



Instituto
Nacional de
Investigación
Agropecuaria

URUGUAY

ESTUDIOS SOBRE *ACREMONIUM* sp.
EN FESTUCA

Nora Altier Manzini *

Titulo: ESTUDIOS SOBRE *ACREMONIUM* SP. EN FESTUCA

Autor: Nora Altier Manzini

Serie Técnica N° 8

©1991. INIA.

Editado por la Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA
Andes 1365, Piso 12. Montevideo - Uruguay

ISBN: 9974-556-07-8

Quedan reservados todos los derechos de la presente edición. Este libro no se podrá reproducir total o parcialmente sin expreso consentimiento del INIA.

Impreso en Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L.
Edición amparada al Art. 79, Ley 13.349
Depósito Legal 252.185/91

CONTENIDO

I. REVISION BIBLIOGRAFICA

Introducción	5
Relación hongo huésped	6
Intoxicación animal.	6
Métodos de control del hongo.	8
Conclusiones	10
Agradecimientos	10
Bibliografía	10

II. ANALISIS DE SEMILLA DEL CULTIVAR ESTANZUELA TACUABE

Introducción	13
Materiales y métodos.	13
Resultados y discusión	14
Conclusiones	16
Agradecimientos	16
Bibliografía	16

ESTUDIOS SOBRE *ACREMONIUM* sp. EN FESTUCA

I. REVISION BIBLIOGRAFICA

Nora Altier Manzini

INTRODUCCION

Poco se conoce en Uruguay sobre la infección endofítica de festuca con el hongo *Acremonium coenophialum*, si bien actualmente existe abundante información de otros países.

El mismo, biotipo asexual del hongo *Epichloe typhina*, no produce fructificaciones y se encuentra alojado en la capa de aleurona de la semilla en forma de micelio intercelular. Una vez que la semilla germina, las hifas vegetativas del hongo se desarrollan en los macollos de la planta. A través de los macollos fértiles alcanza el óvulo de la flor, donde se instala nuevamente. Así asegura su transmisión por vía materna en semilla infectada (1, 2, 10, 12, 21, 24).

De acuerdo a las investigaciones de Johnson *et al.* (9), el endófito presente en raigrás perenne, *A. loliae*, es otro biotipo asexual del mismo hongo *E. typhina*. La hipótesis aceptada por Latch *et al.* (11) y Morgan-Jones y Gams (14) relaciona estos endófitos al género *Epichloe* (Orden Clavicipitales) considerando que han perdido temporaria o definitivamente su habilidad para producir esporas sexuales (Figura 1).

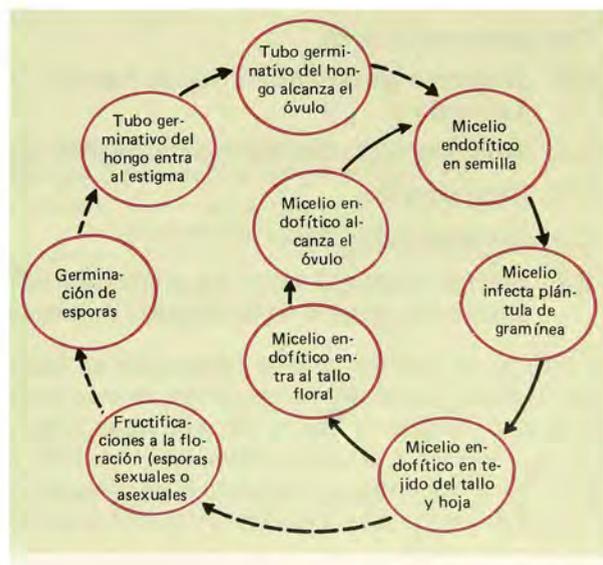


Figura 1. Ciclo general de hongos endofitos en gramíneas. Líneas llenas: ciclo de *Acremonium* sp.

Fuente: Bacon *et al.* (1).

RELACION HONGO-HUESPED

De acuerdo a las investigaciones más recientes, la asociación entre el hongo y la gramínea se considera una simbiosis mutualística, en la cual ambos reciben beneficios (1, 3, 23, 24).

El hongo asegura su diseminación y sobrevivencia, a la vez que el huésped ve incrementada su tolerancia a factores de estrés ambientales tales como sequía, calor, daño de insectos, pastoreo animal. Por lo mismo las plantas infectadas por el endófito parecen tener incrementada su habilidad competitiva y por consiguiente su sobrevivencia frente a plantas no infectadas (1, 3, 19, 24).

En Nueva Zelanda las investigaciones han atendido fundamentalmente a la tolerancia a daño de insectos que la presencia de *A. loliae* le confiere al raigrás perenne, en especial al efecto negativo de este endófito sobre *Listronotus bonariensis*, principal plaga de la especie en dicho país (8, 16, 17).

Siegel *et al.* (24) reportan por lo menos 12 especies de insectos que son afectados por los endófitos de *Festuca* y *Lolium*.

Actualmente los neocelandeses buscan que las variedades recomendadas de ambas gramíneas tengan ciertos niveles de infección de los endófitos respectivos, como una característica positiva (6, 17).

En la Argentina, en la Estación Experimental Agropecuaria Pergamino del INTA se procede con el mismo criterio en la selección de festucas para césped (J. Maddaloni, com. pers.).

INTOXICACION ANIMAL

La presencia de *A. coenophialum* está relacionada con la producción de ergocalcoides que resultan tóxicos para los animales que pastorean praderas con determinado nivel del hongo.

La literatura (1, 2, 3, 7, 12, 15, 18, 24) describe al respecto diversas manifestaciones de intoxicación, a saber:

1. Con síntomas clínicos.
 - 1.1. Síndrome gangrenoso o Pie de Festuca, que se presenta fundamentalmente en otoño-invierno.
 - 1.2. Síndrome hipertérmico o asoleamiento, que se presenta en verano.
 - 1.3. Necrosis grasa.
2. Con síntomas subclínicos.
 - 2.1. Efectos negativos sobre los rendimientos productivos, como disminución de la producción de leche o de la ganancia de peso animal.

Esta última no por ser menos perceptible es menos importante y seria en términos de productividad animal. Quizá sea la situación que se presenta en nuestro país, donde hasta el presente no se han registrado casos con síntomas clínicos de festucosis (F. Riet, com. pers.). Los resultados de Garner *et al.* (7) y Williams *et al.* (26) muestran que existe una relación lineal altamente significativa entre el porcentaje de plantas infectadas con el endófito y la ganancia individual en bovinos que pastorean las mismas (Figura 2).

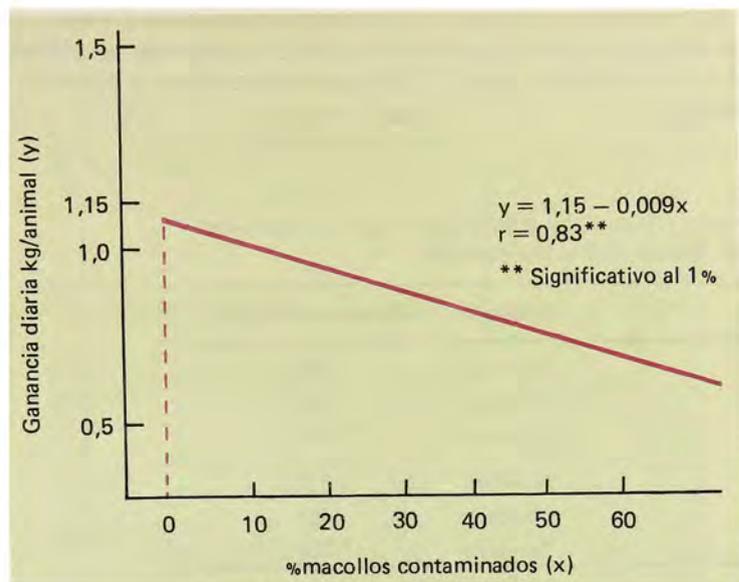


Figura 2. Relación entre ganancia diaria animal y porcentaje de infección en plantas de festuca.

Fuente: Williams *et al.* (26).

En Argentina la incidencia de cuadros clínicos y subclínicos de intoxicación en bovinos pastoreando festucas en mezcla o puras es alta (5, 12, 15, 16).

El grado de infección de una festuca puede ser determinado a través del análisis en laboratorio de una muestra representativa de macollos. La misma se vuelve tóxica (con sintomatología clínica) cuando el 50% o más de los macollos se encuentran infectados por el endófito. No obstante existen una serie de factores condicionantes a tener presente, tales como la composición botánica de la pastura, el porcentaje de festuca presente, la fertilización nitrogenada si es pura, la categoría animal y el período durante el cual se realiza el pastoreo (2, 5, 7, 12, 15, 24).

Ball y Hoveland (2) al presentar los resultados de una serie de ensayos realizados con animales pastoreando festuca pura o en mezcla, muestran cómo la presencia de leguminosas en una pradera infectada mejora la performance animal, mientras que la fertilización nitrogenada tiene el efecto opuesto (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de composición botánica y fertilización nitrogenada de pasturas infectadas en la ganancia animal. Fuente: Ball y Hoveland (2).

Pastura	% leguminosa	Ganancia diaria (g)
Festuca infectada + Trébol	24	694
Festuca infectada + Lotus	13	685
Festuca infectada + 170 kg N/ha	0	481

De acuerdo a Siegel *et al.* (24), esto último se debe a que el agregado de nitrógeno incrementa el nivel de ergocalcoides en las hojas.

En cuanto a la categoría animal, Ball y Hoveland (2) presentan los resultados de un ensayo con novillos (estudio de 4 años) y de un ensayo con vacas y terneros (estudio de 2 años). Los mismos señalan la existencia de una respuesta diferencial de las distintas categorías al pastoreo de festucas infectadas (Cuadro 2). A la vez, Pereira *et al.* (15) hacen referencia a la ausencia de síntomas de festucosis en terneros lactantes.

Cuadro 2. Respuesta al pastoreo de festucas infectadas según categoría animal. Fuente: Ball y Hoveland (2).

Pastura	Categoría	Ganancia diaria (g)
Festuca infectada	Novillos	499
	Vacas	-181
	Terneros	871
Festuca no infectada	Novillos	830
	Vacas	454
	Terneros	1.202

Respecto al período de pastoreo de praderas infectadas se ha observado que si el mismo no supera los 15-20 días, los daños en el animal son reversibles (J. Maddaloni, com. pers.).

Por otro lado, dado que la transmisión del endófito ocurre a través de la semilla, es fundamental atender al nivel de infección en la misma con antelación a su siembra, para prevenir la obtención de una festuca tóxica.

El porcentaje de endófito presente en un lote de semilla se puede determinar también a través del análisis de laboratorio de una muestra representativa del mismo.

Trabajos realizados en Argentina (5, 12, 15) coinciden en señalar un 5% de infección como límite máximo en semilla para la implantación de semilleros (por debajo del cual la semilla se considera como libre de infección). En el caso de lotes de semilla para la implantación de praderas para producción de forraje, el límite máximo se eleva a un 10% de infección (5).

Al respecto rige en la Argentina un decreto, la Disposición No. 16/88 (13), que "establece la obligatoriedad de indicar el contenido de *A. coenophialum* (Festucosis) en los rótulos que identifican a la semilla fiscalizada de *Festuca arundinacea*."

METODOS DE CONTROL DEL HONGO

Existe abundante información respecto a la pérdida de viabilidad del endófito cuando la semilla es almacenada durante un período de 15-17 meses postcosecha, descendiendo los niveles de infección a valores muy bajos (Figura 3) (2, 5, 12, 18, 20, 22, 23, 25).

No obstante lo anterior, es muy importante considerar las condiciones en que se realiza el almacenaje, tales como temperatura y humedad ambiente, y el porcentaje de humedad de la semilla. Las mismas se reflejan tanto en el nivel de infección final, como en el poder germinativo de la semilla.

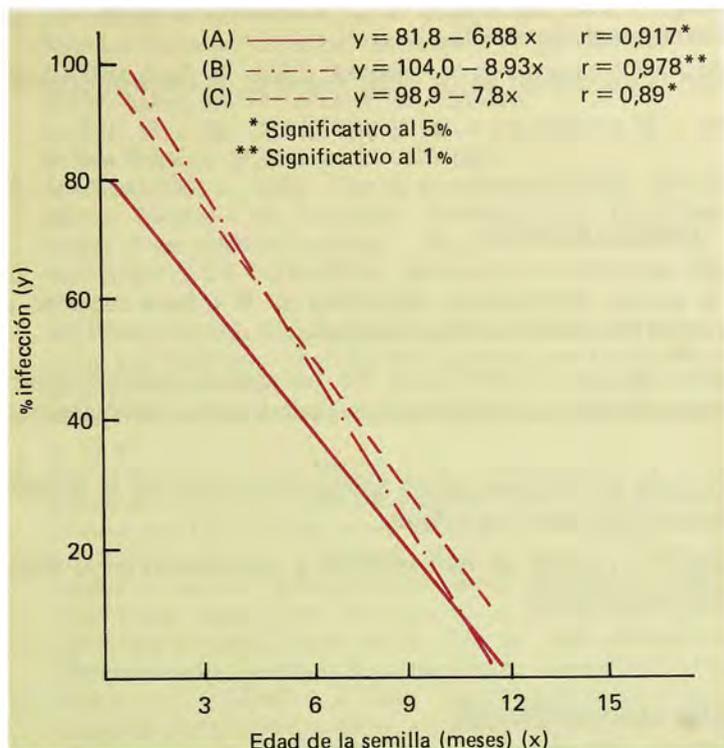


Figura 3. Pérdida de viabilidad de *A. coenophialum* en tres lotes de semilla almacenados. Fuente: Ramírez de Guglielmo *et al.* (18).

Latch (10) y Rolston *et al.* (20) han demostrado que en condiciones de baja temperatura (0-5 °C) y baja humedad, los endófitos permanecen viables en la semilla por períodos muy prolongados. Por lo mismo si se busca afectar la viabilidad del hongo sin reducir mayormente la germinación de la semilla, ésta debería ser almacenada a temperaturas cercanas a 30 °C, con un 8-10% de humedad (24).

De los resultados de un ensayo realizado en la E.E.A. Pergamino de INTA comparando el almacenamiento de semilla en galpón de material, galpón de cinc y tinglado de cinc, se pudo concluir que sólo en el último caso se ve afectado el poder germinativo, y en todos los casos disminuyeron los niveles de infección con *Acremonium* (J. Maddaloni, com. pers.).

En cuanto al control químico del endófito, varios autores han evaluado distintos fungicidas sistémicos aplicados a la semilla a distintas dosis, obteniéndose en algunos casos resultados promisorios (4, 22, 25, 26).

Las eficiencias de control obtenidas oscilan de 60 a 100%, dependiendo entre otros factores del porcentaje de infección inicial así como de la edad de la semilla en el momento de aplicación del fungicida. De acuerdo a los resultados de Costa y De Battista (4), se concluye que no es conveniente tratar semilla con niveles de infección mayores a 70%.

Respecto a la edad de la semilla se ha observado que la eficiencia de control aumenta (para un mismo producto y dosis) en la medida que se retrasa la cura postcosecha (25, 26).

En cuanto a principios activos se destaca el tiadimenol (Baytan), fungicida del grupo de los triazoles; no obstante con las dosis que resultan más eficientes (4-5 g i.a./kg semilla) se han visto efectos fitotóxicos en la semilla (4, 25, 26). Costa y De Battista (4) utilizando una dosis

menor (3 g i.a. triadimenol/kg de semilla), si bien obtuvieron un 11% menos de control del endófito, no vieron afectado el poder germinativo de la semilla.

Por último cabe señalar que aún con la utilización de las dosis menores, el control químico resulta considerablemente costoso.

CONCLUSIONES

La naturaleza de la simbiosis y la amplia distribución geográfica de la misma sugieren la existencia de una adaptación evolutiva entre los endófitos y sus huéspedes.

La implicancia agronómica de dicha asociación tiene para los huéspedes aspectos positivos y negativos, que deberían ser cuidadosamente estudiados para cada sistema ecológico-productivo en particular.

Dada la importancia que la festuca tiene en Uruguay como gramínea perenne en la implantación de pasturas convencionales, el tema resulta de sumo interés.

A corto plazo se plantea la necesidad de realizar un relevamiento y diagnóstico de la situación en las variedades de festuca utilizadas en Uruguay.

AGRADECIMIENTOS

A los Ings. Agrs. José Maddaloni y Susana Carletti por su invaluable aporte en relación al tema.

BIBLIOGRAFIA

1. BACON, C. W. *et al.* 1986. Ergot toxicity from endophyte infected grasses: A review. *Agronomy Journal* 78: 106-116.
2. BALL, D. M. y HOVELAND, C. S. 1983. Toxic fescue solution: Fungus implicated; control likely soon. Madison, Wisconsin. American Society of Agronomy. Reimpreso de *Crops and Soils Magazine*. pp. 12-14.
3. CLAY, K. 1986. Grass endophytes. *In* Fokkema, N. J. y Van der Heuvel (Eds.). *Microbiology of the Phyllosphere*, London, Cambridge Univ. Press. pp. 188-204.
4. COSTA, M. C. y DE BATTISTA, J. P. 1986. Tratamiento de semilla para el control del hongo endofítico en festuca. Entre Ríos, Argentina. INTA, E.E.A.C. del Uruguay. *Boletín Técnico: Serie Producción Vegetal*. 7 p.
5. COSTA, M. C. 1987. Análisis de detección de hongo endofítico en festuca. Procedimientos de muestreo y evaluación de resultados. Entre Ríos, Argentina. INTA, E.E.A.C. del Uruguay. *Boletín Técnico: Serie Producción Vegetal*. 6 p.
6. DSIR. 1988. Cultivars and selections available from Grassland Division. New Zealand, DSIR. 8 p.
7. GARNER, G. B. *et al.* 1984. Nursing cows, calves and steers response to simultaneously grazed tall fescue pastures with varying levels of endophyte *E. typhina*. *In* American Forage and Grasslands Council. Houston, Texas. *Proceedings*. pp. 246-250.
8. GAYNOR, D. L. y ROWAN, D. D. 1985. Peramine An argentine stem weevil feeding deterrent from endophyte-infected ryegrass. *In* Australas. Conf. Grassl. Invert. Ecol., 4th. Canterbury, Lincoln Coll. *Proceedings*. pp. 338-343.

9. JOHNSON, M. C.; SIEGEL, M. R. y SCHMIDT, B. A. 1985b. Serological reactivities of endophytic fungi from tall fescue and perennial ryegrass and of *Epichloe typhina*. *Plant Disease* 69: 200-202.
10. LATCH, G. C. M. 1983. Incidence of endophytes in seedlines and their control with fungicides. *In* N. Z. Grassl. Assoc., 44. Proceedings. pp. 251-253.
11. LATCH, G. C. M.; CHRISTENSEN, M. J. y SAMUELS, G. J. 1984. Five endophytes of *Lolium* and *Festuca* in New Zealand. *Mycotaxon* 20: 535-550.
12. MADDALONI, J. 1986. *Festuca arundinacea* Schreb. Relación entre calidad de semilla y toxicidad de la planta. Buenos Aires, Argentina. AIANBA: INTA, EEA Pergamino. Jornadas de actualización profesional sobre: "Producción de forrajeras". 10 p.
13. MINISTERIO DE ECONOMIA. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. 1988. Disposición No. 16. 2 p.
14. MORGAN-JONES, G. y GAMS, W. 1982. Notes on Hyphomycetes. X LI. An endophyte of *Festuca arundinacea* and the anamorph of *Epichloe typhina*, new taxa in one of the two new sections of *Acremonium*. *Mycotaxon* 15: 311-318.
15. PEREIRA, J. J. *et al.* 1986. Intoxicación por *Festuca arundinacea*. Tecni-CREA. *Festucosis. Supl. Esp.* 2: 32-42.
16. POTTINGER, R. P.; BARKER, G. M. y PRESTIDGE, R. A. 1985. A review of the relationships between endophytic fungi of grasses (*Acremonium* spp.) and argentine stem weevil (*Listronotus bonariensis* Kuschel). *In* Australas. Conf. Grassl. Invert. Ecol., 4th. Canterbury, Lincoln Coll. Proceedings. pp. 322-331.
17. PRESTIDGE, R. A.; di MENNA, M. E. y VAN der ZIJPP, S. 1985. Minimum *Acremonium loliae* levels needed to maintain argentine stem weevil resistance in infected ryegrasses and in cultures. *In* Australas. Conf. Grassl. Invert. Ecol., 4th. Canterbury, Lincoln Coll. Proceedings. pp. 332-337.
18. RAMIREZ de GUGLIELMONE, A. E. *et al.* 1986. Pérdida de la viabilidad del endófito de festuca *Acremonium coenophialum* en semillas almacenadas. Tecni-CREA. *Festucosis. Supl. Esp.* 2: 26-31.
19. READ, J. C. y CAMP, B. J. 1986. The effect of fungal endophyte *Acremonium coenophialum* in tall fescue on animal performance, toxicity, and stand maintenance. *Agronomy Journal* 78: 848-850.
20. ROLSTON, M. P. *et al.* 1986. *Lolium* endophyte fungi viability with storage and different seed moisture and temperatures. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 14: 297-300.
21. SIEGEL, M. R. *et al.* 1984a. A fungal endophyte in tall fescue: Incidence and Dissemination. *Phytopathology* 74: 932-937.
22. SIEGEL, M. R. *et al.* 1984b. A fungal endophyte in tall fescue: Evaluation of control methods. *Phytopathology* 74: 937-941.
23. SIEGEL, M. R.; LATCH, G. C. M. y JOHNSON, M. C. 1985. *Acremonium* fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: Significance and Control. *Plant Disease* 69: 179-183.
24. SIEGEL, M. R.; LATCH, G. C. M. y JOHNSON, M. C. 1987. Fungal endophytes of grasses. *Annual Review of Phytopathology* 25: 293-315.
25. WILLIAMS, M. J. *et al.* 1984a. Seed treatments for control of the tall fescue endophyte *Acremonium coenophialum*. *Plant Disease* 68: 49-52.
26. WILLIAMS, M. J. *et al.* 1984b. Chemical control of the tall fescue endophyte and its relationship to cattle performance. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 12: 165-171.

II. ANALISIS DE SEMILLA DEL CULTIVAR ESTANZUELA TACUABE

Nora Altier Manzini

INTRODUCCION

La festuca es la gramínea perenne de ciclo invernal más difundida en el establecimiento de praderas convencionales. Presenta una gran adaptación a distintas condiciones de suelo y clima, y una adecuada calidad nutritiva.

Estanzuela Tacuabé, variedad sintética creada en 1976 por el Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger" (3), es la más utilizada en el país, y actualmente la única que se certifica. Pertenece a la clase 1 según la clasificación de mérito relativo entre variedades que se presenta en la Miscelánea Variedades Forrajeras II (4).

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia o no del hongo endófito *Acremonium* sp. en esta variedad, y en caso positivo realizar un diagnóstico del nivel de infección de la semilla en las categorías básicas (Fundación y Registrada).

MATERIALES Y METODOS

Para la puesta a punto de la técnica de detección de *Acremonium* sp. en semilla se realizó un entrenamiento en el laboratorio del Instituto de Microbiología (Sección Micotoxinas) del INTA, CNIA-Castelar.

El método empleado es una adaptación (9) de la técnica del Laboratorio Estatal de Semillas del Departamento de Agricultura y Comercio de Mississippi, EE.UU. (5). Es una de las tres metodologías aprobadas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la República Argentina, en su Disposición No. 2/89 (7).

Para digestión y lavado de la semilla se procedió sumergiendo, a temperatura ambiente, una fracción de semilla pura en solución acuosa de NaOH al 5% durante 16-20 horas; el enjuague se realizó con abundante agua corriente por decantación.

Posteriormente se procedió colocando cada semilla en portaobjeto, quitándole glumas, aplastándola con una espátula, agregándole una gota de colorante, y por último colocándole cubreobjeto.

En cuanto a la preparación de la solución colorante se procedió disolviendo 0,4 g de azul de anilina en 100 ml de agua, agregando luego 50 ml de ácido láctico.

Se realizó la observación microscópica, a 400 aumentos, de 50, 100, 150 y 200 semillas por lote, estudiándose para cada tamaño de muestra el resultado promedio obtenido así como su variación, de acuerdo a la tabla de tolerancia de Larsen (6).

A continuación se detallan los lotes analizados.

1. Semilla Fundación de *Festuca arundinacea* cv. Estanzuela Tacuabé, cosecha 1988: identificación: F857028. Semillero establecido en 1980, en la Estación Experimental La Estanzuela.
2. Semilla Registrada de la misma variedad, cosecha 1988: identificación: R857083. Semillero establecido en 1987 en el predio del Sr. Ian Howe, en la localidad San Luis.

La semilla utilizada para la instalación de este último fue categoría Fundación proveniente del semillero detallado en el numeral 1, cosechada la primera quincena de diciembre de 1986. Fue retirada de la Estación Experimental La Estanzuela el 5 de mayo de 1987, luego de 5 meses de almacenamiento.

Para el análisis se utilizaron las muestras de laboratorio de los respectivos lotes ya que la metodología de muestreo es coincidente con la propuesta por Costa (2).

RESULTADOS Y DISCUSION

En las dos muestras de semilla correspondientes a las categorías básicas del cultivar Estanzuela Tacuabé se detectó la presencia de hifas del hongo endófito *Acremonium* sp.

En el Cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos para el lote de semilla Fundación.

Cuadro 1. Porcentaje de semillas infectadas con *Acremonium* sp. de la categoría Fundación, y su variación según tamaño de muestra.

Número de semillas analizadas	Número de semillas con <i>Acremonium</i> sp.	Porcentaje	Tolerancia*	Porcentaje mínimo	Porcentaje máximo
50	19	38,0	15,9	22,1	53,9
100	44	44,0	11,5	32,5	55,5
150	55	36,7	9,1	27,6	45,8
200	73	36,5	7,9	28,6	44,4

* Extraído de la tabla de tolerancia de Larsen (6).

En el Cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos para el lote de semilla Registrada.

La disminución de más de 10% en el porcentaje de infección de la semilla Registrada respecto a la semilla Fundación, es posible explicarla por la pérdida de viabilidad del endófito, debida al período de almacenamiento que tuvo el lote de semilla Fundación con el cual se instaló el semillero para obtener Registrada.

Cuadro 2. Porcentaje de semillas infectadas con *Acremonium* sp. de la categoría Registrada, y su variación según tamaño de muestra.

Número de semillas analizadas	Número de semillas con <i>Acremonium</i> sp.	Porcentaje	Tolerancia*	Porcentaje mínimo	Porcentaje máximo
50	15	30,0	15,1	14,9	45,1
100	28	28,0	10,5	17,5	38,5
150	37	24,7	8,1	16,6	32,8
200	52	26,0	7,2	18,8	33,2

* Extraída de la tabla de tolerancia de Larsen (6).

Esto coincide con los resultados de varios autores que se refieren al descenso de la infección viable del hongo endófito en semillas almacenadas en condiciones normales de galpón o similares (2, 8).

Dado que la preparación y observación microscópica de una muestra requiere muchas horas de labor del analista que la realiza, a los efectos de balancear eficiencia y precisión, también se estudió la variación de los resultados en función del número de semillas analizado.

Como se puede observar en los Cuadros 1 y 2, la precisión del análisis cambia con el tamaño de muestra. Es por esta razón que Larsen (6) establece que los resultados deben presentarse acompañados del número de semillas analizado así como de la variación, que está asociada al tamaño de muestra y al porcentaje obtenido. Para esto sugiere la siguiente presentación: se analizaron . . . (número) semillas, y en . . . (porcentaje) se detectó la presencia de hifas del hongo endófito. Si nuevamente se realizara dicho análisis con el mismo número de semillas, los resultados podrían variar entre . . . (mínimo) % y . . . (máximo) %, con un nivel de confianza del 95%.

Costa y De Battista (1, 2) consideran como niveles de infección moderados aquellos por debajo de 30%, y como niveles de infección altos aquellos por encima de este valor.

Los resultados obtenidos para el cv. Estanzuela Tacuabé oscilan alrededor de ese porcentaje.

Por esta razón, en base a los niveles de infección detectados, se considera muy importante atender al tamaño de muestra. El análisis de una muestra chica (por ejemplo 50 a 100 semillas), al estar asociado a valores altos de tolerancia, genera un resultado de escasa precisión en cuanto a su repetibilidad, con porcentajes mínimo y máximo muy alejados del mismo (ver Cuadros 1 y 2).

Por otro lado no se observa una mejora importante en la precisión al aumentar el tamaño de muestra de 150 a 200 semillas, y se pierde sensiblemente en eficiencia, al significar en forma aproximada una jornada más de trabajo del analista.

Se puede concluir entonces que sería necesario utilizar no menos de 150 semillas como tamaño de muestra.

CONCLUSIONES

1. En el cultivar Estanzuela Tacuabé se detectó la presencia del hongo endófito *Acremonium* sp.
2. En la muestra correspondiente a la categoría Fundación se analizaron 200 semillas, y en 36,5% se detectó la presencia de hifas del hongo endófito. Si nuevamente se realizara dicho análisis con el mismo número de semillas, los resultados podrían variar entre 28,6% y 44,4%, con un nivel de confianza de 95%.
3. En la muestra correspondiente a la categoría Registrada se analizaron 200 semillas, y en 26,0% se detectó la presencia de hifas del hongo endófito. Si nuevamente se realizara dicho análisis con el mismo número de semillas, los resultados podrían variar entre 18,8% y 33,2%, con un nivel de confianza del 95%.
4. El menor porcentaje de infección obtenido en la semilla Registrada posiblemente pueda explicarse por la pérdida de viabilidad del endófito en la semilla Fundación que le dio origen, la cual permaneció almacenada durante 5 meses desde su cosecha hasta su siembra.
5. Dado los rangos de porcentaje de infección presentados por esta variedad, no sería aconsejable analizar menos de 150 semillas, a los efectos de no perder precisión.

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Agr. Elsa Manzini de Zamuz por su valiosa colaboración en la realización de los análisis.

BIBLIOGRAFIA

1. COSTA, M. C. y DE BATTISTA, J. F. 1986. Tratamiento de semilla para el control del hongo endofítico en festuca. Entre Ríos, Argentina. INTA, E.E.A.C. del Uruguay. Boletín Técnico: Serie Producción Vegetal. 7 p.
2. COSTA, M. C. 1987. Análisis de detección de hongo endofítico en festuca. Procedimientos de muestreo y evaluación de resultados. Entre Ríos, Argentina. INTA, E.E.A.C. del Uruguay. Boletín Técnico: Serie Producción Vegetal. 6 p.
3. GARCIA, J. y MILLOT, J. C. 1976. Estanzuela Tacuabé, primera variedad de *Festuca arundinacea* creada para el Uruguay. Revista de la Asociación de Ingenieros Agrónomos del Uruguay. Segunda época (9): 33-36.
4. GARCIA, J.; REBUFFO, M. y ASTOR, D. 1988. Variedades Forrajeras II. Uruguay. CIAAB, Est. Exp. La Estanzuela. Miscelánea No. 68. 15 p.
5. GARNER, G. B. 1985. Endophyte detection in tall fescue by microscopic method. Columbia, EE.UU. University of Missouri. 3 p.
6. LARSEN, A. L. 1985. Tolerance for endophyte testing. In The Newsletter of the AOSA 59(2): 21.
7. MINISTERIO DE ECONOMIA. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. 1989. Disposición No. 2. 3 p.
8. RAMIREZ de GUGLIELMONE, A. E. et al. 1986. Pérdida de la viabilidad del endófito de festuca *Acremonium coenophialum* en semillas almacenadas. Tecni-CREA. Festucosis. Supl. Esp. 2: 26-31.
9. SALA de MIGUEL, M.; MADDALONI, J. y ROSSO, B. 1985. Técnicas de observación microscópica para detectar el hongo endófito *Acremonium coenophialum* en festuca (*Festuca arundinacea*). Buenos Aires, Argentina. INTA, CNIA Castelar, Departamento de Microbiología; INTA, E.E.A. Pergamino, Departamento de Producción Animal. 4 p.