

Tolerancia a la salinidad de festuca alta, naturalizada y comercial, libre e infectada con endófitos durante la germinación

Salinity tolerance of tall fescue, naturalized and commercial, free and infected with endophytes during germination

Marcia Belén Soto *

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

María de las Mercedes Echeverría

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

Julia Lúquez

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

Silvina San Martino

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

Silvia Graciela Assuero

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

Lucas Ricardo Petigrosso

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

Revista de la Facultad de Agronomía

Universidad Nacional de La Plata, Argentina

ISSN: 1669-9513 Periodicidad: Semestral Vol. 121, núm. 1, 2022

redaccion.revista@agro.unlp.edu.ar

Recepción: 05/11/2020 **Aprobación:** 04/06/2021

URL: http://portal.amelica.org/ameli/journal/23/233043007/

DOI: https://doi.org/10.24215/16699513e084

* Autor de correspondencia: marciasoto2014@gmail.com



Resumen

Se realizó un experimento en una cámara de germinación con el objetivo de comparar la tolerancia a la salinidad de distintos materiales de festuca alta (Schedonorus arundinaceus) libres e infectados con el endófito Epichloë coenophiala durante la germinación. Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones en el tiempo con arreglo factorial. Los factores experimentales fueron: 1) material genético de festuca alta, con cuatro niveles: población naturalizada libre (S-) e infectada (S+) con el endófito silvestre, y cv. Taita libre (T-) e infectado (T+) con el endófito seguro AR584, y 2) condición salina, con tres niveles: 0 (control), 40 y 80 mM NaCl. Se colocaron las semillas en rollos de papel embebidos en la solución salina correspondiente y se evaluaron variables asociadas a la germinación: energía germinativa (EG), poder germinativo (PG), longitud de coleoptilo (LC) y de radícula (LR), peso fresco (PF) y seco (PS) de plántulas. No se registró interacción entre los factores experimentales para ninguna de las variables (p>0,05). A medida que aumentó la salinidad, disminuyó el PG en todos los materiales evaluados, mientras que la EG y la LC únicamente disminuyeron en 40 y 80 mM NaCl, respectivamente. Los materiales de festuca alta presentaron valores similares de EG, LC, LR y PF. Sin embargo, S+ presentó el mayor PG, que no difirió del de S-. Las plántulas de T+ registraron el menor PS. Los resultados obtenidos indican que los materiales de festuca alta estudiados no diferirían en la tolerancia a la salinidad.

Palabras clave: Festuca arundinacea, Epichloë coenophiala, semilla, germinación, salinidad

Abstract

An experiment was carried out in a germination chamber with the objective of comparing the salinity tolerance in different materials of tall fescue (*Schedonorus arundinaceus*) free and infected with endophyte *Epichloë coenophiala*during germination. A randomized complete block design with three replicates in time with factorial arrangement was used. The experimental factors were: 1) genetic material of tall fescue, four levels: a naturalized population free (S-) and infected (S+) with wild endophyte and cv. Taita free (T-) and infected (T+) with endophyte AR584, and 2) saline condition, three levels: 0 (control), 40 and 80 mM NaCl. Seeds were placed in rolls of paper soaked in the appropriate saline solution, and the following variables associated with germination were evaluated: germination energy (EG), germination power (PG), coleoptile (LC) and radicle length (LR), fresh weight (PF) and dry weight (PS) of seedlings. There was no interaction between the experimental factors for any of the variables (p>0.05). As salinity increased, PG decreased in all evaluated materials, while EG and LC only decreased under 40 and 80 mM NaCl, respectively. All tall fescue materials presented similar values of EG, LC, LR and PF. However, S+ showed the highest PG, which did not differ from that of S-. Seedlings of T+ registered the lowest PS. The results obtained indicate no differences in salinity tolerance among the tall fescue materials studied.

Keywords: Festuca arundinacea, Epichloë coenophiala, seed, germination, salinity

INTRODUCCIÓN

La Pampa Deprimida ocupa una superficie aproximada de 90.000 km² y se encuentra dominada por pastizales naturales que abarcan el 70% de dicha superficie (Soriano, 1991; Rodríguez & Jacobo, 2012). Se caracteriza por su relieve casi plano, con pendientes que no superan el 3% y el predominio de suelos salinos y/o alcalinos con drenaje deficiente, lo que determina la ocurrencia de eventos de inundación y/o anegamiento a lo largo del año (Paruelo & Sala, 1990; Moscatelli, 1991; Rodríguez & Jacobo, 2012; Di Bella et al., 2016) y, en general, con moderados valores de conductividad eléctrica (CE) en la solución edáfica (Miaczynsky, 1995). En la región, que presenta una gran heterogeneidad florística a través del paisaie, se distinguen cuatro comunidades vegetales según la posición topográfica y el tipo de suelo: A (loma), B (media loma), C (bajo dulce) y D (bajo salino) (León et al., 1979; Batista et al., 1988; Burkart et al., 1990; Batista & León, 1992; Rodríguez & Jacobo, 2012). La comunidad A se caracteriza por relieves positivos, suelos profundos (Hapludoles o Argiudoles), ácidos y no salinos (CE de 1 y 2 dS m-1 a 5 y 25 cm de profundidad respectivamente), bien drenados y frecuentemente modificados por el uso agrícola. La comunidad B se halla en áreas planas con suelos hidromórficos, sujetos a inundaciones de corta duración, menos profundos, ácidos, no salinos en superficie (CE de 2 dS m-1 a 5 cm de profundidad), pero alcalinos y salinos en profundidad (CE entre 8 y 9 dS m⁻¹ a 25-35 cm de profundidad) por lo que las sales del horizonte sub-superficial suelen ascender cuando la cobertura vegetal es escasa (e.g., sobrepastoreo, labores mecánicas o aplicaciones de herbicidas). La comunidad C se desarrolla sobre suelos anegables pero no salinos ni alcalinos (Argiacuoles o Argialboles). La comunidad D se halla sobre suelos anegables, salinos y/o alcalinos, con poca materia orgánica (Natracualfes). Las oscilaciones en la profundidad del nivel freático, con aqua cargada de sales, son una de las principales causas de salinización de los suelos (Zamolinski, 2000; Casas, 2013; Sfeir, 2015).

La elevada salinidad en los suelos reduce el potencial agua del mismo, lo que dificulta o impide la absorción de agua y nutrientes por las raíces, y puede producir toxicidad por acumulación de iones Na⁺. en los tejidos vegetales (Tal, 1985; Munns & Tester, 2008; Turan et al., 2012; Flowers et al., 2015; Sandhu et al., 2017). El estrés salino afecta la mayoría de los procesos fisiológicos de las plantas como el crecimiento, la fotosíntesis, la síntesis de proteínas y el metabolismo energético (Shabala et al., 2014; Munns & Gilliham, 2015; Pittaro et al., 2015). Sin embargo, la duración y severidad del período de estrés, al igual que la especie afectada y su estado fenológico, determinarán la magnitud de los efectos observables y los procesos fisiológicos afectados por esta condición (McCue & Hanson, 1990). Así, la mayor parte de las plantas son más sensibles a la salinidad durante la germinación y emergencia que durante los estados posteriores de crecimiento y desarrollo (Francois & Maas, 1993; Marcum, 2002; Cardamone et al., 2018). Durante la germinación, al disminuir el potencial osmótico del medio, se reduce la absorción de agua por parte de la semilla y se generan condiciones que favorecen la entrada de iones tóxicos, lo que afecta al embrión y al desarrollo de las plántulas (Yokoi et al., 2002; Bahizire, 2007).

Entre las especies otoño-inverno-primaverales que coexisten en las comunidades A y B se encuentra: festuca alta [Schedonorus arundinaceus (Schreb.) Dumort, sinónimos: Festuca arundinacea Schreb., Lolium arundinaceum (Schreb.) S.J. Darbyshire, Schedonorus phoenix (Scop.) Holub] (Roitman & Preliasco, 2018). No sólo crece espontáneamente en estas comunidades (Colabelli et al., 2006), sino que se está expandiendo aceleradamente y es capaz de desplazar a la mayoría de las especies nativas, debido a su mayor habilidad competitiva. Así, existen estudios que muestran que la exclusión total del ganado no promueve la restauración de comunidades de pastos nativos sensibles al pastoreo, sino que potencia la invasión de festuca (Chaneton, 2016). Además, actualmente se realizan intersiembras de festuca alta en pasturas degradadas (Prinicipi et al., 2011). Es una especie caracterizada por una gran plasticidad fenotípica frente a un amplio rango de condiciones climáticas y edáficas (Mazzanti et al., 1992; Maddaloni & Ferrari, 2005) y cuando es bien manejada alcanza valores de digestibilidad de la materia seca de 70-75%, con contenidos de proteínas superiores al 15% y de fibra detergente neutro de 50% (Agnusdei & Di Marco, 2014). Por otra parte, presenta moderada tolerancia a la salinidad (Maas, 1986), por lo que su supervivencia es afectada con valores de CE cercanos a 4 dS m-1 (Shannon, 1997).

Al igual que otras gramíneas C₃, la festuca alta puede establecer una relación simbiótica con hongos endófitos asexuales de transmisión vertical, es decir, a través de semillas infectadas (White et al., 1993; Clay & Schardl, 2002). El hongo endófito que infecta a las plantas de esta especie, *Epichloë coenophiala* (Morgan-Jones & W. Gams) C.W. Bacon & Schardl (=Neotyphodium coenophialum (Morgan-Jones & W. Gams) Glenn, C.W. Bacon & Hanlin (Leuchtmann et al., 2014) le otorga mayor potencial de crecimiento y tolerancia a estreses bióticos y abióticos (Clay, 1987; Lyons et al., 1990; Malinowski &

Belesky, 2000; Omacini et al., 2001; Saikkonen et al., 2013; Bourguignon et al., 2015), sin embargo, son escasos los trabajos que evalúan los efectos de la presencia de hongos endófitos asexuales del género *Epichloë* sobre la tolerancia a la salinidad en gramíneas templadas (Koch et al., 2017). El hongo produce una serie de compuestos secundarios, dentro de los cuales los más estudiados son los alcaloides. Los principales son los ergoalcaloides, los indol-diterpenos, las peraminas y las lolinas (Saikkonen et al., 2013; Schardl et al., 2013). Mientras los indol-diterpenos y ergoalcaloides (e.g. ergovalina) causan intoxicaciones en mamíferos (i.e. festucosis), las peraminas y las lolinas le otorgan resistencia a insectos (Schardl & Phillips, 1997; Saikkonen et al., 2013).

En los últimos años se ha observado un creciente nivel de casos de intoxicación por alcaloides en los animales que consumen festuca alta infectada en la Cuenca del Salado (Elizalde & Riffel, 2015; García et al., 2017). Una estrategia para disminuir los riesgos de festucosis sería la siembra de cultivares de festuca alta libres de endófito o, alternativamente, infectados con endófitos seguros o amigables ("safe" o "nontoxic endophytes"; Bouton et al., 2002). Estos últimos se caracterizan por producir alcaloides de la familia de las lolinas y peraminas, pero no alcaloides tóxicos para el ganado (Schardl, 2009; Gundel et al., 2013; Johnson et al., 2013). Por ejemplo, los cultivares infectados con el endófito seguro AR542 y AR584 han mostrado un buen desempeño agronómico sin generar problemas de toxicidad (Hopkins et al., 2010; Lugtenberg et al., 2016). Estos materiales se comercializan en Estados Unidos, Nueva Zelanda y Australia (Lugtenberg et al., 2016). En Argentina, es posible disponer de cariópsides del cv. Taita infectado con el endófito seguro AR584 a través de la empresa Gentos S.A. El cv. Taita, es uno de los cultivares comerciales más utilizados en la región debido a que presenta un amplio rango de adaptabilidad y una estructura de planta densa con alto vigor de implantación y excelente producción (Gentos, 2019).

El objetivo de este trabajo fue comparar la tolerancia a la salinidad de distintos materiales de *S. arundinaceus* libres e infectados con el endófito silvestre y seguro durante la germinación, para: 1) evaluar si la presencia del endófito otorga ventajas competitivas en la germinación y crecimiento inicial de las plántulas en condiciones de salinidad, y 2) identificar materiales inocuos que toleren estos ambientes y eventualmente puedan ser intersembrados para competir o contrarrestar el avance del porcentaje de festuca alta naturalizada infectada.

MATERIALES Y MÉTODOS

SITIO EXPERIMENTAL, OBTENCIÓN DEL MATERIAL Y DETERMINACIONES PREVIAS

Se trabajó con cariópsides con sus coberturas (lemma y pálea), en adelante "semillas"1. Se evaluaron cuatro materiales genéticos de festuca alta: una población naturalizada libre de endófito (S-), una población naturalizada infectada con el endófito silvestre E. coenophiala (S+), cv. Taita (provisto por Gentos S.A) libre de endófito (T-) y cv. Taita con el endófito seguro AR584 (Grasslanz Technology Limited, Palmerston North, Nueva Zelanda) (T+). Las semillas originales de festuca S+ se cosecharon en diciembre de 2015 en un pastizal del Partido de Mar Chiquita (37º 32' S; 57º 55' O, identificado previamente por Petigrosso et al. (2013) y se almacenaron en heladera a 5°C para mantener la viabilidad del endófito hasta su utilización. Las semillas S- se obtuvieron a partir del almacenamiento de semillas S+ a 20 °C de temperatura y 52% HR durante 12 meses (Nosquese, 2017). En marzo de 2018, con el objetivo de contar con semilla producida y cosechada en un mismo año y de comprobada condición endofítica, se sembraron semillas de los cuatro materiales genéticos (i.e. S-, S+, T- y T+) en bandejas plantineras con 50 celdas a razón de una semilla por celda y cinco bandejas por material. El sustrato empleado fue tierra del horizonte superficial de un suelo Argiudol típico. Las bandejas se ubicaron en un invernáculo y cuando las plantas comenzaron a macollar se determinó la presencia de endófito mediante la técnica de diagnóstico de Belanger (1996) para eliminar las plantas que no correspondían al estado endofítico del respectivo material. Posteriormente las plantas se trasplantaron y cultivaron al aire libre en macetas de 1 l hasta completar el estado reproductivo. En ese momento se cosecharon las semillas producidas, se procesaron para eliminar impurezas empleando un soplador, y se verificó la condición endofítica (i.e. 0% o 100%, según correspondiera) mediante el análisis

¹ Según la "Ley de semillas y creaciones fitogenéticas" (Ley N°20.247, Bs. As., 30/03/73, Decreto Reglamentario: 2183/1991) se denomina "semilla" a toda parte de una planta que se utilice para reproducir la especie.

microscópico de las mismas (Saha et al., 1988). El poder germinativo de las semillas obtenidas varió entre 86% y 90% (S-: 87%, S+: 90%, T-: 86% y T+: 88%).

DISEÑO Y CONDUCCIÓN DEL EXPERIMENTO

Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones en el tiempo (22/03/2019; 17/05/2019 y 7/10/2019), con arreglo factorial. Los dos factores experimentales fueron: i) material genético de festuca alta, con cuatro niveles: S-, S+, T- y T+, y ii) condición salina, con tres niveles: (control), 40 y 80 mM NaCl (estos dos últimos equivalentes a aproximadamente 4 dS m⁻¹ y 8 dS m⁻¹, respectivamente; Munns, 2002). Previo a cada siembra, las semillas se esterilizaron en alcohol 70% durante 15 segundos, luego se enjuagaron con agua, se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 20% durante 10 min y se enjuagaron con abundante agua. En cada repetición, se sembraron 50 semillas de cada uno los materiales en rollos de papel (Maguire, 1962), embebidos en agua destilada (control) o la solución correspondiente. Una vez formados los rollos, se sometieron a un pre-enfriado a 5°C durante 48 h para romper la dormición de las semillas y luego se trasladaron a una cámara de germinación donde permanecieron durante 14 días a 25°C.

DETERMINACIONES

- Energía germinativa (EG): a los 7 días se abrieron los rollos y se contaron las semillas germinadas (ISTA, 2008). Las semillas se consideraron germinadas cuando la radícula tenía una longitud igual o mayor a 2 mm. La EG se determinó como el porcentaje de semillas germinadas con respecto al total de semillas sembradas (50).
- Poder germinativo (PG): a los 14 días se abrieron los rollos y se contaron las semillas germinadas. Además, las semillas y plántulas se clasificaron en plántulas normales, plántulas anormales, semillas frescas no germinadas y semillas muertas, de acuerdo a lo establecido en las normas ISTA (2008). El PG se determinó como el porcentaje de plántulas normales desarrolladas con respecto al total de semillas sembradas (50).
- Longitud de coleoptilo (LC) y radícula (LR): a los 14 días se midió la LC y LR con una regla milimetrada en una muestra aleatoria de 10 plántulas. Los análisis se efectuaron con el valor promedio del grupo de 10 plántulas.
- Peso fresco (PF) y peso seco (PS) de las plántulas: las mismas 10 plántulas en las que se efectuaron las mediciones de longitud, fueron pesadas en conjunto en balanza analítica para obtener el PF. Posteriormente se colocaron en sobres de papel, se secaron en estufa a 60°C durante 48 h y se volvieron a pesar para determinar el PS.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los efectos de los factores experimentales y su posible interacción sobre las variables respuesta consideradas se analizaron mediante ANOVA. Todos los análisis se realizaron empleando el software estadístico R (R Development Core Team, 2018). Las medias se compararon con la prueba de la Mínima Diferencia Significativa (MDS); se consideró significativa toda diferencia con un nivel de significancia observado p<0.05.

RESULTADOS

Energía germinativa: No se detectó interacción entre el material de festuca alta y la condición salina (p=0,821). Solamente se registró efecto del tratamiento salino (p=0,006). En promedio, el control presentó mayor EG que la condición de salinidad intermedia (40 mM NaCl) (Figura 1). La EG observada en la condición 80 mM NaCl presentó un valor intermedio y no difirió de las otras dos condiciones.

Poder germinativo: No se halló interacción entre el material de festuca alta y la condición salina (p=0,388) pero sí efecto de los factores (condición salina p<0,001; material de festuca p=0,04). En cuanto a la condición de salinidad, el mayor promedio de PG se obtuvo en ausencia de salinidad (Figura 2) y disminuyó a medida que la salinidad aumentó. En cuanto al material, solo se registraron diferencias en las medias de

PG entre S+ y el cv. Taita (con o sin endófito seguro). Pero no se detectaron diferencias en los promedios de PG debidas a la condición de infección endofítica ni en la población naturalizada ni en el cv. Taita (Figura 3).

Longitud de coleoptilo y de radícula: No se halló interacción entre el material de festuca alta y la condición salina (p=0,787) ni efecto del material de festuca alta (p=0,886) para la LC de las plántulas, pero sí efecto de la condición salina (p<0,001). La condición 0 mM (control) presentó un promedio de LC superior al de la condición 80 mM (Figura 4). Por otro lado, no se detectó interacción entre el material de festuca alta y la condición salina (p=0,794) ni efecto de los factores (material de festuca alta p=0,065; condición salina p=0,150) sobre la LR de las plántulas. En promedio, las plántulas de festuca alta presentaron una LR de 4.46±1.47 cm.

Peso fresco y seco de las plántulas: No se detectó interacción entre el material de festuca alta y la condición salina (p=0,796) ni efecto de ninguno de los factores (material de festuca alta p=0,105; condición salina p=0,165) sobre el PF de las plántulas. En promedio, las plántulas de festuca alta presentaron 0,126±0,032 g PF/10 plántulas. Tampoco, se halló interacción entre el material de festuca alta y la condición salina (p=0,426) ni efecto de la condición salina (p=0,152) para el PS de las plántulas, pero sí efecto del material de festuca alta (p=0,009). Las plántulas de festuca alta pertenecientes a los materiales S+, S- y T-presentaron mayor PS promedio que T+ y no difirieron entre sí (Figura 5). Mientras que el PS de las plántulas de la población naturalizada no fue afectado por la presencia del endófito silvestre, la infección con endófito seguro disminuyó el PS de las plántulas del cultivar Taita.

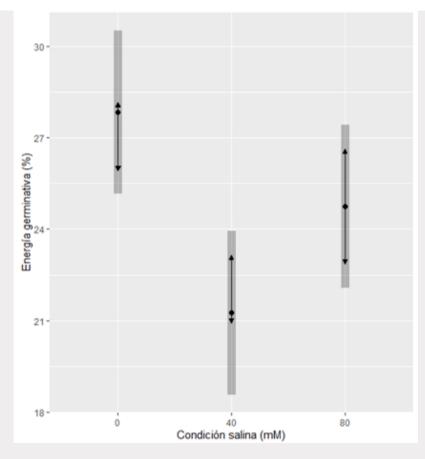
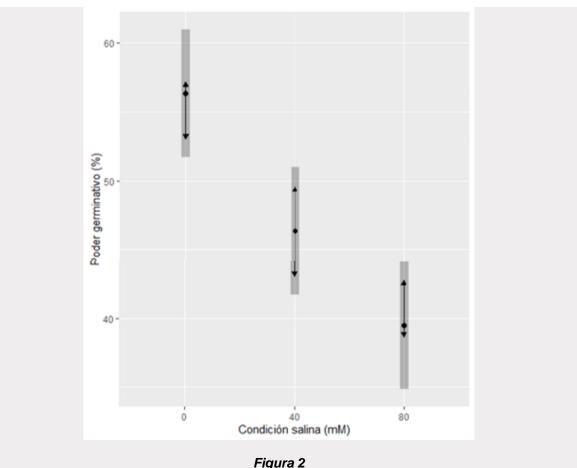


Figura 1

Energía germinativa (%) de semillas de festuca alta sometidas a distintas condiciones salinas. El punto negro representa la media estimada; la barra gris representa el intervalo del 95% de confianza para la media y las flechas negras indican la comparación de medias correspondiente. Cuando las flechas negras para dos medias se superponen, la diferencia no es significativa (prueba MDS, α=0,05).



Poder germinativo % de semillas de festuca alta sometidas a distintas condiciones salinas. El punto negro representa la media estimada; la barra gris representa el intervalo del 95% de confianza para la media y las flechas negras indican la comparación de medias correspondiente. Cuando las flechas negras para dos medias se superponen, la diferencia no es significativa (prueba MDS, α =0,05).

DISCUSIÓN

Las gramíneas perennes de uso forrajero presentan generalmente un lento crecimiento inicial y escasas reservas en la semilla, lo que determina que el establecimiento de las plántulas sea una de las etapas más críticas en la implantación del cultivo (Ungar, 1978; Ruiz & Terenti, 2012). Si a esto se le suman las condiciones adversas en el medio, como pueden ser el déficit hídrico o la presencia de sales en el perfil del suelo, el establecimiento de la pastura resulta aún más difícil (Jauregui et al., 2017).

Bajo nuestras condiciones experimentales, el PG disminuyó a medida que la salinidad aumentó respecto al control, independientemente del material de festuca alta utilizado. Según Wang et al. (2020), los efectos del hongo endófito *Epichloë bromicola* sobre la germinación de las semillas de *Hordeum brevisubulatum* (Trin.) Link en condiciones de estrés salino, estarían determinados por la concentración de NaCl. Así, cuando las semillas se expusieron a soluciones 0 y 100 mM NaCl, no se registraron efectos significativos sobre parámetros relacionados con la germinación (i.e. tasa de germinación y longitud de radícula y de coleoptilo) como resultado de la infección con endófitos, pero a concentraciones de salinidad más altas (200 y 300 mM NaCl), el endófito aumentó significativamente la tasa de germinación y la longitud de la radícula y del coleoptilo. Song et al. (2015) analizando también los efectos del endófito *E. bromicola* sobre el crecimiento y la germinación de semillas de *H. brevisubulatum* bajo estrés salino, observaron que la germinación de las semillas de plantas infectadas fue significativamente mayor que las

de plantas libres de endófito en soluciones 200 y 300 mM NaCl. Según estos autores, el endófito E. bromicola aumentó la tolerancia al estrés salino en H. brevisubulatum al aumentar la germinación de las semillas y posterior crecimiento de las plántulas. Por otro lado, Koch et al. (2017) observaron que el hongo endófito Epichloë festucae var. Iolii aumentó la tolerancia a la salinidad (15 dS m⁻¹) en cuatro clones de Lolium perenne L. Según estos autores, la respuesta de tolerancia a la salinidad dependería de la interacción entre el genotipo del hospedante y el genotipo del endófito. Además, se ha observado que la variabilidad en la respuesta a las condiciones salinas, incluso dentro de una misma especie, podría incluir componentes genéticos y ambientales, como por ejemplo, vinculadas al sitio donde fueron recolectadas las semillas (Borrajo & Alonso, 2004). Así, en varios ensayos con especies forrajeras se ha demostrado la existencia de variabilidad genética respecto a la tolerancia a la salinidad en poblaciones de sitios con condiciones contrastantes (Bazzigalupi et al., 2008). Las poblaciones provenientes de lugares salinos fueron las más tolerantes a la salinidad mientras que las poblaciones de lugares no salinos presentaron variabilidad para dicho carácter. Es posible que esta condición no se manifieste fenotípicamente en dichas poblaciones debido a una falta de selección natural que favorezca la adaptación y persistencia en condiciones de salinidad (Bazzigalupi et al., 2008). En este sentido, Zubiaur (2016) al comparar la tolerancia a la salinidad en el estado de germinación de plantas de raigrás anual infectadas con Epichloë occultans y plantas libres de tres poblaciones provenientes de ambientes de diferente calidad (según parámetros edáficos, presencia de pendiente y flora circundante), encontró una ventaja adaptativa de las plantas infectadas en ambientes de baja calidad.

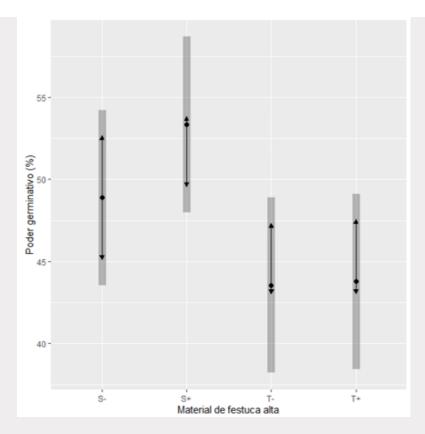


Figura 3

Poder germinativo (%) de semillas de festuca alta provenientes de cuatro materiales diferentes: población naturalizada libre (S-) e infectada (S+) con endófito silvestre; cultivar comercial Taita libre (T-) e infectado (T+) con endófito seguro.

El punto negro representa la media estimada; la barra gris representa el intervalo del 95% de confianza para la media y las flechas negras indican la comparación de medias correspondiente. Cuando las flechas negras para dos medias se superponen, la diferencia no es significativa (prueba MDS, α =0,05).

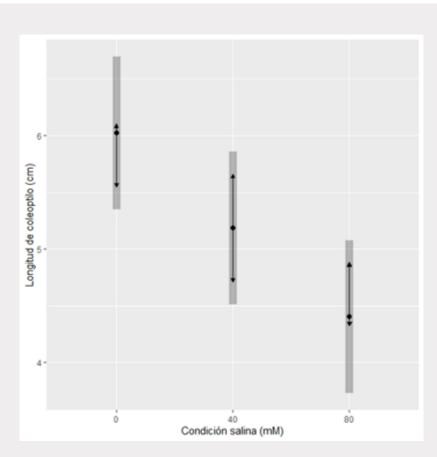


Figura 4

Longitud de coleoptilo (cm) de semillas de festuca alta sometidas a distintas condiciones salinas. El punto negro representa la media estimada; la barra gris representa el intervalo del 95% de confianza para la media y las flechas negras indican la comparación de medias correspondiente. Cuando las flechas negras para dos medias se superponen, la diferencia no es significativa (prueba MDS, α=0,05).

En el presente trabajo, los materiales de festuca S+, S- y T- tuvieron mayor promedio de PS que T+. Esto indica, por un lado, que en el caso del cv. Taita, el promedio de PS fue menor en plántulas infectadas que en aquéllas libres de endófito seguro; y por otro, que en la población naturalizada el promedio de PS no difirió entre plántulas infectadas y libres de endófito silvestre, independientemente de la condición de salinidad.

En este sentido, se ha sugerido que semillas en las que se ha eliminado el hongo endófito, podrían mantener las ventajas que les habría otorgado una asociación previa con *Epichloë* (i.e. efecto residual que persistiría luego de la pérdida de viabilidad del endófito). Además, Gundel et al. (2017) postuló la existencia de un "efecto transgeneracional" sobre plantas hospedantes con endófitos de transmisión vertical. Debido a lo anteriormente expuesto, y dado que en el presente experimento las semillas libres de endófito silvestre con las que se trabajó provienen de semillas infectadas de la misma población en las cuales se eliminó el endófito (Nosquese, 2017), a futuro debería evaluarse por cuántas generaciones podría extenderse el efecto residual del mismo.

Los resultados referentes al cv. Taita son contrarios a los hallados por Petigrosso (com. pers.) en condiciones normales de crecimiento. Según este autor, 47 días después de la siembra las plantas del cv. Taita infectadas con endófito seguro AR584 tuvieron mayores valores de biomasa seca total que las libres de endófito, debido a valores más elevados de biomasa de raíz.

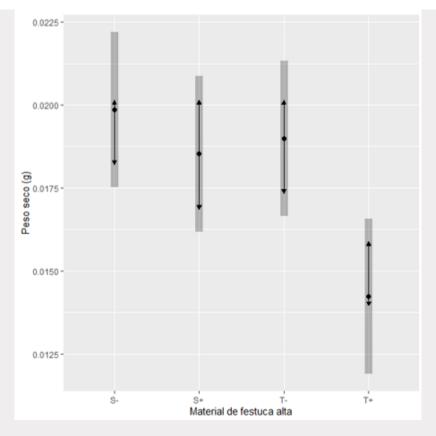


Figura 5

Peso seco (g/10 plántulas) de semillas de festuca alta provenientes de cuatro materiales genéticos: población naturalizada libre (S-) e infectada (S+) con endófito silvestre; cultivar comercial Taita libre (T-) e infectado (T+) con endófito seguro.

El punto negro representa la media estimada; la barra gris representa el intervalo del 95% de confianza para la media y las flechas negras indican la comparación de medias correspondiente. Cuando las flechas negras para dos medias se superponen, la diferencia no es significativa (prueba MDS, α=0,05).

Por otro lado, estudios realizados en *Festuca rubra* L. mostraron que el aumento de la concentración salina de los suelos provocó una disminución en parámetros de crecimiento (e.g. producción de biomasa área y subterránea), y que esa disminución fue mayor en plantas infectadas con *E. festucae* que en las libres de endófito (Vázquez de Aldana et al., 2011). En el caso de la población naturalizada, nuestros resultados coinciden con los hallados por Reza Sabzalian & Mirlohi (2010), quienes encontraron que el PS de las plantas de festuca alta infectadas con *E. coenophiala* no fue significativamente diferente al de las plantas libres de endófito bajo condiciones de salinidad. Sin embargo, bajo nuestras condiciones experimentales, los resultados obtenidos fueron independientes de la condición de salinidad.

Considerando que las predicciones de cambio climático global indican una tendencia creciente en la frecuencia de exposición de las plantas a condiciones de estrés salino (Taleinisk et al., 2007; Taleinisk, 2014) y que el medio en el que las semillas germinan puede afectar el porcentaje de germinación y la acumulación de iones (Harivandi et al., 1982; Zhang et al., 2011; Serena et al., 2012), futuros experimentos deberían evaluar concentraciones salinas más elevadas a las estudiadas en este trabajo y comparar diferentes medios de crecimiento (e.g. suelo, hidroponia). Los estudios también deberían extenderse a un mayor número de poblaciones o cultivares de festuca alta y llevarse a cabo en estados más avanzados de desarrollo de las plantas. Este último punto permitiría comprobar si el costo de mantenimiento del endófito en las plantas infectadas (ver Cheplick et al., 1989) sería compensado por un aumento del vigor y una mayor tolerancia a la salinidad en etapas posteriores de crecimiento. Además, desde una perspectiva

epidemiológica, si la simbiosis no fuera positivamente seleccionada (*i.e.* si las plantas infectadas no presentaran ventajas adaptativas sobre las libres de endófito frente a algún estrés), la incidencia del endófito en las poblaciones vegetales debería decrecer a lo largo del tiempo y esto no coincide con lo que se ha registrado en la Pampa Deprimida (Elizalde & Riffel, 2015; García et al., 2017). Por esta razón, no podrían descartarse las ventajas de la asociación endófito-gramínea por un solo aspecto donde la simbiosis resulte neutra o incluso mostrase un aparente efecto deletéreo (Stefanoni Rubio, 2019).

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales del presente trabajo, la asociación de festuca alta con el hongo endófito, tanto silvestre como seguro, no conferiría tolerancia a la salinidad a la población silvestre ni al cv. Taita, respectivamente, dado que no se registraron ventajas en ninguna de las variables relacionadas con la germinación.

Agradecimientos

El presente estudio se desarrolló en el marco del Proyecto 15/A603, AGR599/19 de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

BIBLIOGRAFÍA

- **Agnusdei, M.G. & O. Di Marco.** (2014). Más producción de carne, menos riesgo y más flexibilidad con pasturas perennes en suelos bajos. Guía práctica para su implementación. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_cartilla_ colombo_y_magliano_ult.pdf. Último acceso: febrero de 2021.
- **Bahizire**, **F.B.** (2007). Effect of salinity on germination and seedling growth of canola (*Brassica napus* L.). Thesis for the degree of Master of Agricultural Sciences at the University of Stellenbosch, Southafrica. 73 pp.
- **Batista, W.B. & R.J.C. León.** (1992). Asociación entre comunidades vegetales y algunas propiedades del suelo en el centro de la Depresión del Salado. Ecología Austral 2: 47-55.
- **Batista, W.B.; R.J.C. León & S.B. Perelman.** (1988). Las comunidades vegetales de un pastizal natural de la Región de Laprida, Prov. de Buenos Aires, Argentina. Phytocoenologia 16: 465-480.
- **Bazzigalupi, O.; S. Pistorale & A. Andrés**. (2008). Tolerancia a la salinidad durante la germinación de semillas provenientes de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*). Ciencia e Investigación Agraria 35: 277-285.
- **Belanger**, F.C. (1996). A rapid seedling screening method for determination of fungal endophyte viability. Crop Science 36: 460-462.
- **Borrajo, C.I. & S.I. Alonso.** (2004). Germinación, emergencia e implantación de variedades experimentales de agropiro alargado. Revista Argentina de Producción Animal 24 (1-2): 29-40.
- Bourguignon, M.; J.A. Nelson; E. Carlisle; H. Ji; R.D. Dinkins; T.D. Phillips & R.L. McCulley. (2015). Ecophysiological responses of tall fescue genotypes to fungal endophyte infection, elevated temperature, and precipitation. Crop Science 55: 2895-2909.
- **Bouton, J.R.; R. Gates; N. Hill & C. Hoveland**. (2002). Agronomic traits with MaxQ tall fescue. pp. 40-41. Proc. Tall Fescue Toxicosis Workshop, SERAIEG-8, Wildersville, TN.27-29 Oct. 2002. Missouri Forage and Grassland Council.
- **Burkart**, **S.B.**; **R.J.C. León & C.P. Movia.** (*ex aequo*). (1990). Inventario fitosociológico del pastizal de la Depresión del Salado (Prov. de Bs. As.) en un área representativa de sus principales ambientes. Darwiniana 30: 27-69.
- Cardamone, L.; A. Cuatrín; K. Grunberg & M.A. Tomás. (2018). Variability for salt tolerance in a collection of *Panicum coloratum* var. makarikariense during early growth stages. Tropical Grasslands 6: 134-147.
- Casas, R.R. (2013). Recuperación de suelos salino-sódicos en áreas de secano. ACAECER 38: 10-19.

- **Chaneton, E.J.** (2016). Modelos ecológicos aplicados al manejo de pastizales naturales. VII Congreso Nacional de Manejo de Pastizales Naturales, X Encuentro de Ganaderos del Pastizal del Cono Sur. pp. 23-26.
- **Cheplick, G.P.; K. Clay & S. Marks.** (1989). Interactions between infection by endophytic fungi and nutrient limitation in the grasses *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea*. New Phytologist 111: 89-97.
- Clay, K. (1987). Effects of fungal endophytes on the seed and seedling biology of *Lolium* perenne and Festuca arundinacea. Oecologia 73: 358-362.
- Clay, K. & C. Schardl. (2002). Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. American Naturalist 160: 99-127.
- **Colabelli, M.N.; L. Salomone; F. Fernández & S. San Martino.** (2006). Niveles de infección de *Neotyphodium coenophialum* en poblaciones de festuca naturalizadas en el sudeste bonaerense. Revista Argentina de Producción Animal 26 (Supl. 1): 239-240.
- **Di Bella, C.E.; G.G. Striker; J. Loreti; D.J. Cosentino & A.A. Grimoldi.** (2016). Soil water regime of grassland communities along subtle topographic gradient in the flooding pampa (Argentina). Soil and Water Reserch 11: 90-96.
- **Elizalde, J. & S. Riffel.** (2015). Alertan sobre festucosis en la Cuenca del Salado. Disponible en: http://www.valorcarne.com.ar/alertan-sobre-festucosis-en-la-cuenca-del-salado. Ultimo acceso: marzo de 2016.
- Flowers, T.J.; R. Munns & T.D. Colmer. (2015). Sodium chloride toxicity and the François, L.E. & E.V. Maas. cellular basis of salt tolerance in halophytes. Annals of Botany 115: 419-431.
- **Francois**, **L.E. & E.V. Maas.** (1993). Crops Response and management on salt affected soils. In: Plant and Crops Stress. Mohammad Pessarakli Ed. Univ. Of Arizona. Tucson, Arizona. Cap. 7. pp 149-181.
- García, J.A.; J.C. Cantón; B.L. García; J.F. Micheloud; C.M. Campero; E.J.A. Spath & E.R. Odriozola. (2017). Retrospective analysis of cattle poisoning in Argentina (2000-2013). Revista Pesquisa Veterinária Brasileira 37: 210-214.
- **Gentos.** (2019). Festuca TAITA. Disponible en: http://gentos.com.uy/wp-content/uploads/2013/12/Folleto_Gentos_TAITA.pdf. Último acceso: diciembre de 2019.
- **Gundel, P.E.; L.I. Pérez; M. Helander & K. Saikkonen.** (2013). Symbiotically modified organisms: nontoxic fungal endophytes in grasses. Trends Plant Science 18: 420-427.
- **Gundel, P.E.; J.A. Rudgers & K.D. Whitney.** (2017). Vertically transmitted symbionts as mechanisms of transgenerational effects. American Journal of Botany 104(5): 787-792.
- **Harivandi, M.A.; J.D. Butler & P.M. Soltanpour.** (1982). Salt influence on germination and seedling survival of six cool season turfgrass species. Communications in Soil Science Plant Analysis 13: 519-529.
- Hopkins, A.A.; C.A. Young; D.G. Panaccione; W.R. Simpson; S. Mittal & J.H. Bouton. (2010). Agronomic performance and lamb health among several tall fescue novel endophyte combinations in the south-central USA. Crop Science 50: 1552-1561.
- **International Seed Testing Association.** (2008). International Rules for Seed Testing. ISTA. Bassersdorf, 280 pp.
- Jauregui, C.G.; M.A. Ruiz & R.D. Ernst. (2017). Tolerancia a la salinidad en plántulas de agropiro criollo (*Elymus scabrifolius*) y agropiro alargado (*Thinopyron ponticum*). Pastos y Forrajes 40(1): 29-36.
- Johnson, L.; A. De Bonth; L. Briggs; J. Caradus; S. Finch; D. Fleetwood; L. Fletcher; D. Hume; R. Johnson; A. Popay; B. Tapper; W. Simpson; C. Voisey & S. Card. (2013). The exploitation of epichloae endophytes for agricultural benefit. Fungal Diversity 60: 171-188.
- Koch, E.D.; J. Honig; J. Vaiciunas; W.A. Meyer & S.A. Bonos. (2017). Effect of Endophyte on Salinity Tolerance in Perennial Ryegrass. International Turfgrass Society Research Journal. 13: 459-465.
- León, R.J.C.; S.E. Burkart & C.P. Movia. (1979). Relevamiento Fitosociológico del Pastizal del Norte de la Depresión del Salado: La Vegetación de la República Argentina. Serie Fitogeográfica N° 17. Buenos Aires, INTA, 90 pp.
- **Leuchtmann, A.; C.W. Bacon; C.L. Schardl; J.F. White & M. Tadych.** (2014). Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. Mycology 106: 202-215.
- **Lugtenberg, B.J.J.; J.R Caradus & L.J. Johnson**. (2016). Fungal endophytes for sustainable crop production. Microbiology Ecology 92: 1-17.

- **Lyons, P.C.**; **J.J Evans & C.W. Bacon.** (1990). Effects of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* on nitrogen accumulation and metabolism in tall fescue. Plant Physiology 92: 726-732.
- Maas, E.V. (1986). Salt tolerance of plants. International Journal of Applied Agricultural Research 1: 12-26.
- Maddaloni, J. & L. Ferrari. (2005). Festuca alta. En: Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina (Forage species and pastures of the humid temperate ecosystem of Argentina). Maddaloni, J. & L. Ferrari (eds). Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Bs. As., Argentina. pp. 165-182.
- **Maguire, J.** (1962). Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science 2: 176-177.
- **Malinowski, D. & D. Belesky**. (2000). Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. Crop Science 40: 923-940.
- **Marcum, K.B.** (2002). Growth and physiological adaptations of grasses to salinity stress. In: Handbook of Plant and Crop Physiology. M. Pessaraki (ed.). pp. 623-626.
- **McCue, K.F. & A.D. Hanson.** (1990). Drought and salt tolerance: towards understanding and application. Trends in Biotechnology 8: 358-362.
- Mazzanti, A.; J. Castaño; C. Sevilla & J. Orbea. (1992). Características agronómicas de especies y cultivares de gramíneas y leguminosas forrajeras adaptadas al sudeste de la Provincia de Buenos Aires. INTA. Centro Regional Buenos Aires Sur. EEA Balcarce. 73 pp.
- **Miaczynski, C**. (1995). Los suelos hidromórficos e hidrohalomórficos de la provincia de Buenos Aires. Revista de la Facultad de Agronomia de la UBA 15: 23-36.
- **Moscatelli, G.** (1991). Los Suelos de la Región Pampeana. En: Barsky, O. (Ed.). El desarrollo Agropecuario pampeano. Editorial Grupo Editores Latinoamericanos, INTA, ICCA, INDEC. pp. 11-75.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell & Environment 25: 239-250.
- **Munns**, R. & M. Tester. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.
- **Munns R. & M. Gilliham.** (2015). Salinity tolerance of crops what is the cost? New Phytologist 208: 668-673.
- **Nosquese, M.A.** (2017). Efectividad de diferentes métodos de remoción de hongo endófito asintomático en semillas de festuca alta. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP. Balcarce, Argentina. 51 pp.
- Omacini, M.; E. Chaneton; C. Ghersa & C. Muller. (2001). Symbiotic fungal endophytes control insect host-parasite interaction webs. Nature 409: 78-81.
- **Paruelo, J.M. & O.E. Sala.** (1990). Caracterización de las inundaciones en la Depresión del Salado (Buenos Aires, Argentina): Dinámica de la capa freática. Turrialba 40 :5-11.
- Petigrosso, L.R.; M.N. Colabelli; O.N. Fernández; V. Ispizúa & M.G. Cendoya. (2013). Incidence of the endophyte fungus *Neotyphodium coenophialum* in pastures of tall fescue differing in age and soil characteristics. African Journal of Agricultral Research 8: 2655-2662.
- Pittaro, G.; L. Cáceres; C. Bruno; A. Tomás; D. Bustos; M. Monteoliva; L. Ortega & E. Taleisnik. (2015). Salt tolerance variability among stress-selected *Panicum coloratum* cv. Klein plants. Grass and Forage Science 71: 683-698.
- **Principi, M.A.**; **R.R. Mattana**; **O.P Cardinali & J.L Colodro.** (2011). Diseño y prestaciones de un prototipo de siembra directa para intersiembra de pasturas. Revista de Investigaciones Agropecuarias 37: 54-61.
- **R Core Team.** (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en http://www.R-project.org/. Ultimo acceso: agosto de 2018.
- **Reza Sabzalian, M. & A. Mirlohi.** (2010). *Neotyphodium* endophytes trigger salt resistance in tall and meadow fescues. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 173: 952–957.
- **Rodríguez, A. & E. Jacobo.** (2012). Manejo de pastizales naturales para una ganadería sustentable en la Pampa Deprimida. Buenas prácticas para una ganadería sustentable del pastizal. Fundación Vida Silvestre Argentina, Aves Argentinas. 1ª. ed. Buenos Aires. Argentina. 104 pp.
- Roitman, G. & P. Preliasco. (2018). Guía de reconocimiento de herbáceas de la Pampa Deprimida. Buenas prácticas para una ganadería sustentable de pastizal. Características para su manejo.

- Disponible en: https://www.avesargentinas.org.ar/sites/default/files/kit_pampas__guia__de_reconocimiento_de_herbace as_de_la_pampa_deprimida_segunda_edicion.pdf. Ultimo acceso: marzo de 2021.
- **Ruiz, M. & O. Terenti**. (2012). Evaluación comparativa de cuatro especies forrajeras bajo condiciones de estrés hídrico y salino durante la germinación. Agriscientia 29: 91-97.
- Saha, C.D.; M.A. Jackson & J.M. Johnson-Cicalese. (1988). A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grass. Phytopathology 78: 237-239.
- Saikkonen, K.; P. Gundel & M. Helander. (2013). Chemical ecology mediated by fungal endophytes in grasses. Journal of Chemical Ecology 39: 962-968.
- Sandhu, D.; M.V. Cornacchione; J.F.S. Ferreira & D. L. Suarez. (2017). Variable salinity responses of 12 alfalfa genotypes and comparative expression analyses of salt response genes. Scientific Reports 7: 42958.
- **Schardl, C.L.** (2009). Fungal endophytes in *Lolium* and *Festuca* species. En: Molecular Breeding of Forage and Turf. Yamada T. and G. Spangenberg (eds). NY: Springer Science & Bussiness Media, New York. pp. 285-298.
- **Schardl, C.L. & T.D. Phillips.** (1997). Protective grass endophytes. Where are they from and where are they going? Plant Disease 81: 430-438.
- Schardl, C.L.; C.A. Young; J. Pan; S. Florea; J.E. Takach; D.G. Panaccione; M.L. Farman; J.S. Webb; J. Jaromczyk; N.D. Charlton; P. Nagabhyru; L. Chen; C. Shi & A. Leuchtmann. (2013). Currencies of mutualisms: sources of alkaloid genes in vertically transmitted *Epichloe*. Toxins 5: 1064-1088
- Serena, M.; B. Leinauer; R. Sallenave; M. Schiavon & B. Maier. (2012). Media selection and seed coating influence germination of turfgrasses under salinity. HortScience 47(1): 116-120.
- **Sfeir, A.J.** (2015). Provincia de Buenos Aires. En: Casas, R. & Albarracin, G. (eds): El deterioro del suelo y del ambiente en Argentina. Erosión y degradación de Suelos. Tomo II, Parte 7. pp. 31.
- **Shabala, S.; J. Bose & R. Hedrich**. (2014). Salt bladders: do they matter? Trends in Plant Science 19: 687-691.
- Shannon, M. C. (1997). Adaptation of plant to salinity. Advances in Agronomy 60: 75-120.
- Song, M.L.; Q. Chai; X.Z. Li; X. Yao; C.J. Li; M.J. Christensen & Z.B. Nan. (2015). An asexual *Epichloë* endophyte modifies the nutrient stoichiometry of wild barley (*Hordeum brevisubulatum*) under salt stress. Plant Soil 387: 153-165.
- **Soriano, A**. (1991). Rio de la Plata Grasslands. In: R.T. Coupland (ed.) Ecosystems of the World 8A. Natural Grasslands. Introduction and Western Hemisphere, Elsevier. pp. 367-369.
- **Stefanoni Rubio, P.J.** (2019). Efecto de *Epichloë* sobre la germinación y el rendimiento de *Bromus auleticus* bajo condiciones de estrés y en asociación a hongos solubilizadores de fósforo. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. 165 pp.
- **Tal, M.** (1985). Genetics of salt tolerance in higher plants: theoretical and practical considerations. Plant Soil 89: 199-226.
- **Taleisnik, E.** (2014). Estrés abiótico, plantas y sus patologías: un triángulo de relaciones complejas. Tercer Congreso de la Red Argentina de Salinidad. Disponible en: https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=31552&congresos=yes&detalle s=yes&congr id=2775219. Último acceso: septiembre de 2020.
- **Taleisnik, E.; K. Grunberg & G. Santa María.** (2007). La salinización de suelos en la Argentina Editorial EDUCC. Córdoba. ISBN: 978-987-626-013-8. Disponible en: https://redsalinidad.com.ar/wp-content/uploads/2018/12/la-salinizacion-de-suelos-en-la-argentina.pdf. Último acceso: octubre de 2020.
- **Turan, S.; K. Cornish & S. Kumar.** (2012). Salinity tolerance in plants: breeding and genetic engineering. Australian Journal of Crop Science 6: 1337-1348.
- Ungar, I.A. (1978). Halophyte seed germination. The Botanical Review 44(2): 233-264.
- Vázquez De Aldana, B.R.; A. Álvarez Martín; A. García Ciudad; I. Zabalgogeazcoa & B. García Criado. (2011). El hongo endofítico *Epichloë festucae* y la tolerancia al estrés salino en *Festuca rubra*. En:Pastos paisajes culturales entre tradición y nuevos paradigmas del siglo XXI. López Carrasco Fernández, C. et al. S.E.E.P: Toledo. pp. 183-188.

- Wang, Z.; C. Li & J. White. (2020). Effects of *Epichloë* endophyte infection on growth, physiological properties and seed germination of wild barley under saline conditions. Journal of Agronomy and Crop Science 206: 43-51.
- White, J.F.Jr.; G. Morgan-Jones & A.C. Morrow. (1993). Taxonomy, life cycle, reproduction and detection of *Acremonium* endophytes. Agriculture, Ecosystem & Environment 44: 13-37.
- Yokoi, S.; F.J. Quintero; B. Cubero; M.T. Ruiz; R.A. Bressa; P.M. Hasegawa & J.M. Pardo. (2002). Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na+/H+ antiporters in the salt stress response. Plant Journal 30: 529-539.
- **Zamolinski, A.** (2000). Experiencia en recuperación de suelos salinizados. Argentina: INTA EEA General Villegas. Publicación Técnica N° 31. 14 pp.
- **Zhang, Q.; S. Wang & K. Rue.** (2011). Salinity tolerance of 12 turfgrass in three germination media. HortScience 46: 651-654.
- **Zubiaur, I.M.** (2016). Efecto de la infección endofítica sobre la tolerancia a la salinidad en poblaciones de raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam.) provenientes de ambientes de diferente calidad del sudeste bonaerense. Tesis de grado. Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias. 41 pp.