ciencias Agrarias  
opción Ciencias Animales

MONTEVIDEO

URUGUAY

Junio 2019

## **PÁGINA DE APROBACIÓN**

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Ing. Agr. PhD. Laura Astigarraga, Ing. Agr. PhD Fernando Lattanzi e Ing Agr. PhD. Pablo Rovira, el 3 de junio de 2019. Autor: Ing. Agr. Fabiana Julia Pereyra Goday. Director Ing. Agr. PhD. Walter Ayala, Co-director Ing. Agr. PhD. Pablo Boggiano.

A la Facultad de Agronomía y a INIA, por permitirme desarrollar mis estudios de posgrado.

A mi tutor, Ing. Agr. PhD. Walter Ayala, por la orientación en el trabajo y la paciencia.

Al equipo de apoyo de Pasturas, por la calidad de los datos obtenidos.

A la Lic. Belky Mesones, por su ayuda en la búsqueda de material bibliográfico.

A los Ing. Agr. Fernando Lattanzi, Pablo Rovira y Laura Astigarraga por ser parte del tribunal de evaluación.

A mi familia y amigos, pilares fundamentales.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VI
SUMMARY .....	VII
<b>1. <u>INTRODUCCIÓN GENERAL</u></b> .....	<b>1</b>
1.1. ASOCIACIÓN DE <i>FESTUCA ARUNDINACEA</i> CON ENDÓFITOS <i>EPICHLLOE COENOPHIALA</i> .....	2
1.2. EFECTO DE LOS ALCALOIDES EN <i>FESTUCA ARUNDINACEA</i> .....	3
1.3. EFECTO DE LOS ALACLOIDES EN BOVINOS .....	3
1.4. NUEVA CEPA DE ENDÓFITOS AMIGABLES .....	4
1.5. CONTENIDOS Y OBJETIVOS DEL TRABAJO.....	5
<b>2. <u>PRODUCTIVIDAD DE <i>FESTUCA ARUNDINACEA</i> E INCLUSIÓN DE ENDÓFITOS AR584</u></b> .....	<b>6</b>
2.1. RESUMEN .....	6
2.2. SUMMARY .....	7
2.3. INTRODUCCIÓN. ....	8
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	9
2.4.1. <u>Determinaciones</u> .....	11
2.5. RESULTADOS.....	12
2.5.1. <u>Balance hídrico</u> .....	12
2.5.2. <u>Caso 1</u> .....	12
2.5.2.1. Blotting test .....	12
2.5.2.2. Tasas de crecimiento de forraje .....	13
2.5.2.3. Producción de forraje y calidad .....	15
2.5.3. <u>Caso 2</u> .....	17
2.5.3.1. Blotting test .....	17
2.5.3.2. Tasas de crecimiento de forraje .....	18
2.5.3.3. Producción de forraje y calidad .....	19

2.6. DISCUSIÓN .....	21
2.7. CONCLUSIONES.....	24
2.8. BIBLIOGRAFÍA .....	25
3. <u>¿LA INCORPORACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS EN <i>FESTUCA</i></u>	
<u><i>ARUNDINACEA</i> INCIDE EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE ALCANZADA?</u> .....	30
3.1. RESUMEN .....	30
3.2. SUMMARY .....	31
3.3. INTRODUCCIÓN .....	32
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	33
3.4.1. <u>Determinaciones</u> .....	35
3.5. RESULTADOS.....	37
3.5.1. <u>Caso 1</u> .....	39
3.5.1.1. Evolución de peso vivo .....	39
3.5.1.2. Ganancias diarias .....	40
3.5.1.3. Producción de peso vivo y carga .....	41
3.5.1.4. Relación asignación de forraje – ganancias diarias .....	42
3.5.2. <u>Caso 2</u> .....	44
3.5.2.1. Evolución de peso vivo .....	44
3.5.2.2. Ganancias diarias .....	45
3.5.2.3. Producción de peso vivo y carga .....	45
3.5.2.4. Relación asignación de peso vivo – ganancias diarias .....	46
3.6. DISCUSIÓN .....	47
3.7. CONCLUSIONES.....	51
3.8. BIBLIOGRAFÍA .....	52
4. <u>DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES</u> .....	56
5. <u>BIBLIOGRAFÍA GENERAL</u> .....	62

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la inclusión del hongo endófito AR584 sobre la productividad de dos cultivares de *Festuca arundinacea*, INIA Fortuna e INIA Aurora y sobre la performance animal. El experimento se realizó en la Unidad Experimental Palo a Pique, de INIA Treinta y Tres (33° 16' S, 54° 29' O). El período experimental abarcó desde diciembre de 2013 a diciembre de 2017. El diseño de la base forrajera fueron bloques al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos evaluados fueron: FOE (INIA Fortuna con endófito AR584), FO (INIA Fortuna sin endófito), AUE (INIA Aurora con endófito AR584), AU (INIA Aurora sin endófito) y K31 (Kentucky 31, testigo con endófito tóxico). Los pastoreos se realizaron de forma rotativa con tiempos de ocupación (10 días) y descanso fijos (30 días), con 7 novillos de 15 meses de edad al inicio del experimento, los cuales permanecían un año en el ensayo y luego eran reemplazados por animales de iguales características iniciales. Se utilizaban animales volantes para ajustar la oferta de forraje en momentos puntuales. Se evaluó: tasas de crecimiento de forraje por período y por estación, productividad anual, valor nutritivo, materia seca (MS) al ingreso y salida de cada pastoreo, altura de ingreso y altura de salida de cada pastoreo, ganancia media diaria de los novillos, producción de peso vivo por hectárea, carga y asignación de forraje. Se observaron diferencias significativas en algunas estaciones, siendo variables, en las estaciones y variedades que fueron superiores en cada momento. No se encontraron diferencias en valor nutritivo, ni productividad anual de MS. K31 presentó valores significativamente superiores en biomasa de MS y altura post pastoreo, asociado a los problemas de toxicidad que presenta. En producción animal, no se encontraron diferencias significativas entre los novillos que pastorearon las variedades con y sin endófito AR584. K31 fue estadísticamente diferente, presentando ganancias de peso inferiores. La inclusión del endófito AR584 en los cultivares INIA Fortuna e INIA Aurora, no presentó problemas de toxicidad para los animales, como se observaron en la variedad K31. No se obtuvieron mejoras en las tasas de crecimiento y productividad de MS.

**Palabras clave:** AR584, productividad, pastoreo, *Festuca* continental

## EFFECT OF THE INCLUSION OF THE AR584 ENDOPHYTE IN FESTUCA ARUNDINACEA PRODUCTION AND ANIMAL PERFORMANCE

### SUMMARY

The aim of this research was to evaluate AR584 endophytes in two cultivars of Tall Fescue: INIA Fortuna and INIA Aurora. The experiment was installed in Palo a Pique experimental unit of INIA Treinta y Tres (33° 16'S, 54° 29'). The experiment was conducted from December 2013 to December 2017. The design of the forage base were random blocks with four repetitions. The treatments evaluated were: FOE (INIA Fortuna with endophytes AR584), FO (INIA Fortuna without endophytes), AUE (INIA Aurora with endophytes AR584), AU (INIA Aurora without endophytes) and K31 (Kentucky 31, control with toxic endophyte). The grazing was done on a rotating basis with times of occupation (10 days) and fixed rest (30 days), with 7 steers of 15 months of age at the beginning of the experiment, which remained a year in the trial and then were replaced by animals of same initial characteristics. Put and take animals were also used to adjust the supply of forage at specific times. From this, were evaluated: growth rates of forage (for grazing and rest) and season, annual productivity, forage nutritious value, dry matter (DM) at the entry and exit of each grazing, height of entry and height of each grazing, average daily gain of steers, production of live weight per hectare, load and forage allocation. Significant differences were observed in some stations, but these differences were variable, in terms of the seasons and varieties that were higher at each time. No differences were found in nutritional value or annual DM productivity. K31 showed significantly higher values in DM biomass and post-grazing height, associated with the toxicity problems it presents. In animal production, no significant differences were found between the steers that grazed the varieties with and without endophytes AR584, however K31 was statistically different, presenting lower values in weight gains. Significant differences were found on K31, in live weight production and load. We conclude that the inclusion of endophytes AR584 in cultivars INIA Fortuna and INIA Aurora, did not present problems of toxicity for the animals. However, it did not allow to get improvements in DM growth rates and productivity.

**Keywords:** AR584, productivity, grazing, Tall fescue.

## **1. INTRODUCCIÓN GENERAL**

*Festuca arundinacea* es una especie perenne inercial, originaria de las regiones templadas de Europa, Asia y Norte de África (Maddaloni y Ferrari, 2001). Es un componente importante de la mayoría de las praderas sembradas (Carámbula, 2002). En Uruguay el área de praderas artificiales se ha incrementado en los últimos años, alcanzando en 2018 1.209.000 has. Ocupa un 5% de la superficie ganadera, un 12% de la superficie agrícola – ganadera y un 33% de la superficie lechera (DIEA, 2018). Se trata de una alternativa de producción de forraje que presenta un bajo costo por unidad de materia seca (MS) (Chapman et al., 2014), que contribuye a la sustentabilidad de los sistemas, disminuyendo las pérdidas de suelo por erosión (McCallum et al., 2004).

El mejoramiento genético de dicha especie en Uruguay ha tenido avances considerables, habiendo registrados 35 cultivares (INASE, 2018). Estos cultivares difieren en fecha de floración, encontrándose tempranos (floración a fines de invierno), medios y tardíos (floración a fines de primavera), que difieren fundamentalmente en el momento de mayor entrega de forraje. Además, existen diferencias en cuanto a la presencia o no de latencia estival, porte y valor nutritivo (Carámbula, 2002; Ayala et al., 2010).

*Festuca arundinacea* es cultivada en diversas condiciones de suelo (pH, drenaje, salinidad), clima, exposición a enfermedades y plagas (Hannaway et al., 2009). Estas diferencias impactan en las tasas de crecimiento, productividad total y distribución estacional de la producción (Milne, 2009).

En ambientes templados y húmedos, la persistencia de *Festuca* no representa un problema (Lattanzi et al., 2007). Sin embargo en Uruguay, principalmente en verano la falta de humedad resiente su crecimiento (Carámbula, 2002). Varios autores reportan una respuesta alta y positiva en la producción de MS de *Festuca*, luego de aplicar riego durante el verano (Asay et al., 2001; Waldron et al., 2002; Smeal et al., 2005). Por otra parte Claramunt et al., (2011) concluye que pastoreos frecuentes e intensos en verano afectan la persistencia de *festuca*, permitiendo la invasión de especies no deseadas. También las altas temperaturas afectan la persistencia de *festuca* (Jáuregui et al., 2016). Hannaway et al., (2009) muestran que con temperaturas por encima de los 35 °C, el crecimiento relativo de esta especie es 0,

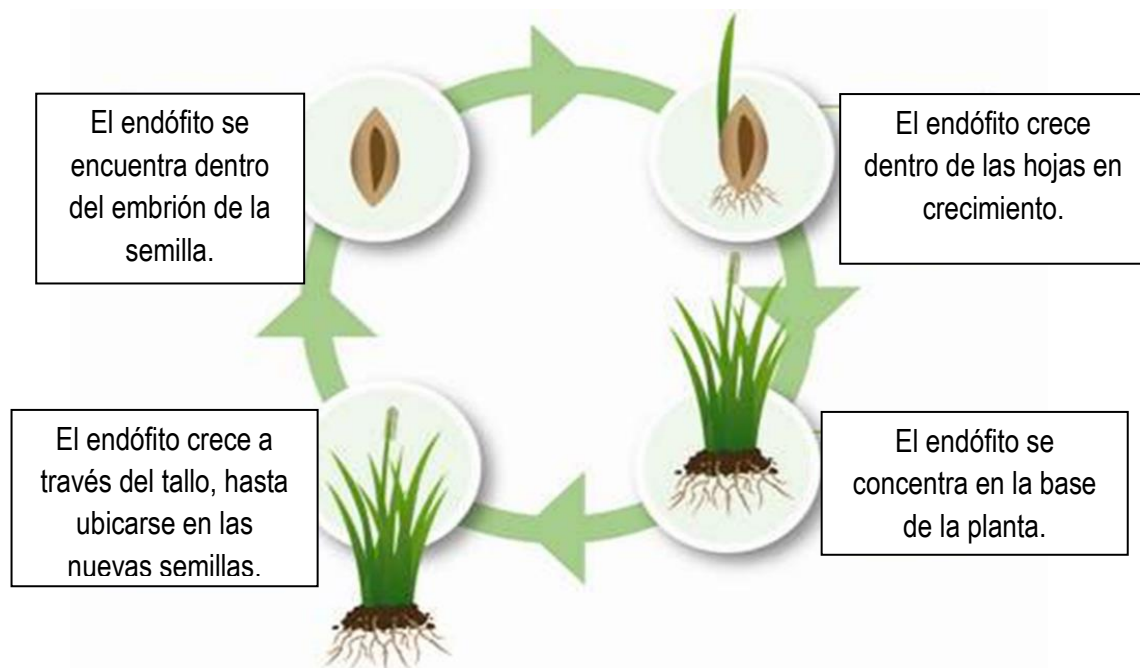


ubicando el óptimo de crecimiento en 21.5 °C. Por lo tanto el manejo del pastoreo en esa estación resulta de fundamental importancia (Milne, 2009).

### 1.1. ASOCIACIÓN DE *FESTUCA ARUNDINACEA* CON ENDÓFITOS *EPICHLÖE COENOPHIALA*

A nivel mundial es conocida la simbiosis de *Festuca arundinacea* con hongos del género *Epichlöe*. Los endófitos (endo: dentro; phito: planta), son hongos de origen natural cuyo ciclo de vida completo se produce dentro de la planta. Viven en los espacios intercelulares de diferentes órganos de la misma (excepto en la raíz) sin dañar sus células y se transmiten de forma asexual de una a otra generación de plantas por medio de las semillas (Waller, 2009), una vez que la planta germina se ubican en vainas y en la base de la planta (Kemp et al., 2007). Cuando la planta pasa a estado reproductivo infectan óvulos y luego la semilla y de esta forma son transmitidos a una nueva planta (Clay y Schardl, 2002), la figura 1 resume el ciclo dentro de la planta.

El endófito crece en el tejido vegetal. Allí se alimenta y obtiene los nutrientes necesarios de la planta huésped (Christensen y Voisey, 2009).



**Figura 1.** Ciclo de vida del endófito. Adaptado de Grasslanz Techonology, (2011).

Los principales alcaloides generados en la interacción hongo - planta se clasifican en cuatro grupos: pirrolizidinas (por ejemplo: lolina), pirrolopirazinas (por ejemplo: peramina), indol dipertenoides y ergo alcaloides (por ejemplo: ergovalina) (Siegel et al., 1990).

## **1.2 EFECTO DE LOS ALCALOIDES EN *FESTUCA ARUNDINACEA***

Diversos trabajos reportan efectos de los endófitos, a través de los alcaloides, sobre las plantas. Arachevaleta et al., (1989) reporta incrementos en las tasas de macollaje y una mejor eficiencia en el uso de nitrógeno de plantas infectadas vs. plantas sin infectar, lo que se traduce en mayor producción de biomasa. Belesky et al., (1989); Funk et al., (1993) y Latch et al., (1985), concluyen que la inclusión de endófitos en *Festuca* permite mejorar la producción de semillas y en el crecimiento radicular. Además, existen evidencias de mayor tolerancia al estrés hídrico de las plantas mediante mecanismos de ajuste osmótico, acumulación de compuestos y modificación en las tasas fotosintéticas (Clay, 1990; Marks y Clay, 1996; Richardson et al., 1992).

Popay (2009), concluye que la infección con endófitos en *Festuca* tiene efecto de control en la mayoría de los insectos que se alimentan de la parte aérea de dicha planta. Con respecto a los insectos de suelo la misma autora reporta que los endófitos tienen un control variable. Thompson et al., (2001) reportan efectos benéficos de los endófitos en planta sobre el control de nematodos y otros patógenos.

## **1.3. EFECTO DE LOS ALCALOIDES EN BOVINOS**

Es conocido el efecto negativo de los ergo-alcaloides y los indol-diterpenoides que resulta en pérdidas en la producción de carne en ganado bajo pastoreo (Bacon et al., 1977). Los primeros reportes de efectos tóxicos en animales pastoreando *Festuca* datan de 1950, en Estados Unidos, utilizando el cultivar Kentucky 31 (McLaren y Fribourg, 1991).

En los bovinos se han identificado tres tipos de síndromes relacionados con el consumo de festuca con endófitos salvajes: pie de festuca (Jacobson et al., 1969), necrosis grasa (Stuedemann et al., 1985) y síndrome distérmico, siendo este último el más costoso y al que se le conoce como "festucosis". Este síndrome es el más comúnmente observado en el ganado. Se caracteriza clínicamente por la aparición de animales con sed, excesiva

salivación, intolerancia al calor, temperatura corporal y frecuencia respiratoria aumentada, con bajas ganancias de peso, baja producción de leche y baja tasa de concepción. Es más dramático durante el verano cuando la temperatura supera los 30 °C, aunque también se ha observado durante otras épocas del año (Schmidt y Osborn, 1993).

#### **1.4. NUEVA CEPA DE ENDÓFITOS “AMIGABLES”**

En la búsqueda de nuevas cepas no tóxicas para los animales, pero que mantengan la producción de alcaloides implicados en la tolerancia a factores de estrés biótico y abiótico de las plantas, en Nueva Zelanda fue aislada la cepa del endófito AR584 para *Festuca arundinacea*. Esta cepa fue inoculada en cultivares de uso comercial, sin alterar sus características agronómicas (Bouton, 2009). Produce principalmente los alcaloides lolina y peramina, encargados de repeler insectos (Bouton y Easton, 2005). La utilización de nuevos endófitos para aliviar los efectos de la festucosis es una opción viable para los productores, pero también debe tenerse en cuenta la mejor combinación endófito – planta y la mejora de los rasgos agronómicos a través del cultivo tradicional de plantas (Hill y Roach, 2009).

A nivel mundial existen diversos trabajos en los que animales que consumen *Festuca* infectada con el endófito AR584 tienen ganancias de peso similares a aquellos que consumen *Festuca* sin endófito y ambos son significativamente superiores a los cultivares inoculados con el endófito tóxico (Nihsen et al., 2004; Parish et al., 2013). Además, no se observaron diferencias significativas en sobrevivencia de plantas, al comparar con el endófito salvaje (Bouton et al., 2002). Entonces, la nueva cepa de hongos endófitos permite a la planta una mayor tolerancia frente a condiciones de estrés biótico y abiótico sin causar intoxicación a los animales que la consumen.

En Uruguay no existen antecedentes del uso de endófitos AR584 con fines productivos. Sin embargo, se han reportado disminuciones en la productividad de animales que pastorean *Festuca* con endófitos tóxicos (Riet-Correa et al., 2013).

## 1.5. CONTENIDO Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

La hipótesis de trabajo planteada fue: la inclusión de hongos endófitos permite mejorar la productividad y persistencia de cultivares de *Festuca arundinacea*, no afectando la performance animal en las condiciones del este de Uruguay.

El objetivo general fue evaluar la cepa AR584 en dos cultivares de uso comercial de *Festuca arundinacea* bajo pastoreo.

El primer objetivo específico fue comparar tasas de crecimiento, productividad, estacionalidad y valor nutritivo de las variedades inoculadas con endófito AR584, vs. aquellas sin inocular.

El segundo objetivo específico fue evaluar el efecto de la cepa AR584 sobre la productividad animal, comparando ganancias de peso diarias, productividad individual y por hectárea de novillos que pastorean festuca con y sin endófito AR584.

El tercer objetivo específico fue aportar información en aspectos de manejo de dicha especie para cada una de las estaciones a lo largo del año.

Este documento consta de dos artículos con formato de Revista Agrociencia Uruguay. El primero se titula "Productividad de *Festuca arundinacea* e inclusión de endófito AR584" el cual incluye información sobre la productividad, estacionalidad y calidad del forraje de cultivares de festuca sin inocular e inoculados con el endófito AR584. El segundo se titula "¿La incorporación de hongos endófitos en *Festuca arundinacea* incide en la producción de carne alcanzada? y resume la información sobre la performance de novillos en términos de la evolución de peso, ganancias diarias y producción física sobre las alternativas forrajeras descritas previamente. Toda la información se integra en un capítulo final que sintetiza la discusión a nivel de la producción vegetal y su interacción con la producción animal observada durante los 3 y 4 años según los cultivares en que se recopiló información.

## **2. PRODUCTIVIDAD DE *FESTUCA ARUNDINACEA* E INCLUSIÓN DEL ENDÓFITO AR584**

### **2.1 RESUMEN**

*Festuca arundinacea* es una especie invernal ampliamente utilizada en zonas templadas. A nivel mundial es conocida la simbiosis con hongos endófitos, que le confieren a la planta tolerancia frente a condiciones de estrés y mejora en la absorción de nutrientes pero son causantes de problemas por toxicidad en los animales que la consumen. En Nueva Zelanda se aisló la cepa AR584, la cual mantiene las virtudes de protección a la planta y no causa disturbios metabólicos en los animales que la consumen. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de endófitos AR584 y el manejo realizado sobre la productividad de dos cultivares comerciales de *Festuca arundinacea*, de ciclos contrastantes (temprano y tardío), comparándose con el cultivar Kentucky 31, con endófito tóxico (testigo). El ensayo se realizó con pastoreo rotativo, con tiempos fijos de ocupación y descanso. El diseño experimental fueron bloques al azar con cuatro repeticiones. Los animales permanecían un año en el ensayo y eran reemplazados por nuevos animales de similares características iniciales. Se evaluó: tasas de crecimiento, productividad, parámetros de calidad, biomasa pre y post pastoreo. No se encontraron diferencias significativas en tasas de crecimiento en kilos de materia seca (MS) ( $\text{kg ha}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ) ( $p=0.05$ ), sin embargo estacionalmente se observaron diferencias significativas entre variedades, aunque estas diferencias variaron según el año. Se encontraron diferencias a favor de la variedad Kentucky 31, en biomasa y alturas pre y post pastoreo. Los parámetros de calidad no fueron alterados por la presencia del endófito.

**Palabras claves:** AR584, productividad, pastoreo.

## 2.2 SUMMARY

*Festuca arundinacea* is a cool season grass widely used in temperate zones. At the world level, the symbiosis with endophytic fungi is known. It gives the plant tolerance to stress conditions and improvement in the absorption of nutrients, but it is the cause of toxicity problems in the animals that consume it. In New Zealand the AR584 strain was isolated. It maintains the virtues of protection to the plant and does not cause metabolic disturbances in the animals. The aim of this experiment was to evaluate the effect of the inclusion of endophyte AR584 and the management carried out on the productivity of two commercial cultivars of *Festuca arundinacea*, of contrasting cycles (early and late), comparing with Kentucky 31, with toxic endophyte (control). The experiment was carried out with rotating grazing, with fixed times of occupation and rest. The experimental design was a complete randomized blocks design with four blocks. The animals stayed one year in the trial and being replaced by new animals in late spring with similar initial characteristics. It was evaluated: growth rates, productivity, quality parameters, pre and post grazing biomass. No significant differences were found in growth ( $\text{kg ha}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) ( $p = 0.05$ ), however seasonal differences were observed between varieties, although these differences varied according to the year. Differences were found in favor of the Kentucky 31, in biomass and heights before and after grazing. The quality parameters were not altered by the presence of endophytes.

**Keywords:** AR584, productivity, grazing.

## 2.3 INTRODUCCIÓN

*Festuca arundinacea* es una gramínea de ciclo perenne invernal, ampliamente utilizada en zonas templadas (Hill et al., 1991), por su buena adaptación a diversos tipos de suelos: ácidos, alcalinos, de textura pesada o media (Carámbula, 2002).

Presenta buena precocidad otoñal y rápido rebrote a fin de invierno. La floración se produce en primavera y de acuerdo al momento los cultivares se clasifican en tempranos, medios y tardíos, tal es el caso de Aurora con floración a fines de agosto y Fortuna, con floración a comienzos de octubre (Ayala et al., 2010). La tasa de crecimiento de forraje máxima en esta especie se da durante la primavera y se ubica en valores promedio de 50 kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, manteniendo en el verano tasas de crecimiento promedio entre 10-20 kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, dependiendo fundamentalmente de las condiciones de humedad (García, 2003).

Es ampliamente conocida la simbiosis entre festuca y hongos del género *Epichloe* (Leuchtmann et al., 2014). La planta permite que el hongo absorba nutrientes (Christensen y Voisey, 2009) y el hongo le confiere a la planta resistencia a sequía, al pastoreo y a insectos (Belesky y West, 2009). Además, plantas de festuca infectadas con el endófito, presentan mayor número y mayor tamaño de macollos (Mersch y Cahoon, 2012), así como también mejoran la absorción de fosfatos, calcio, magnesio (Malinowski et al., 2000) y la utilización de nitrógeno (Lyons et al., 1990).

Por otro lado, estos hongos producen alcaloides tóxicos que causan disminución de las ganancias de peso, tasas de preñez y producción de leche en los animales que lo consumen (Waller, 2009). Dichos disturbios generan una disminución significativa de la productividad individual y por hectárea (Paterson et al., 1995).

Han sido identificadas y patentadas nuevas cepas de endófitos (AR542 y AR584 en festuca) capaces de producir solamente los alcaloides que poseen efectos benéficos sobre las plantas (Schardl y Panaccione, 2005), quedando demostrado que estas asociaciones mejoran la productividad, reducen el ataque de fitoparásitos (Bouton et al., 1993) y no afectan la salud de los animales que las consumen (Parish et al., 2003). En Uruguay no existen reportes sobre el uso de estos hongos endófitos con fines productivos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión del hongo endófito AR584 sobre la productividad forrajera bajo pastoreo de dos cultivares de *Festuca arundinacea* de tipo continental.

## 2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó adelante en la Unidad Experimental “Palo a Pique” de INIA Treinta y Tres, Uruguay (33° 16' S, 54° 29' O), desde abril de 2013 a diciembre de 2017.

Los suelos dominantes en el área experimental pertenecen a la Unidad Alférez y consisten en Argisoles subéutricos melánicos abrupticos y Planosoles subéutricos melánicos/ócricos clasificados como de clase III por su capacidad de uso y manejo. Estos suelos se clasifican respectivamente como Argiudol Oxiácuico Vértico y Argiacuol de acuerdo a USDA-NRCS Soil Taxonomy (Durán et al., 2005).

En otoño de 2013 fueron sembrados cinco cultivares de *Festuca arundinacea* pura: a) Kentucky 31 (K31, inoculada con un endófito tóxico, tratamiento testigo), b) Fortuna (FO), c) Fortuna inoculada con el endófito AR584 (FOE), d) Aurora (AU) y e) Aurora inoculada con el endófito AR584 (AUE), a una densidad promedio de 13 kg ha<sup>-1</sup>, bajo siembra directa. El área experimental previamente estuvo bajo una rotación agrícola de soja-trigo-moha desde setiembre de 2011. A la siembra se fertilizó con 150 kg ha<sup>-1</sup> de NPK (15-15-15), repitiéndose la dosis en los otoños 2014 y 2016. En el año 2015 se aplicó 100 kg ha<sup>-1</sup> de fosforita natural (0-10/29-0). A partir de la primavera de 2013 y de forma estacional, se aplicaron 100 kg ha<sup>-1</sup> de urea (46-0-0), coincidiendo las aplicaciones en los meses de enero, abril, julio y octubre.

El diseño experimental de la base forrajera fue de bloques al azar con 4 repeticiones, el tamaño de las unidades experimentales fue 1,2 ha.

Los pastoreos se realizaron cada año con 7 novillos cruza Aberdeen Angus por cultivar, de 15 meses de edad cuando ingresaban al experimento a fines de primavera, permaneciendo allí por un año. Además, se utilizaron animales volantes de características similares en momentos puntuales, con la finalidad de controlar excesos de forraje (*put and take*), resultando en una carga que expresada en kg PV ha<sup>-1</sup> fue variable a lo largo del año.



Los animales pastoreaban de forma rotativa en los cuatro bloques, permaneciendo 10 días en cada uno, y permitiendo un período de descanso luego de cada pastoreo de 30 días. Cada cultivar fue pastoreado con un lote único de animales.

En diciembre de 2013 se cuantificó el nivel de infección de endófitos de los diferentes cultivares, detectándose que el cultivar AUE presentaba un nivel de infección inferior al 85%. Por ello, se descartaron los tratamientos d y e, los cuales se resembraron en 2014. Dado que las distintas pasturas no tienen la misma edad, la información se reporta de la siguiente manera:

Caso 1: Se evaluó en forma conjunta los tratamientos a, b y c entre diciembre de 2013 y diciembre 2017. Los animales ingresaron el 1/12/2013 con un peso de  $206 \pm 22 \text{ kg an}^{-1}$ , el 10/12/2014 con  $189 \pm 22 \text{ kg an}^{-1}$ , el 8/12/2015 con  $165 \pm 11 \text{ kg an}^{-1}$  y el 22/12/2016 con  $263 \pm 9 \text{ kg an}^{-1}$ , para el 1er, 2do, 3er y 4to año de evaluación respectivamente.

Caso 2: Los tratamientos d y e se evaluaron entre diciembre de 2014 y diciembre de 2017. Las determinaciones del nivel de infección del endófito se realizaron en las siguientes fechas: 1/11/2014, 17/12/2014, 28/4/2015 y 10/5/2016. Los animales ingresaron a pastorear el 29/12/2014 con  $221 \pm 17 \text{ kg an}^{-1}$ , el 8/12/2015 con  $169 \pm 9 \text{ kg}^{-1}\text{an}$  y el 22/12/2016 con  $264 \pm 8 \text{ kg an}^{-1}$  para el 1er, 2do y 3er año de evaluación respectivamente

Las determinaciones del nivel de endófito se realizaron mediante la técnica "blotting test" (Gwinn et al. 1991), a partir de 100 macollos tomados al azar en cada parcela y procesadas en el Laboratorio de AgResearch en Nueva Zelanda. Esta técnica se basa en anticuerpos monoclonales y permite detectar la presencia de endófito desde tres semanas luego de la germinación de la planta (Hiatt et al., 1999; Hill et al., 2002).

Se realizó un balance hídrico, el cual se presenta con datos mensuales para los cuatro años del ensayo. Se tomaron las precipitaciones medidas en el sitio experimental y se asumió un 70% de utilización en los meses de abril a setiembre y un 80% de utilización en los meses de octubre a marzo (Carámbula y Terra, 2000), para obtener el valor de precipitaciones efectivas. Para el cálculo de evapotranspiración, se utilizó el valor de "evapotranspiración Penman" multiplicado por 0.9, kc para Festuca (Allen et al., 2006). Se consideró 51 cm de exploración radicular y 66 mm de almacenamiento de agua disponible, según análisis de

suelo realizados en el sitio experimental (USDA - NRSC, 2014). Se asume que el mes previo al comienzo del experimento, el suelo se encontraba a capacidad de campo.

#### 2.4.1 Determinaciones

La biomasa total de forraje fue determinada en dos momentos: previo a la entrada de los animales y al momento de salida, mediante corte de 6 muestras de forraje para cada uno, con un cuadro de 20 x 50 cm con tijera eléctrica al ras del suelo, en cada unidad experimental. La altura se midió mediante regla en 4 puntos dentro del cuadro, considerando el horizonte de mayor densidad de forraje.

A partir de submuestras obtenidas en los meses de enero, abril, julio y octubre (un mes por cada estación del año), se analizó en el Laboratorio de Nutrición perteneciente a INIA-La Estanzuela calidad nutricional (Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIV); Proteína cruda (PC) y Fibra Detergente Neutro (FDN).

Las tasas de crecimiento fueron estimadas mediante dos jaulas de exclusión del pastoreo en cada unidad experimental, cuantificando de forma independiente los momentos en que la parcela estaba bajo pastoreo y en descanso respectivamente, utilizando la técnica de Lynch (1947) modificada.

Las variables en estudio (tasas de crecimiento, producción de materia seca, biomasa disponible, biomasa remanente, alturas, porcentaje de proteína cruda, porcentaje fibra detergente neutro y porcentaje de digestibilidad de la materia orgánica) se testearon a través de análisis de varianza utilizando el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS (SAS 9.4, INIA sitio 70096472), utilizando para la separación de medias cuando correspondía el test de MDS (5%).

El modelo estadístico para el diseño experimental fue el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_{jk} + \epsilon_{ij}$$

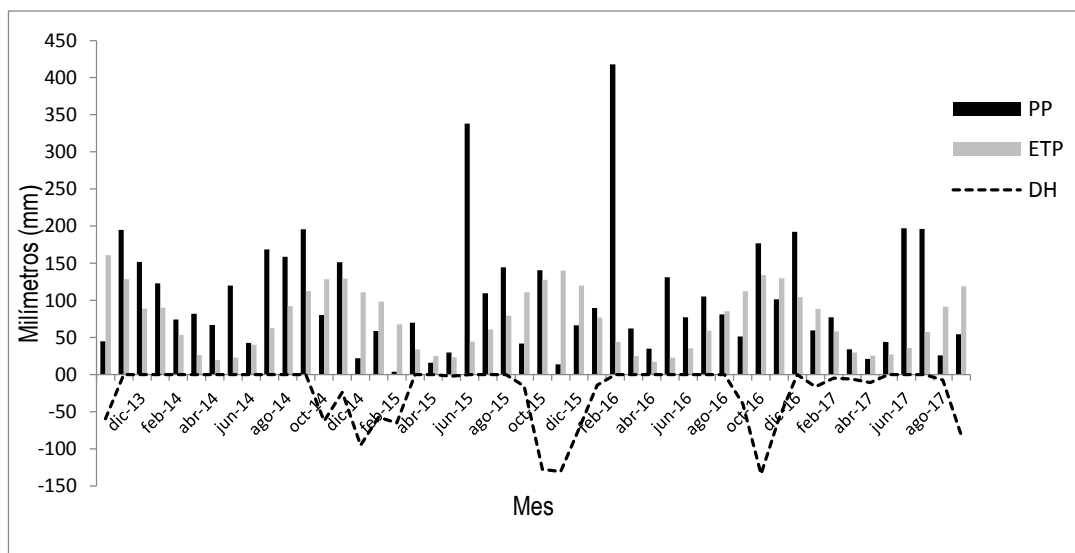
donde,  $\mu$ = media general,  $\tau_i$  efecto del i-ésimo tratamiento (FO, FOE, K31, AU, AUE),  $\beta_j$  efecto del j-ésimo bloque (1,2,3,4),  $\epsilon_{ij}$  error experimental en la unidad j del tratamiento i.

## 2.5 RESULTADOS

### 2.5.1 Balance hídrico

En la figura 1 se presenta el balance hídrico para el período experimental. Se observa la columna precipitaciones, evapotranspiración para festuca y en línea punteada se grafica los períodos en que hubo déficit hídrico.

A partir de estos datos se evidencia que durante el período experimental las condiciones hídricas fueron variables. Particularmente durante verano, se observan condiciones de déficit hídrico, que se extienden al otoño o primavera según el año.



**Figura 1.** Balance hídrico para el período experimental (PP: precipitaciones efectivas por mes en mm; ETP: evapotranspiración; DH: déficit hídrico).

### 2.5.2 Caso 1

#### 2.5.2.1 Blotting test

El cuadro 1 resume los resultados del análisis realizado para detectar endófitos. Se observa que los cultivares inoculados (FOE y K31) presentan a lo largo del período niveles de infección iguales o superiores al 89%, mientras que el cultivar FO siempre mantuvo niveles mínimos de infección.

**Cuadro 1.** Niveles de infección (%) de hongos endófitos en 3 cultivares de Festuca durante 4 años (Fuente: AgResearch).

CULTIVAR	01/12/2013	07/05/2014	28/04/2015	10/05/2016	10/05/2017
FO	0,2 ± 0,5	0,5 ± 0,6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
FOE	96,3 ± 2,5	96,5 ± 3,3	86,7 ± 12,3	99,8 ± 0,5	89,0 ± 11,5
K31	97,0 ± 1,2	94,5 ± 2,6	95,8 ± 2,5	98,5 ± 1,3	95,0 ± 2,8

### 2.5.2.2 Tasas de crecimiento de forraje

En el cuadro 2 se presentan las tasas de crecimiento de forraje promedio anual, en los periodos definidos previamente como descanso y pastoreo, encontrándose diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre años y ( $p < 0,0001$ ), para ambos periodos. No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento anual de forraje como consecuencia de la incorporación del endófito AR584 en el cultivar Fortuna.

**Cuadro 2.** Tasas de crecimiento de forraje promedio anual y desvío (kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) de 3 cultivares (CV) de Festuca en dos momentos en el ciclo de rotación (descanso y pastoreo), durante 4 años.

CV	2013 – 2014	2014 – 2015	2015 – 2016	2016 – 2017
DESCANSO				
FO	43,7 ± 29,6	31,2 ± 26	35,7 ± 28 ab	35,5 ± 24,5
FOE	46,7 ± 41,6	30,2 ± 31	42,6 ± 42 a	29,2 ± 29,1
K31	42,0 ± 27,4	29,7 ± 23,8	33,1 ± 25,5 b	34,1 ± 25,3
Sig. (p)	n.s	n.s	0,0309	n.s
PASTOREO				
FO	74,3 ± 46	40,9 ± 39,1	37,1 ± 34,2	34,4 ± 32,3
FOE	67,2 ± 53,9	39,9 ± 31,3	35,1 ± 29,1	31,7 ± 23
K31	65,2 ± 53,5	40,9 ± 38,5	39,5 ± 43,8	28,2 ± 26,3
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna para cada momento con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

Se compararon las tasas de crecimiento de forraje para cada estación dentro de cada año (Cuadro 3). Dentro del período denominado descanso, se encontraron diferencias significativas en 3 de las 4 primaveras evaluadas y en 2 de los inviernos, no observándose diferencias entre cultivares en verano y otoño en ninguno de los años evaluados. Cuando ocurren diferencias, el ranking entre los cultivares varía, observándose un efecto significativo

del endófito AR584 sobre las demás alternativas en el invierno y primavera del período 2015 – 2016.

En otoño 2016 - 2017, el cultivar FO supera a FOE, mientras que la situación inversa se registra en la primavera del mismo año. Para el cultivar K31, cuando se detectan diferencias significativas, los comportamientos son variables en comparación con los restantes cultivares.

Era esperable encontrar diferencias significativas en el período crítico de crecimiento para esta especie (verano). Sin embargo, en esta estación no se encontraron diferencias, para ninguno de los dos períodos.

**Cuadro 3.** Tasas de crecimiento de forraje estacionales (kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>), en dos momentos del ciclo de rotación (descanso y pastoreo) de 3 cultivares (CV) de Festuca durante 4 años.

CV	DESCANSO				PASTOREO			
	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
2013 – 2014								
FO	52,7	44,5	23,8	52,6	68,4	88,2	63,8	79,2 ab
FOE	52,6	54,7	26,3	54,3	60,9	56,5	46	96,8 a
K31	44,7	39,6	22,2	58,7	76,3	77,3	47,9	67,4 b
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	0,02
2014 – 2015								
FO	34,3	13,5	31,1 ab	47,6 ab	32,5	13,2	64,9	51,2
FOE	32,1	12,3	36,1 a	40,2 b	34,4	13,5	53,6	57,3
K31	28,7	12,8	25,8 b	55,7 a	26,4	19	62,4	54,8
Sig. (p)	n.s	n.s	0,03	0,008	n.s	n.s	n.s	n.s
2015 – 2016								
FO	17,3	48,5	28,8 b	44,8 b	6,4	35,3	35,3	59,1
FOE	9,6	34,2	56,3 a	67,7 a	14,7	29,3	35,3	52,8
K31	15,9	43,1	30,1 b	40,8 b	9,6	30,6	37	68,6
Sig. (p)	n.s	n.s	0,003	0,0006	n.s	n.s	n.s	n.s
2016 – 2017								
FO	49,5	39,8	22,4	32 a	42,8	53,8 a	22,3	20,2 b
FOE	38,2	41,7	17,7	21 b	32,5	34,6 b	20	38,9 a
K31	42,9	34,1	22,5	39 a	33,1	30,8 b	16	32,4 a
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	0,004	n.s	0,002	n.s	0,0001

Medias dentro de cada columna y año con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

### 2.5.2.3 Producción de forraje y calidad

En el cuadro 4 se presenta la producción total de forraje por estación y por año, para los 3 cultivares evaluados. Se encontraron diferencias significativas en verano 2014 – 2015, a favor de FO y en la primavera 2015 – 2016 a favor de FOE.

A pesar de las diferencias estacionales de producción entre años, explicadas fundamentalmente por las condiciones hídricas, se observa que la producción total anual de MS es estable entre años, siendo en promedio de 13 toneladas de MS ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (promedio 4 años).

**Cuadro 4.** Producción de forraje estacional (kg MS ha<sup>-1</sup>) de 3 cultivares (CV) de Festuca durante 4 años.

CV	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
	2013 – 2014			
FO	4289	5310	3251	4347
FOE	5615	3971	3231	5574
K31	4510	4456	2899	5338
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s
2014 – 2015				
FO	3348 a	1638	3860	2906
FOE	1747 b	1555	4208	2491
K31	1863 ab	1636	4069	3432
Sig. (p)	0.008	n.s	n.s	n.s
2015 – 2016				
FO	806	3545	3261	3444 b
FOE	616	2967	3983	5706 a
K31	662	3259	3380	3821 ab
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	0.009
2016 – 2017				
FO	4029	3513	1959	2377
FOE	3552	2942	1518	2193
K31	3350	2713	1962	3076
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna para cada año con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

En el cuadro 5 se resume la información estacional sobre la biomasa total y altura del forraje pre y post pastoreo promedio de los 3 cultivares durante los 36 ciclos de pastoreo.

**Cuadro 5.** Cantidad de forraje expresado en altura (cm) o biomasa (kg MS ha<sup>-1</sup>) manejada según estación y momento (D: pre pastoreo; R: post pastoreo) en tres cultivares de festuca para el promedio de 4 años de evaluación.

CV	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	D	R	D	R	D	R	D	R
Altura de forraje (cm)								
FO	15,6	11,2 b	15,3	11,1 a	14,7 a	9,3	20,0 ab	13,1 b
FOE	15,0	10,7 b	14,6	10,1 b	13,7 b	9,0	19,7 b	12,9 b
K31	16,1	12,1 a	15,1	11,2 a	14,2 ab	9,6	21,1 a	14,3 a
Sig. (p)	n.s	0,008	n.s	0,008	0,020	n.s	<0,0001	0,0002
Biomasa (kg MS ha <sup>-1</sup> )								
FO	3056	2539 b	2670	2237 ab	2601 b	2025 b	2832 b	2168 c
FOE	2991	2577 b	2631	2136 b	2499 b	2042 b	3013 b	2363 b
K31	3068	2798 a	2835	2352 a	2879 a	2252 a	3333 a	2661 a
Sig. (p)	n.s	0,034	n.s	0,0331	0,0004	0,0019	<0,0001	<0,0001

Medias dentro de cada columna con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

Se observan diferencias significativas en los períodos pre pastoreo en invierno y primavera y a nivel de los períodos post pastoreo en verano, otoño y primavera. La altura manejada al ingreso de la parcela en el experimento resultó como mínimo 13,7 cm y 9 cm a la salida. Las alturas de K31 son siempre superiores o similares a los mayores valores. Se observan diferencias significativas a nivel de D en invierno y primavera y para R en todas las estaciones, manteniéndose la tendencia que K31 presentan volúmenes más altos de forraje, lo que evidencia un menor consumo por parte de los animales. En general, se encuentran rangos promedio de biomasa altos tanto para los pre pastoreo (2499 – 3333 kg MS ha<sup>-1</sup>) como los post pastoreos (2025 – 2798 kg MS ha<sup>-1</sup>). A nivel de la cantidad de biomasa, se encuentran las mismas diferencias significativas expresadas con la altura, con la excepción de que se incorpora a nivel de biomasa también el remanente invernal.

A continuación se resumen los parámetros de calidad de los cultivares evaluados en este caso (cuadro 6), no encontrándose diferencias entre cultivares. En promedio a lo largo del

año la digestibilidad fue de  $63 \pm 5\%$ , el contenido de proteína cruda fue de  $14 \pm 3\%$  y el contenido de fibra detergente neutro fue de  $61 \pm 4\%$ .

**Cuadro 6.** Parámetros de calidad (DMO: digestibilidad de la materia orgánica, PC: proteína cruda, FDN: fibra detergente neutro) de 3 cultivares de Festuca en el promedio de 4 años (promedio por estación).

CV	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
	DMO (%)			
FO	58,7	60,7	66,3	66,3
FOE	57,7	59,8	65,4	68,4
K31	56,7	60,4	61,8	67,2
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s
PC (%)				
FO	10,9	14,6	17,2	13,5
FOE	11,4	13,5	15,2	14,9
K31	13,4	14,4	14,7	15,9
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s
FDN (%)				
FO	64,1	60,5	56,6	58,4
FOE	64,4	61,9	58,5	58,3
K31	63,5	61,7	58,8	57,7
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna para cada parámetro con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

### 2.5.3 Caso 2

A continuación se reportan los datos obtenidos para los cultivares AU y AUE en el período 2014-2017.

#### 2.5.3.1 Blotting test

El nivel de infección del cultivar con el hongo endófito (AUE) presentó valores de infección de 60% en promedio.



**Cuadro 7.** Niveles de infección (%) del hongo endófito AR584 en 2 cultivares de Festuca durante 3 años (Fuente: AgResearch).

CULTIVAR	01/11/2014	17/12/2014	28/04/2015	10/05/2016	10/05/2017
AU	6,0 ± 7,6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
AUE	54,3 ± 9	62,5 ± 7,7	60,7 ± 1,0	63,3 ± 11,6	56,0 ± 17,3

### 2.5.3.2 Tasas de crecimiento de forraje

No se encontraron diferencias significativas entre los cultivares en ninguna de las dos situaciones (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Tasas de crecimiento de forraje promedio anual y desvío (kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) de 2 cultivares de Festuca en dos momentos en el ciclo de rotación (descanso y pastoreo), durante 3 años.

CV	2014 – 2015	2015 – 2016	2016 – 2017
	DESCANSO		
AU	29,4 ± 18	34,9 ± 25,1	32,2 ± 20,4
AUE	27,6 ± 16,3	35,6 ± 31,1	29,7 ± 20,3
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s
PASTOREO			
AU	42,2 ± 35,5	48,9 ± 39,2	34,2 ± 34,7
AUE	35,6 ± 38,6	45,1 ± 40,5	35,2 ± 30,3
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna para cada momento con diferentes letras muestras diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

En el cuadro 9 se reportan las tasas de crecimiento por estación. Se encontraron diferencias significativas en dos de los períodos evaluados. Las diferencias fueron de la variedad sin hongo (AU), sobre la variedad con hongo (AUE). Durante verano no se observan diferencias significativas de las variedad inoculada sobre la sin inocular.

**Cuadro 9.** Tasas de crecimiento de forraje estacionales (kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>), en dos momentos del ciclo de rotación (descanso y pastoreo) de 2 cultivares de Festuca durante 3 años.

CV	DESCANSO				PASTOREO			
	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
2014 – 2015								
AU	21,1	21,7	33,9	52,4 a	41	26,8	55,7	55,5 a
AUE	19,8	20,5	34,2	42,5 b	31,4	20,1	55,3	24,7 b
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	0,03	n.s	n.s	n.s	<0,0001
2015 – 2016								
AU	15,6	43,1	42,3	41,7	28,6	59,3	54,8	58,1
AUE	15,4	33,7	37	48,8	27,5	46,6	48,6	55
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
2016 – 2017								
AU	45,8	33,6 a	18,3	31,1	34,2	59,4	29,5	18,9
AUE	40,5	27,7 b	16,4	35,1	34,1	53,6	26,7	21,4
Sig. (p)	n.s	0,05	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

### 2.5.3.3 Producción de forraje y calidad.

A partir de las tasas de crecimiento se obtuvo producción total de MS por estación (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Producción de MS (kg ha<sup>-1</sup>) por estación y variedad, para cada año.

CV	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
2014 – 2015				
AU	1439	2118	3723	2290
AUE	1486	1883	3603	1423
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s
2015 – 2016				
AU	1659	4046	3854	3960
AUE	1455	3121	4024	4495
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s
2016 – 2017				
AU	3803	3138	2049	2006
AUE	3464	2924	1835	2254
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

A continuación se resume el manejo realizado para las variedades AU y AUE.

**Cuadro 11.** Biomasa de festuca expresada en kg MS ha<sup>-1</sup> y altura en cm según variedad y estación. (D: biomasa prepastoreo, disponible, R: biomasa post pastoreo, remanente).

CV	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	D	R	D	R	D	R	D	R
Altura de forraje (cm)								
AU	16,3 a	10,5	14,5	10,3	14,7	9,7	20,4	13,2
AUE	14,8 b	10	13,8	10,5	14,5	9,5	20,3	13
Sig. (p)	0,023	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Biomasa (kg MS ha <sup>-1</sup> )								
AU	2917	2251	2634 a	2106	2509	2056	2832	2173
AUE	2764	2317	2465 b	2117	2560	2047	2823	2233
Sig. (p)	n.s	n.s	0,046	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

Se resumen los parámetros de calidad de los cultivares evaluados. No se encontraron diferencias significativas entre las variedades. En promedio, la digestibilidad a lo largo del año fue de  $64 \pm 6\%$ , el contenido de proteína cruda fue de  $15,4 \pm 5\%$  y el contenido de fibra detergente neutro fue de  $58,4 \pm 4\%$ . Si bien las diferencias no fueron significativas se observa una tendencia a que la variedad inoculada con endófito AR584 presenta mayores valores de digestibilidad y menores valores de fibra detergente neutro.

**Cuadro 12.** Parámetros de calidad de la pastura (valores promedio por estación). DMO: digestibilidad de la materia orgánica, PC: proteína cruda, FDN: fibra detergente neutro.

CV	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
DMO (%)				
AU	55,8	60,3	64,7	61,1
AUE	60,7	71,3	69,0	61,5
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s
PC (%)				
AU	10,1	17,3	18,6	12,8
AUE	10,9	17,5	18,0	12,8
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s
FDN (%)				
AU	63,2	60,3	56,9	60,2
AUE	60,4	57,5	53,4	58,7
Sig. (p)	n.s	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

## 2.6 DISCUSIÓN

Este trabajo es el primer reporte de utilización de endófitos AR584 con fines productivos en Uruguay.

La asociación endófito – planta presentó diferencias entre las variedades. FOE, presentó niveles adecuados de infección, por encima de 90%, en cambio AUE aún luego de ser sembrada presentó valores de infección de 60%. El porcentaje de infección permite medir la presencia de endófitos en un determinado número de plantas. Diversos trabajos reportan un control genético de la planta huésped sobre el endófito, determinando así, una cierta especificidad de la asociación endófito – planta (Belesky y Fedders, 1996). La incompatibilidad de esta asociación se evidencia en muerte del hongo, muerte de las células del huésped o atrofia de los macollos (Schardl et al., 2004).

Durante el primer año de evaluación experimental se realizaron mediciones de concentración de alcaloides en planta para las variedades FOE y K31. Se observó que en la variedad FOE se produjeron los alcaloides lolina y peramina y en la variedad K31 se produjeron lolina, peramina y ergovalina, con niveles variables según el mes (Brito s/p). A partir de estos

resultados podemos inferir que la asociación planta – endófito se encontraba activa. No se cuenta con datos de producción de alcaloides para la variedad AUE.

Diversos trabajos reportan que aún con bajos niveles de infección es esperable que haya producción de alcaloides y efectos negativos en producción animal (Williams et al., 1984; Crawford et al., 1989; Studemann et al., 1986). Aunque no se alcancen valores altos de infección los endófitos igualmente están presentes y activos. Además existen otros factores que afectan el nivel de toxicidad, por ejemplo la época del año (influencia de las altas temperaturas) (Hemken et al., 1981), la altura de pastoreo (los endófitos se ubican en la base de los macollos y vainas, por lo tanto pastoreos más al ras serían más perjudiciales) (Schardl et al., 2004) y la fertilización nitrogenada (Lyons et al., 1986).

El efecto de la inclusión de hongos endófitos sobre la producción de forraje fue evaluado a través de la comparación de las tasas de crecimiento. El corte al ras genera una situación de estrés para la planta, similar al pastoreo intenso. En el caso 1 las variedades se comportaron diferentes en cada estación, no siempre la misma variedad fue superior. En el caso 2, las diferencias siempre fueron de AU sobre AUE. De acuerdo con los datos reportados por la bibliografía, era esperable que las diferencias significativas encontradas fueran de las variedades con endófito sobre las sin endófito, principalmente en condiciones de estrés hídrico o elevadas temperaturas (verano). Arachevaleta et al., (1989) y Read y Camp (1986) observaron que, plantas infectadas con endófitos sobrevivían frente a condiciones de estrés hídrico (-0.5 MPa), en cambio aquellas plantas no infectadas morían. Arachevaleta et al., (1989) reporta diferencias de entre 30% y 50% en rendimiento de materia seca a favor de las variedades con endófito, al comparar plantas infectadas vs sin infectar. Assuero et al., 2006 observó baja exposición foliar y acumulación de osmoprotectores en condiciones de déficit hídrico en plantas con endófitos, determinando esto mayor sobrevivencia de plantas.

A partir de los resultados podemos concluir que las condiciones para la expresión de los efectos del endófito sobre las plantas de festuca sucedieron (estrés hídrico, temperaturas, producción de alcaloides, pastoreo). Las razones que podrían explicar la ausencia de diferencias significativas en este trabajo, a favor de las variedades con endófitos, podrían ser diversas, por un lado el manejo realizado manteniendo altos remanentes previo al corte al ras; la fertilización nitrogenada, que actúa como estimulante del crecimiento (Formoso, 1994),

posiblemente una baja densidad de insectos y una baja incidencia de enfermedades, no pudiendo diferenciarse las variedades que si presentan el endófito inoculado.

Se destaca que aún sin obtener efecto en las tasas de crecimiento por la inclusión de los endófitos, en promedio para el periodo descanso (30 días) las tasas de crecimiento fueron:  $33 \pm 21$ ;  $34 \pm 12$ ;  $35 \pm 11$ ;  $38 \pm 14$  kg MS ha<sup>-1</sup>día<sup>-1</sup>, para Fortuna y Fortuna con endófitos y  $25 \pm 14$ ;  $32 \pm 9$ ;  $35 \pm 12$ ;  $30 \pm 15$  kg MS ha<sup>-1</sup>día<sup>-1</sup> para Aurora y Aurora con endófitos, durante verano, otoño, invierno y primavera respectivamente. La mayor variabilidad se observa durante el verano, a la vez que las diferencias entre estaciones no son marcadas.

De acuerdo a los resultados presentados que refieren a alturas pre y post pastoreo, muestran que en general los valores promedio se encuentran por encima de los valores de referencia para el manejo de dicha especie. Las recomendaciones de manejo se encuentran en torno a los 10 cm de altura de remanente (por encima en verano y otoño y por debajo en invierno y primavera) (Carámbula, 2002). Sin embargo, durante verano, asociado fundamentalmente a condiciones de déficit hídrico las alturas de forraje se encuentran en períodos puntuales por debajo de los valores óptimos.

La utilización de alturas de forraje adecuadas, permite una recuperación más rápida post pastoreo debido a que el crecimiento luego de la defoliación está directamente relacionado con el área foliar remanente (Carámbula, 2004). Virkajärvi (2004) encontró que aumentos en la altura de pastoreo de 3 a 9 cm permitían incrementos en las tasas de crecimiento de 19%. En este sentido, Brougham (1956) comparando tres alturas de remanente concluye que mayores remanentes de buena calidad, permiten acumular más forraje en menor tiempo.

No se detectan diferencias significativas entre las variedades sin endófito y las variedades con el endófito AR584, pero si se observan diferencias estadísticas en biomasa y altura, en K31. Este resultado se explica por una disminución en el consumo de los novillos que pastorean esta variedad, ya que no se encontraron diferencias en crecimiento. En este sentido, Aldrich et al. (1993) reportan menor consumo de forraje de Festuca infectada con endófitos salvajes, debido a la presencia de sustancias tóxicas. Los mayores remanentes observados, podrían causar una disminución de la digestibilidad por una mayor acumulación de forraje y mayor material senescente (Waller, 2009). Bush y Fannin (2009) sugieren que el

menor consumo observado en festuca con endófitos salvajes, podría ser además un mecanismo de tolerancia a la sequía para la planta.

La inclusión de endófitos no determinó diferencias significativas en los parámetros de calidad de las variedades. Estos resultados coinciden con estudios realizados por Bush y Burrus, (1988) y Burns (2009) quienes reportan que los valores de proteína cruda (%), fibra detergente neutro (%) y digestibilidad de la materia seca (%), de variedades con y sin endófito no presentaron diferencias significativas.

Con respecto a la producción de MS y su distribución estacional, de acuerdo con la caracterización de las variedades y de la especie (Ayala et al., 2010), era esperable una diferencia más marcada en la distribución estacional de la producción. García, (2003), reporta que en especies perennes es esperable obtener una curva bimodal de producción de MS con un pico máximo en primavera y un pico de menor magnitud durante otoño. En este experimento la distribución estacional fue 23%, 24%, 25% y 28% para Fortuna y Fortuna con endófitos. Para Aurora y Aurora con endófitos la distribución estacional fue 21%, 26% 29% y 24%, para verano, otoño, invierno y primavera respectivamente. Estos resultados pueden explicarse en cierta medida por: fertilización nitrogenada, manejo del pastoreo y manejo de los períodos de descanso.

## **2.7 CONCLUSIONES**

La inclusión del hongo endófito AR584 no tuvo efectos significativos en el crecimiento y productividad de las variedades evaluadas.

La relación endófito – planta fue diferente en las dos variedades y resulta un aspecto importante a tener en cuenta.

Los endófitos salvajes presentes en la variedad K31 no tuvieron efectos significativos en crecimiento y productividad, pero redujeron el consumo de MS en los novillos que pastorearon, lo que se visualiza en una mayor biomasa y altura del forraje remanente post pastoreo.

Utilizar alturas de forraje dentro de los rangos recomendados o por encima, permite una recuperación rápida post pastoreo, además permite tener pasturas con altos niveles productivos y persistentes.

## 2.8 BIBLIOGRAFÍA

- Aldrich CG, Paterson JA, Tate JL, Kerley MS.** 1993. The effects of endophyte infected tall fescue consumption on diet utilization and thermal regulation in cattle. *Journal of Animal Science*, 71(1), 164–170.
- Arachevaleta M, Bacon CW, Hoveland CS, Radcliffe DE.** 1989. Effect of Tall Fescue Endophyte on Plant Response to Environmental Stress. *Agronomy Journal*, 81(1), 83–90.
- Assuero SG, Tognetti JA, Colabelli MR, Agnusdei MG, Petroni EC, Posse MA.** 2006. Endophyte infection accelerates morphophysiological responses to water deficit in tall fescue. *New Zealand Journal of Agricultural research*. 49 (1): 49 – 61.
- Ayala W, Bemhaja M, Cotto B, Do Canto J, García J, Olmos F, Real F, Rebuffo M, Reyno R, Rossi C, Silva J.** 2010. Forrajeras: catálogo de cultivares. Montevideo, INIA.
- Allen RG, Pereira LS, Raes D, Smith M.** 2006. Evapotranspiración del cultivo. Guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos. Roma (Italia): FAO (Estudios sobre Riego y Drenaje, n° 56).
- Belesky DP, West CP.** 2009. Abiotic stresses and endophyte effects. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds.). Tall fescue for the twenty-first century. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph; n° 53). 49-64.
- Belesky DP, Fedders JM.** 1996. Does Endophyte Influence Regrowth of Tall Fescue?. *Annals of Botany*, 78: 499 – 505.
- Bouton JH, Gates RN, Belesky DP, Owsley M.** 1993. Yield and persistence of tall fescue in the southeastern coastal plain after removal of its endophyte. *Agronomy Journal*, 85 (1), 52-55.



- Brougham RW.** 1956. Effect of intensity of defoliation on regrowth of pasture. *Australian Journal of Agriculture Research*. 7(5): 377–387.
- Burns JC.** 2009. Nutritive Value. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds.). Tall fescue for the twenty-first century.. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph; n° 53). 159–201.
- Bush L, Burrus Jr PB.** 1988. Tall Fescue Quality and Agronomic Performance as Affected by the Endophyte. *Journal of Production Agriculture*. 1(1): 55-60.
- Bush L, Fannin FF.** 2009. Alkaloids. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds.). Tall fescue for the twenty-first century.. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph; n° 53). 229–249.
- Carámbula M.** 2002. Pasturas y forrajes. Potenciales y alternativas para producir forraje. Montevideo: Hemisferio Sur. 357p.
- Carámbula M.** 2004. Pasturas y forrajes. Manejo, persistencia y renovación de pasturas. Montevideo: Hemisferio Sur. 413p.
- Carámbula M, Terra J.** 2000. Las sequías: antes durante y después. Montevideo (Uruguay): INIA. (Boletín de divulgación, n° 74).
- Christensen MJ, Voisey CR.** 2009. Tall fescue–endophyte symbiosis. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP (Eds.). Tall fescue for the twenty-first century. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph; n° 53). 251-272.
- Crawford RJ, Forwood JR, Belyea RL, Gardner GB.**1989. Relationship between level of endophyte infection and cattle gains on tall fescue. *Journal of Production Agriculture*, 2, 147 – 151.
- Durán A, Califra A, Molfino JH, Lynn W.** 2005. Keys to Soil Taxonomy for Uruguay. Washington: Natural Resources Conservation Service (NRCS)
- Formoso F.** 1994. Efectos de dosis y momentos de aplicación de nitrógeno sobre la producción de semillas de festuca Tacuabé, Falaris Urunday y Dactylis Oberón. En:

- Morón A, Risso D (Coords.). Nitrógeno en pasturas.. Montevideo (Uruguay): INIA. (Serie Técnica, n° 51). 19-25.
- García JA.** 2003. Crecimiento y calidad de gramíneas forrajeras en La Estanzuela. Montevideo: INIA. (Serie Técnica; n° 133)
- Gwinn KD, Collins-Shepard MH, Reddick BB.** 1991. Tissue print-immunoblot, an accurate method for the detection of *Acremonium coenophialum* in tall fescue. *Phytopathology*, 81(7), 747-748.
- Hemken RW, Boling JA, Bull LS, Hatton RH, Buckner RC, Bush LP.** 1981. Interaction of environmental temperature and anti-quality factors on the severity of summer fescue toxicosis. *Journal of Animal Science*, 52 (4), 710 – 714.
- Hiatt III EE, Hill NS, Bouton JH, Stuedemann JA.** 1999. Tall fescue endophyte detection: commercial immuno-blot test kit compared with microscopic analysis. *Crop Science* 39:796-799.
- Hill NS, Hiatt III EE, De Battista JP, Costa MC, Griffiths CH, Klap J, Thorogood D, Reeves JH.** 2002. Seed testing for endophytes by microscopic and immunoblot procedures. *Seed Science Technology* 30:347-355.
- Hill NS, Belesky DP, Stringer WC.** 1991. Competitiveness of tall fescue as influenced by *Acremonium coenophialum*. *Crop Science*, 31(1), 185-190.
- Leuchtmann A, Bacon CW, Schardl CL, White Jr JF Tadych M.** 2014. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycologia*, 106 (2), 202-215.
- Lynch PB.** 1947. Methods of measuring the production from grasslands. A review of the techniques employed by the Fields Division, Department of Agriculture. *New Zealand Journal of Science and Technology*, Section A (28), 385-405.

- Lyons PC, Plattner RD, Bacon CW.** 1986. Occurrence of peptide and clavinet ergot alkaloids in tall fescue grass. *Science*, 232, 487 – 489.
- Lyons PC, Evans JJ, Bacon CW.** 1990. Effects of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* on nitrogen accumulation and metabolism in tall fescue. *Plant Physiology*, 92(3), 726-732.
- Malinowski DP, Alloush GA, Belesky DP.** 2000. Leaf endophyte *Neotyphodium coenophialum* modifies mineral uptake in tall fescue. *Plant and Soil*, 227(1-2), 115-126.
- Mersch SM, Cahoon AB.** 2012. Biomass and tiller growth responses to competition between Ky31 and MaxQ *Festuca arundinacea* cultivars and response of Ky31 to exogenously applied liquid preparation of *Neotyphodium coenophialum* under glasshouse conditions. *Grass and Forage Science*, 67(2), 299-304.
- Parish JA, McCann MA, Watson RH, Paiva NN, Hoveland CS, Parks AH, Upchurch BL, Hill NS, Bouton JH.** 2003. Use of nonergot alkaloid-producing endophytes for alleviating tall fescue toxicosis in stocker cattle. *Journal of Animal Science*, 81 (11), 2856-2868.
- Paterson J, Forcherio C, Larson B, Samford M, Kerley M.** 1995. The effects of fescue toxicosis on beef cattle productivity. *Journal of Animal Science*, 73(3), 889-898.
- Read JC, Camp BJ.** 1986. The effect of the fungal endophyte *Acremonium Coenophialum* in tall Fescue on animal performance, toxicity and stand maintenance. *Agronomy Journal*, 78 (5), 848–850.
- Schardl CL, Leuchtman A, Spiering MJ.** 2004. Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annual Review Plant Biology*, 55, 315-340.
- Schardl CL, Panaccione DG.** 2005. Biosynthesis of ergot and loline alkaloids. En: Roberts CA, West CP, Spiers DE. (Eds). *Neotyphodium in Cool-Season Grasses*. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing. 73-92.
- Studemann JA, Wilkinson SR, Belesky DP, Hoveland CS, Devine OJ, Thompson FN, McCampbell HC, Townsend WE, Ciordia H.** 1986. Effect of level of fungus and

nitrogen fertilization rate of KY-31 tall fescue in steer performance. *Journal of Animal Science*, 63(1), 290 – 291.

**USDA (United States Department of Agriculture), NRCS (Natural Resources Conservation Service) NSSC-SSL Report Uruguay.** 2014. Soil characterization Data. Primary characterization Data (Uruguay). USA: USDA-NRCS.

**Virkajärvi P.** 2004. Growth and utilization of timothy – meadow fescue pastures. University of Helsinki, Dept of Applied Biology. Section of Crop Husbandry, publication no. 19.

**Waller JC.** 2009. Endophyte effects on cattle. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds). Tall fescue for the twenty-first century.. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph n°53). 289-310.

**Williams MJ, Backman PA, Crawford MA, Schmidt SP, King Jr CC.** 1984. Chemical control of the tall fescue endophyte and its relationship to cattle performance. *New Zeland Journal of Experimental Agriculture*, 12 (2), 165–171.

### **3. ¿LA INCORPORACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS EN *FESTUCA ARUNDINACEA* INCIDE EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE ALCANZADA?**

#### **3.1 RESUMEN**

El objetivo del trabajo fue evaluar la productividad de carne en novillos pastoreando los cultivares de *Festuca arundinacea* INIA Fortuna e INIA Aurora y la incidencia de la inclusión en ambos del hongo endófito AR584 en la performance animal individual y por hectárea alcanzada. Se utilizó como control el cultivar Kentucky 31 inoculado con un endófito tóxico. El diseño experimental de la base forrajera fue bloques al azar con cuatro repeticiones, donde los pastoreos se realizaban de forma rotativa, con duración fija de los períodos de pastoreo y descanso. Cada tratamiento fue pastoreado con 7 novillos de 15 meses de edad al inicio del experimento. Se utilizaron además animales volantes para ajustar la oferta de forraje. Los animales permanecían un año en el ensayo y luego eran reemplazados por animales de similares características iniciales. La evaluación se realizó durante 4 años en INIA Fortuna y durante 3 años en INIA Aurora. Se encontraron diferencias significativas en las ganancias de peso estacionales, en las cargas utilizadas así como también en la producción de peso vivo por estación ( $p < 0,05$ ). En todos los casos las variedades con endófito AR584 y sin endófito fueron iguales entre sí y superiores a K31. La cepa AR584 inoculada en las variedades Fortuna y Aurora no afectó la performance de los novillos que la pastorean.

**Palabras clave:** Performance animal, *Festuca* continental, manejo, endófito AR584.

### **3.2 SUMMARY**

The objective of the experiment was to evaluate the meat productivity in steers grazing the cultivars of Tall Fescue Fortuna and Aurora and the incidence of the inclusion of the endophyte fungus AR584 in the individual animal performance and per hectare reached. The Kentucky 31 cultivar inoculated with a toxic endophyte was used as control. The experimental design of the forage base was random blocks with four repetitions, where grazing was carried out on a rotating basis, with fixed duration of grazing and resting periods. Each treatment was pastored with 7 steers of 15 months of age at the beginning of the experiment. Put and take animals were also used to adjust the supply of forage. The animals remained one year in the trial and were then replaced by animals with similar initial characteristics. The evaluation was conducted for 4 years in Fortuna and for 3 years in Aurora. Significant differences were found in the weight gains, in the loads used as well as in the production of live weight. In all cases, the varieties with endophyte AR584 and without endophyte were equal to each other and greater than K31. The strain AR584 inoculated in the varieties Fortuna and Aurora did not affect the performance of the steers that graze it.

**Keywords:** Animal performance, tall fescue, management, novel endophyte AR584.

### 3.3 INTRODUCCIÓN

La producción de carne es el principal rubro de exportación en Uruguay, contribuyendo con el 17% de las exportaciones en 2017 (Uruguay XXI, 2017). En los últimos años ha ocurrido un proceso de creciente intensificación de la producción de carne, sustentado en la incorporación de tecnologías de distinto tipo. En este sentido, una de las tecnologías de mayor adopción ha sido la siembra de pasturas perennes, fundamentalmente en base a *Festuca arundinacea*. DIEA (2018), reporta aumentos en la superficie de praderas perennes de 7% en explotaciones lecheras, 2% en explotaciones agrícolas ganaderas y 1.1% en explotaciones ganaderas para el período 2009 - 2017.

Esta especie presenta un ciclo perenne invernal, y una buena adaptación a diferentes tipos de suelos (Carámbula, 2002), lo cual hace que sea una buena opción tanto para siembras puras como en mezcla con leguminosas. A nivel nacional, existe una amplia oferta de cultivares en el mercado mayoritariamente de tipo continental, que difieren en características nutricionales, tolerancia a enfermedades y ciclos productivos entre otros aspectos. Tal es el caso del cultivar INIA Fortuna, un cultivar de alta calidad y floración tardía en comparación con el cultivar INIA Aurora, cultivar de floración temprana y entrega de forraje equilibrada a lo largo del año (Ayala et al., 2010), ambos liberados por el programa de mejoramiento genético de forrajeras de INIA Uruguay.

Ha sido largamente estudiada la asociación de festuca con el hongo *Neotyphodium coenophialum*, actualmente clasificado dentro del género *Epichloe* (Leuchtman et al., 2014). Esta simbiosis, si bien favorece a la planta frente a situaciones de estrés, por ejemplo por sequía (Glenn et al., 1996), herbivoría e insectos (Schardl et al., 2004), presenta problemas de toxicidad en los animales que la pastorean. Se han reportado disminuciones en el consumo de materia seca (Johnson et al., 2012), bajas ganancias diarias, bajos porcentajes de preñez (Paterson et al., 1995) y mermas en la producción de leche (Waller, 2009) debido a la producción de ergo-alcaloides tóxicos, principalmente ergovalina (Siegel et al., 1990). La disminución en la productividad animal se ve exacerbada en condiciones de estrés calórico, con altas temperaturas y humedad relativa (Johnson et al., 2012). Este tipo de intoxicación denominada subclínica, es la más común en nuestro país (Riet-Correa et al., 2013).

En Nueva Zelanda han sido seleccionados hongos endófitos que producen solo los alcaloides benéficos. Fue identificada la cepa AR584, que asociada a *Festuca* mejora la productividad de forraje, reduce el ataque de insectos y virus (Bouton et al., 1993) sin afectar la salud animal (Parish et al., 2003).

En nuestro país no existen antecedentes del uso de endófitos con fines productivos. INIA Uruguay ha incorporado esta cepa en cultivares de *Festuca*, en el marco de un acuerdo con la empresa semillerista PGG Wrightson Seeds y el Instituto AgResearch de Nueva Zelanda.

La hipótesis de trabajo planteada fue que la inclusión del endófito AR584 en *Festuca* es segura para los animales que la consumen, no causando disturbios a nivel metabólico. El objetivo de este trabajo fue evaluar la productividad animal de novillos pastoreando dos cultivares de *Festuca arundinacea* de tipo continental y la incidencia del hongo endófito AR584 en la performance animal alcanzada.

### **3.4 MATERIALES Y MÉTODOS**

El ensayo se llevó adelante en la Unidad Experimental “Palo a Pique” de INIA Treinta y Tres, Uruguay (33° 16' S, 54° 29' O), desde abril de 2013 a diciembre de 2017.

En el otoño de 2013 fueron sembrados cinco cultivares de *Festuca arundinacea* pura: a) Kentucky 31 (K31, inoculada con un endófito salvaje, tratamiento testigo), b) Fortuna (FO), c) Fortuna inoculada con el endófito AR584 (FOE), d) Aurora (AU) y e) Aurora inoculada con el endófito AR584 (AUE), a una densidad promedio de 13 kg ha<sup>-1</sup>, con siembra directa. El área experimental previamente estuvo bajo una rotación agrícola de soja-trigo-moha desde setiembre de 2011. A la siembra se fertilizó con 150 kg ha<sup>-1</sup> de NPK (15-15-15), repitiéndose la dosis en los otoños 2014 y 2016. En el año 2015 se aplicó 100 kg ha<sup>-1</sup> de fosforita natural (0-10/29-0). A partir de la primavera de 2013 y de forma estacional, se aplicaron 100 kg ha<sup>-1</sup> de urea (46-0-0), coincidiendo las aplicaciones en los meses de enero, abril, julio y octubre.

El diseño experimental de la base forrajera fue de bloques al azar con 4 repeticiones, con unidades experimentales de 1.2 has.

Los pastoreos se realizaron cada año con 7 novillos cruza Aberdeen Angus por cultivar, de 15 meses de edad cuando ingresaban al experimento, comenzando a fines de primavera y



permaneciendo allí por un año. Previo al ingreso, los animales fueron desparasitados e inmunizados contra enfermedades clostridiales, permaneciendo con agua y forraje *ad libitum*, sin acceso a sombra. Se utilizaron animales volantes (de características similares a los animales que permanecían fijos) en momentos puntuales, con la finalidad de controlar excesos de forraje (*put and take*). Por lo tanto la carga en kg PV ha<sup>-1</sup> a lo largo del año fue variable.

Los animales pastoreaban de forma rotativa durante 10 días en cada bloque y dentro de esta cada cultivar en forma simultánea e independiente por el mismo lote de animales teniendo 90 días de ocupación y 275 días de descanso a lo largo del año.

En diciembre de 2013 se cuantificó el nivel de infección de endófitos de los diferentes cultivares, detectándose que el cultivar AUE presentaba un nivel de infección inferior al 85%. Por ello, se descartaron los tratamientos d y e, los cuales se resembraron en 2014. Dado que las distintas pasturas no tienen la misma edad, la información se reporta de la siguiente manera:

Caso 1: Se evaluó en forma conjunta los tratamientos a, b y c entre diciembre de 2013 y diciembre 2017. Las determinaciones de nivel de infección de endófito se realizaron el 1/12/2013, 7/5/2014, 28/4/2015 y el 10/5/2016. Los animales ingresaron el 1/12/2013 con un peso de  $206 \pm 22$  kg el 10/12/2014 con  $189 \pm 22$  kg, el 8/12/2015 con  $165 \pm 11$  kg y el 22/12/2016 con  $263 \pm 9$  kg de peso promedio por animal, para el 1er, 2do, 3er y 4to año de evaluación respectivamente.

Caso 2: Los tratamientos d y e se evaluaron entre diciembre de 2014 y diciembre de 2017. Las determinaciones del nivel de infección del endófito se realizaron en las siguientes fechas: 1/12/2013, 1/11/2014, 17/12/2014, 28/4/2015 y 10/5/2016. Los animales ingresaron a pastorear el 29/12/2014 con  $221 \pm 17$  kg, el 8/12/2015 con  $169 \pm 9$  kg y el 22/12/2016 con  $264 \pm 8$  kg de peso promedio por animal, para el 1er, 2do y 3er año de evaluación respectivamente.

Para determinar el nivel de infección con endófitos se utilizó la técnica "blotting test" (Gwinn et al. 1991), a partir de 100 macollos tomados al azar en cada parcela y procesadas en el Laboratorio de AgResearch en Nueva Zelanda. Esta técnica se basa en anticuerpos

monoclonales y permite detectar la presencia de endófito desde tres semanas luego de la germinación de la planta (Hiatt et al., 1999; Hill et al., 2002)

### 3.4.1 Determinaciones

La biomasa total de forraje fue determinada en dos momentos: previo a la entrada de los animales y al momento de salida de los mismos, en cada parcela, mediante corte de 6 muestras de forraje para cada uno, con un cuadro de 20 x 50 cm con tijera eléctrica al ras del suelo, en cada unidad experimental. La altura se midió mediante regla en 4 puntos dentro del cuadro, considerando el horizonte de mayor densidad de forraje

Para estimar las tasas de crecimiento, en cada unidad experimental se disponía de dos jaulas de exclusión de pastoreo, cuantificando de forma independiente los momentos en que la parcela estaba bajo pastoreo y en descanso respectivamente, utilizando la técnica de Lynch (1947) modificada.

Cada 20 días se registró el peso vivo de los animales, utilizando una balanza electrónica (True Test, modelo EW6), con ayuno previo de 15 horas.

A partir de estas determinaciones, se calculó: la ganancia media diaria (GMD) estacional por animal (a través de regresiones lineales por animal, utilizando el modelo  $y=a+bx$ , donde  $y$ = peso final,  $a$ = peso inicial,  $b$ = estimador de la ganancia diaria en kg/an/día y  $x$ = días), la producción de peso vivo (número de animales  $ha^{-1}$  por la GMD promedio por los días de cada estación en  $kg\ ha^{-1}$ ), la carga (expresada en  $kg$  de peso vivo  $ha^{-1}$ , para cada estación y cultivar) y la asignación de forraje ( $kg\ MS\ 100\ kg$  de peso vivo $^{-1}$  en base a la biomasa disponible al ingresar al pastoreo y el crecimiento de forraje registrado para ese período), para cada cultivar.

Se realizó el cálculo de ITH (índice de temperatura y humedad):  $(0,8 \times \text{temperatura media del aire}) + (\% \text{ humedad relativa}/100) \times (\text{temperatura media del aire} - 14,4) + 46,4$  (Thorn, 1959). Este índice fue calculado para cada día durante el período experimental. Los valores obtenidos se clasifican en: riesgo medio, para valores por encima de 72 y riesgo severo en valores por encima de 79.

Los datos de temperatura media del aire (°C) y humedad relativa se obtuvieron a partir de una estación meteorológica automática (marca CampbellSci) ubicada en el sitio experimental.

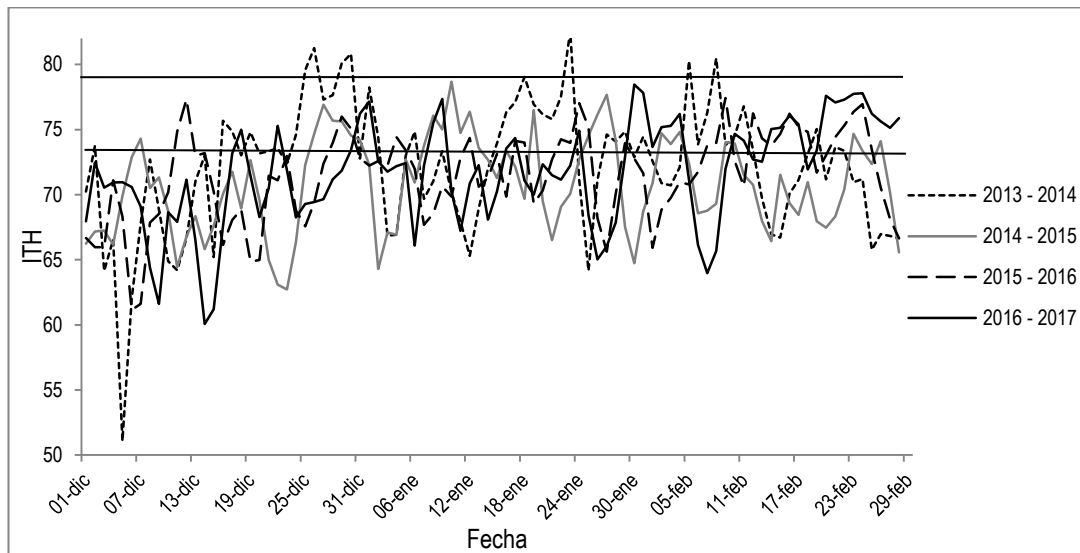
Todos los procedimientos que involucran el uso de animales fueron aprobados por la Comisión de Ética en el Uso de Animales de INIA.

Para el análisis estadístico, cada animal fue considerado como repetición. Para la comparación entre años, también se tomó cada animal como repetición, por presentar características similares (edad, peso inicial). Las variables en estudio (ganancias diarias, peso vivo individual y producido por ha, carga y asignación de forraje) se testearon a través del PROC GLM del paquete estadístico SAS (SAS 9.4, INIA sitio 70096472), utilizando para la separación de medias cuando correspondía el test de MDS (5%). Asimismo, se utilizó el procedimiento PROC REG del paquete SAS para realizar análisis de regresión para estimar la ganancia diaria individual de los animales.

### 3.5 RESULTADOS

La figura 1 resume los valores de ITH diarios, para los cuatro veranos dentro del periodo experimental. La línea punteada que cruza el eje en el valor 72, establece que por encima de dicho valor las condiciones serían de estrés calórico medio, por encima de la línea que corta en el valor 79, las condiciones serían de estrés calórico severo.

Se observa que durante los cuatro veranos hubo condiciones de estrés medio, sin embargo solo durante el primer verano se observaron condiciones de estrés térmico severo. En total para los cuatro veranos analizados, el 50% de los días hubo condiciones de estrés calórico medio o severo.



**Figura 1.** ITH (índice de temperatura y humedad) diario, para los cuatro veranos (desde 1/12 a 28/2).

Los niveles de infección con endófitos de los cultivares utilizados fue en promedio durante el periodo experimental: 0.1%, 1.2%, 94%, 59% y 96%, para FO, AU, FOE, AUE y K31 respectivamente.

A continuación se resume la producción de forraje obtenida por estación y por cultivar. A los efectos de contextualizar los resultados obtenidos en producción de carne. En promedio, las variedades FO, FOE y K31 produjeron 13 tt MS ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, AU y AUE produjeron 11 tt MS ha<sup>-1</sup>

año<sup>-1</sup>. El análisis estadístico de la productividad de MS se realiza en el capítulo correspondiente.

**Cuadro 1.** Producción de forraje de los cultivares evaluadas (Caso 1) (kg MS ha<sup>-1</sup>) por estación.

CULTIVAR	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
2013 – 2014				
Fortuna	4289	5310	3251	4347
Fortuna+ AR584	5615	3971	3231	5574
Kentucky 31	4510	4456	2899	5338
2014 – 2015				
Fortuna	3348	1638	3860	2906
Fortuna+ AR584	1747	1555	4208	2491
Kentucky 31	1863	1636	4069	3432
Aurora	1439	2118	3723	2290
Aurora+ AR584	1486	1883	3603	1423
2015 – 2016				
Fortuna	806	3545	3261	3444
Fortuna+ AR584	616	2967	3983	5706
Kentucky 31	662	3259	3380	3821
Aurora	1659	4046	3854	3960
Aurora+ AR584	1455	3121	4024	4495
2016 – 2017				
Fortuna	4029	3513	1959	2377
Fortuna+ AR584	3552	2942	1518	2193
Kentucky 31	3350	2713	1962	3076
Aurora	3803	3138	2049	2006
Aurora+ AR584	3464	2924	1835	2254

**Cuadro 2.** Producción de forraje de los cultivares evaluadas (Caso 2) (kg MS ha<sup>-1</sup>) por estación.

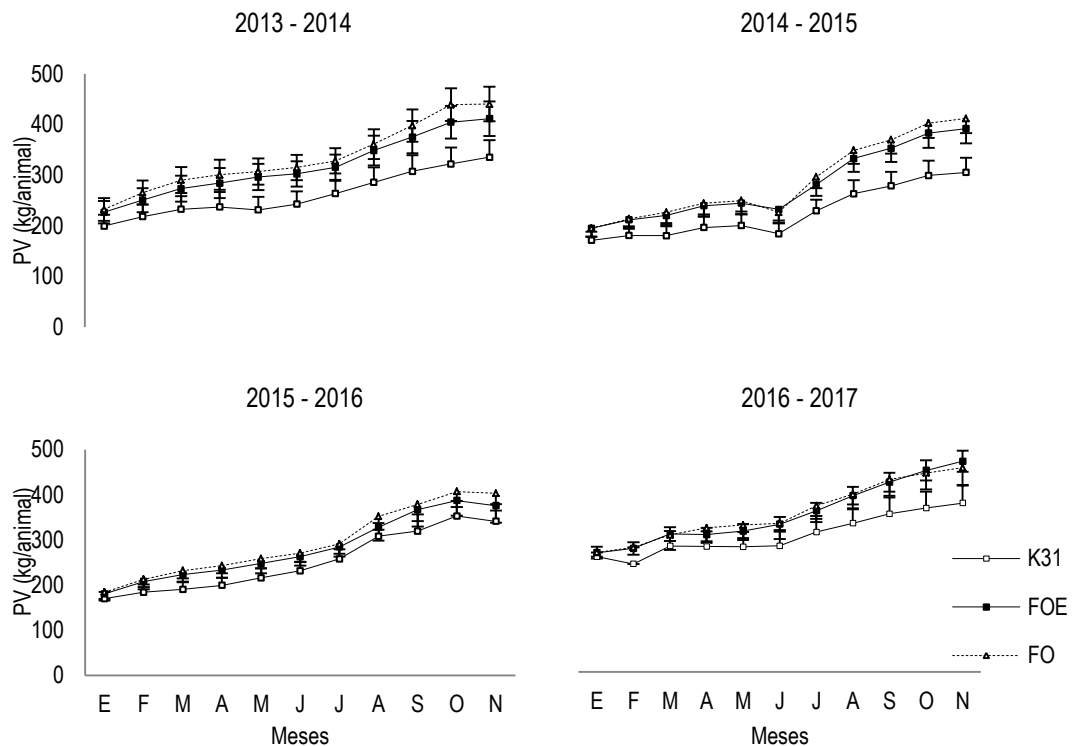
CULTIVAR	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
2014 – 2015				
Aurora	1439	2118	3723	2290
Aurora+ AR584	1486	1883	3603	1423
2015 – 2016				
Aurora	1659	4046	3854	3960
Aurora+ AR584	1455	3121	4024	4495
2016 – 2017				
Aurora	3803	3138	2049	2006
Aurora+ AR584	3464	2924	1835	2254

### 3.5.1 Caso 1

A continuación se reporta la información referida a los cultivares FO, FOE y K31 obtenida en cuatro años de evaluación.

#### 3.5.1.1 Evolución de peso vivo

Los animales ingresaban al ensayo en el mes de diciembre en los cuatro años evaluados, permaneciendo allí hasta el mes de diciembre del año siguiente. Se presenta la información de la evolución de peso vivo promedio del grupo de animales fijos para cada cultivar y año (Figura 2).



**Figura 2.** Evolución anual en el peso vivo de novillos cruza Aberdeen Angus pastoreando los cultivares de festuca Fortuna (FO), Fortuna+AR584 (FOE) y Kentucky 31 (K31) en 4 años.

En promedio en los 4 años de evaluación, la producción de peso vivo individual para los animales sobre FO y FOE fue de  $220 \pm 16$  kg/ animal y para K31 de  $149 \pm 28$  kg/ animal, produciendo sobre K31 en promedio por animal un 32% menos. Esta diferencia fue mínima en el año 3, siendo un 20% y un máximo en el año 4 con un 50% de disminución en la producción de peso vivo. La evolución de peso de FO y FOE no presentó diferencias significativas cuando se realizó el análisis por mes, con la excepción de octubre 2014 donde se encontraron diferencias significativas de 30 kg de peso vivo por animal a favor de FO.

### 3.5.1.2 Ganancias diarias

El cuadro 2 resume las ganancias obtenidas en promedio por animal por estación sobre los tres cultivares de festuca. Durante verano, se observaron diferencias significativas a favor de FO y FOE sobre K31, para los cuatro años. En otoño las ganancias presentan diferencias significativas el primer y cuarto año, FO y FOE superan K31. Durante esta estación las ganancias observadas en los dos primeros años son relativamente bajas, al compararlas con los otoños siguientes. En invierno, durante el segundo año se observaron diferencias

significativas de FO y FOE sobre K31. En la primavera, se observaron diferencias significativas a favor de FO sobre FOE y K31 el primer año, de FO sobre K31 el segundo año y de FOE sobre FO y K31 el cuarto año.

**Cuadro 3.** Ganancias diarias estacionales de novillos cruza Aberdeen Angus pastoreando los cultivares de festuca Fortuna, Fortuna + AR584 y Kentucky 31 en 4 años.

Cultivar	Ganancias diarias (g/an/día)			
	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
2013 – 2014				
Fortuna	795 a	271 a	501	868 a
Fortuna+ AR584	714 a	316 a	500	690 b
Kentucky 31	470 b	109 b	467	542 c
Significancia(p)	0,0001	0,0033	n.s	0,0001
2014 – 2015				
Fortuna	324 a	186	1.500 a	867 a
Fortuna + AR54	351 a	101	1.300 a	797 ab
Kentucky 31	131 b	100	800 b	660 b
Significancia (p)	0,0030	n.s	0,0003	0,0318
2015 – 2016				
Fortuna	687 a	517	883	569
Fortuna + AR584	612 a	504	716	537
Kentucky 31	234 b	503	846	369
Significancia (p)	<0,0001	n.s	n.s	n.s
2016 – 2017				
Fortuna	387 a	689 a	471	698 b
Fortuna + AR584	390 a	556 a	567	838 a
Kentucky 31	-122 b	276 b	386	486 c
Significancia (p)	<0,0001	<0,0001	n.s	<0,0001

Medias dentro de cada columna con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MSD 0,05).

### 3.5.1.3 Producción de peso vivo y carga

En el cuadro 3 se presenta la carga y la producción de peso vivo promedio en cada estación, estos valores fueron calculados incluyendo a los animales fijos y volantes, en el caso de éstos últimos ponderados por el tiempo de permanencia en el ensayo. Entre paréntesis se incluye el porcentaje de los kilos totales aportados por los animales volantes. Se obtuvieron



diferencias significativas de FO y FOE sobre K31 en otoño y primavera en los valores de carga, no encontrándose diferencias significativas en verano e invierno.

En producción de peso vivo, se observan diferencias significativas de FO y FOE sobre K31 en verano y primavera. En invierno y otoño las tres variedades presentan un comportamiento similar en producción, aunque en otoño se observa un alto coeficiente de variación (70.4).

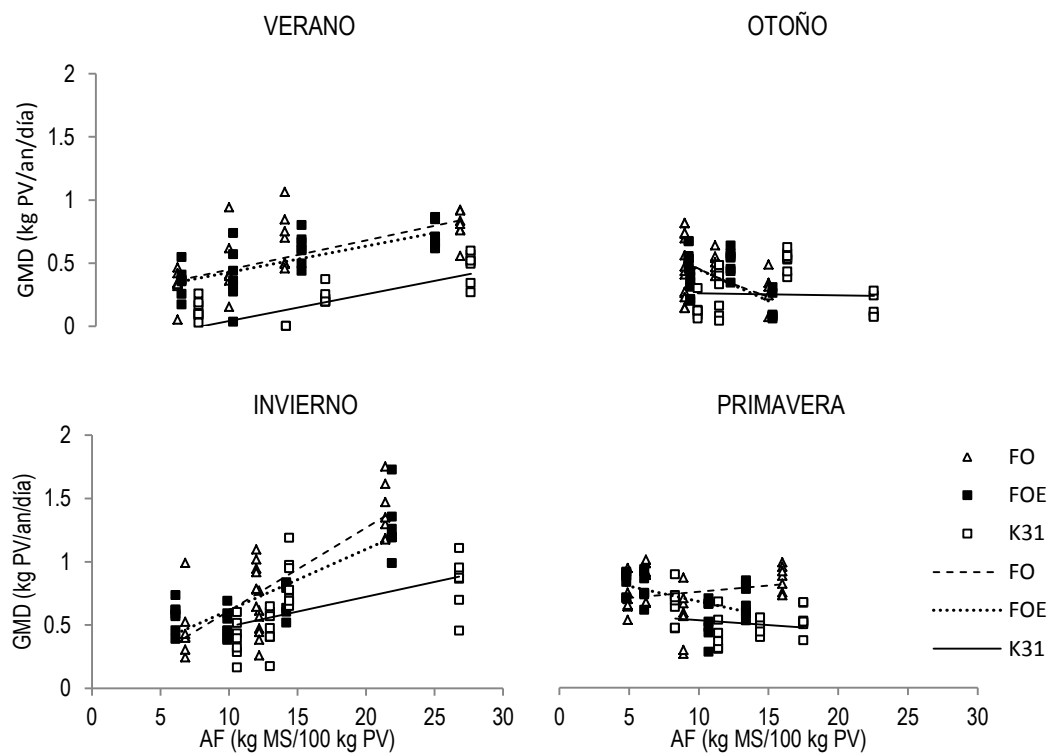
**Cuadro 4.** Carga y producción de peso vivo estacionales de novillos cruza Aberdeen Angus pastoreando tres cultivares de Festuca durante 4 años.

Cultivar	Carga (kg PV ha <sup>-1</sup> )				Producción de peso vivo (kg PV ha <sup>-1</sup> )			
	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
Fortuna	743	875 a	718	1280 a	103 a	75	130	225 a
	(54)	(54)	(35)	(55)	(31)	(52)	(16)	(55)
Fortuna+ AR584	729	851 a	717	1273 a	91 a	103	123	211 a
	(54)	(53)	(33)	(54)	(35)	(26)	(16)	(56)
Kentucky 31	628	755 b	639	1118 b	38 b	25	101	79 b
	(52)	(56)	(38)	(58)	(38)		(16)	(14)
Significancia (p)	n.s	0,0040	n.s	0,0047	0,0040	n.s	n.s	0,0021

Medias dentro de cada columna con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MSD 0,05).

#### 3.5.1.4 Relación asignación de forraje – ganancia diaria

Se obtuvo el valor de asignación de forraje (AF: kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup>), para cada estación y cultivar en base a los datos de forraje disponible, crecimiento y carga animal utilizada en cada periodo de 10 días de pastoreo, para cada uno de los años. En promedio, en verano la asignación de forraje fue  $14,4 \pm 7,7$  kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup>,  $12,1 \pm 3,9$  kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup> en otoño,  $14,3 \pm 6,2$  kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup> en invierno y  $9,3 \pm 3,9$  kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup> en primavera. Se encontraron diferencias significativas para las asignaciones calculadas en otoño 2015 - 2016 ( $p=0,0023$ ) e invierno 2016 - 2017 ( $p=0,0202$ ), en los demás casos no hubo diferencias significativas por lo tanto las diferencias en las ganancias no se atribuyen a diferencias en la cantidad de forraje ofertado.



**Figura 3.** Ganancias medias diarias estacionales en función de la asignación de forraje para novillos Aberdeen Angus pastoreando 3 cultivares de festuca, en 4 años de evaluación.

La figura 3 integra los valores de asignación de forraje con la GMD obtenida en cada estación. De acuerdo a la pendiente de la curva observamos dos tipos de respuesta en las ganancias, frente a modificaciones en la asignación. Por un lado verano e invierno, con mejoras en las ganancias frente a cambios en la asignación y por otro lado otoño y primavera, donde cambios en la asignación de forraje no determinan mejoras en las ganancias de peso.

A continuación se reportan los modelos de ajuste para los datos presentados en la figura 3. Se utilizaron para los cálculos, las variedades FO y FOE juntas por no haber diferencias significativas en ganancias y en asignación de forraje.

**Cuadro 5.** Modelos de ajuste para cada estación, para las variedades FO y FOE.

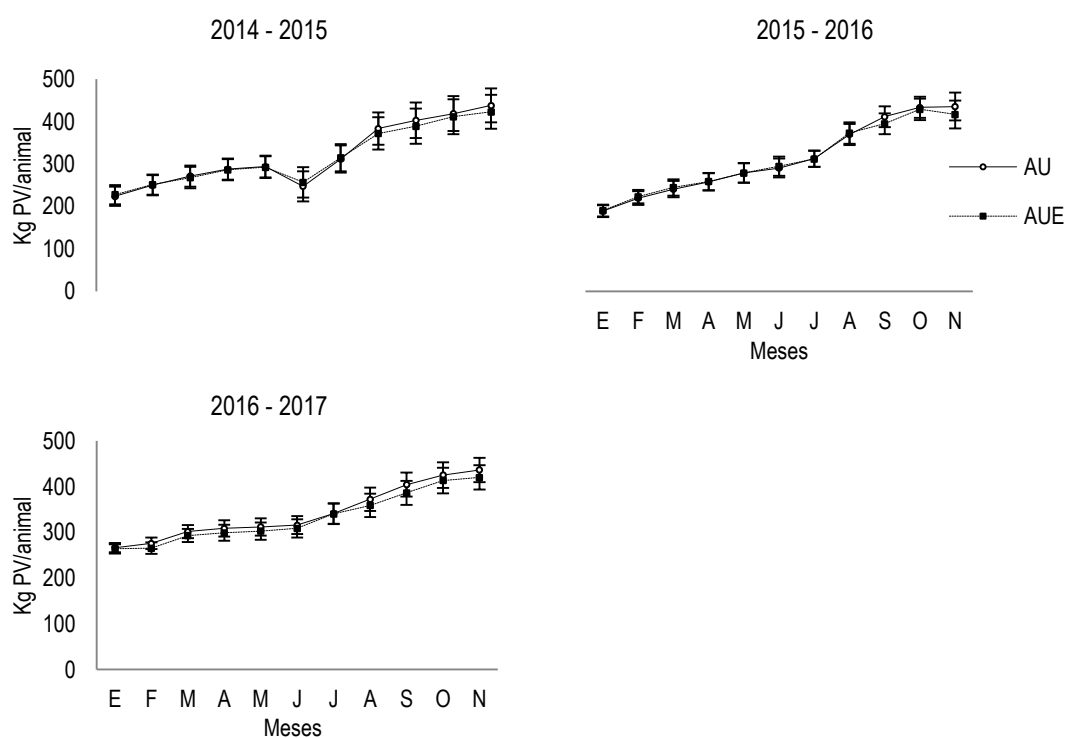
Estación	Modelo	Signif.	r <sup>2</sup>	n
Verano	0,236+0,02x	<0,0001	0,451	56
Otoño	0,950-0,05x	<0,0001	0,299	56
Invierno	0,057+0,056x	<0,0001	0,671	56
Primavera	0,764-0,003x	0,5793	0,006	56

### 3.5.2 Caso 2

A continuación se presentan los resultados correspondientes a los cultivares AU y AUE obtenidos luego de tres años de evaluación.

#### 3.5.2.1 Evolución de peso vivo

Al igual que en el caso 1, los animales ingresaron al ensayo en diciembre, permaneciendo durante un año. La información sobre la evolución de peso vivo se presenta en la Figura 4.



**Figura 4.** Evolución anual en el peso vivo de novillos cruce Aberdeen Angus pastoreando los cultivares de festuca Aurora (AU) y Aurora+AR584 (AUE) en tres años.

En promedio AU produjo  $217 \pm 35$  kg PV animal<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, AUE produjo en promedio  $200 \pm 34$  kg PV animal<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, no encontrándose diferencias significativas entre los cultivares (Figura 4).

### 3.5.2.2 Ganancias diarias

En el cuadro 5 se presentan las ganancias diarias de los novillos sobre AU y AUE en las diferentes estaciones durante 3 años, encontrándose diferencias significativas únicamente en la primavera del año 2016 y en el verano siguiente (2017), a favor de AU sobre AUE en ambos casos.

**Cuadro 6.** Ganancias diarias estacionales de novillos cruza Aberdeen Angus pastoreando los cultivares de festuca Aurora y Aurora+AR584 en 3 años.

Cultivar	Ganancia diaria (g/an/día)			
	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
2014 – 2015				
Aurora	642	-33	1312	691
Aurora + AR584	438	75	1158	653
Significancia (p)	n.s	n.s	n.s	n.s
2015 – 2016				
Aurora	704	638	826	696 a
Aurora + AR584	607	600	823	473 b
Significancia (p)	n.s	n.s	n.s	0,0480
2016 – 2017				
Aurora	354 a	544	528	729
Aurora + AR584	196 b	390	347	705
Significancia (p)	0,0110	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna con diferentes letras muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05).

### 3.5.2.3 Producción de peso vivo y carga

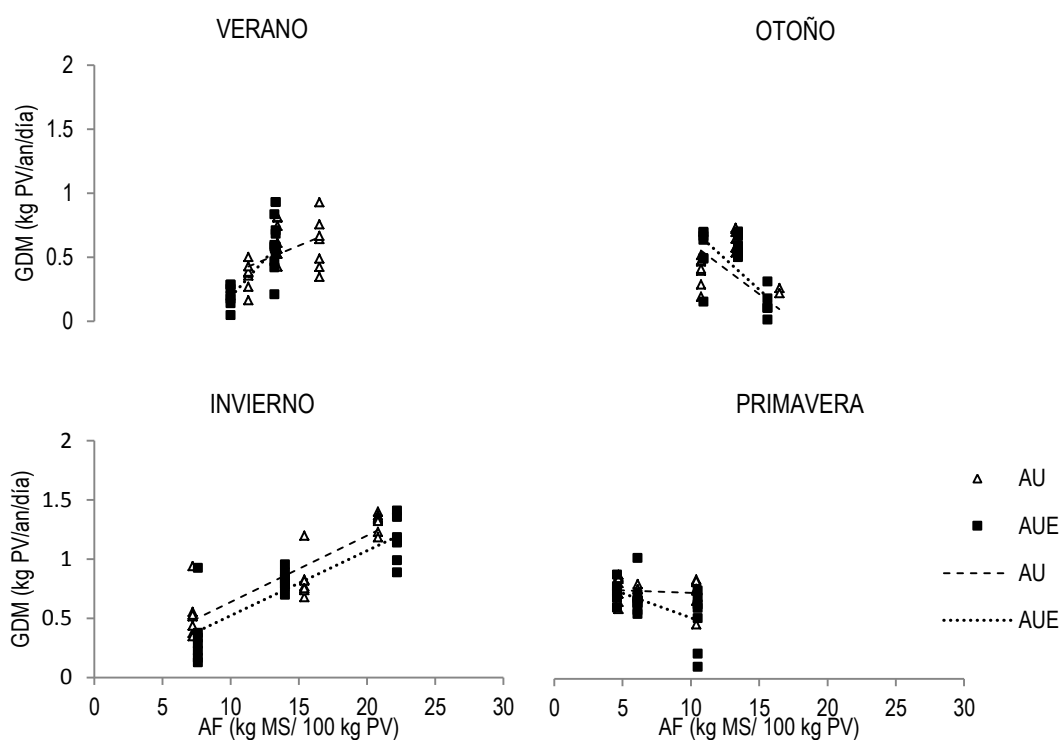
Los datos de carga y producción de peso vivo obtenidos sobre AU y AUE se presentan en el cuadro 7, no se observaron diferencias significativas en ambos parámetros, en ninguna de las estaciones evaluadas. Entre paréntesis se incluye el porcentaje de los kilos totales que son aportados por los animales volantes.

**Cuadro 7.** Carga y producción de peso vivo por estación de novillos cruza aberdeen Angus pastoreando 2 cultivares de festuca durante 3 años.

Cultivar	Carga (kg PV ha <sup>-1</sup> )				Producción de peso vivo (kg ha <sup>-1</sup> )			
	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
Aurora	619 (44)	731 (44)	725 (33)	1377 (57)	81 (54)	58 (23)	133 (11)	213 (56)
Aurora + AR584	615 (44)	718 (44)	700 (35)	1330 (57)	73 (44)	57 (4)	123 (15)	206 (61)
Significancia (p)	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

Medias dentro de cada columna con letras diferentes muestran diferencias significativas entre cultivares (MDS 0,05)

### 3.5.2.4 Relación asignación de forraje – ganancias diarias



**Figura 5.** Ganancias medias diarias estacionales en función de la asignación de forraje para novillos Aberdeen Angus pastoreando 2 cultivares de festuca (AU y AUE), en 3 años de evaluación.

Las asignaciones de forraje alcanzaron valores promedio de  $12,2 \pm 2,1$  kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup>,  $12,1 \pm 2,5$  kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup>,  $14,5 \pm 6,3$  kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup> y  $7,1 \pm 2,7$  kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup> para verano, otoño, invierno y primavera respectivamente. Las asignaciones de forraje utilizadas no difirieron significativamente entre AU y AUE.

Al igual que lo observado sobre las variedades FO y FOE, las asociaciones positivas más altas se encuentran en verano e invierno.

En el cuadro 7 se presentan los modelos de ajuste por estación. Se presenta una ecuación para las dos variedades evaluadas en este caso.

**Cuadro 8.** Modelos de ajuste para cada estación, para las variedades AU y AUE.

Estación	Modelo	Signif.	r <sup>2</sup>	n
Verano	-0,379+0,07x	<0,0001	0,313	42
Otoño	1,36-0,08x	<0,0001	0,406	42
Invierno	0,029+0,055x	<0,0001	0,743	42
Primavera	0,817-0,022x	0,0188	0,130	42

### 3.6 DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos es posible concluir que la cepa AR584 no afectó la productividad animal en ninguno de los dos cultivares de festuca donde se le incluyó. Esto se evidencia en que los animales que pastorearon FO y FOE tuvieron ganancias estadísticamente sin diferencias entre sí y significativamente superiores al cultivar inoculado con un endófito tóxico (K31), ocurriendo lo mismo para la comparación entre AU y AUE. Estos resultados coinciden con reportes que muestran que la cepa AR584 es segura para los animales que pastorean al ser inoculada en diversos cultivares, al mismo tiempo que se menciona a K31 como causante de diversos problemas metabólicos en los animales (Johnson et al., 2012; Matthews et al., 2005; Nihsen et al., 2004), debido a la producción de alcaloides tóxicos.

El comportamiento de K31 no fue constante en todas las estaciones. Durante verano, presentó ganancias que difirieron significativamente de FO y FOE. En términos porcentuales,

las ganancias de K31 fueron 53% inferiores a FO y FOE, excepto el cuarto año donde las diferencias son aún mayores, observándose pérdidas de peso. Durante esta estación la concentración de alcaloides tóxicos (principalmente ergovalina) en planta es alta (Easton et al., 1996).

Estos alcaloides presentan composición similar a algunos neurotransmisores (epinefrina, dopamina, norepinefrina y serotonina) (Larson et al., 1995), involucrados en la regulación del apetito, actividad cardiovascular, actividad endocrina, motilidad gastrointestinal y contracción muscular, entre otras funciones (Pertz y Eich, 1999). Además, en esta estación ocurrieron condiciones de estrés calórico medio (47% de los días) y severo (3% de los días), según el cálculo de ITH realizado, permaneciendo además bajo condiciones de pastoreo sin acceso a sombra. En suma, las bajas ganancias obtenidas responden a una baja capacidad de termorregulación de los animales, situación que empeora frente a condiciones de estrés y a un disturbio general a nivel metabólico. Durante el período experimental se pudo observar animales sin pelear, con elevada temperatura corporal que utilizaban las lagunetas presentes en el sitio experimental como forma de refresco (Brito s/p).

En promedio, durante verano los animales que pastorearon festuca ganaron  $530 \pm 252$  y  $383 \pm 336$  grs por animal y por día para Fortuna y Aurora respectivamente.

Durante otoño, se observa una depresión de las ganancias promedio, independientemente de la presencia de endófitos. Si bien este resultado no era esperable, puede estar explicado por las condiciones pastoriles durante el verano, donde los animales ingresan al ensayo, las asignaciones de forraje son altas, hay mayor material senescente que es transferido a la estación siguiente, lo cual deprime la calidad del forraje total que los animales tienen disponible para consumir. Esta hipótesis se refuerza al analizar las asignaciones de forraje utilizadas en cada año. Se observa que asignaciones de forraje más bajas durante primavera y verano determinan mayores ganancias durante otoño, asociado a un mayor control de la floración, menor presencia de restos secos y mejores condiciones para el rebrote otoñal.

En promedio, durante esta estación los animales ganaron  $391 \pm 225$  y  $369 \pm 295$  grs por animal y por día para Fortuna y Aurora respectivamente. La variabilidad de las ganancias

durante esta estación es alta, así como también se observa que el promedio de las ganancias obtenidas es bajo comparado con las restantes estaciones.

En invierno, sólo se observaron diferencias significativas de FO y FOE sobre K31 en el segundo año, donde los animales experimentan un crecimiento “compensatorio” posterior al otoño con déficit hídrico pronunciado (2014 – 2015). Durante esta estación, se reporta que las concentraciones de alcaloides son bajas (Bush y Fannin, 2009), lo cual mitiga los problemas de toxicidad, permitiendo obtener ganancias similares a las variedades sin endófitos tóxicos.

Las ganancias obtenidas en promedio fueron  $789 \pm 357$  y  $832 \pm 375$  grs por animal y por día para Fortuna y Aurora respectivamente.

Durante la primavera las ganancias presentan diferencia significativa en tres de los cuatro años. K31 presenta ganancias inferiores en 3 de las 4 primaveras evaluadas. Por otro lado si bien entre FO y FOE hubo diferencias significativas, estas fueron variables según el año. Para el caso 2, solo en la primavera 2016 se observaron diferencias significativas de AU sobre AUE. En promedio las ganancias obtenidas durante esta estación fueron  $733 \pm 179$  y  $658 \pm 155$  grs por animal y por día para Fortuna y Aurora respectivamente. Además de observarse altas ganancias en este período, se observa una baja variabilidad entre años.

Si bien los cultivares inoculados no presentaron diferencias significativas con los cultivares sin inocular, FOE y AUE presentan diferencias en la relación planta - hongo. FOE logró niveles elevados de infección, sin embargo AUE, aún luego de ser resembrada presentó niveles bajos de infección durante todo el periodo experimental. Williams et al. (1984) encontraron que mayores porcentajes de infección con endófitos se correlacionaban alta y negativamente con las ganancias diarias de peso, en este sentido, Fribourg et al. (1991), observaron disminución de la producción en animales pastoreando Kentucky 31 a partir de infecciones mayores al 22%. De acuerdo con estos datos, aunque el nivel de infección del endófito este por debajo de los niveles deseados para AUE, es esperable que igualmente se exprese.

A pesar de las diferencias climáticas entre años (precipitaciones y temperatura), los resultados obtenidos son consecuentes, en general, los novillos que permanecen fijos durante todo el año, ganan en promedio  $220 \pm 16$  y  $208 \pm 30$  kg PV  $\text{an}^{-1}$ , para Fortuna y Aurora independientemente de la edad de la pastura. En cierta medida estos resultados



pueden estar explicados por los niveles de asignación de forraje utilizados durante el ensayo. Marsh (1979), observó que las ganancias individuales de novillos en pastoreo se maximizaban cuando la asignación de forraje alcanzaba los 10 kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup>, por encima de esta asignación las mejoras en respuesta animal son muy pequeñas. En este sentido, Almada et al., (2007), encontraron que la máxima ganancia diaria la obtenían con asignaciones de forraje de entre 7.5 y 9 kg de MS 100 kg PV<sup>-1</sup>, en pradera para novillos en crecimiento. La asignación de forraje utilizada en el experimento se encuentra por encima de los valores reportados como óptimos para maximizar la producción animal, siendo variable entre las estaciones.

Con respecto a la productividad física, medida en kg PV ha<sup>-1</sup> para los cuatro años de evaluación FO y FOE produjeron en promedio 530 ± 81 kg PV ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, K31 produjo 244 ± 77 kg PV ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. AU y AUE produjeron 472 ± 98 kg PV ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. K31 presenta un elevado coeficiente de variación, es decir, además de producir menos kg ha<sup>-1</sup> dicha producción fue más variable. Esta reducción en la productividad de K31 en términos porcentuales fue de 54% y 48% con respecto a FO y AU. Otros autores reportan también disminuciones en la productividad por hectárea, Parish et al. (2013) reporta 19% de disminución en la producción en primavera y 44% de disminución en otoño, comparando K31 con el cultivar Jesup con 5,5% de infección con AR584.

En este experimento, las variedades con y sin endófito AR584 produjeron más del 60% del total anual de peso vivo durante primavera – verano, sin embargo la variedad K31 produjo más del 40% durante el invierno. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que la cepa AR584 es inocua para los animales, ya que en los períodos críticos de concentración de alcaloides en planta se observan altos niveles de producción, que no difieren estadísticamente de los cultivares sin inocular.

Los niveles de producción alcanzados son elevados si los comparamos con datos reportados para la región (348 kg PV ha<sup>-1</sup>, GIPROCAR II, zona este, Simeone et al., 2008), aun así, existen momentos del año en los que es posible realizar ajustes en el manejo de la pastura para lograr una mayor utilización, mejor calidad de forraje ofrecido y mejores niveles de producción. Durante otoño, mediante mejoras en la calidad de forraje presente, es decir, un manejo que a fin de verano promueva la eliminación de restos secos, permitiendo un rebrote

temprano de alta calidad. Durante primavera, resulta fundamental realizar un manejo de pastoreos frecuentes e intensos que impidan el pasaje a estado reproductivo y la pérdida de calidad que conlleva (Carámbula, 2004).

### **3.7 CONCLUSIONES**

De acuerdo con los resultados obtenidos, la cepa AR584 no causa disturbios a nivel metabólico en los animales que pastorean Festuca inoculada, aún frente a condiciones de estrés como es el verano.

La utilización de Festuca infectada con endófitos tóxicos disminuye en un 51% la productividad anual total con respecto a lo que producen las variedades sin endófitos.

Desde el punto de vista productivo considerando las variedades FO, FOE, AU y AUE, la utilización de asignaciones de forraje de entre 11 y 15 kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup> permite obtener ganancias de 550 grs animal<sup>-1</sup> día, para verano, otoño e invierno. Durante la primavera, las asignaciones utilizadas fueron en promedio 8 kg MS 100 kg PV<sup>-1</sup>, con las que se obtuvieron ganancias de 696 grs animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> en promedio.

Durante el período evaluado la edad de la pastura no influyó en los resultados físicos obtenidos, es decir, la producción de carne se mantuvo durante 4 años de experimento: para FO y FOE el promedio de producción fue 530 ± 81 kg PV ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, para AU y AUE fue 472 ± 98 kg PV ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> y para K31 fue 244 ± 77 kg PV ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>.

Es posible lograr mejoras en producción animal mediante modificaciones en el manejo en algunos momentos que resultan críticos: principios de otoño con pastoreos intensos y durante primavera con pastoreos más frecuentes e intensos.

### 3.8 BIBLIOGRAFÍA.

- Almada F, Palacios M, Villalba S, Zipitría G.** 2007. *Efectos de la asignación de forraje y la suplementación sobre la productividad de una pastura de raigrás perenne, trébol blanco y lotus corniculatus.* Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía.
- Ayala W, Bemhaja M, Cotro B, Do Canto J, García J, Olmos F, Real F, Rebuffo M, Reyno R, Rossi C, Silva J.** 2010. *Forrajeras: catálogo de cultivares (2010).* Montevideo, INIA.
- Bouton JH, Gates RN, Belesky DP, Owsley M.** 1993. Yield and persistence of tall fescue in the southeastern coastal plain after removal of its endophyte. *Agronomy Journal*, 85(1), 52-55.
- Bush L, Fannin FF.** 2009. Alkaloids. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds). *Tall fescue for the twenty-first century.* Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph; n° 53). 229–249.
- Carámbula M.** 2002. *Pasturas y forrajes. Potenciales y alternativas para producir forraje.* Montevideo: Hemisferio Sur. 357p.
- Carámbula M.** 2004. *Pasturas y forrajes. Manejo, persistencia y renovación de pasturas.* Montevideo: Hemisferio Sur. 413p.
- DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuarias).** 2018. *Anuario estadístico agropecuario 2018.* Montevideo: MGAP (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca).
- Easton HS, Lane GA, Tapper BA, Keogh RG, Cooper BM, Blacwell M, Anderson M, Fletcher LR.** 1996. Ryegrass endophyte-related heat stress in cattle. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 57, 37 – 41.
- Fribourg HA, Chestnut AB, Thompson RW, McLaren JB, Carlisle RJ, Gwinn KD, Dixon MC, Smith MC.** 1991. Steer performance in fescue-clover pastures with different levels of endophyte infestation. *Agronomy Journal*, 83(5), 777-781.

- Glenn AE, Bacon CW, Price R, Hanlin RT.** 1996. Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications. *Mycologia*, 88(3), 369-383.
- Gwinn KD, Collins-Shepard MH, Reddick BB.** 1991. Tissue print-immunoblot, an accurate method for the detection of *Acremonium coenophialum* in tall fescue. *Phytopathology*, 81(7), 747-748.
- Hiatt III EE, Hill NS, Bouton JH, Stuedemann JA.** 1999. Tall fescue endophyte detection: commercial immuno-blot test kit compared with microscopic analysis. *Crop Science* 39:796-799.
- Hill NS, Hiatt III EE, De Battista JP, Costa MC, Griffiths CH, Klap J, Thorogood D, Reeves JH.** 2002. Seed testing for endophytes by microscopic and immunoblot procedures. *Seed Science Technology* 30:347-355.
- Johnson JM, Aiken GE, Phillips TD, Barrett M, Klotz JL, Schrick FN.** 2012. Steer and pasture responses for a novel endophyte tall fescue developed for the upper transition zone. *Journal of Animal Science*, 90(7), 2402-2409.
- Larson BT, Samford MD, Camden JM, Piper EL, Kerley MS, Patterson JA, Turner JT,** 1995. Ergovaline binding and activation of D2 dopamine-receptors in GH (4) ZR (7) cells. *Journal of Animal Science*, 73 (5), 1396-1400.
- Leuchtmann A, Bacon CW, Schardl CL, White Jr JF, Tadych M.** 2014. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycologia*, 106(2), 202-215.
- Lynch PB.** 1947. Methods of measuring the production from grasslands. A review of the techniques employed by the Fields Division, Department of Agriculture. *New Zealand Journal of Science and Technology, Section A*, 28, 385-405.
- Marsh R.** 1979. Effect of herbage DM allowance on the immediate and longer term performance of young Friesian steers at pasture. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 22(2), 209-219.

- Matthews AK, Poore MH, Huntington GB, Green JT.** 2005. Intake, digestion, and N metabolism in steers fed endophyte-free, ergot alkaloid-producing endophyte-infected, or nonergot alkaloid-producing endophyte-infected fescue hay. *Journal of Animal Science*, 83(5), 1179-1185.
- Nihsen ME, Piper EL, West CP, Crawford Jr RJ, Denard TM, Johnson ZB, Roberts CA, Spiers DA, Rosenkrans Jr CF.** 2004. Growth rate and physiology of steers grazing tall fescue inoculated with novel endophytes. *Journal of Animal Science*, 82(3), 878-883.
- Parish JA, McCann MA, Watson RH, Paiva NN, Hoveland CS, Parks AH, Upchurch BL, Hill NS, Bouton JH.** 2003. Use of nonergot alkaloid-producing endophytes for alleviating tall fescue toxicosis in stocker cattle. *Journal of Animal Science*, 81(11), 2856-2868.
- Parish JA, Parish JR, Best TF, Boland HT, Young CA.** 2013. Effects of selected endophyte and tall fescue cultivar combinations on steer grazing performance, indicators of fescue toxicosis, feedlot performance, and carcass traits. *Journal of Animal Science*, 91(1), 342 – 355.
- Paterson J, Forcherio C, Larson B, Samford M, Kerley M.** 1995. The effects of fescue toxicosis on beef cattle productivity. *Journal of Animal Science*, 73(3), 889-898.
- Pertz H, Eich E.** 1999. Ergot alkaloids and their derivatives as ligands for serotonergic, dopaminergic, and adrenergic receptors. En: Kren, V, Cvak, L. (Eds). *Medicinal and Aromatic Plants Industrial Profiles*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, (Vol. 6, pp 411-440).
- Riet-Correa F, Rivero R, Odriozola E, Adrien MDL, Medeiros RM, Schild AL.** 2013. Mycotoxicoses of ruminants and horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(6), 692-708.
- Schardl CL, Leuchtman A, Spiering MJ.** 2004. Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annual Review Plant Biology*, 55, 315-340.

- Siegel MR, Latch GCM, Bush LP, Fannin FF, Rowan DD, Tapper BA, Bacon CW, Johnson MC.** 1990. Fungal endophyte-infected grasses: alkaloid accumulation and aphid response. *Journal of Chemical Ecology*, 16(12), 3301-3315.
- Simeone A, Andregnette B, Buffa JI.** 2008. Producción de carne eficiente en sistemas arroz-pasturas. Montevideo: INIA (Serie FPTA, 022).
- Thorn EC.** 1959. The discomfort index. *Weatherwise*, 12 (2), 57-59.
- Uruguay XXI.** 2017. Informe anual de comercio exterior. [En línea] Consultado 4 de octubre de 2018.  
<https://www.uruguayxxi.gub.uy/uploads/informacion/87c59abe46e3545ede24ac246ae7762fdc1bcd4a.pdf>.
- Waller JC.** 2009. Endophyte effects on cattle. En: Fribourg H.A., Hannaway D.B., West C.P. (Eds.). Tall fescue for the twenty-first century.. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph n°53). 289-310.
- Williams MJ, Backman PA, Crawford MA, Schmidt SP, King Jr CC.** 1984. Chemical control of the tall fescue endophyte and its relationship to cattle performance. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 12(2), 165-171.

#### **4. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES**

Este es el primer experimento en Uruguay que reporta el uso del hongo endófito AR584 en *Festuca arundinacea*. Se trata de un ensayo bajo pastoreo, en el que durante cuatro años se evaluaron por un lado los aspectos relacionados a la producción animal y por otro lado los aspectos relacionados con la productividad de la pastura, en dos variedades de ciclos contrastantes (temprano y tardío).

La producción de forraje promedio anual se ubicó en 12.971 kg MS ha<sup>-1</sup> para FO, 12966 kg MS ha<sup>-1</sup> para FOE, 12606 kg MS ha<sup>-1</sup> para K31, 11361 kg MS ha<sup>-1</sup> para AU y 10655 kg MS ha<sup>-1</sup> para AUE.

A pesar de las limitantes hídricas que, asociadas al pastoreo, representaron una condición de estrés para la planta, fundamentalmente durante verano, no se observó un efecto significativo en la productividad de festuca, a favor de las variedades inoculadas con endófitos. De acuerdo con la bibliografía consultada, era esperable que la presencia de endófitos a través de diversos mecanismos favoreciera el crecimiento (Belesky y West, 2009; Read y Camp, 1986). Además se debe tener en cuenta que esta tecnología tiene un costo adicional de US\$ 1,5 por kg de semilla, implicaría aumentar los costos de implantación en 23 US\$ por ha (considerando una densidad de siembra de 15 kg por ha). De acuerdo con la estructura de costos calculada para este experimento el costo del kg de MS fue de 0,033 US\$ por kilo de MS, por lo tanto las variedades inoculadas con endófitos deberían producir en los cuatro años de evaluación 800 kg de MS más que la variedad sin inocular.

En el primer año (2013 – 2014), solo se presentan los datos correspondientes al caso 1. Coincide con el segundo año de producción de la pastura, donde la producción alcanza valores máximos de 17800 kg MS ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> para FO y FOE y 17200 kg MS ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> para K31, sin diferencias significativas entre las variedades. Durante este período las condiciones hídricas fueron óptimas, lo cual influyó positivamente en los resultados alcanzados, de acuerdo con los resultados presentados en el balance hídrico.

Durante el segundo año del experimento (2014 – 2015) las precipitaciones se ubicaron por debajo del promedio de la serie histórica según los registros en el sitio experimental, siendo 1067 mm. Este déficit se explica principalmente por escasas precipitaciones durante el otoño

(60% por debajo del promedio de los otros otoños del periodo experimental). Durante esta estación, si bien la producción de MS no tuvo diferencias significativas entre variedades, con respecto a los otros otoños fue un 55% menor. En consecuencia, la producción de carne también se ve afectada durante esta estación, siendo un 78% menor que el promedio de los otros otoños (para la variedad FO y FOE). Para el caso 2, considerando el mismo periodo, la merma es de un 40% en la productividad de MS y de 97% en la producción de peso vivo. La disminución en la productividad de peso vivo se explica por un lado por los problemas vinculados a la baja disponibilidad de forraje, pero además debido a los problemas asociados a la calidad en esta estación.

El verano 2015 – 2016 se observan producciones de materia seca 80% por debajo del promedio para esa estación. Las precipitaciones estuvieron por debajo del promedio (40% menos). Sin embargo, la producción de carne fue un 28% mayor al promedio de los veranos restantes. Era esperable que, frente a una disminución en la producción de MS, la producción de peso vivo también disminuyera. Para el caso 2, la disminución en la producción de MS en ese mismo período fue de un 40%, con producciones de peso vivo 50% por encima del promedio. Estos resultados se explican por la utilización de cargas relativamente bajas con respecto a los otros veranos (20% inferior), lo cual permite asignar mayor volumen de forraje por animal, transferido desde la estación anterior.

La ausencia de diferencias en productividad anual y estacional de MS, puede estar explicado por el manejo realizado durante el pastoreo. La pastura luego de la siembra es pastoreada en la primavera siguiente (8 meses post siembra), lo cual permite una adecuada implantación y desarrollo. Durante los pastoreos, el manejo se orientó a la utilización de altos remanentes, con períodos de descanso prolongados que permitieron una recuperación de la pastura post pastoreo. Por otra parte la utilización de variedades con buen comportamiento sanitario, como es el caso de INIA Aurora e INIA Fortuna (Ayala et al., 2010) también podría contribuir a que el efecto del endófito no fuera significativo. Además, la utilización de 100 kg de urea por estación, durante los cuatro años del experimento, permitió potenciar el crecimiento de nuevos tejidos.

Como forma de evaluar la persistencia de los distintos cultivares se consideró la productividad durante el último año del experimento. FO, FOE y K31 produjeron en promedio 11000 kg MS



ha<sup>-1</sup>. AU y AUE produjeron 10700 kg MS ha<sup>-1</sup>. No hubo diferencias significativas entre las variedades evaluadas en cada caso, además de encontrarse niveles de producción elevados. Paralelamente a este experimento, durante el verano 2016 – 2017, se realizaron evaluaciones de persistencia a partir del número de macollos por planta. Se encontró que la inclusión de endófitos no tuvo efecto en la persistencia estival de festuca para la variedad Fortuna y Aurora, pero si se encontró un efecto significativo del manejo, observándose mayor sobrevivencia de macollos con remanentes de 10 cm vs 3 cm (Herken et al. 2019).

Desde el punto de vista productivo, la evaluación de la persistencia de la pastura resulta muy importante. Además, realizar manejos que permitan mantener las pasturas productivas es fundamental ya que de esta forma se reduce el costo del kg de MS producido. Formoso (2010), concluye que pasturas de Festuca bien manejadas, con pastoreos y descansos adecuados pueden persistir más de 10 años. Además menciona la importancia del manejo estival para reducir el enmalezamiento (principalmente *Cynodon dactylon*) y mantener la productividad.

La cepa AR584 demostró ser segura para los animales ya que las ganancias obtenidas fueron estadísticamente iguales en todos los períodos evaluados, durante los cuatro años, para FO y FOE. En la variedad AU y AUE sucede que además de un bajo nivel de infección, las ganancias no siempre son iguales estadísticamente. Una tendencia similar se observa al analizar las tasas de crecimiento de forraje, donde las diferencias en AU y AUE, son a favor de AU. Latch (1994), menciona que, diferentes variedades inoculadas con una misma cepa de hongo presentan diferencias en la producción de alcaloides. Por lo tanto, la asociación endófito – planta, es específica y depende del control genético que ejerce la planta sobre el hongo (Roylance et al., 1994). Esta, puede ser la razón que explique el bajo porcentaje de infección alcanzado en AU. Además, Agee y Hill (1994), reportan que existe un efecto de las condiciones ambientales sobre el perfil de alcaloides que producen las diferentes variedades inoculadas.

Las diferencias en las ganancias de peso fue variable según la estación y el año. Con respecto a las variedades sin hongo y con AR584, las disminuciones de K31 fueron de un 75% en verano, 33% en otoño, 16% en invierno y 30% en primavera. El alto porcentaje asociado al verano se explica por aumentos en la concentración de alcaloides tóxicos que se

da en esta estación (Easton et al., 1996), causantes de disturbios metabólicos en los animales. Estas diferencias en las ganancias también se observan en primavera. La magnitud de dichas diferencias se relaciona con las variaciones en la altura de forraje. En períodos donde la altura de forraje remanente es mayor, la disminución en las ganancias es menor. Estos resultados pueden ser explicados porque los endófitos se encuentran principalmente en la zona basal de la planta y desde allí liberan las sustancias tóxicas (Schardl et al., 2004). Entonces, a medida que la altura de forraje remanente disminuye, el animal se ve obligado a consumir forraje de menor altura, con mayor concentración de ergocaloides quedando expuesto en mayor medida a los efectos tóxicos de dichas sustancias.

Además de las bajas ganancias observadas, se encontraron mayores remanentes de forraje en altura y biomasa total, asociados a un menor consumo. K31 produjo en total un 51% menos de peso vivo por hectárea en el total anual con respecto a FO y FOE. A su vez, en esta variedad más del 40% de la producción total anual se obtuvo durante el invierno, momento donde Festuca se encuentra en activo crecimiento y además, la concentración de alcaloides es mínima en la planta (Christensen y Voisey, 2009).

Desde el punto de vista productivo este experimento plantea un sistema de recría - invernada donde los pastoreos son rotativos con tiempos de descanso y ocupación fijos. Independientemente de la variedad (con y sin endófito AR584), anualmente se produjeron más de 500 kg PV ha<sup>-1</sup>, con una baja variabilidad entre años. La carga promedio anual utilizada fue 900 kg PV ha<sup>-1</sup>, de estos, en promedio, el 50% correspondió a animales volantes que no permanecían fijos en el experimento.

A partir de los datos obtenidos queda en evidencia la importancia de un manejo adecuado, con alturas de remanente que permitan una rápida recuperación, nutrición adecuada, así como también los ajustes de carga, para obtener pasturas con altos niveles productivos y persistentes.

Desde el punto de vista de la eficiencia del sistema es posible realizar una estimación de la eficiencia de conversión de la pastura en kilos de peso vivo. Asumiendo que la utilización de la pastura es en promedio del 40%, en promedio los kilos de MS necesarios para producir un kilo de peso vivo son 15. Si bien este valor representa una estimación promedio, se observa

que es comparable con valores obtenidos en Río Negro (Convenio INIA – SRRN), donde sobre pradera mezcla la eficiencia de conversión es 18 kg MS kg PV<sup>-1</sup> (promedio 8 años de evaluación), Plan Agropecuario (cartilla N° 4), reporta valores promedio de 15 – 18 kg de MS kg PV<sup>-1</sup>.

A partir de los resultados obtenidos, surgen puntos de mejora a tener en cuenta con la finalidad de mejorar el resultado productivo del sistema. Una de las limitantes es la duración fija de los periodos tanto de descanso como de pastoreo. Para poder levantar esta restricción una posibilidad sería ajustar los pastoreos tomando en cuenta la VMF (vida media foliar). Este valor, toma en cuenta desde el inicio del rebrote al inicio de la senescencia y es variable según las condiciones de temperatura (Agnusdei et al., 2014). Se obtiene a partir de la temperatura media diaria y en promedio, una vez que se acumularon 500 °C, por encima de 4 °C, se debería ingresar nuevamente a pastorear. Esto implica que, en ciertos momentos de buenas condiciones para el crecimiento la velocidad de rotación en las parcelas sea mayor y en otras, como por ejemplo durante invierno, fuera menor. Esta modificación implicaría también modificaciones en la carga fija utilizada.

Otra alternativa de manejo orientada a la mejora en la utilización sería producción de fardos en uno de los bloques, en momentos puntuales, por ejemplo primavera, disminuyendo así los días de descanso de cada parcela, ya que los animales utilizarían un bloque menos para pastoreo.

Por otra parte a los efectos de considerar el experimento como un sistema, es necesario incluir en el análisis la superficie en que permanecen los animales utilizados como volantes mientras no están pastoreando en el experimento, ya que representan una proporción importante de la carga en ciertos periodos.

A partir de los resultados obtenidos podemos concluir que la cepa AR584 inoculada en las variedades de *Festuca arundinacea* INIA Fortuna e INIA Aurora no mejoro la productividad, aún en períodos críticos de estrés como fue el verano. A su vez, fue segura para los animales que la consumieron no causando disminución en las ganancias de peso.

A pesar de esta ausencia de diferencias, se pudo constatar que la nutrición (fertilización nitrogenada y fosfatada) y el manejo (manejo de los remanentes y manejo de los descansos)

en festuca resultan fundamentales para obtener pasturas con altos niveles de producción y persistentes en el tiempo.

A futuro, esta evaluación podría ampliarse a otros cultivares y a otras cepas de endófitos disponibles para festuca y ahondar más en la producción de alcaloides en cada una de las asociaciones planta – endófito.

## **5. BIBLIOGRAFÍA GENERAL**

**Agee CS, Hill NS.** 1994. Ergovaline variability in *Acremonium*-infected tall fescue due to environment and plant genotype. *Crop Science*, 34 (1), 221–226.

**Agnusdei MG, Di Marco ON, Insúa J.** 2014. Calidad nutritiva de festuca alta. [En línea]. Consultado 21 de marzo de 2019. Disponible en: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-calidad\\_festuca.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-calidad_festuca.pdf)

**Arachevaleta M, Bacon CW, Hoveland CS Radcliffe DE.** 1989. Effect of Tall Fescue Endophyte on Plant Response to Environmental Stress. *Agronomy Journal*, 81(1), 83–90.

**Asay KH, Jensen KB, Waldron BL.** 2001. Responses of tall fescue cultivars to an irrigation gradient. *Crop Science*, 41 (2), 350-357.

**Ayala W, Bemhaja M, Cotto B, Do Canto J, García J, Olmos F, Real F, Rebuffo M, Reyno R, Rossi C, Silva J.** 2010. Forrajeras: catálogo de cultivares. Montevideo: INIA.

**Bacon CW, Porter JK, Robbins JD, Lutrell ES.** 1977. Epichlöe typhina from toxic tall fescue grasses. *Applied and Environmental Microbiology*, 34(5), 576-581.

**Belesky DP, Stringer WC, Hill NS.** 1989. Influence of endophyte and water regime upon tall fescue accessions. I. Growth characteristics. *Annals of Botany*, 63 (5), 495 – 503.

**Belesky DP, West CP.** 2009. Abiotic stresses and endophyte effects. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds). *Tall fescue for the twenty-first century*. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph; n° 53). 49-64.

**Bouton J, Latch GCM, Hill NS, Hoveland MA, McCann MA, Watson RH, Parish JA, Hawkins LL, Thompson FN.** 2002. Reinfection of tall fescue cultivars with non ergot – alkaloid producing endophytes. *Agronomy Journal*, 94 (3), 567-574.

**Bouton J, Easton S.** 2005. Endophytes in forage cultivars. En: Robert, C. A., West, C.P., Spieres, D.E. (Eds.) *Neotyphodium in cool-season grasses*. (pp. 325-340). Oxford, Blackwell.

- Bouton J.** 2009. Deployment of Novel Endophytes in the Tall Fescue Commercial Seed Trade. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds.). Tall fescue for the twenty-first century.. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph n°53). 367-375.
- Carámbula M.** 2002. Pasturas y forrajes. Potenciales y alternativas para producir forraje. Montevideo: Hemisferio Sur. 357 p.
- Chapman D, Hill J, Tharmaraj J, Beca D, Kenny S, Jacobs J.** 2014. Increasing home – grown forage consumption and profit in non – irrigated dairy systems. 1. Rationale, systems design and management. *Animal Production Science*, 54 (3), 221 – 233.
- Christensen MJ, Voisey CR.** 2009. Tall Fescue- Endophyte Symbiosis. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds). Tall fescue for the twenty-first century. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph n°53). (pp. 251-272).
- Claramunt M, Armand-Pilón W, Soca P, Chilibroste P, Caraballo C, Motta G, Mattiauda, D.** 2011. Defoliation intensity changes proportion of festuca arundinacea and bare soil in a mixed pasture. En: Proceedings IX International Rangeland Congress. Rosario, Argentina.
- Clay K.** 1990. Fungal endophytes of grasses. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 21, 275 – 297.
- Clay K, Schardl CL.** 2002. Evolutionary Origins and Ecological Consequences of Endophyte Symbiosis with Grasses. *The American Naturalist*, 160 (4), 99-127.
- DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuarias).** 2018. Anuario estadístico agropecuario 2018. Montevideo: MGAP (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca).
- Easton HS, Lane GA, Tapper BA, Keogh RG, Cooper BM, Blacwell M, Anderson M, Fletcher LR.** 1996. Ryegrass endophyte-related heat stress in cattle. *Proceedings of the New Zeland Grassland Association* 57, 37 – 41.
- Formoso F.** (2010). Festuca arundinacea, manejo para producción de forraje y semillas. Montevideo: INIA (Serie Técnica, n° 182).

- Funk CR, White RH, Breen J.** 1993. Importance of Acremonium endophytes in turfgrass breeding and management. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 44 (1-4), 215 – 232.
- Grasslanz Technology.** (2011). Novel endophyte technologies. [En línea]. 14 febrero 2019. <http://www.grasslanz.com/UnderstandingtheScience/Novelendophytetechnologies.asp>  
x
- Hannaway DB, Daly C, Halbleib, MD, James D, West CP, Volenec JJ, Chapman D, Li X, Cao W, Shen J, Shi X, Jhonson S.** 2009. Development of Suitability Maps with examples for the United States and China. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds). *Tall fescue for the twenty-first century*. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph n°53). 33 - 47.
- Herken G, Olano I, Ruete R.** 2019. *Sobrevivencia estival y dinámica poblacional de cultivares de Festuca arundinacea con inclusión del hongo endófito AR584*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía.
- Hill NS, Roach PK.** 2009. Endophyte survival during seed storage: endophyte-host interactions and heritability. *Crop Science*, 49 (4), 1425-1430.
- INASE (Instituto Nacional de Semillas).** 2018. Registro Nacional de cultivares. 2018. [En línea] Consultado 29 oct. 2018. <https://www.inase.uy/EvaluacionRegistro>
- Jacobson DR, Carr SB, Hatton RH, Buckner RC, Graden AP, Downen DR, Millerl WM.** 1969. Growth physiological responses, and evidence of toxicity in yearling dairy cattle grazing different grasses. *Journal of Dairy Science*, 53 (5), 575-587.
- Jáuregui JM, Michelini DF, Agnusdei MG, Baudracco J, Sevilla GH, Chilibroste P, Lattanzi FA.** 2016. Persistence of tall fescue in a subtropical environment: tiller survival over summer in response to flowering control and nitrogen supply. *Grass and Forage Science*, 72(3), 454-466.
- Kemp H, Bourke C, Wheatley W.** 2007. Endophytes of perennial ryegrass and tall fescue. Primefact 535.

- Latch GCM, Hunt WF, Musgrave DR.** 1985. Endophyte fungi affect growth of perennial ryegrass. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 28 (1), 165 – 168.
- Latch GCM.** 1994. Influence of *Acremonium* endophytes on perennial grass improvement. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 38, 311-318.
- Lattanzi FA, Mazzanti A, Wade MH.** 2007. Seasonal animal production of temperate and Mediterranean tall fescue cultivars under continuous variable stocking with close control of sward state. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58, (3) 203 – 213.
- Maddaloni J, Ferrari L.** 2001. *Festuca alta*. En: Maddaloni, J., Ferrari, L. (Eds.) *Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina*. INTA -Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Facultad de Ciencias Agrarias, Argentina, pp.165-182.
- Marks S, Clay K.** 1996. Physiological responses of *Festuca arundinacea* to fungal endophyte infection. *New Phytologist*, 133 (4), 727 – 733.
- McCallum M, Kirkegaard J, Green T, Cresswell H, Davies S, Angus J, Peoples M.** 2004. Improved subsoil macroporosity following perennial pastures. *Animal Production Science*, 44 (3), 299 – 307.
- McLaren JB, Fribourg HA.** 1991. Early history of tall fescue toxicosis in Tennessee. *Tennessee Farm and Home Science*, 160, 4-9.
- Milne G.** 2009. Management in New Zealand, Australia and South America. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds). *Tall fescue for the twenty-first century*. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph n°53). 101-117.
- Nihsen ME, Piper EL, West CP, Crawford Jr RJ, Denard TM, Johnson ZB, Roberts CA, Spiers DA, Rosenkrans Jr CF.** 2004. Growth rate and physiology of steers grazing tall fescue inoculated with novel endophytes. *Journal of Animal Science*, 82 (3), 878-883.
- Parish JA, Parish JR, Best TF, Boland HT, Young CA.** 2013. Effects of selected endophyte and tall fescue cultivar combinations on steer grazing performance, indicators of fescue



- toxicosis, feedlot performance, and carcass traits. *Journal of Animal Science*, 91 (1), 342 – 355.
- Popay AJ.** 2009. Insect Pests. En: Fribourg HA, Hannaway DB, West CP. (Eds). Tall fescue for the twenty-first century. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph n°53) (pp. 129-149).
- Read JC, Camp BJ.** 1986. The effect of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* in tall fescue on animal performance, toxicity and stand maintenance. *Agronomy Journal*, 78 (5), 848-850.
- Richardson MD, Chapman GW Jr, Hoveland CS, Bacon CW.** 1992. Sugar alcohols in endophyte infected tall fescue under drought. *Crop Science*, 32 (4), 1060 – 1061.
- Riet-Correa F, Rivero R, Odriozola E, Adrien MDL, Medeiros RM, Schild AL.** 2013. Mycotoxicoses of ruminants and horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25 (6), 692-708.
- Roylance JT, Hill NS, Agee CS.** 1994. Ergovaline and peramine production in endophyte-infected tall fescue: Independent regulation and effects of plant and endophyte genotype. *Journal of Chemical Ecology*, 20 (9), 2171-2183.
- Schardl CL, Leuchtman A, Spiering MJ.** 2004. Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annual Review Plant Biology*, 55, 315-340.
- Schmidt SP, Osborn TG.** 1993. Effects of endophyte-infected tall fescue on animal performance. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 44 (1-4), 233-262.
- Siegel MR, Latch GCM, Bush LP, Fannin FF, Rowan DD, Tapper BA, Bacon CW, Johnson MC.** 1990. Fungal endophyte-infected grasses: Alkaloid accumulation and aphid response. *Journal of Chemical Ecology*, 16 (12), 3301-3315.
- Smeal D, O'Neill MK, Arnold RN.** 2005. Forage production of cool season pasture grasses as related to irrigation. *Agricultural Water Management*, 76 (3), 224-236.

- Stuedemann JA, Rumsey TS, Bond J, Wilkinson SR, Bush LP, Williams DJ, Caudle AB.** 1985. Association of blood cholesterol with occurrence of feath necrosis in cows and tall fescue summer toxicosis in steers. *American Journal of Veterinary Research*, 46 (9), 1990- 1995.
- Waldron BL, Asay KH, Jensen KB.** 2002. Stability and yield of cool-season pasture grass species grown at five irrigation levels. *Crop Science*, 42 (3), 890-896.
- Waller JC.** 2009. Endophyte effects on cattle. En: Fribourg H.A., Hannaway D.B., West C.P. (Eds.). *Tall fescue for the twenty-first century*. Madison: ASA; CSSA; SSSA. (Agronomy Monograph n°53) 289-310.