



GOBIERNO DE CHILE
DINA - FOR COPRO

BOLETÍN INIA N° 100

ISSN 0717 - 4829

El gorgojo y el endófito de las ballicas en la producción bovina de leche y carne en el sur de Chile

Editores:
FRANCISCO LANUZA A.
ALFREDO TORRES B.
ERNESTO CISTERNAS A.



Ministerio de Agricultura
Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Centro Regional de Investigación INIA Remehue
Osorno, Chile, 2003

Capítulo 1

ANTECEDENTES GENERALES DEL COMPLEJO *Listronotus bonariensis* – *Acremonium lolii*, EN LA PRODUCCIÓN BOVINA

Francisco Lanuza A., Alfredo Torres B. y Ernesto Cisternas A.

En el sur de Chile el primer componente del complejo "*L. bonariensis* – *A. lolii* – Producción bovina", que motiva el interés por el tema, fue el aumento poblacional progresivo del gorgojo argentino del tallo de las ballicas y su ataque a praderas de ballicas y otros cereales. (Cisternas y Torres, 1997) Este insecto es nativo de Sudamérica y se constituye en plaga en Nueva Zelandia causando enorme daño económico al sistema agropecuario de ese país. Se estima que infecta a 7 millones de hectáreas y los daños van en un rango de US\$43 a 138 millones por año, solo por reducción de rendimiento y costo de regeneración (Prestidge *et al.*, 1991). Estos mismos autores asumen pérdidas, del 5 al 30% de rendimiento en praderas menores a 3 años y un 2% en praderas mayores, debido al gorgojo.

En Chile no hay estudios de prospección del problema y menos de estimaciones globales de pérdidas. Se han reportado resultados de ensayos puntuales a inicio de los noventa que revelaron en la Novena Región que la mayor incidencia de tallos dañados sobre ballicas ocurre entre enero y abril, indicando además que la incidencia del gorgojo es inferior a los niveles que ocurren en Nueva Zelandia (Aguilera y Marín, 1994).

Sin embargo, en evaluaciones de experimentos de campo llevadas a cabo en el Centro Regional de Investigación del INIA-Remehue, se determinó la incidencia estival de *L. bonariensis* en distintos cultivares de ballicas bianuales y perennes, como también en festuca y pasto ovillo, además del ataque del insecto en ensayos de praderas con y sin riego (Torres *et al.*, 1998 ; Cisternas y Torres, 1997). Estos mismos autores presentan los resultados de evaluaciones del daño ocasionado a una pradera mixta de ballica cv. Nui con trébol blanco de dos años, que revelan que la incidencia del daño de *L. bonariensis* es alrededor de tres veces mayor en condiciones de secano en comparación a riego (Cuadro 1.1)

Cuadro 1.1 Porcentaje de ataque y parámetros de densidad de *L. bonariensis* sobre una pradera de ballica Nui-trébol blanco, bajo riego y secano.

Condición	% ejes atacados	Nº huevos/100 ejes	Nº larvas/100 ejes
Riego	17,3	14,7	9,3
Secano	54,7	48,0	24,7

En praderas de ballicas de rotación, Cisternas *et al.*, (1997) determinaron pérdidas del 44,7% por el gorgojo en un lapso de 200 días entre enero y agosto.

Cisternas y Torres, (1997) realizaron un estudio en el cual listan una serie de ataques registrados en distintas siembras comerciales de praderas en la X Región mostrando un incremento de la incidencia en el tiempo de esta plaga. Esto está generando pérdidas económicas importantes por reducción de la población de plantas, de la calidad de la pradera y de su vida útil, obligando a resembrar con el consiguiente mayor costo.

Frente al problema de la plaga, en Nueva Zelandia, se intensificaron los estudios para su control llegando a establecer el uso de cultivares de ballicas infectadas con hongo endófito del género *Acremonium*, nueva denominación *Neotyphodium sp lolii*. (*N.lolii*)

La relación simbiótica es de tipo mutualista y se tienen ventajas para el hongo que recibe protección y se nutre de la planta propagándose mediante sus hifas dentro de ella, y a través de las semillas a nuevas plantas. A su vez, el hongo protege a la planta del ataque del gorgojo y de animales herbívoros. Esto ocurre porque el hongo produce varias toxinas del tipo alcaloides que actúan, alguna de ellas, como repelentes del insecto, y otras que afectan la salud y producción de varias especies animales como ovinos, bovinos, ciervos y equinos. (Familton *et al.*, 1995).

Información de Prestidge y Fletcher (1993) generada en Nueva Zelandia, permite observar claramente como el nivel alto de infestación de endófito en las semillas permite un mayor rendimiento de forraje asociado a una menor densidad de gorgojo (Cuadro 1.2)

Cuadro 1.2 Nivel de infestación con endófitos en semillas, población de gorgojos y rendimientos de materia seca en marzo, 10 semanas después de un pastoreo.

Semilla	Endófito en semilla (%)	Población (gorgojos/m ²)	Rendimiento kg MS/ha
Mayor de 2 años	3	206	849
Menor de 2 años	90	38	2.525

Adaptado de Prestidge y Fletcher (1993)

A nivel nacional, evaluaciones de la incidencia de la plaga en ballicas bianuales INIA-Remehue, permiten observar un mayor porcentaje de ataque de la plaga sobre los macollos de cultivares sin hongo endófito Tetrone y Abercomo. Esto fue mas notorio en el primer año, pero al final el rendimiento medido por la población de macollos/m², se afectó en alrededor de un 80%.

Para la ballica perenne, es natural y normal estar infectada con el hongo endófito. En Europa, Norte de África y Asia Occidental, de donde son originarias las ballicas, es posible encontrar endófitos en variedades naturales (Easton, 1999). En Nueva Zelanda y Australia, la incidencia de la infección de las plantas, tanto de ballica como festuca, va en aumento, no por neo-infección de plantas, sino que por la menor sobrevivencia de plantas sin el endófito, que son atacadas por *L.bonariensis*.

La presencia del hongo en las ballicas debería estar generando una gran ventaja para la productividad de las praderas (Latch, 1994). Cifras recientes de Nueva Zelanda, señalan que *N.lolii*, está ampliamente distribuido, encontrándose en un 70% de las ballicas en las tierras del sur y a un 99% de las ballicas en la parte superior de la isla norte (Colín, 1999). Esto explica que las semillas provenientes de ese país contienen un alto nivel de infestación con el endófito *N.lolii*. En Europa, la situación es diferente, ya que estudios realizados en praderas antiguas en países de ese continente señalan que sobre el 80% contienen *N.lolii*, no así los cultivares comerciales donde solo 4 de los 16 evaluados fueron positivos al hongo y éstos no superaron el 20% de infestación (Galdames, 1995).

En Chile, los niveles de hongo endófito en ballica perenne, tanto en cultivares comerciales como en algunos experimentales, varían desde libre del hongo a porcentajes entre 15 y 85%; incluso cultivares antiguos como Nui y Santa Elvira, presentan endófito, siendo, mucho menor a las que traen las semillas de cultivares procedentes de Nueva Zelanda.

En la relación simbiótica *N.lolii*-ballica perenne se generan una serie de alcaloides, siendo los de mayor importancia el lolitrem B, la ergovalina y la peramina, que afectan a los herbívoros vertebrados e invertebrados.

Sin embargo, para que ello ocurra debe conjugarse una matriz compleja de interrelaciones de factores ambientales como temperatura, humedad, radiación, de líneas de endófitos, de cultivares de ballicas, de estados fenológicos y presencia de alcaloides que provocan la repelencia hacia el insecto y/o trastornos en los animales que consumen praderas con estas ballicas. Por ello no siempre es fácil asociar el efecto en el animal con las toxinas del endófito (Familton *et al.*, 1995). A lo anterior se agrega que los niveles de acumulación y tipos de alcaloides en las plantas pueden variar notablemente debido a efectos ambientales y a las interacciones entre los genotipos de la planta y del hongo (Scott *et al.*, 1999).

Los niveles de toxinas presentan un patrón estacional siendo el período de verano-otoño el de mayor concentración en las plantas, lo que se manifiesta en una mayor incidencia de problemas de salud en los bovinos. Easton (1999), señala que las toxinas también tienden a incrementarse bajo condiciones de sequía y altas concentraciones de nitrógeno en el suelo.

El consumo de estas ballicas con endófito puede afectar la salud y producción de los animales, siendo el cuadro clínico “temblor de las ballicas” o “Ryegrass-staggers”,

característico de la intoxicación por el alcaloide lolitrem B. Los signos clínicos se manifiestan cuando los animales que se encuentran consumiendo praderas de ballicas infectadas con altos niveles de endófito y son sometidos a movimientos y/o a estrés. La severidad del cuadro depende de la cantidad de tóxico ingerido y de la intensidad del estrés, pudiendo variar los signos desde un leve temblor de la cabeza y el cuello que se incrementa al elevar la cabeza, hasta la caída de la cabeza y presentación de movimientos espasmódicos que interfieren en los reflejos posturales. Esto puede llevar a caídas en “decúbito lateral o esternal” con las patas traseras estiradas detrás del animal. Los signos pueden cesar después de dejar tranquilos a los animales por varios minutos y su recuperación completa se logra a las 2 a 3 semanas de retirarlos de las praderas con endófito (Blood *et al.*, 1992, Familton *et al.*, 1995).

El efecto del consumo de ballicas con altos niveles de endófito sobre el peso vivo en ovinos se asocia al menor consumo de praderas de los animales afectados por el cuadro que les imposibilita el pastoreo. Se ha descrito una correlación significativa entre la disminución de la ganancia de peso y los niveles de alcaloide del endófito, lo que sugiere la existencia de una intoxicación sub-clínica provocada por el endófito en los casos que no se presente el temblor de las ballicas (Fletcher y Sutherland, 1993, citado por Fletcher, 1993). En el ganado bovino el efecto del endófito sobre la ganancia de peso ha sido más leve y está influenciado por la época del año (Cosgrove *et al.*, 1996).

En Chile Lanuza *et al.*, (1998), evaluaron el efecto del consumo de praderas mixtas sobre la ganancia de peso de terneras, sin encontrar un efecto del endófito. Además se comprobó que la pradera de ballicas con endófito soportó una mayor carga animal y productividad por superficie, en comparación a la praderas sin endófito. Eso si que para mantener la carga en los dos últimos pastoreos hubo que suplementar con ensilaje de pradera sin endófito.

También la ergovalina es uno de las toxinas que está presente en las ballicas infectadas con el endófito, generándose el cuadro clínico denominado “stress calórico” o “heat stress”, descrito en Nueva Zelandia principalmente en ovinos. Los signos clínicos son temperatura corporal elevada, aumento de la frecuencia respiratoria, jadeo, salivación excesiva y letargia; en el bovino se ha podido observar también una disminución súbita de la producción de leche (Easton, 1999) Este mismo autor sugiere que es esperable que el endófito afecte adversamente el rendimiento lácteo de las vacas que consumen praderas de ballicas infectadas.

En Australia, utilizando praderas puras de ballicas durante 21 días en dos temporadas (noviembre y marzo), Valentine *et al.*, (1993) detectaron una disminución significativa ($P < 0,05$) de entre 4 a 14%, según época, en la producción de leche de vacas Holstein que pastoreaban ballicas con alto endófito (88%), en comparación de aquellas que dispusieron de ballicas sin endófito.

Ensayos anteriores de Holmes (1989) citado por Thom *et al.*, (1994) en Nueva Zelandia revelan que los resultados tenían diferencias no muy consistentes en la producción de sólidos de vacas que pastorean ballicas con y sin endófito, presentando solo una leve disminución de la producción de grasa en aquellas con endófito.

En Chile Butendieck *et al.*, (1994) realizaron un ensayo sobre consumo exclusivo de forrajes, suministrando a vacas en pastoreo y estabulados, cultivares de ballica perenne, entre las cuales estaba el cultivar Embassy con alto porcentaje de hongo endófito. Los resultados indicaron una reducción manifiesta del consumo de un 41% en las vacas con soiling, siendo ésta menor bajo condiciones de pastoreo.

Lo anterior condujo a una reducción en la producción promedio de leche del orden de 34% en vacas estabuladas y de un 15% en vacas a pastoreo, comparándose con el promedio de la producción de 6 días anteriores a la aparición del cuadro clínico del “temblor de las ballicas”, en las mismas vacas.

En Nueva Zelandia Mc Callum y Thomson, (1994), no observaron diferencias en la producción de sólidos en vacas que pastorearon diferentes ballicas asociadas con distintos niveles de lolitrem-B y ergovalina. Por otra parte Thom *et al.*, (1997), reportan que el endófito de las ballicas tuvo un pequeño efecto sobre la producción de leche en vacas que pastoreaban praderas de ballicas con y sin trébol blanco. En este caso el efecto se vió sólo en 2 de 9 períodos en los 3 años del estudio. Los mismos autores también concluyen que la influencia del endófito es pequeña e inconsistente bajo sus condiciones experimentales y no estuvo fuertemente relacionada con la aparición de los signos del temblor de las ballicas o con las altas concentraciones de lolitrem-B en las plantas. El trébol blanco en las praderas parece haber contribuido a la dilución del efecto del endófito sobre la producción de leche en verano y otoño.

Lanuzza *et al.*, (1999), al comparar la producción de leche de vacas que pastoreaban praderas de Ballica Yatsyn 1 con y sin endófito asociado a trébol blanco, observaron una mayor producción de un 7,5% en las vacas que consumieron ballicas sin el hongo endófito. Según los mismos autores las praderas de ballicas con endófito soportaron una mayor carga animal y con ello la productividad por superficie fue similar. Sin embargo, en una segunda temporada, no encontraron diferencias en la producción de leche utilizando las mismas praderas con vacas lecheras de parto de primavera del año 2000. Esta respuesta se explica en parte debido a que una sequía en la segunda mitad del ensayo, obligó a bajar la carga animal y a realizar una suplementación con ensilaje, y además, debido a un mayor porcentaje de trébol blanco en la mezcla forrajera, lo que produjo el llamado efecto de dilución de las toxinas.

En este sentido algunos autores han reportado el efecto de dilución de las toxinas, ya sea con trébol blanco o con suplementación con ensilaje, en vacas lecheras con menores niveles productivos (Thom *et al.*, 1997; Clark *et al.*, 1996)

A nivel nacional se hace necesario y es fundamental tener mayor conocimiento de este complejo “*L.bonariensis-N.lolii*-Producción bovina” y de sus componentes en particular. El reconocimiento y distribución de la plaga, los enemigos naturales que la puedan controlar, así como la detección de daño en las plantas y técnicas de control en las siembras de praderas, son esenciales para establecer acciones preventivas.

Así también el uso de la tecnología de las ballicas con el endófito *N.lolii*, debe respaldarse en reconocer su mayor rendimiento, por la tolerancia al ataque de *L. bonariensis*, diferenciar los distintos cultivares comerciales ofrecidos a los agricultores en términos productivos y de concentración de toxinas en las épocas de pastoreo y de conservación de forrajes.

Además es necesario establecer normas de manejo de pastoreo para las diferentes categorías de animales para disminuir el riesgo de la presentación del cuadro “temblor de las ballicas” ; y así evaluar el efecto sobre la producción de carne y de leche de los animales que consumen praderas cuyo componente principal son las ballicas utilizadas en pastoreo y también de esas mismas praderas conservadas como ensilaje. Sobre esto último, hasta el inicio de este proyecto no había información nacional del uso de ballicas con endófito como ensilaje, ni tampoco en el país se tenían las técnicas de laboratorio montadas para determinar los alcaloides ergovalina, lolitrem B y peramina.

Literatura citada

- AGUILERA, A.; G. MARIN. 1994. El gorgojo o taladro del tallo de las ballicas en la IX Región de la Araucanía. IPA Carillanca 13 (2) : 19-22
- BLOOD, D.C. ; RADOSTITS, O.M.; ARUNDEL, J.H.; GAY, C.C. 1992. Medicina Veterinaria: Libro de texto de las enfermedades del ganado vacuno, ovino, porcino, caprino y equino. 7º ed. Interamericana Mc Graw-Hill, México. V.Z. p. 1430-1431.
- BUTENDIECK, N.; O. ROMERO; S. HAZARD ;P. MARDONES ; R. GALDAMES. 1994. Caída del consumo de producción de leche en vacas alimentadas con *Lolium perenne* con *Acremonium lolii*. Agricultura Técnica (Chile) 54 (1) :1-6.
- CISTERNAS, E.; TORRES, A. 1997. Gorgojo Argentino de las ballicas: Antecedentes biológicos daños e incidencias en praderas. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. INIA-Remehue, (Boletín Técnico 242)
- CISTERNAS, E.; TORRES, A. ; ANGULO, L. 1997. Efecto de *Listronotus bonariensis* (Kuschel) (Coleoptera:Curculionidae) sobre la producción de ballica bianual en Osorno, Chile. En Resúmenes XIX Congreso Nacional de Entomología. La Serena.107 p.
- CLARK, D. ; E. THOM ; C. WAUGH. 1996. Milk production from pastures and pasture silage with different levels of endophyte infection. Proceeding New Zealand Soc. Anim. Prod. 56:292-296.
- COLIN, B. 1999. Consolidated summary of key points from the Ryegrass Endophyte Symposium : a farm consultant's perspective. Ryegrass endophyte : an esencial New Zealand simbiosis. Grassland Research and Practice Series Nº7:157-158.
- COSGROVE, G. ; C. ANDERSON ; T. BERQUIST. 1996. Fungal endophyte effects on intake, health and live weight gain of grazind cattle. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 57-43-48.
- EASTON, H. 1999. A background to endophytes. Dairy Farming Annual. Ed. Massey University, N. Z. Pp. 17-28.
- FAMILTON, A. ; L. FLETCHER ; D. POWNALL. 1995. Endophytic fungi in grasses and their effect on livestock. Proceedings 25th sheep and beef cattle seminar Massey University, New Zealand, pp. 160-173.
- FLETCHER, L. 1993. Grazing ryegrass/endophyte associations and their effect on animal health and performance. Proceedings of the second international symposium on Acremonium/grass interactions. Ed. Hume, Letch & Easton. Palmerston North, N.Z. pp.115-120.
- GALDAMES, R. 1995. El hongo endófito de la festuca, *Acremonium coenophialum* Morgan-Jones & Gams, y su incidencia en el sur de Chile. Agri. Téc., Chile55 (1):67-70.
- LANUZA, F. ; A. TORRES ; E. CISTERNAS ; C. URIBE ; L. ANGULO ; M. VILLAGRA. 1998. Efecto del consumo de praderas permanentes con ballica Yatsyn 1 con y sin endófito *A.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de terneras en crecimiento a pastoreo. Resumen XXIII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán-Chile, INIA-Quilamapu. pp 11-13.

- LANUZA, F. ; A. TORRES ; E. CISTERNAS ; C. URIBE ; M. VILLAGRA. 1999. Efecto del consumo de praderas permanentes compuestas por ballicas Yatsyn 1 con y sin endófito y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de vacas lecheras a pastoreo. Primera temporada. Resumen XXIV Reunión Anual SOCHIPA A.G., Temuco-Chile, Universidad Católica de Temuco, pp.13-14.
- LATCH, G.C.M. 1994. Influence of *Acremonium* endophytes on perennial grass improvement. *New Zealand J. of Agr. Research* 37 : 311-318.
- Mc CALLUM D.A.; THOMSON N.A. 1994. The effect of different perennial ryegrass cultivars on dairy animal performance. *Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production* 54:87-90.
- PRESTIDGE, A. ; BARKER, M. ; POTTINGER, P. 1991. The economic cost of argentine stem weevil in pastures in New Zealand. *Proc. 44th N.Z. Weed and Pest Control Conf.* 165-170.
- PRESTIDGE, A. ; FLETCHER, R. 1993. Seed Technology : The importance of endophyte (*Acremonium lolii*) En: *Pasture Renovation Manual*. Ag. Research N. Z. Pastoral Agr. Research Institute Ltd. 38-43
- SCOTT, B. D. ; YOUNG, C. ; Mc MILLAN, L. 1999. Molecular biology of *Epichloe* endophyte toxin biosíntesis. *Ryegrass endophyte : an esencial New Zealand. Symbiosis. Grassland Research and Practice Series N°7* : 77-83.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; PRESTIDGE, A. ; CLARSKSON, H. and WAUGH D. 1994. Ryegrass endophyte cow health and milk solids production for the 1993/94 season *Proc of the N.Z. Grassldn. Ass* 56:259-264.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; WAUGH, D. ; MC CABE J. ; VAN VUGHT T. and KOCH L. 1997. Effects of ryegrass endophyte and different white clover levels in pasture on milk production from dairy cows *Proc. Of 3rd. International Symposium on Neotyphodium/grass Interaction Eds. Bacon and Hill* 443-445.
- TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; ANGULO, L. 1998. El rol del endófito (*A.lolii*) en la tolerancia a la plaga *Listronotus bonariensis* de la ballica perenne (*Lolium perenne*). *Resumen XIII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán 21-23 Octubre 1998* : 103-104.
- VALENTINE, C. ; BARSTH, D. and CARROL, D. 1993. Production and composition of milk by dairy cattle grazing high and low endophyte cultivar of perennial ryegrass *Proc. of the 2th International Symposium of Acremonium/Grass Interactions* : 138-141.

Capítulo 2

GORGOJO ARGENTINO DE LAS BALLICAS *Listronotus bonariensis* (Kuschel) EN LA X REGIÓN

Ernesto Cisternas A. y Marcelo Villagra B.

2.1 Introducción

El gorgojo argentino de las ballicas *Listronotus bonariensis* (Kuschel), es un insecto nativo de Sudamérica. Este insecto accidentalmente introducido a Nueva Zelandia detectado en 1927, no fue plaga sino hasta fines de 1950 (May, 1961). En Chile los primeros registros de ataque fueron entregados por Norambuena y Gerding, (1985) sobre trigo y cebada y posteriormente sobre ballicas, festuca y maíz por Aguilera y Marín (1994) y Cisternas y Torres (1997). En la década de los 90 se registraron ataques intensos del insecto principalmente en la X Región y en menor medida en la VIII y IX Regiones.

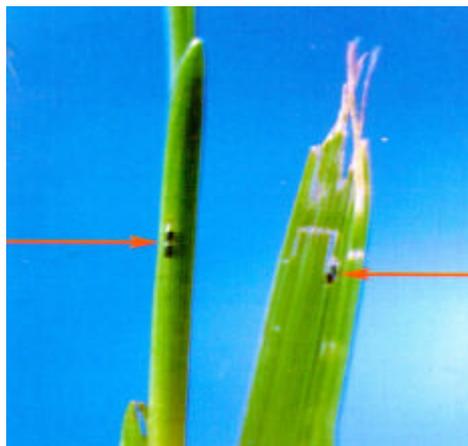
En praderas naturalizadas polifíticas los primeros daños de este insecto de hábito alimenticio nocturno y de características crípticas durante el día, se caracteriza por atacar las especies gramíneas, fundamentalmente ballicas (*Lolium spp.*) y con especial preferencia a ballicas de rotación corta (*L. multiflorum* y *L. hybridum*), especies de gran importancia e introducidas masivamente en muchos sistemas ganaderos del Sur de Chile. Este insecto en Chile se distribuye desde la IV Región de Coquimbo a la XII Región de Magallanes y en el ámbito mundial está registrado en Argentina, Uruguay, Bolivia, Brasil, Nueva Zelandia y Australia (Artigas, 1994; Aguilera *et al*, 1996). Williams *et al*, (1994), determinaron que la procedencia de las poblaciones de Nueva Zelandia y Australia tienen su origen en las poblaciones de la costa este de Sudamérica.

2.2 Reconocimiento del insecto.

El insecto presenta cuatro formas distintas en su metamorfosis. Como adulto (Fotografía 2.1), es un gorgojo de 2,5 a 4,0 mm. de largo, de color café, cubierto de escamas grises y rostro prolongado característico. Durante el día se localiza entre la hojarasca sobre o levemente bajo el suelo y de noche sobre las plantas alimentándose del follaje. El huevo es pequeño, 0,50 a 0,75 mm de largo, (Fotografía 2.2), negro, ovipuesto en grupos o individualmente dentro del tejido de la vaina del macollo. La larva varía según su desarrollo entre 0,6 a 8,0 mm de largo (Fotografía 2.3), es blanca, sin patas y cabeza amarillo-cafesosa, se localiza dentro de las vainas de los macollos de la planta y al final de su desarrollo se desplaza al suelo a 1 o 2 cm. de profundidad donde se forma la pupa (Fotografía 2.4). La pupa mide entre 2,5 y 3,5 mm de largo, de color blanca o blanco-amarillento.



Fotografía 2.1 Gorgojo en estado adulto.



Fotografía 2.2 Huevo de *L.bonariensis*.



Fotografía 2.3 Larva de *L.bonariensis*.



Fotografía 2.4 Pupa de *L.bonariensis*.

En la X Región el insecto tiene dos generaciones al año (bivoltino) pudiendo tal vez en zonas particulares y dependiendo de las condiciones climáticas del año, presentar desde una a tres generaciones. Aguilera y Marín (1994), indican que en la IX Región el insecto presenta dos generaciones.

La primera generación se desarrolla en la primavera, iniciándose la oviposición desde fines de agosto, (esto en los años de invierno más benigno o temperado), hasta mediados de noviembre – diciembre; cuando se inicia la emergencia de los adultos (diciembre – enero). La segunda generación se desarrolla en el verano

determinándose oviposiciones hasta mediados de marzo y la emergencia de adultos hasta mayo. Los adultos de esta segunda generación son los que transcurren parte del otoño e invierno en estado de diapausa invernal. (Figura 2.1).

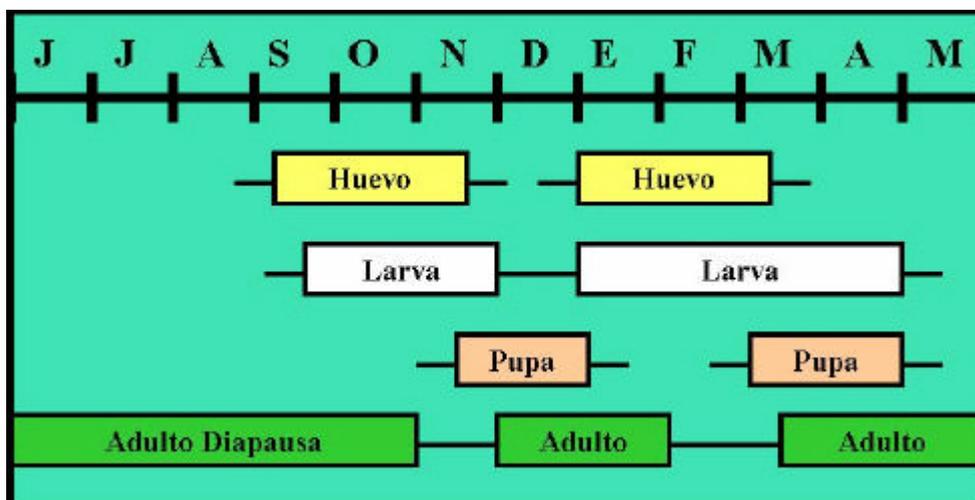


Figura 2.1 Ciclo estacional de *L. bonariensis* en la X Región .

2.3 Curva de vuelo estacional

La curva de vuelo estacional de *L. bonariensis* se estableció en el predio Remehue, comuna de Osorno, a través de capturas en trampas pegajosas (Fotografía 2.5). El inicio de las capturas en ambas temporadas ocurrió la semana 43, es decir a fines de octubre, cuando la temperatura media ambiente supera los 10°C. En evaluaciones de temporadas anteriores el inicio de las capturas fue la semana 39 y en esta última temporada primavera del 2002, la primera captura se colectó la semana 46. De una u otra forma esto refleja una dependencia de las condiciones climáticas para que ello ocurra. Según Pottinger, (1966) citado por Barker *et al*, (1989) el vuelo necesita una temperatura mínima y la alta humedad la inhibe. Un mayor número de vuelos fue observado en Nueva Zelanda cuando la temperatura fue mayor a 15°C y la humedad relativa menor al 40%.



Fotografía 2.5 Trampa pegajosa para la captura de adultos de *L. bonariensis* en vuelo.

Las condiciones climáticas del año, la condición fisiológica del insecto y la disponibilidad de alimento, son factores que incidirán en el comportamiento de vuelo; por lo tanto, ello hará que la dispersión a través del vuelo sea un importante elemento en la dinámica de población del insecto, particularmente donde las condiciones de clima favorezcan la actividad de vuelo del insecto (Barker *et al*, 1989).

El vuelo de los adultos se inició con distintas sumas térmicas siendo en la temporada 2000 – 2001 (42 a 59 GD base 10°C) y en la temporada 2001 – 2002 (85 a 109 GD base 10°C). Esta diferencia en GD entre temporadas indicaría que otros factores climáticos como la humedad relativa sería importante en la actividad de vuelo.

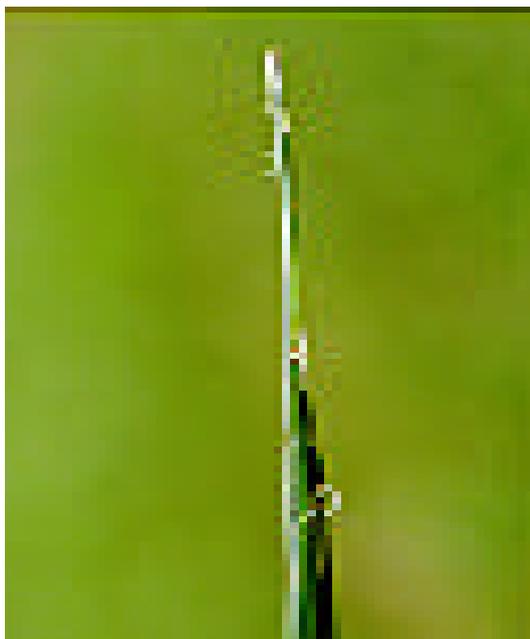
Queda claro que *L. bonariensis*, no vuela desde abril a fines de septiembre, alimentándose sobre la pradera sólo cuando la temperatura lo permite a fines de otoño y fines de invierno.

2.4 Caracterización de los daños en gramíneas pratenses.

Los daños sobre las plantas causados por *L. bonariensis* variarán influenciados por varios factores: el clima, especies de gramíneas pratenses, niveles de endófitos en las ballicas, depredación y parasitismo, así como epizootias causadas por agentes entomopatógenos.

El daño de los adultos se localiza en el follaje, principalmente en los ápices de las hojas. Característica es entonces la proliferación de ventanas rectangulares con nervaduras enrolladas, lo cual es evidente a contra luz. Este tipo de daño no es de importancia cuando las plantas son maduras; pero adquiere importancia en plantas pequeñas estresadas y/o plántulas (Fotografía 2.6).

El daño de las larvas, causa la muerte de los macollos, yemas y corte de primordios de hojas, lo cual se evidencia en la base del macollo (Fotografía 2.7), donde es posible ver perforaciones circulares, fecas tipo aserrín y muerte de macollos. El daño se magnifica principalmente en períodos secos, incrementándose las áreas de suelo desnudo y disminuyendo la tasa de macollamiento (Fotografía 2.8).



Fotografía 2.6 Daño en hoja causado por el gorgojo adulto.



Fotografía 2.7 Daño en macollo nuevo causado por el gorgojo larva.



Fotografía 2.8 Daño en pradera causado por el gorgojo de las ballicas.

2.4.1 Evaluación de los daños del estado adulto

La evaluación de la acción del insecto adulto se centró en los daños que éstos pueden causar a las plántulas al establecimiento de las gramíneas pratenses. Para determinar esto, se diseñó un experimento bajo condiciones controladas, donde se introdujo densidades conocidas del adulto del insecto en macetas. Se determinó, el efecto de las distintas densidades de población sobre la sobrevivencia de plantas, porcentaje de hojas dañadas y rendimiento de materia verde.

Bajo estas condiciones se determinó que densidades mayores o iguales a 125 adultos /m², son críticas para el establecimiento de praderas. Siendo mayor el efecto sobre las ballicas de rotación (Sabalan y Barspectra) y en menor medida las ballicas perennes. La ballica perenne evaluada con endófito Yatsyn, mostró un mayor índice de sobrevivencia, menor daño foliar y mayor rendimiento de follaje, incluso toleró poblaciones mayores a 125 adultos/m² Figura 2.2.

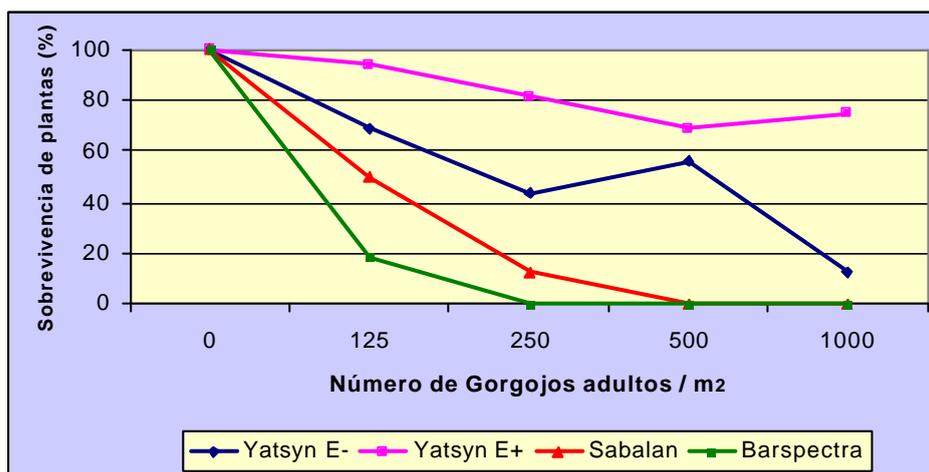


Figura 2.2 Efecto de las densidades de gorgojo sobre la sobrevivencia de plantas en distintos cultivares.

Bajo condiciones de campo se correlacionó densidad de población de adultos y daño de macollos, quedando claro que a mayor densidad de adultos, mayor número de macollos dañados. El valor de los parámetros fue $R = 0,835$ y el $R^2 = 0,697$.

2.4.2 Daños del estado larval

La larva puede causar daños, a la siembra, cuando se encuentra en el suelo luego de haber abandonado su planta hospedera atacando las plántulas bajo el suelo a la altura del cuello. El otro momento de ataque ocurre cuando el adulto ha puesto sus huevos sobre el hospedero y emergen las larvas, que penetran el macollo de la planta regularmente sobre el suelo.

Los daños larvarios son regularmente severos e irreversibles, teniendo los macollos una muy baja tasa de recuperación. Los niveles de ataque larval serán altos en los cultivares de rotación y en menor magnitud en los cultivares perennes sin endófitos. La menor incidencia de daño larval se presenta en los cultivares perennes con endófito.

En la Figura 2.3 se presenta el grado de ataque promedio de cultivares perennes con bajo o sin de endófito versus cultivares con altos niveles de endófito. En las dos temporadas de evaluación se aprecia diferencias importantes en el grado de ataque.

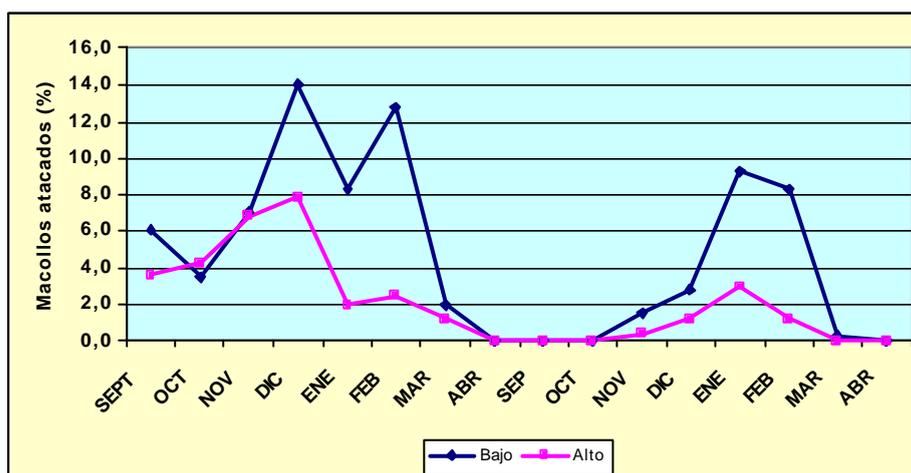


Figura 2.3 Porcentaje de ataque de macollos de ballicas perennes con niveles bajos y altos de endófito.

2.4.3 Estimación de daños y pérdidas

L. bonariensis puede producir daño y causar pérdida en praderas al establecimiento, donde el estado adulto y las larvas residentes en el suelo se alimentan de las plántulas. Estos daños pueden ser atribuidos a otros factores como una baja germinación de la semilla o un efecto de estrés hídrico. Las larvas pueden matar plantas nuevas y reducir el número de macollos vivos y en consecuencia afectar la producción de la pradera, como así mismo la estacionalidad y composición botánica. En Osorno se determinaron pérdidas de un 44,4 % en

producción de materia seca en la ballica bianual Montblanc, en cinco cortes (enero – agosto) (Cisternas, 2001).

En Nueva Zelandia Prestidge *et al*, (1991) asumen entre un 5 a 30% de pérdidas de rendimiento en praderas de *L. perenne* menores de 3 años y un 2% en praderas mayores de 3 años debido a *L. bonariensis*. Golson y Trought (1980) determinaron en el mismo país una pérdida del 69,6% en 12 semanas en ballica Manawa.

Existen además daños indirectos sobre los animales, como el efecto de la intoxicación por hongos endófitos presentes en las ballicas y el meteorismo que se produce por una mayor proporción de leguminosas en praderas atacadas.

Entre los años 2000 – 2002 se evaluó en Remehue –Osorno el efecto natural de *L. bonariensis* sobre al grado de ataque de macollos y la producción de materia seca, así como la evolución de la infestación natural de la plaga sobre cuatro cultivares de ballicas con y sin protección permanente de insecticida.

En la Figura 2.4 se observa la evolución natural de la población de la plaga. La evaluación inicial de población indicó la ausencia de la plaga a la siembra en otoño del 2000. En los tratamientos sin protección química se observa un incremento sustantivo de la densidad de la plaga, en comparación a la presencia en niveles mínimos del insecto en los tratamientos con protección química permanente.

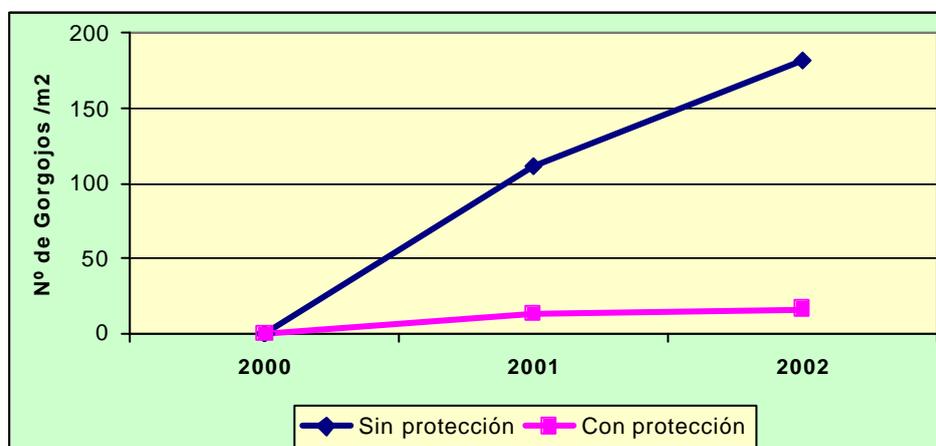


Figura 2.4 Dinámica de la población de *L. bonariensis* en los tratamientos con y sin protección química permanente.

En la Figura 2.5 se presentan los rendimientos obtenidos en los tratamientos con y sin protección en la temporada I (2000/2001) y II (2001/2002). En la temporada I los cultivares Tama, Montblanc y Napoleón con protección química se determinaron diferencias de producción, situación que no se presentó en el cultivar Maverick. En la temporada II no se detectaron diferencias en los cultivares Maverick y Napoleón con

y sin protección química. Se mantuvo la diferencia detectada en la temporada I en el cultivar Montblanc. El cultivar Tama sembrado en primavera en la segunda temporada sufrió un fuerte efecto de la plaga al establecimiento.

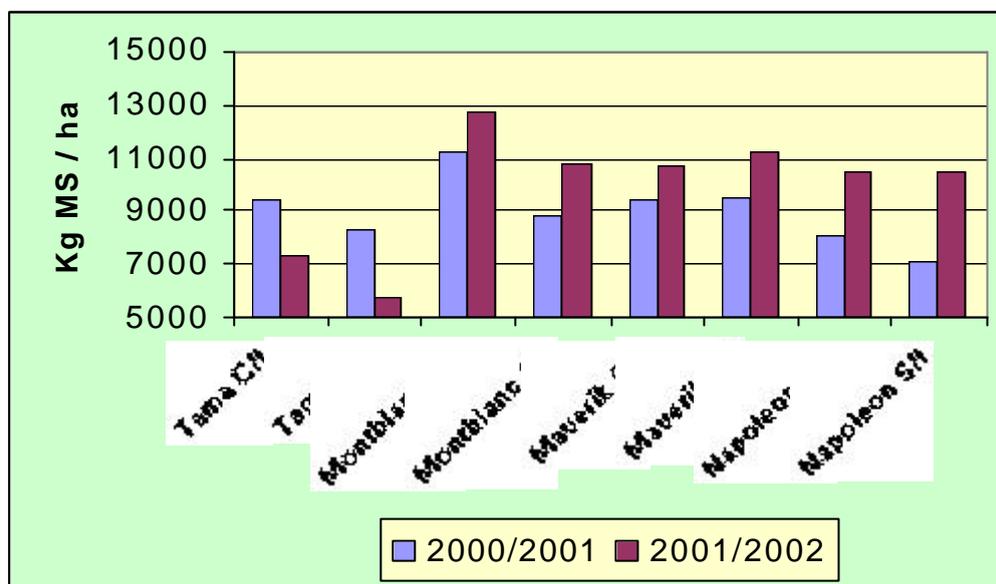


Figura 2.5 Producción de forraje de los distintos cultivares según tratamiento (C) Con Insecticida y (SI) Sin Insecticida. Temporadas 2000 - 2002.

En las Figuras 2.6 y 2.7 se presentan las dinámicas de ataque de la plaga en los diferentes cultivares con y sin control químico permanente. Los cultivares Napoleón y Maverick, ambos cultivares perennes con bajos niveles de endófitos 6 y 4% respectivamente, presentaron niveles bajos de ataque en comparación a los cultivares de rotación Tama (anual) y Montblanc (bianual).

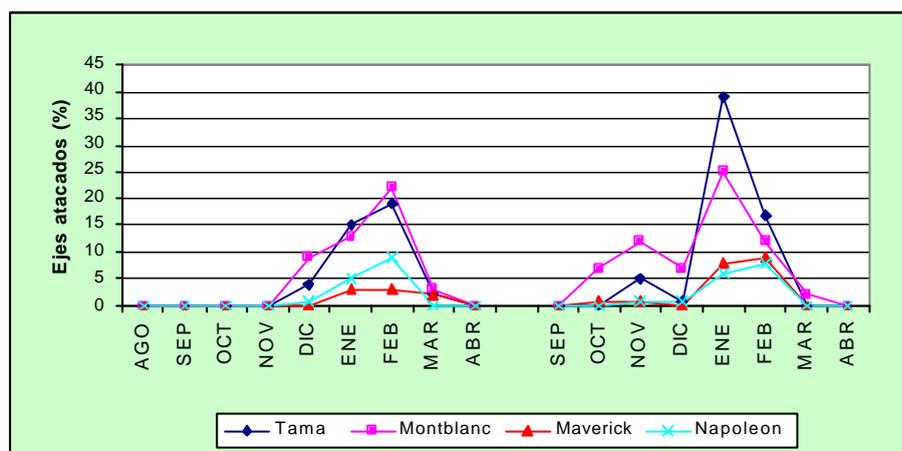


Figura 2.6 Dinámica de ataque de *L. bonariensis* en las ballicas sin protección química permanente. Periodo 2000 - 2002

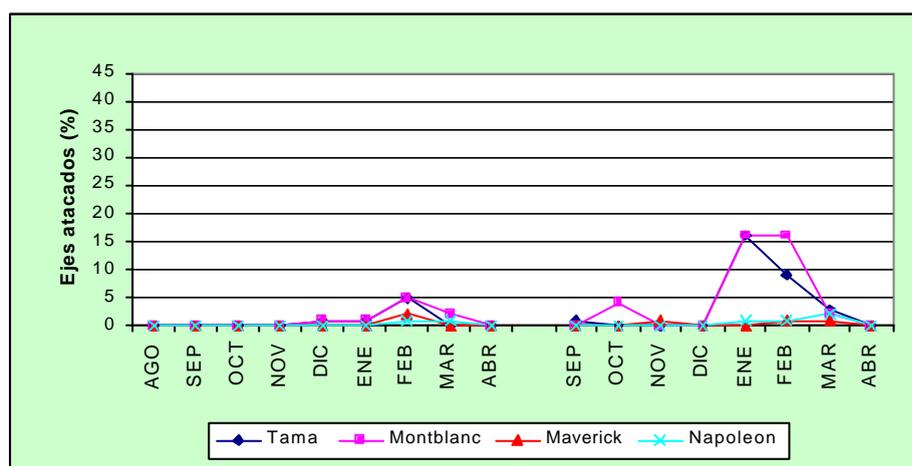


Figura 2.7 Dinámica de ataque de *L. bonariensis* en las ballicas con protección química permanente. Periodo 2000 - 2002.

2.5. Susceptibilidad de las ballicas al ataque de *L. bonariensis* bajo condiciones de campo en tres localidades de la X Región.

La susceptibilidad al ataque del gorgojo de las ballicas se determinó principalmente por el grado de ataque, ovipositura y presencia de larval en el hospedero. Para determinar esto se evaluó sistemáticamente (cada mes) distintos parámetros durante el periodo de actividad del insecto (primavera, verano, otoño 2000 -2002).

Se evaluaron 15 cultivares perennes y 10 cultivares de rotación en tres localidades: Los Lagos, Remehue y Nueva Braunau .

Para determinar la susceptibilidad al ataque del gorgojo se consideraron los siguientes parámetros :

- Macollos atacados (%)
- Número de huevos en 100 macollos
- Número de larvas en 100 macollos

Considerando que la dinámica de la población y el ataque de la plaga es multifactorial, (densidad e intensidad de la plaga, tasa de mortalidad natural, presencia y niveles de endófito, clima, hospederos, cultivo anterior, etc.), se utilizaron categorías de susceptibilidad (Cuadro 2.1), para cada cultivar evaluado según los parámetros antes descritos.

Cuadro 2.1 Categorías de susceptibilidad al ataque de *L.bonariensis*.

	Susceptibilidad	Nivel de Ataque (%)
MA	Muy alta	100 - 75
A	Alta	74 - 50
M	Moderada	49 - 25
B	Baja	24 - 1
N	Nula	0

2.5.1 Ballicas perennes

Los Lagos

Para esta localidad los resultados obtenidos se presentan en las Figura 2.8

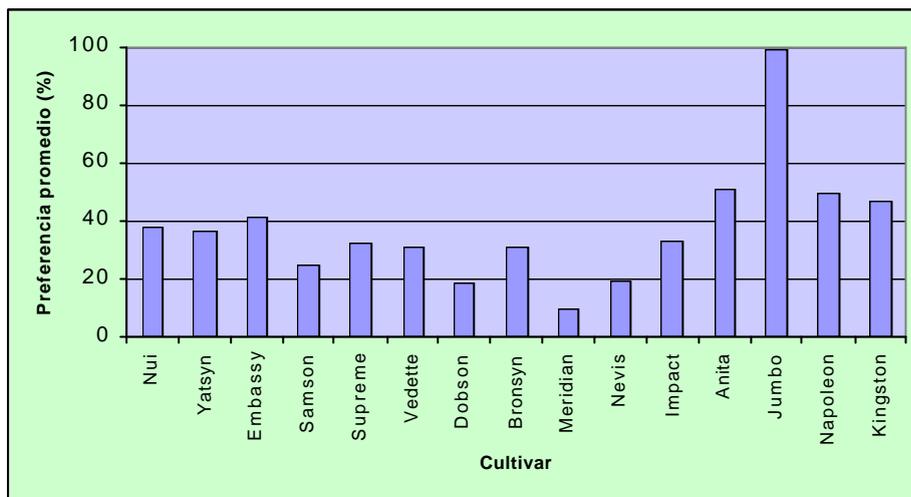


Figura 2.8 Preferencia promedio de la plaga por el cultivar según grado de ataque, ovipostura y presencia de larvas en Los Lagos (2000 – 2002).

Remehue (Osorno)

Para esta localidad los resultados obtenidos se presentan en la Figura 2.9

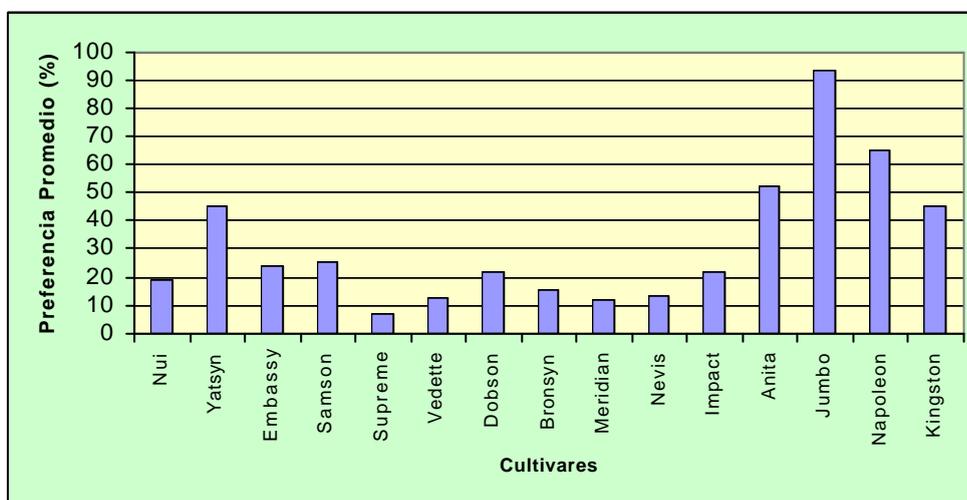


Figura 2.9 Preferencia promedio de la plaga por el cultivar según grado de ataque, ovipostura y presencia de larvas en Remehue (2000 – 2002).

Nueva Braunau

Para esta localidad los resultados obtenidos se presentan en la Figura 2.10.

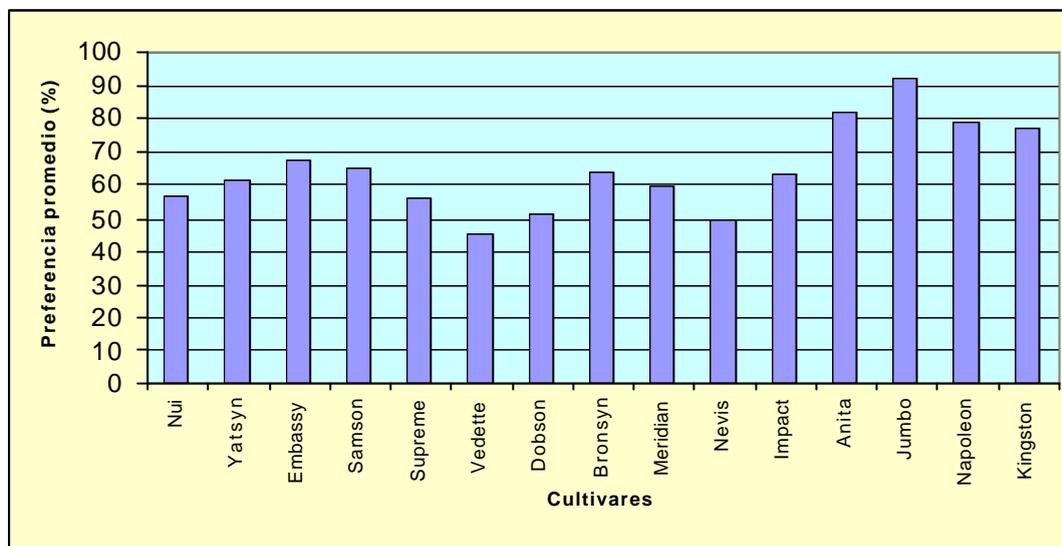


Figura 2.10 Preferencia promedio de la plaga por el cultivar según grado de Ataque, ovipostura y presencia de larvas en Nueva Braunau (2000 – 2002).

La interpretación de la susceptibilidad de los distintos cultivares según los parámetros evaluados se puede apreciar como promedio de las tres localidades en la Figura 2.11, donde se observa una mayor tasa de preferencia promedio por la ballica Jumbo.

Los cultivares de ballicas perenne muestran similar susceptibilidad como promedio de las tres localidades. Los cultivares que presentan las mayores susceptibilidades son aquellas con bajo o sin hongo endófito (Anita, Jumbo, Napoleón y Kingston), como se observa en el Cuadro 2.2. Además, si observamos los porcentajes de endófitos determinados en los cultivares y presentados como promedio de las tres localidades, en términos de preferencia y/o susceptibilidad no existen diferencias entre estas ballicas ;pero si existe diferencia entre las con y sin hongo endófito.

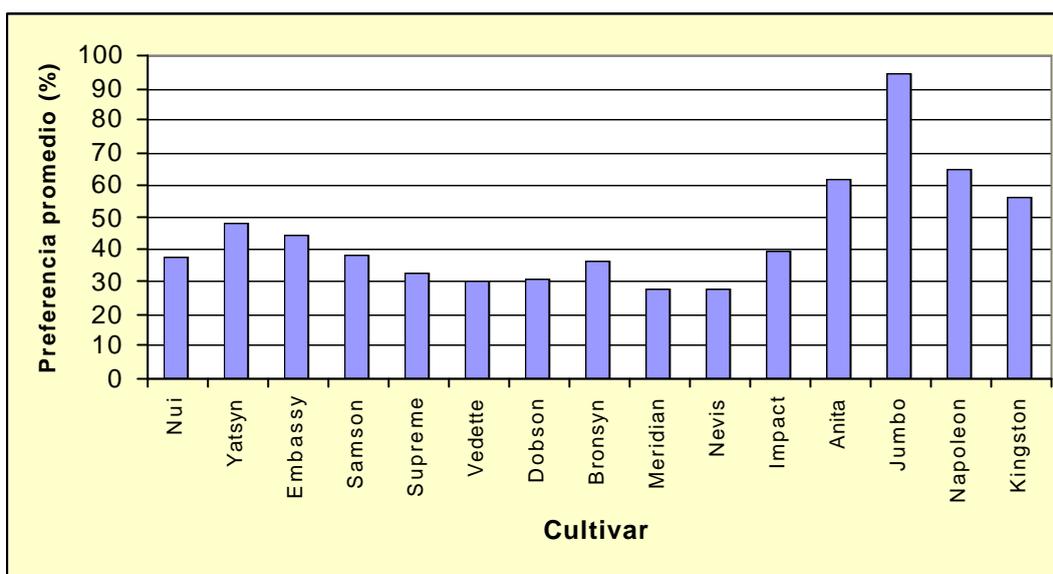


Figura 2.11 Preferencia promedio de la plaga por el cultivar según grado de Ataque, ovipostura y presencia de larvas promedio tres localidades periodo (2000–2002).

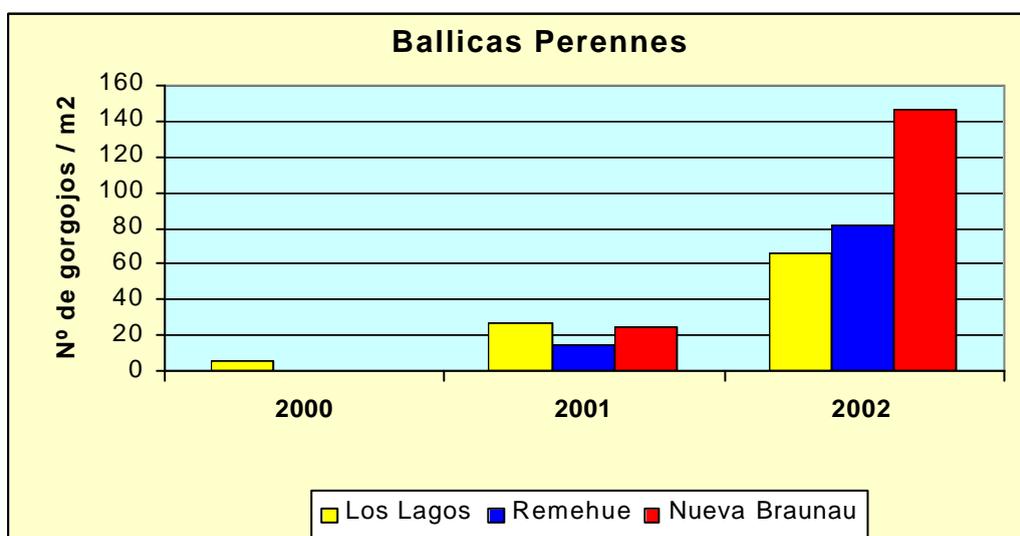


Figura 2.12 Densidad de gorgojos adultos en otoño en cada localidad. Evaluación (2000 - 2002).

Lo regular es que a mayor población de la plaga mayor nivel de daño en las ballicas y a mayor nivel de endófito menor población de la plaga. El insecto sin lugar a dudas prefiere para la postura de sus huevos y desarrollo de sus larvas, plantas sin la presencia de hongo endófito; pero lo que aparentemente determinará el desarrollo de la plaga serán las toxinas asociadas a éste.

Los datos obtenidos en Nueva Braunau, indican que los mismos cultivares presentan mayor susceptibilidad, por efecto de una mayor presión de la plaga que en las otras localidades de la X Región (Figura 2.12).

Cuadro 2.2 Susceptibilidad promedio a la plaga de los cultivares perennes y nivel promedio de endófito.

Cultivar	Los Lagos	Remehue	Nueva Braunau	Endófito	Promedio
Nui	M ⁺	B	A	76	M
Yatsyn	M	M	A	94	M
Embassy	M	B	A	44	M
Samson	M	M	A	78	M
Supreme	M	B	A	41	M
Vedette	M	B	M	53	M
Dobson	B	B	A	69	M
Bronsyn	M	B	A	79	M
Meridian	B	B	A	76	M
Nevis	B	B	A	50	M
Impact	M	B	A	82	M
Anita	A	A	MA	16 *	A
Jumbo	MA	MA	MA	6 *	MA
Napoleon	A	A	MA	4 *	A
Kingston	M	M	MA	9 *	A

(*): Cultivares perennes sin endófito, resultado producto contaminación de campo

(⁺) Categorías: MA=Muy Alta ; A=Alta ; M=Moderado ; B=Baja ; N=Nula

2.5.2 Ballicas de rotación

Los Lagos

Para esta localidad los resultados obtenidos se presentan en las Figura 2.13

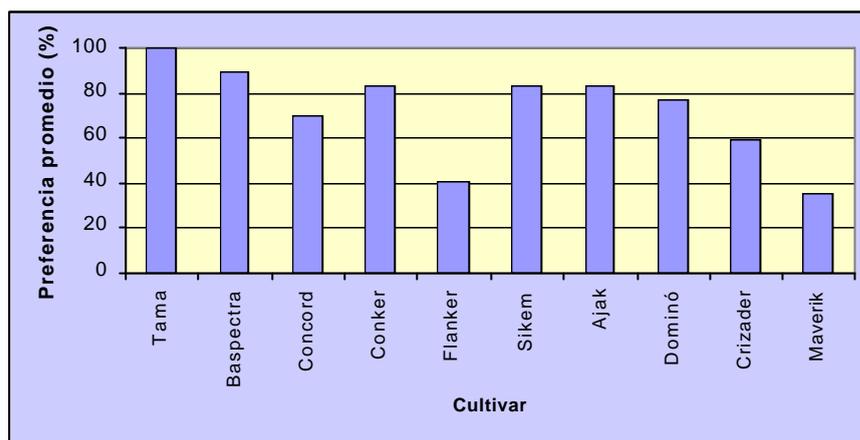


Figura 2.13 Preferencia promedio de la plaga por el cultivar según grado de ataque, ovipostura y presencia de larvas en Los Lagos (2000 – 2002).

Osorno (Remehue)

Para esta localidad los resultados obtenidos se presentan en la Figura 2.14

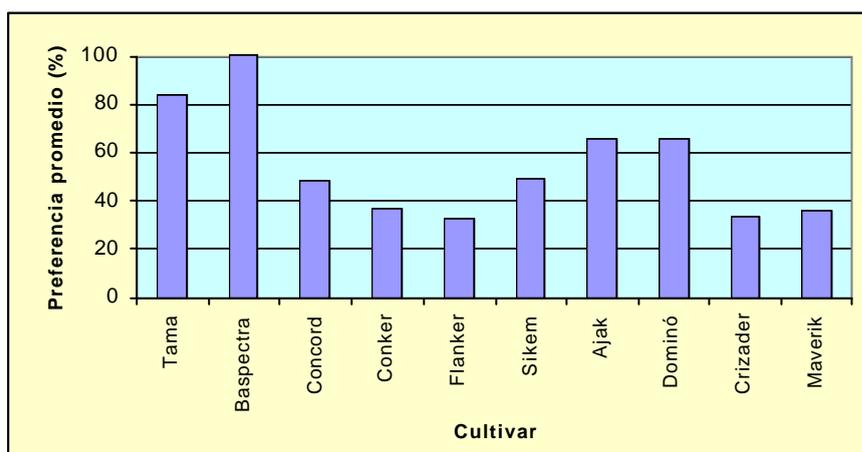


Figura 2.14 Preferencia promedio de la plaga por el cultivar según grado de ataque, ovipostura y presencia de larvas en Remehue (2000 – 2002).

Nueva Braunau

Para esta localidad los resultados obtenidos se presenta en la Figura 2.15

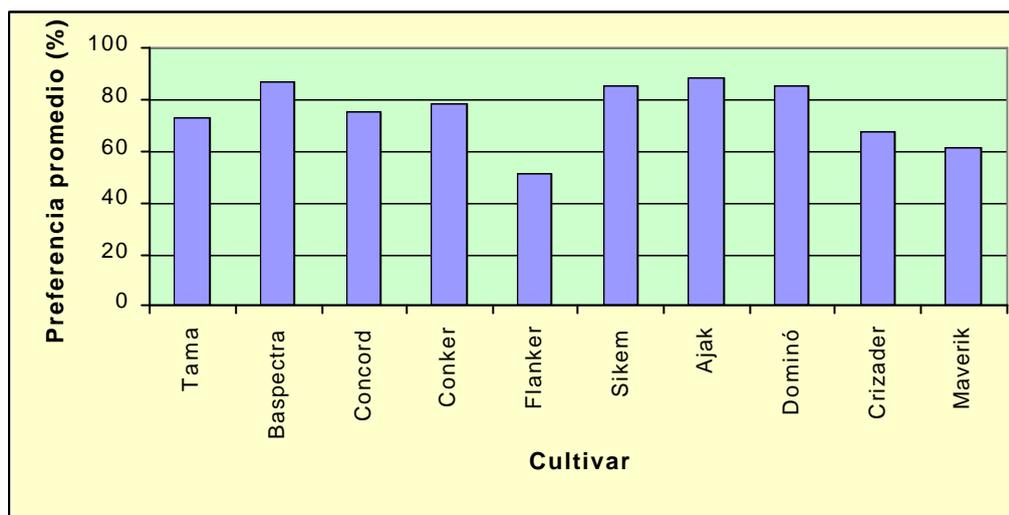


Figura 2.15 Preferencia promedio de la plaga por el cultivar según grado de ataque, ovipostura y presencia de larvas en Nueva Braunau (2000 – 2002).

Los cultivares de rotación mostraron una alta susceptibilidad a la plaga, Figura 2.16. La carencia de hongo endófito es tal vez el principal factor que determina un grado alto de ataque del insecto. En la Figura 2.17, se puede observar que la población de gorgojos adultos incrementó su población en el tiempo, pero con niveles inferiores a los incrementos poblacionales de las ballicas perennes, esto último sin explicación aparente.

Las ballicas anuales (Tama y Baspectra) aparecen como los cultivares más regulares en relación a los niveles de susceptibilidad en todas las localidades, estos cultivares presentaron una muy alta susceptibilidad, al punto que los establecimientos de primavera fueron casi completamente destruidos, sobreviviendo en el otoño – invierno siguiente una muy baja población de la especie.

En Nueva Braunau se observa mayor susceptibilidad de la mayoría de los cultivares a diferencia de Remehue (Figura 2.15 y 2.14) donde el nivel de susceptibilidad de los cultivares fue menor.

En el Cuadro 2.3, se puede obtener una clara visión de la susceptibilidad de los distintos cultivares al ataque de la plaga; llama la atención el nivel medio (M) para el cultivar Maverik y Flanker.

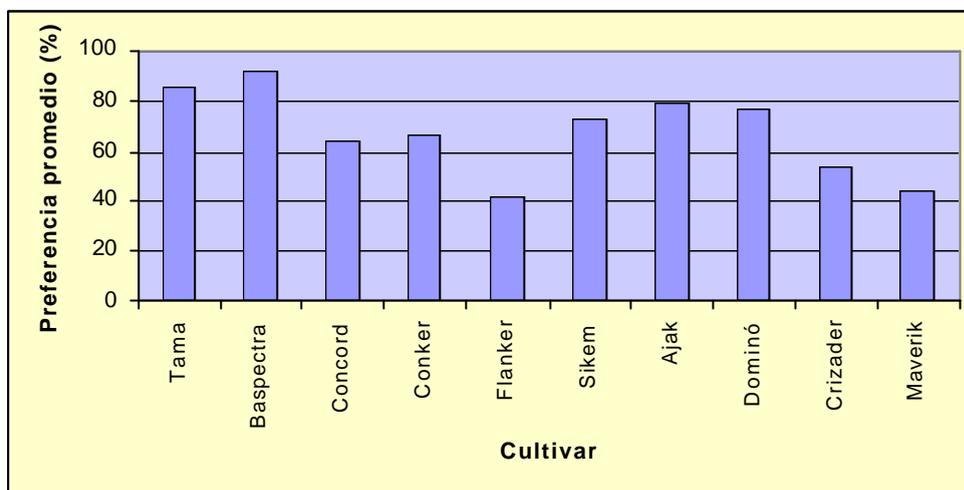


Figura 2.16 Preferencia promedio de la plaga por el cultivar según grado de ataque, ovipostura y presencia de larvas promedio de tres localidades (2000 – 2002).

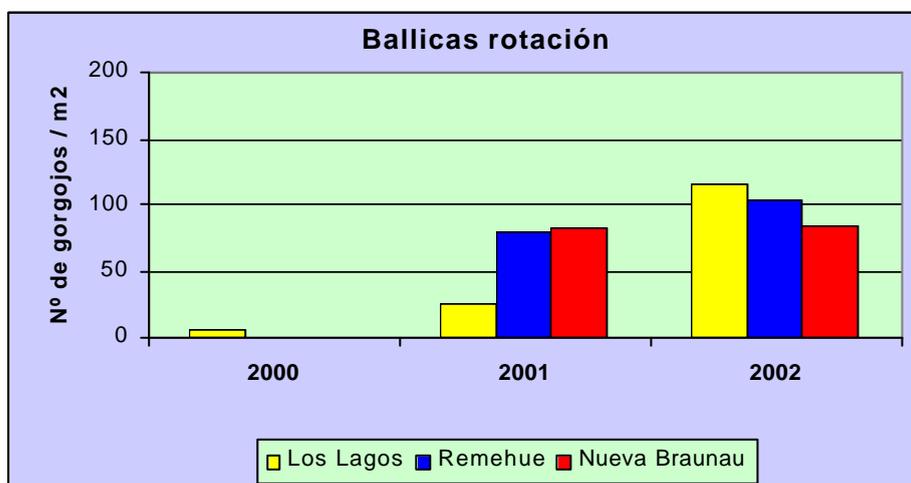


Figura 2.17 Densidad de gorgojos adultos en otoño en cada una de las localidades (2000 - 2002).

Cuadro 2.3 Susceptibilidad promedio a la plaga de los cultivares de rotación.

Cultivar	Los Lagos	Remehue	Nueva Braunau	Promedio
Tama (Anual)	MA ⁺	MA	A	MA
Baspectra (Anual)	MA	MA	MA	MA
Concord	A	M	MA	A
Conker	A	M	MA	A
Flanker	M	M	A	M
Sikem	A	A	MA	A
Ajak	MA	A	MA	MA
Dominó	MA	A	MA	MA
Cruzader	A	M	A	A
Maverik	M	M	A	M

(⁺) Categorías: MA=Muy Alta ; A=Alta ; M=Moderado ; B=Baja ; N=Nula

2.6 Control químico de *L. bonariensis* a la siembra y en praderas establecidas

2.6.1 Control químico a la siembra en otoño

En el Cuadro 2.4 se presentan los tratamientos evaluados a la siembra en otoño de una ballica de rotación cultivar Flanker.

Cuadro 2.4 Tratamientos utilizados en la evaluación de campo.

Tratamiento	Producto comercial	Ingrediente activo	Dosis g / 25 kg semilla
1	Gaicho 60 FS	Imidacloprid	175
2	Punto 70 WS	Imidacloprid	150
3	Force 20 CS	Teflutrina	150
4	Regent 250 FS	Fipronil	200
5	Lorsban 75 WG	Clorpyrifos	40
6	Testigo		

La población de gorgojos fue en promedio 159,6 (+/- 30,1) gorgojos / m². Al evaluar la producción de forraje al primer corte (Figura 2.18) se detectaron diferencias entre los tratamientos. El Testigo fue similar al tratamiento Lorsban y estadísticamente diferentes (P<0,05) al resto de los tratamientos.

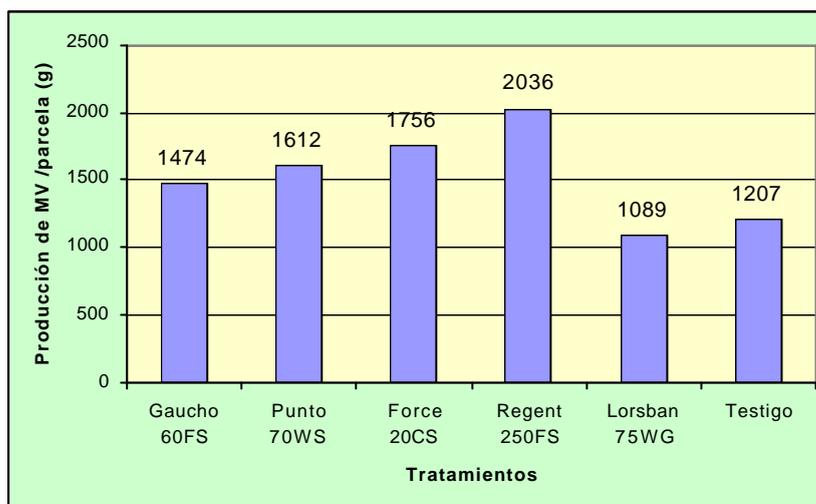


Figura 2.18 Producción de materia verde al primer corte después de la siembra de otoño.

2.6.2 Control químico a la siembra en primavera

En el Cuadro 2.5 se presentan los tratamientos evaluados a la siembra en primavera de la ballica de rotación cultivar Flanker.

Cuadro 2.5 Tratamientos utilizados en la evaluación de campo.

Tratamiento	Producto comercial	Ingrediente activo	Dosis g /25 kg semilla
1	Gaucho 60 FS	Imidacloprid	175
2	Punto 70 WS	Imidacloprid	150
3	Force 20 CS	Teflutrina	150
4	Regent 250 FS	Fipronil	200
5	Cruiser 70 WS	Thiametoxam	100
6	Testigo		

La protección de las semillas y plántulas se evaluaron a través del establecimiento de las plantas y posterior macollamiento. Los resultados se presentan en las Figura 2.19. La población de gorgojos determinada fue en promedio 166 gorgojos/m². A los 30 días se determinó diferencia significativa entre el tratamiento testigo y el resto de los tratamiento los cuales entre sí, fueron similares. A los 90 días del establecimiento el producto Cruiser fue similar al testigo y ellos diferentes a los demás tratamientos. La cantidad de macollos fue tan baja que no fue posible evaluar la producción. Las parcelas se contaminaron con malezas y plantas pratenses diferentes al cultivar. Ninguno de los insecticidas evaluados fue capaz de controlar

los insectos adultos, siendo el principal daño, producido por el gorgojo y en menor grado por larvas provenientes de ovipostura.

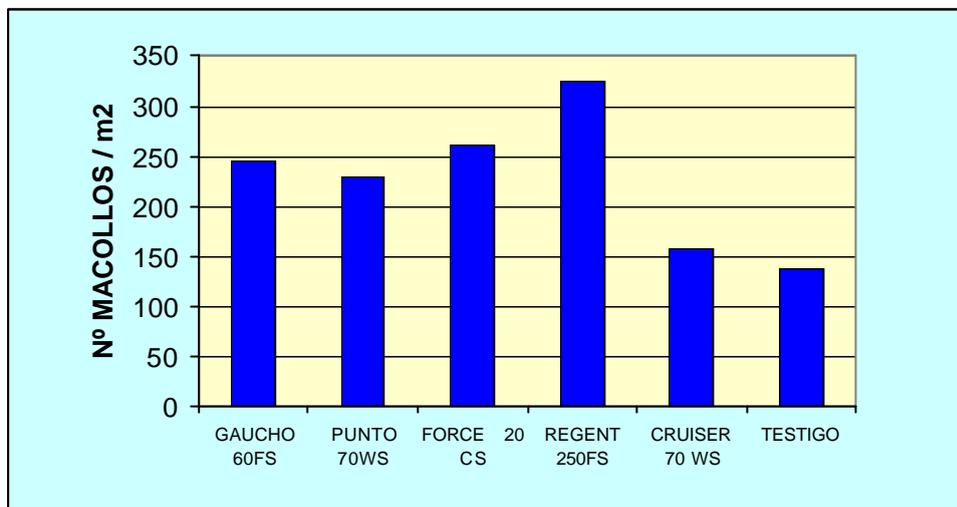


Figura 2.19 Número de macollos a los 90 Días después de la siembra de primavera

2.6.3 Control químico de adultos en cobertera

Para determinar la eficacia de los insecticidas aplicados en cobertera se diseñó un experimento bajo condiciones controladas de laboratorio. En el Cuadro 2.6 se presentan los tratamientos y las dosis evaluadas. Los productos se encuentran en el mercado y las dosis fueron calculadas en relación a un costo similar entre ellas.

En el Cuadro 2.7 se presentan las mortalidades evaluadas corregida la mortalidad natural por Abbott. Los tratamientos de insecticidas fosforados (Lorsban, Gusathion y Fenitrothion) fueron los más efectivos a las 24, 48 y 72 horas post aplicación. Los piretroides Karate y Fastac, podrían tener una mejor eficacia si se incrementa las dosis. Pottinger *et al*, (1984) probaron en bioensayos 24 químicos contra los adultos de *L. bonariensis* estableciendose que un gran número de insecticidas fueron tóxicos para los adultos.

Cuadro 2.6 Tratamientos utilizados en la evaluación de Laboratorio.

Tratamiento	Producto comercial	Ingrediente activo	Dosis g o cc PC / ha
1	Lorsban 25 WP	Clorpyrifos	1000
2	Gusathion 35 WP	Azinfos Metil	300
3	Karate 5EC	Lambdacihalotrina	100
4	Sumithion 100 EC	Fenitrothion	300
5	Thiodan 50 WP	Endosulfan	1000
6	Decis 2.5 EC	Deltametrina	100
7	Fastac 10 EC	Alphacipermetrina	100
8	Halmark 7.5 EC	Esfenvalerato	80
9	Baytroid TM 525 SL	Methamidophos + Cyflutrin	100
10	Testigo		

Cuadro 2.7 Porcentaje de mortalidad de *L.bonariensis* expuesto a diferentes insecticidas bajo condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Pre aplicación	24 horas Post aplicación	48 horas Post aplicación	72 horas Post aplicación
Lorsban 25 WP	0	100	100	100
Gusathion 35 WP	0	95	100	100
Karate 5EC	0	37,5	12,5	42,5
Sumithion 100 EC	0	97,5	95	100
Thiodan 50 WP	0	0	5	7,5
Decis 2.5 EC	0	10	5	10
Fastac 10 EC	0	37,5	45	65
Halmark 7.5 EC	0	2	22,5	25
Baytroid TM 525 SL	0	2,5	2,5	5
Testigo	0	5	5	5

2.6.3.1 Efecto de aplicaciones en cobertera sobre *L.bonariensis* como agente no blanco de la aplicación

Durante la última temporada (2002) se evaluó el efecto de la aplicación de insecticidas para el control de cuncunilla negra sobre la población de *L. bonariensis* en tres localidades Remehue, Los Lagos y Nueva Braunau.

Se aplicó el producto Lambdacihalotrina (Karate Zeon 5 CS) en dosis de 200 cc/ ha en 200 l de agua/ha, la última semana de julio del 2002.

En cada una de las localidades se determinó la densidad de adultos en el suelo a través de un total 4 muestras de 40 cores cada una de 7,5 cm de diámetro y 5 cm de profundidad tomados al azar por área tratada, antes y 10 días después de la aplicación del insecticida.

En el Cuadro 2.8 se observa las densidades de población de *L. bonariensis* por metro cuadrado y el efecto del insecticida sobre su reducción en ocho sectores en tres localidades. En la Figura 2.20 se muestra en forma gráfica la respuesta de la población del gorgojo a la aplicación de insecticida.

Este resultado es de alta relevancia, considerando que habría un efecto indirecto sobre el insecto en la región, tomando en cuenta que la superficie de praderas aplicada anualmente contra la cuncunilla negra es alta.

Este efecto debería ser estudiado en trabajos posteriores ya que su efecto podría estar incidiendo sobre el comportamiento del insecto en las praderas de un grupo importante de agricultores de la X Región.

Cuadro 2.8 Densidades de *L. bonariensis*/m² antes y después de la aplicación de insecticida para el control de cuncunilla negra.

Localidad	Densidad antes aplicación	Densidad post aplicación	Reducción densidad (%)
Remehue 1	182,4	5,7	96,8
Remehue 2	171,0	4,3	97,4
Remehue 3	82,1	8,5	89,6
Remehue 4	104,9	0,14	99,8
Los Lagos1	66,1	0,0	100
Los Lagos2	116,3	7,1	93,8
Nueva Braunau 1	145,9	5,7	96,1
Nueva Braunau 2	84,4	5,7	93,2

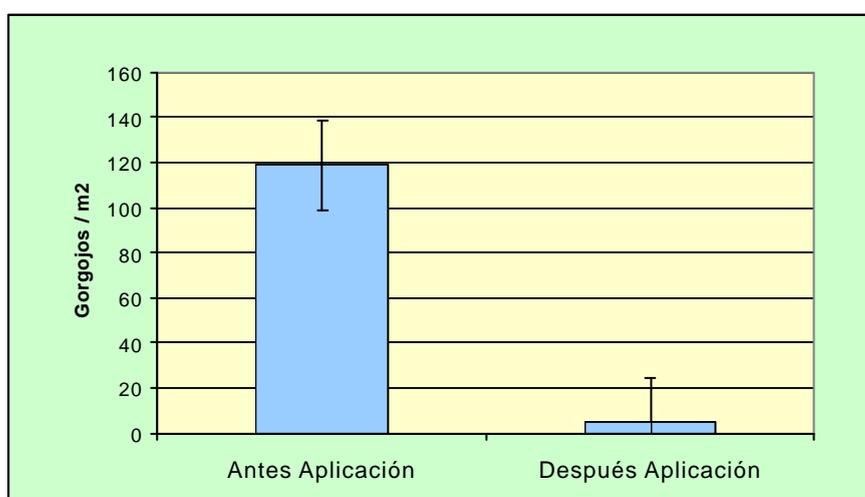


Figura 2.20 Efecto total promedio de las aplicaciones de insecticida sobre la densidad de *L. bonariensis* en el suelo.

2.7 Control natural.

L. bonariensis es además hospedero ocasional de alfalfa, avena, cebada, chéptica, maíz, repollo, trébol y trigo teniendo como enemigos naturales dos parasitoides microhimenópteros: *Braconidae*; *Microctonus hyperodae* Loan, que parasita a los adultos de *L. bonariensis*, y *Mymaridae*; *Patasson atomarius* Brethes, el cual parasita sus huevos, más común en oviposturas sobre *Agrostis sp* en praderas de la X Región (Prado, 1991). Golson *et al*, (1993), colectó *M. hyperodae* en Argentina, Brasil, Chile y Uruguay. En Chile se colectó ecotipos en La Serena y Concepción.

2.7.1 Agentes de control natural detectados.

Los enemigos naturales detectados en la X Región a través de los muestreos sistemáticos fueron escasos durante el periodo estacional 2000 – 2002; los que se indican en el Cuadro 2.9. Sólo los agentes *P. atomarius* *B. bassiana* fueron más comunes en las muestras tomadas en la región. Cabe destacar que los mayores esfuerzos de búsqueda y colecta se centraron en parasitoides que en depredadores, éstos últimos de menor especificidad.

Cuadro 2.9 Enemigos naturales de *L. bonariensis* detectados entre diciembre de 1999 y septiembre de 2002.

Agente	Estado del Insecto			
	Huevo	Larva	Pupa	Adulto
<i>Patasson atomarius</i> (Hymenóptera : Mymaridae)	X			
Hymenóptera (no determinado)		X		
Aranae (no determinado)		X		
<i>Beauveria bassiana</i> (Hongo)			X	X

En las Fotografías 2.9;2.10 y 2.11 se presenta al parasitoide de huevo *P. atomarius* y las características para su identificación inicial. Yoshimoto (1990), entrega una revisión de los géneros de Mymaridae. En la Fotografía 2.12, se observan adultos de la plaga atacados por *B. bassiana*.



Fotografía 2.9 Acercamiento de huevos de *L. bonariensis* sano (negro) y atacado (naranja).



Fotografía 2.10 Huevos de *L. bonariensis* parasitado por Mymarido en estado de pupa.



Fotografía 2.11 *Patasson atomarius* parasitoide de huevos de *L. bonariensis*.



Fotografía 2.12 Adultos de *L. bonariensis* parasitado por *B. bassiana*.

2.7.2 Tasas de parasitismo de *L. bonariensis*.

Para evaluar la incidencia de los parasitoides sobre los distintos estados del insecto plaga se colectó al azar muestras de campo en distintas localidades y predios de la X Región. Para determinar el parasitismo de huevos y adultos se colectaron muestras de 100 huevos y 100 adultos por localidad en las distintas estaciones del año. Estos estados fueron puestos en crianza bajo condiciones de laboratorio.

Bajo los muestreos realizados no se detectó la presencia del parasitoide del estado adulto, aunque este ha sido colectado por Golson *et al* (1993) en las regiones IV y VIII.

Solo se determinó y colectó el parasitoide de huevos *Patasson atomarius*. Las tasas de parasitismo fueron nulas a bajas en las praderas manejadas y mejoradas. En la última temporada (2002) se colectó material en condiciones menos intervenida, siendo más efectiva la colecta de *P. atomarius* (0 -3%). Bajo la condición más natural se colectó además una larva de la plaga parasitada por un microhymenóptero, el que no emergió en condiciones óptimas.

Los resultados obtenidos muestran que el control natural del insecto por parasitoides fue cercana a cero y nula en muchas de las localidades donde se tomó muestras.

Contrario a lo esperado no se determinó la presencia de *M. hyperodae* en las muestras analizadas y sometidas a crianza durante el desarrollo del proyecto. Este parasitoide del estado adulto de la plaga fue introducido a Nueva Zelanda y las tasas máximas de parasitismo determinadas por Mcneill *et al*, (2001), han sido del 27,3 (+/- 2)%. Golson y Barker (1995), señalan que en 1994 se alcanzó tasas de parasitismo del 79% en Canterbury, Nueva Zelanda.

Sin embargo, la detección y determinación de *B. bassiana* parece ser más auspiciosa como agente de control ya que se colectó desde varias localidades en la región. En Nueva Zelanda se ha evaluado la patogenicidad de *B.bassiana* de varias aislaciones; determinándose que algunas fueron más efectivas en la proporción de gorgojos muertos a los 20 días dependiendo de la temperatura bajo condiciones de laboratorio (Barker *et al*, 1991 y Goh *et al*, 1991).

2.8 Detección precoz del ataque de *L. bonariensis*.

2.8.1 Determinación de umbral térmico del estado de huevo.

El gorgojo argentino de las ballicas presenta los estados de huevo, larva (4 estadios), pupa y adulto. Estos estados en el ambiente no se desarrollan a temperaturas inferiores a 10°C. Aunque en simulaciones en Nueva Zelanda se han utilizado umbrales térmicos inferiores a 10°C.

La acumulación térmica se mide a través de Grados Día (GD). Esta constante térmica se acumula por sobre la temperatura base de cada estado de desarrollo del insecto, para calcular la acumulación de GD se usará la siguiente ecuación:

$$GD = (m1 + m2) / 2 - mc$$

Donde:

GD = Grados día para un período de 24 hrs.

m1 = Temperatura máxima para el período

m2 = Temperatura mínima para el período

mc = Umbral térmico para la especie

El desarrollo exitoso de los estados embrionarios y post embrionarios son controlados fuertemente por la temperatura. Temperaturas entre 10 y 38 °C son un rango tolerable de desarrollo para muchas especies de insectos.

Bajo condiciones controladas en laboratorio se determinó la embriogénesis de *L. bonariensis* Cuadro 2.10

Cuadro 2.10 Porcentaje y periodo de emergencia de *L. bonariensis* a distintas temperaturas bajo condiciones de laboratorio.

Temperatura °C	Nº Huevos	% Emergencia	Promedio Días +/- DS	Grados Días Base 10 °C
5	70	0,0	-	-
10	70	0,0	-	-
12	70	10,0	36 +/- 3.26	72
13.1 (*)	82	65,8	24,9 +/- 1.99	77
15	78	60,2	17,6 +/- 1.91	88

(*) : Condiciones de campo

En la crianza y estudio del efecto de las temperaturas sobre el desarrollo de las larvas neonatas no se tuvo éxito ya que la mortalidad fue alta, superior al 90 %. La causa principal fue la desecación y no penetración en los macollos dispuestos como alimento.

Según Barker (1988), los estados de huevo, larva, prepupa, pupa y los estados de huevo a adulto requirieron 83, 189, 40, 172 y 454 grados día acumulados Cuadro 2.11.

Cuadro 2.11 Umbrales térmico y Grados Día necesarios para el desarrollo de *L. bonariensis* Barker, (1988).

Estado	Umbral temperatura °C		Grados Día requeridos sobre el umbral térmico	
	Promedio	95 %	Promedio	95 %
Huevo	10,1	8,1 - 11,6	83	75 - 91
Larva	9,8	4,4 - 12,9	189	159 - 246
Prepupa	11,1	7,6 - 13,5	40	35 - 47
Pupa	10,4	7,2 - 12,6	172	149 - 204
Huevo a Adulto	10,2	7,7 - 11,9	454	422 - 486

Otros antecedentes encontrados en la literatura son presentados en el Cuadro 2.12

Cuadro 2.12 Requerimientos en Grados Día (GD) para el desarrollo de cada uno de los estados del gorgojo argentino en Nueva Zelandia. (Golson, 1979).

Estado	Duración estimada en el campo (Días)	GD calculado para el desarrollo de cada estado según umbral			
		8°C	10°C	12°C	14°C
Huevo	12	62	32	20	12
Larva	54	349	195	153	100
Pupa	7	76	50	34	24
Adulto	135 (Verano)	1069	728	529	360
Longevidad.					

2.8.2 Determinación de alimentación foliar de adultos.

Para determinar el inicio de actividad de los adultos se evaluó en forma indirecta en base a la detección de la alimentación de ellos en el follaje, para ello se seleccionaron varias localidades en el área de Osorno y se inició la toma de muestras en base a dos submuestras de 100 macollos a los cuales se determinó presencia /ausencia de daño por alimentación foliar.

Se determinó que el inicio de la alimentación ocurrió antes de la captura de adultos en vuelo (semana 43) y los niveles de daño foliar variaran con la presencia de hongo endófito en el forraje (Figura 2.21).

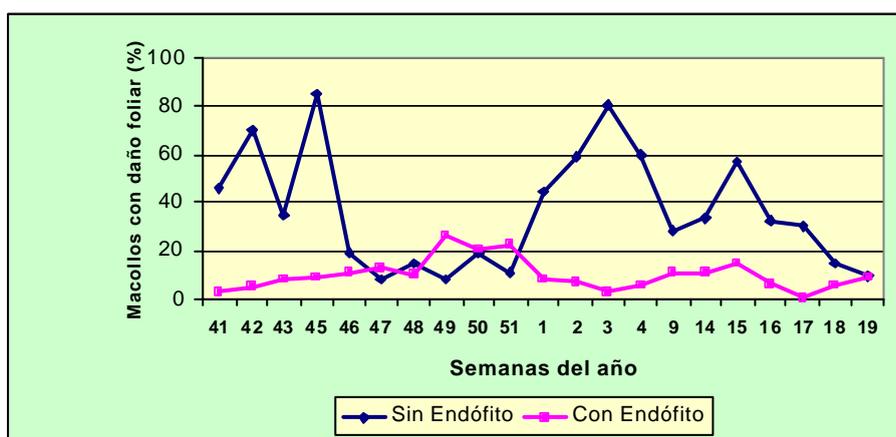


Figura 2.21 Efecto sobre el daño foliar en ballicas con y sin endófito.

En la Figura 2.22, se presenta el comportamiento del inicio del daño foliar en cuatro condiciones de praderas con distintos niveles de endófito. El inicio de la alimentación en la temporada 2001 – 2002 se detectó en la semana 41. Los niveles de daño foliar deberían estar influenciados por la densidad del insecto.

Muestras anteriores a la semana 41 no presentaron daño. El periodo de alimentación foliar fue detectable entre las semanas 41 y 20 del año siguiente.

Temperaturas diarias mayores a 10°C inducen la actividad de los adultos, situación que comienza a ocurrir desde la primera semana de agosto, ello con mayor regularidad desde mediados de septiembre.

Bajo la condición de los años 2001 y 2002, los Grados Día acumulados a la semana 41 en Remehue -Osorno fueron 64 y 71.

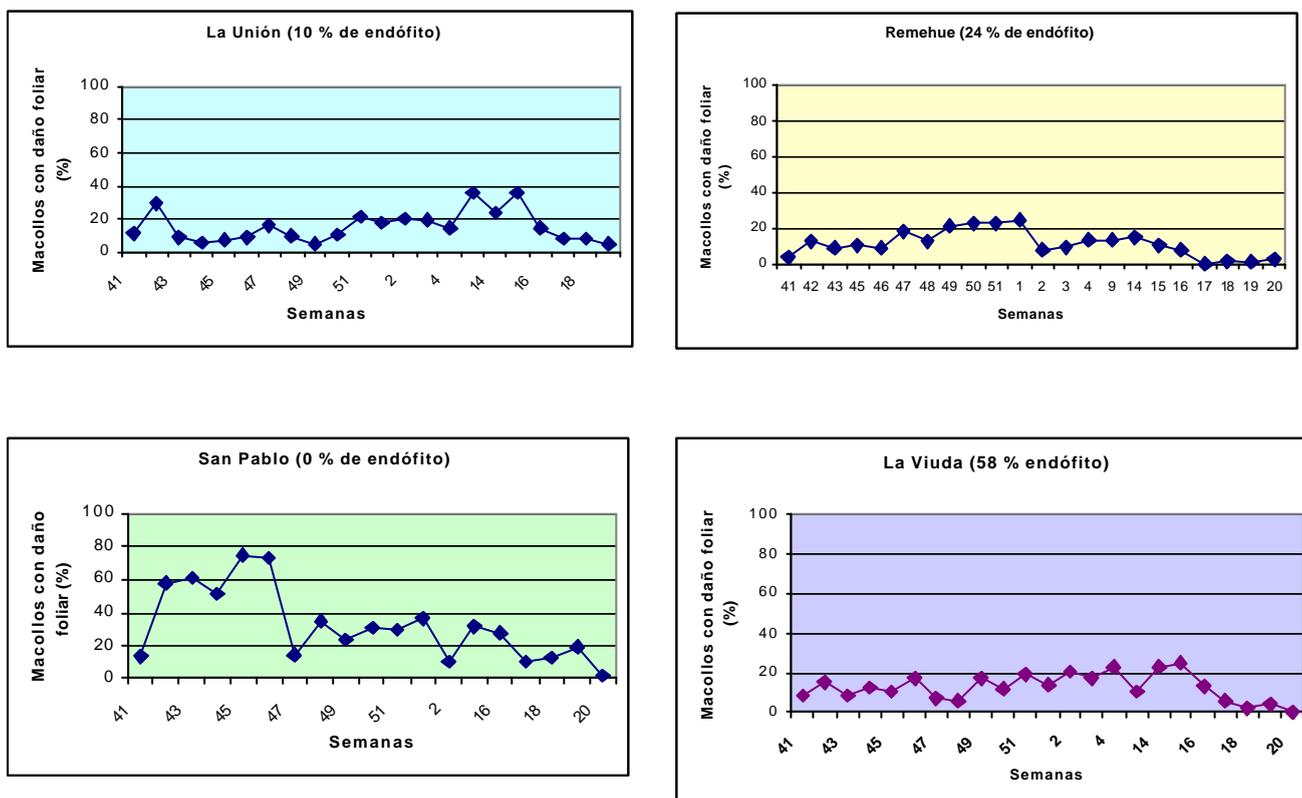


Figura 2.22 Caracterización de la magnitud y semana de inicio del daño de alimentación en diferentes localidades (2001 – 2002).

En la figura 2.23 se puede ver caracterizado el inicio del ataque de macollos como promedio por mes, evaluado en 15 cultivares perennes. Se puede apreciar que hubo un mes de anticipación en el año 2001 respecto al año 2000. Cuando se analizan datos en relación a los Grados Día acumulados se puede observar un cierto grado de correspondencia entre los grados días acumulados en el año respectivo, (Cuadro 2.13).

Cuadro 2.13 Grados Día (base 10) acumulados en los meses de inicio de ataque de la plaga. Remehue (INIA).

Mes	2000	2001
Septiembre	23,4	50,5
Octubre	76,1	123,1
Noviembre	133,1	181,35

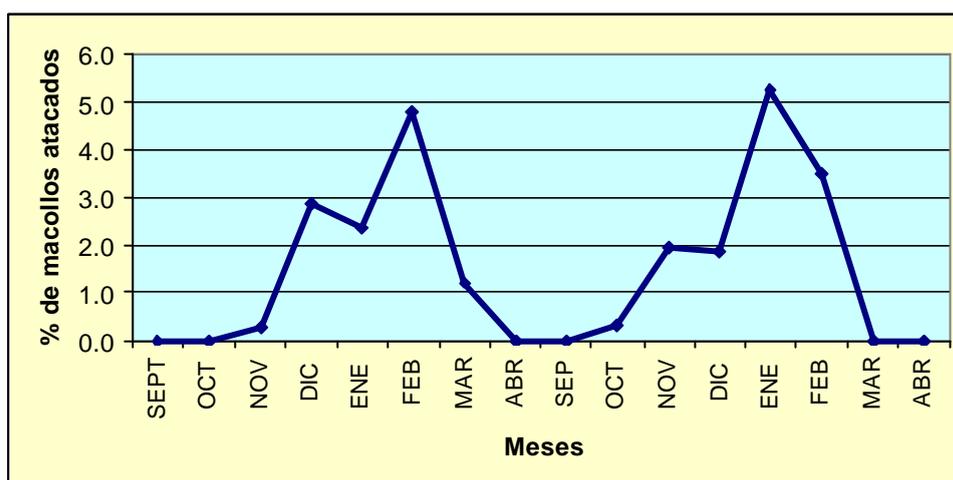


Figura 2.23 Caracterización del ataque de macollos en Remehue Temporada 2000 – 2001 y 2001 – 2002.

Para la localidad de Nueva Braunau los antecedentes climáticos de los meses de inicio de ataque, se presentan en el Cuadro 2.14 y de evaluación de macollos dañados en la Figura 2.24. En ellos es posible observar un cierto grado de correspondencia en base a las temperaturas acumuladas en base 10.

Cuadro 2.14 Grados Día (base 10) acumulados en los meses de inicio de ataque de la plaga. Nueva Braunau (Tepual).

Mes	AÑOS	
	2000	2001
Septiembre	15,9	30,2
Octubre	42,8	64,8
Noviembre	80,6	ND

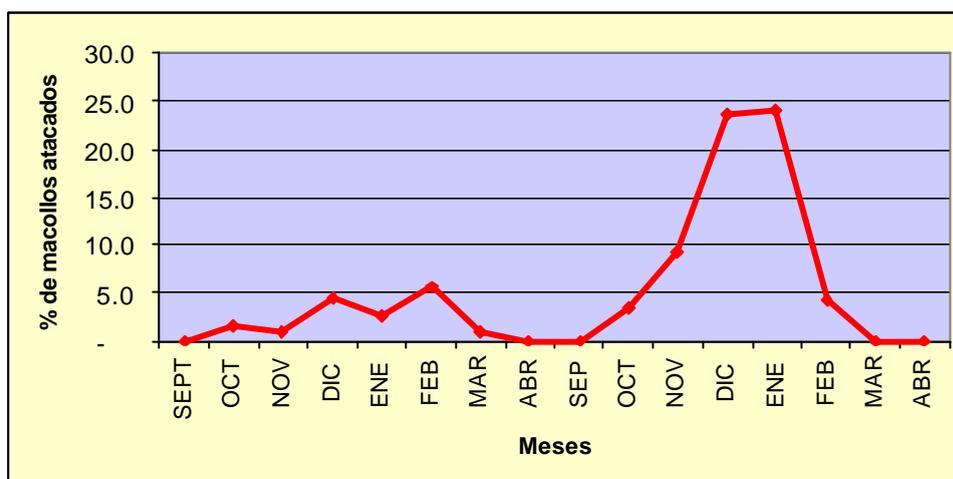


Figura 2.24 Caracterización del ataque de macollos en Nueva Braunau. Temporada 2000 – 2001 y 2001 – 2002.

El insecto presenta una dependencia de las condiciones climáticas que han sido analizadas y respaldada con datos nacionales y extranjeros. La simulación de la fenología del insecto bajo las condiciones locales podrían ser futuros trabajos a desarrollar.

El uso de los Grados Día resulta una herramienta eficaz para la detección precoz de la actividad del insecto asociada a eventos fenológicos de la plaga. Sin embargo, es posible observar que existen factores como la presencia del hongo endófito en las praderas que puede esconder o variar el comportamiento alimenticio de la plaga, como la variación climática anual (Figura 2.25).

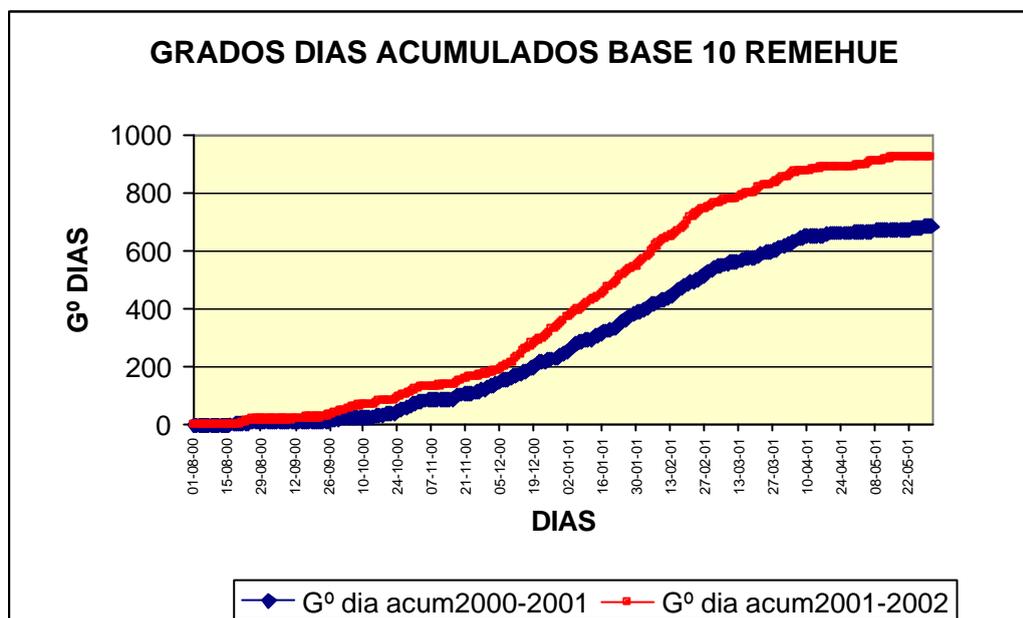


Figura 2.25 Grados Días acumulados en Remehue Temporada 2000 – 2001 y 2001 – 2002.

2.9 Consideraciones Finales

El gorgojo argentino de las ballicas *L. bonariensis* bajo condiciones de la X Región presenta dos generaciones al año. La primera generación se desarrolla en primavera / verano (agosto a diciembre) y la segunda en verano / otoño (diciembre a marzo), permaneciendo los adultos de la segunda generación en estado de diapausa invernal.

La acción de los enemigos naturales sobre la plaga, principalmente parasitoides determinada en distintos predios y localidades de la región fue baja a nula en muchos de ellos, detectándose sólo dos agentes de control natural promisorios. Un parasitoide de huevos *Patasson atomarius* (0 a 3%) y un hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* atacando adultos y pupas (0 a 15%). No se encontró el parasitoide de adultos aunque se conoce la existencia de éste en la IV y VIII Regiones.

Se clasificó los cultivares evaluados según su susceptibilidad a la plaga en tres áreas de la X Región (Los Lagos, Osorno (Remehue) y Puerto Varas (Nueva Braunau)). Los cultivares de las ballicas de rotación y las perennes sin endófito fueron más susceptibles al insecto.

Se ha caracterizado, evaluado y correlacionado los daños con población de insectos adultos, los que se producen en distintos momentos y con intensidades variables según la población del insecto, época de siembra, cultivo anterior, presencia/ausencia del hongo endófito en los cultivares. La susceptibilidad de todos los cultivares perennes con endófito fue moderada (25 a 49% de ataque) promedio de las tres localidades. Lo regular es que a mayor población de la plaga mayor será el nivel de daño en las ballicas y a mayor nivel de endófitos menor densidad de la plaga.

En Nueva Braunau, casi todos los cultivares fueron más susceptibles al ataque de la plaga. Los cultivares de rotación mostraron entre alta y muy alta susceptibilidad a la plaga en todas las localidades evaluadas, solo dos cultivares fueron moderadamente susceptibles Maverik y Flanker. Densidades iguales y superiores a 125 gorgojos/m², son capaces en 15 días de dañar fuertemente el establecimiento de una pradera de ballicas de rotación y perennes sin endófito. Densidades cercanos a 50 gorgojos/m², pueden causar ataques cercanos al 20 % de los macollos, dependiendo de los cultivares.

Se pudo establecer que el inicio del ataque de la plaga ocurrió el año 2001 / 2002 entre fines de septiembre y principios de octubre, a través de un muestreo de 12 localidades. Además, ha quedado de manifiesto que la plaga vuela desde mediados de octubre a principios de enero y luego en marzo.

La detección precoz del insecto está relacionada con las técnicas de muestreo y su relación a factores climáticos determinándose que el término de la diapausa invernal ocurre cuando las temperaturas son en promedio cercanas a 10 °C, éstas son regulares en septiembre. Se confirma que la temperatura umbral inferior sería 10 °C. Los Grados Día necesarios para el desarrollo del ciclo del insecto serían entre 422 y 486 GD.

El plan de manejo de la plaga considera entre sus medidas preventivas el reconocimiento real del insecto y oportuna detección a través de muestreos y el conocimiento de factores claves. El plan preventivo considera el uso de ballicas con endófito, siembra en otoño, detección temprana del insecto y control químico. Se estableció además la eficacia del control químico en cobertera y en aplicaciones a la semilla.

Destacable es reconocer la alta mortalidad y su efecto sobre las densidades de población del gorgojo de las ballicas en aplicaciones de insecticidas contra la cuncunilla negra.

Literatura citada

- AGUILERA, A. y MARÍN, G. 1994. El Gorgojo o taladro del tallo de las ballicas en la IX Región de la Araucanía. Investigación y Progreso Agropecuario Carillanca 13(2): 19-22
- AGUILERA, A. ; CISTERNAS, E. ; GERDING, M. y NORAMBUENA, H. 1996. Plagas de las praderas. En: Praderas para Chile II ed. Ed. Ruiz, I. Impresos Offset Bellavista Ltda. Santiago – Chile. 309-339
- ARTIGAS, J. 1994. Entomología Económica. Ed. Aníbal Pinto S.A. (Concepción). Vol (2). 943 p.
- BARKER, G. 1988. Effect of temperature on development and survival of Argentine stem weevil (*Listronotus bonariensis*) immature stages. New Zealand Journal of Zoology 15 : 387-390
- BARKER, G.; POTTINGER, P. y ADDISON, J. 1989. Flight behavior of *Listronotus bonariensis* (Coleoptera : Curculionidae) in the Waikato, New Zealand. Environ. Entomol. 18(6): 996-1005
- BARKER, G.; GOH, H. ; LYONS, S. Y ADDISON, P. 1991. Comparative pathogenicity to Argentine stem weevil of *Beauveria bassiana* from various hosts. Proc. 44th N.Z. Weed and Pest Control Conf 214 - 215
- CISTERNAS, E y TORRES, A. 1997. Gorgojo Argentino de las Ballicas: Antecedentes biológicos, daños e incidencia en praderas. INIA Remehue, Osorno – Chile. Boletín técnico N° 242 8p
- CISTERNAS, E. 2001. Plagas claves en la producción de praderas. En: Seminario Praderas: Hacia un nuevo estilo productivo. Ed. Opazo, L.; Torres, A. y Siebald, E. Serie Actas N° 9 INIA Remehue Osorno – Chile. 48 -57
- GOLSON, S. 1979. The reproductive seasonality and morphology and Argentine stem weevil *Hyperodes bonariensis* Kuschel (Coleoptera: Curculionidae) and the effect of host grasses on its pre-reproductive development. PhD Thesis, Lincoln College, Canterbury, New Zealand 250 p.
- GOLSON, S.y TROUGHT, T. 1980. The effect of Argentine stem weevil on pasture composition in Canterbury. Proc 33th N.Z. weed and Pest Control Conference 46 – 48
- GOLSON, S.MCNEILL, M. ;PROFFITT, J.;BARKER, G. ;ADDISON,P.;BARRATT, B. Y FERGUSON,C. 1993. Systematic mass rearing and release of *Microctonus hyperodae* (Hym: Braconidae, Euphorinae), a parasitoid of the Argentine stem weevil *Listronotus bonariensis* (Col: Curculionidae) and records of its establishment in New Zealand. Entomophaga 38 (4) 527-536
- GOLSON, S.y BARKER, G. 1995. Update on Argentine stem weevil Biological Control. Proc 47th Ruakura Farmers'Conference 42 – 46
- GOH, H. ; BARKER, G.; ADDISON, P. ; LYONS, S. y FIRTH, A. 1991. Comparative pathogenicity of *Beauveria bassiana* isolates to adult Argentine stem weevil in the laboratory. Proc. 44th N.Z. Weed and Pest Control Conf 185 - 188

- MCNEILL, P. ;KNIGHT,L. Y BAIRD,D. 2001. Damage potencial of Argentine stem weevil in Lincoln dairy pasture: has biological control by *Microctonus hyperodae* altered the balance?. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 63: 241 - 245
- MAY, B. 1961. The argentine stem weevil, *Hyperodes bonariensis* Kuschel on pasture in Auckland. *New Zealand Journal of Agriculture Research* 4: 289-297
- NORAMBUENA, H.y GERDING, M. 1985. Presencia de *Listronotus bonariensis* (Kuschel) en Trigo y Cebada en Chile. *Simiente* 55 (1-2):86-88
- PRADO, E. 1991. Artrópodos y sus enemigos naturales asociados a plantas cultivadas en Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín técnico N° 169 208 p.
- POTTINGER,P. ;BARKER,G.; WRENN, N. ; ADDISON,J. y McGHIE, A. 1984. Insecticidal control of adult argentine stem weevil: A review and bioassay evaluations. *Proc. 37th N.Z. Weed and Pest Control Conf.* 101-105
- PRESTIDGE,A.; BARKER, T. y POTTINGER, P. 1991. The economic cost of argentine stem weevil in pastures in New Zealand. *Proc. 44th N.Z. Weed and Pest Control Conf.* 165-170
- YOSHIMOTO, C. 1990. A review of the genera of new world mymaridae (Hymenoptera:Chalcidoidea). *Flora & Fauna Handbook N° 7*. Sandhill Crane press Florida, USA. 155 p.
- WILLIAMS, L.; GOLSON, S.; BAIRD, B. y BULLOCK, W. 1994. Geographical origin of an introduced insect pest, *Listronotus bonariensis* (Kuschel), determined by RAPD analysis. *Heredity* 72:412-419

Capítulo 3

BALLICAS CON ENDÓFITOS, SUS CARACTERÍSTICAS, MÉTODOS DE EVALUACIÓN Y COMPORTAMIENTO EN LA ZONA SUR DE CHILE.

Alfredo Torres B., Francisco Lanuza A., Ernesto Cisternas A.,
Stella Moyano A. y Marcelo Villagra B.

3.1 Introducción

Endófito, se denomina a organismos que viven dentro de las plantas, en este caso específico, lo aplicaremos a hongos del género *Neotyphodium*, los cuales establecen una relación simbiótica con las gramíneas forrajeras. Se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo, incluso en comunidades naturalizadas de ballicas, festucas y muchas otras especies forrajeras. En Europa, estudios realizados en praderas antiguas de 8 países, señalan que sobre el 80% contienen *N. lolii*, no así los cultivares comerciales, donde sólo 4 de los 16 evaluados fueron positivos al hongo y estos no superaron el 20% de infestación (Galdames, 1995). Se han descrito varias especies de endófitos, presentes en 209 hospederos, principalmente gramíneas (Bacon y De Battista, 1991). Los del género *Neotyphodium*, están infectando a un número aproximado de 25 especies de plantas.

Los primeros antecedentes de la existencia del hongo endófito en ballica y festuca, son de los años 1935 y 1941, respectivamente ; reportes de toxicidad en 1959 y 1950 y recién se asociaron ambos factores en los años 1981 y 1977, respectivamente. Por lo tanto, las primeras investigaciones que estudian la interacción hongo-planta y sus efectos sobre los animales y las plantas, se iniciaron en la década de los 80'.

3.1.1 Relación hongo-planta

Simbiosis

El hongo no produce síntomas a la planta, mantiene una relación simbiótica con ella, en donde encuentra protección (espacios intercelulares de su tejido), nutrientes, la posibilidad de reproducirse y diseminarse, o sea, allí puede completar todo su ciclo de vida (Galdames, 1990).

La planta por su parte, recibe mayor crecimiento, persistencia, mejor tolerancia a condiciones adversas del medio ambiente (déficit hídrico) y cierta resistencia al ataque de plagas, en donde destaca el Gorgojo Argentino de la ballica (*L. bonariensis*).

Lo anterior, se demuestra en los trabajos realizados por Latch y Christensen (1982), Latch *et al.* (1984), Latch *et al.* (1985) y Latch *et al.* (1987) en ballica y festuca. En ballica con y sin endófito, se reportan diferencias favorables en producción de materia seca, área foliar, número de macollos y crecimiento de hojas y raíces en plantas infectadas. En festuca, encontraron aumentos en producción de macollos, biomasa foliar y radicular.

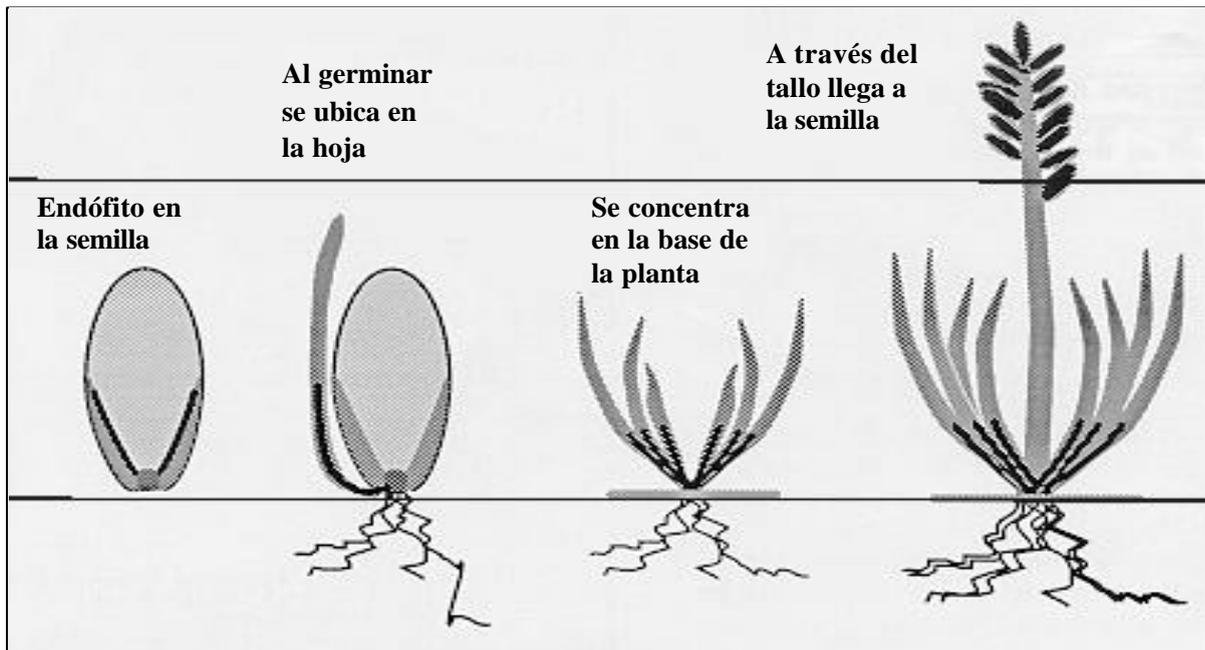
Hospederos de mayor importancia

Los endófitos, *N. lolii* encontrado en ballica perenne (*Lolium perenne*) y *Neotyphodium coenophialum* en festuca (*Festuca arundinacea*), han sido objeto de la mayor atención de los científicos, producto de la gran importancia de éstas especies en las praderas del mundo.

Se puede apreciar que, incluso los cultivares antiguos (Nui, Santa Elvira), presentan endófito, siendo los de niveles más altos los llegados en estos últimos años al país, procedentes de Nueva Zelanda. Esta situación, hace suponer que los niveles de endófito en las praderas sembradas y regeneradas en la Zona Sur, se han incrementado en las últimas temporadas.

Ciclo de vida del hongo

Como se observa en la Figura 3.1, la semilla infectada con grandes cantidades de micelios del hongo, al germinar, origina una plántula en cuya base se ubica el endófito a los pocos días después, así como también en los macollos que emergen posteriormente, para que finalmente en la primavera, al iniciarse el estado reproductivo se localice en la inflorescencia, dentro de las semillas, las cuales darán origen a nuevas plantas infectadas. Lo anterior, deja claramente establecido, que la única forma conocida de transmisión natural del hongo, se produce a través de la semilla (Prestidge y Thom, 1994).



Fuente: Adaptado de Prestidge y Thom, 1994.

Figura 3.1 Ciclo de vida del endófito en ballica perenne

Ubicación en la planta

Las mayores cantidades de micelios, se encuentran en la vaina de las hojas de la mayoría de los macollos, tallos, inflorescencias y semillas. Cantidades muy pequeñas del hongo viven en la lámina, raíces y polen (Prestidge y Thom, 1994).

Viabilidad en la semilla

Las condiciones ambientales en el lugar de almacenamiento de las semillas, así como el período de tiempo transcurrido hasta su utilización, son determinantes en la vida del hongo. Por este motivo, es importante adquirir semilla de la temporada y almacenada en buenas condiciones, bajas temperaturas y humedad. Es frecuente encontrar mayores niveles de endófito en las semillas que en las plantas que originan.

Evaluaciones realizadas por Latch y Christensen (1982), señalan que al almacenar la semilla a temperatura ambiente, la viabilidad de estos hongos decrece fuertemente después de 12 a 24 meses. Sin embargo, *N. lolii* puede sobrevivir al menos por 7 años en la semilla, si esta se almacena entre 0 y 5 °C (Latch y Christensen, 1982). En festuca se han encontrado disminuciones a cero, en un período de 12 a 18 meses.

3.1.2 Alcaloides

Los hongos endófitos, son capaces de producir una serie de compuestos a los cuales se les responsabiliza por la toxicidad en mamíferos, la tolerancia al ataque de insectos y al comportamiento de las forrajeras en condiciones ambientales determinadas.

Galdames (1995), menciona varios grupos de compuestos con actividad biológica, relacionados a la asociación endófito-planta, los cuales se presentan a continuación: Los ergocalcoides, encontrados en plantas de ballica y festuca infectadas, son considerados los principales responsables de síndromes de intoxicaciones en animales producto del consumo de festuca con endófito.

Los alcaloides lolinas, parecieran estar limitados a la producción de *N. coenophialum*-festuca. Son considerados de baja capacidad tóxica para mamíferos, no así para insectos.

Las peraminas, han sido aisladas a partir de cultivos puros de *N. lolii* y encontradas en festuca infectada. Se considera el responsable de la resistencia de la ballica al gorgojo argentino del tallo. En festuca, este alcaloide junto a las lolinas, son considerados como los probables responsables de la tolerancia a insectos.

Los lolitremos, han sido aislados sólo en ballicas infectadas. El lolitrem B, es considerado el principal responsable del síndrome del "ryegrass staggers" o temblores en ovejas.

Finalmente, hay otro grupo de compuestos relacionados a las hormonas vegetales y que han sido determinados en asociaciones endófito-planta. El endófito de la festuca, tendría la capacidad de producir ácido indol acético y ácido absético. De esta manera, las plantas infectadas, presentan mayores niveles de estas hormonas.

Distribución en la planta y en el tiempo

Los compuestos tóxicos, se concentran mayoritariamente en la base de las hojas y semillas y muy poco en las láminas y las raíces. A través del año, las mayores concentraciones de toxinas se encuentran en el verano y otoño y disminuyen considerablemente en invierno y primavera, lo que indica que los niveles están directamente relacionados con la temperatura ambiental.

Lo anterior, concuerda con la información entregada por Lane *et al.* (1997), en donde se indica que los niveles y la concentración del lolitrem B y ergovalina que produce el hongo, se incrementan en las estaciones de mayor temperatura ambiental y del suelo y por ende el riesgo de intoxicación de los animales. Otro fenómeno que explica niveles altos de lolitrem B y ergovalina en otoño, es que en esta época, la pradera puede tener una gran cantidad de material senescente, fracción que se caracteriza por poseer altos niveles acumulados de las toxinas (Keogh *et al.*, 1996).

Efecto sobre insectos

Los mecanismos de mayor tolerancia de las plantas, se explican principalmente por un rechazo al consumo, debido a la sensibilidad de los insectos hacia la presencia de endófitos o a los metabolitos presentes. Es importante mencionar además, que existen otros factores que están provocando inhibición en el consumo de especies forrajeras, principalmente por parte de *L. bonariensis*. Goldson (1982), indica que la resistencia de algunas especies y cultivares puede deberse a la presencia de “factores químicos antialimentarios”, uno de ellos puede ser un contenido más alto de celulosa en la planta.

En el Cuadro 3.1, se presenta el efecto del nivel de endófito sobre el daño causado por el gorgojo argentino del tallo en ballica de rotación, en un estudio realizado en el Centro Regional de Investigación (CRI) Remehue, Llano Central de la Xa Región de Chile.

Cuadro 3.1 Nivel de endófito, daño por gorgojo del tallo y población final en ballica de rotación.

Cultivar	Nivel endófito (% macollos infectados)	Macollos afectados (%)		Población final (macollos /m ²)
		Año 1	Año 2	
Tetrone	0	67	62	108
Abercomo	0	60	44	188
Aberoscar	0	6	30	835
Greenstone E*	37,5	6	29	750
Greenstone LE*	0	10	33	723

Fuente : Torres, *et al.*, 1997.

* LE (Low endosafe= Bajo endófito suave), E (Endosafe= Endófito suave).

Se aprecia que existen cultivares sin endófito, que toleran con éxito los ataques del gorgojo argentino del tallo, sobre todo en la primera temporada, como Aberoscar y Greenstone LE. Es importante destacar que Abercomo, a pesar del mayor daño, mantuvo un buen comportamiento en las dos primeras temporadas. El desempeño de Greenstone E, se debe probablemente a que el nivel de hongo que posee, no es suficiente para marcar una diferencia importante con Greenstone LE. En este trabajo queda claro, que al menos existe otro factor que influye en la tolerancia de algunos cultivares al ataque del *L. bonariensis* como lo plantea Goldson (1982).

La eficiencia de los endófitos, en la disminución de los efectos dañinos que provoca el gorgojo argentino del tallo, han hecho que el uso de cultivares infectados tengan éxito en los países con problemas causados por esta plaga, a pesar de los riesgos que se corren, sobretodo cuando se desconoce el manejo que se debe dar a estas forrajeras.

3.2 Determinación del hongo endófito

El nivel de endófito (% de plantas infectadas) de una pradera, dependerá del porcentaje de infección de la semilla con hongo viable que se utilice en el establecimiento de ésta. De lo anteriormente expuesto deriva la importancia de hacer un análisis para determinar el porcentaje de endófito en la semilla, para tener una primera aproximación de lo que posteriormente tendrá la pradera.

A continuación se describen las metodologías para determinar la presencia del hongo endófito, tanto en semillas como en las vainas de los macollos. La presencia del hongo endófito se determina por análisis microscópico, de acuerdo a la técnica descrita por Clark *et al.* (1983), usando como elemento principal la tinción con rosa bengala.

3.2.1 Determinación en la planta

Materiales

Microscopio ZEISS, para determinación hongos se usa objetivos 10x y 40 x.
Tinción rosa bengala 0,5% (P/V) disuelta en solución acuosa etílica al 5 %.
Bisturí.
Porta objeto.
Cubre objeto.
Macollos de ballica.

Metodología

Se prepara la muestra a partir de la zona basal de la vaina de cada macollo, para lo que se corta longitudinalmente una sección de la vaina.

Posteriormente, con un bisturí se procede a extraer la epidermis interna y se coloca la sección del tejido en un portaobjeto, dejando la epidermis externa hacia abajo. Inmediatamente después se aplica una gota de tinción de rosa bengala 0,5% Peso/Volumen (P/V) para luego cubrir la muestra con un cubreobjeto, se mantiene a temperatura ambiente por 1 minuto aproximadamente y se observa al microscopio ZEISS para determinación hongos, con objetivos 10x y 40 x.

Se consideran positivas o portadoras del hongo endófito, aquellas muestras que en la vaina de los macollos, presentan hifas de crecimiento intercelular, septadas, de aspecto enroscadas y que recorren en forma paralela las células del tejido.

3.2.2 Determinación en la semilla

Materiales

Microscopio ZEISS, para determinación hongos se usa objetivos 10x y 40 x.
Tinción rosa bengala , solución acuosa al 0,25% P/V .
Pinzas.

Porta objeto.
Cubre objeto.
Semillas de ballica.
Hidróxido de sodio (Na OH) al 5%.
Vaso precipitado de 1000 ml.
Agua destilada.

Metodología

En un vaso precipitado con solución de NaOH al 5% P/V, se ponen semillas de ballica por 16 horas, con el objeto de ablandarlas, al cabo de ese tiempo de exposición se lavan las semillas con abundante agua destilada para eliminar el exceso de hidróxido de sodio.

Se seleccionan semillas tratadas al azar y se procede a desglumarlas, luego se ubica la semilla en un portaobjeto, sobre la que se aplica una gota de solución de rosa bengala al 0,25% P/V. Después de un minuto se presiona la semilla con un cubre objeto y se observa al microscopio.

Al igual que en la determinación de las vainas de los macollos, se consideran positivas o portadoras del hongo endófito las muestras en donde es posible observar las hifas del hongo.

3.3 Determinación de toxinas

3.3.1 Preparación de las muestras

El procedimiento de toma de muestras y envío al laboratorio comienza con el corte de las plantas de ballica, se coloca de inmediato en una bolsa de plástico negro u otro envase que impida el ingreso de luz, se transporta de inmediato al laboratorio y con la menor temperatura posible se procede a su liofilización (secado en frío). Si esto no es posible, congelar la muestra a menos de -20°C para su envío al laboratorio de INIA en el CRI La Platina, que es el único en el país en hacer los análisis.

Después de la liofilización, las muestras se muelen y envasan manteniéndolas en oscuridad en cajas plásticas con sílica gel a menos de -20°C hasta su análisis.

3.3.2 Métodos analíticos

Para evaluar cada método se adicionó estándar puro a muestras sin endófito, en tres niveles diferentes de adición, con cinco repeticiones por nivel, considerando además un blanco de reactivos y la muestra testigo.

3.3.2.1 Determinación de lolitrem-B en ballicas

Extracción

La muestra es extraída con una mezcla de cloroformo/metanol, agitando por una hora. Luego se deja decantar y del sobrenadante se toma una alícuota la cual es evaporada con corriente de nitrógeno, a temperatura ambiente y bajo campana de seguridad.

Purificación

Este proceso se realiza en un equipo de extracción en fase sólida, con sistema de vacío. El extracto anterior se reconstituye con diclorometano y se pasa por micro columnas de sílica, la toxina es eluída con una mezcla de diclorometano/acetonitrilo. Se inyectan 20 μ l (microlitros) en el cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC).

Cuantificación

Equipo : HPLC Merck- Hitachi con detector de fluorescencia
Longitud de onda : De excitación 268 nm y de emisión 440 nm
Columna cromatográfica : Waters Zorbax de sílica
Fase móvil : Diclorometano/Acetonitrilo (80:20)

Las áreas o alturas de las muestras entregadas por el computador, se interpolan en una curva de estándar puro.

Recuperación (%) y límite de cuantificación

El porcentaje de recuperación promedio en cinco niveles de adición de estándar fue de 98,3%. El límite de cuantificación del método es de 0,05 mg kg^{-1} de ballicas liofilizadas.

3.3.2.2 Determinación de lolitrem-B en efluentes de ensilajes

La extracción se hizo por partición con una mezcla de cloroformo/metanol en tubos de ensayos y la purificación y cuantificación igual a la realizada para las muestras de ballicas.

El porcentaje de recuperación promedio fue de 97,04%. El límite de cuantificación para este método es de 0,015 mg/L de efluentes de ensilaje.

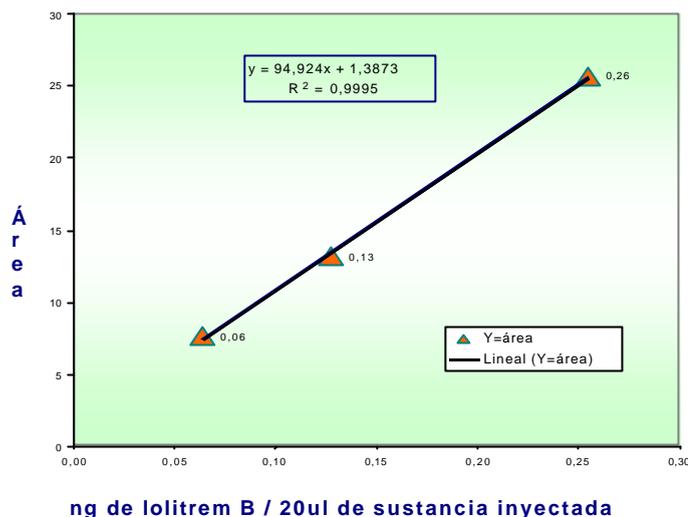


Figura 3.2 Curva para determinación de lolitrem B

3.3.2.3 Determinación de ergovalina en muestras de ballicas

Extracción

La muestra es extraída con una mezcla de cloroformo/NaOH 0,01N, se agita y luego se filtra por Buchner con vacío, ocupando papel Whatman 1PS para evitar residuos de humedad.

Purificación

Del filtrado se toma una alícuota que se hace pasar por una micro columna preparada con sílica HL más sulfato de sodio, la ergovalina es eluída con metanol, se filtra por Millipore y luego se inyectan 20 ul (microlitros) en el cromatógrafo.

Cuantificación

Equipo : HPLC Merck- Hitachi detector de fluorescencia
 Longitud de onda : de excitación 250 nm y de emisión 420 nm
 Columna cromatográfica : Waters X-Terra RP-18
 Fase móvil : Acetonitrilo/carbonato de amonio

Las áreas de las muestras, entregadas por el computador, se interpolan en una curva de estándar puro.

Recuperación (%) y límite de cuantificación

El porcentaje de recuperación promedio en cinco niveles de adición de estándar fue de 98.06%.

El límite de cuantificación del método es de 0,05 mg kg⁻¹ de ballicas liofilizadas.

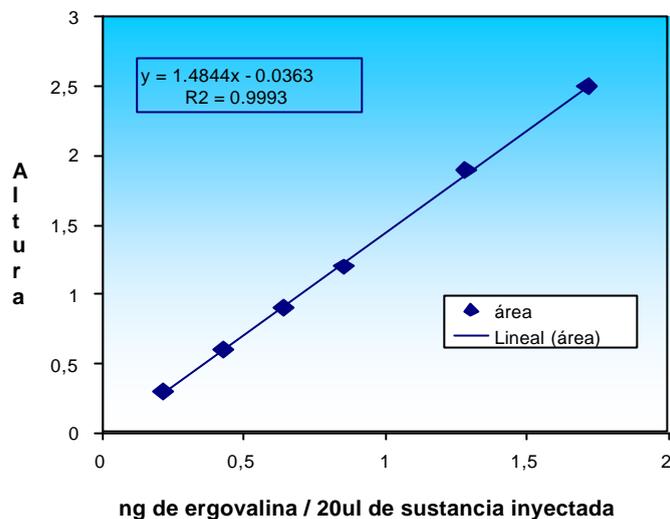


Figura 3.3 Curva para determinación de ergovalina

3.3.2.4 Determinación de peramina en ballicas

Extracción

La muestra se extrae primero con una mezcla de metanol/cloroformo y luego de la agitación, se hace una segunda extracción con agua/hexano, se agita nuevamente y luego se centrifuga.

Purificación

De la fase acuosa se toma una alícuota, se purifica usando el sistema de extracción en fase sólida con columnas de ácido carboxílico. La peramina es eluida y llevada a volumen con metanol. Se inyectan 20 ul (microlitros) en el cromatógrafo.

Cuantificación

Equipo : HPLC Merck- Hitachi con detector ultravioleta
 Longitud de onda : 280 nm
 Columna cromatográfica : Waters Zorbax de sílica
 Fase móvil : metanol/ácido fórmico/carbonato de guanidino

Las áreas de las muestras, entregadas por el computador, se interpolan en una curva de estándar puro.

Recuperación (%) y límite de cuantificación

El porcentaje de recuperación promedio fue de 87,7%.

El límite de cuantificación del método es de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de ballicas liofilizadas.

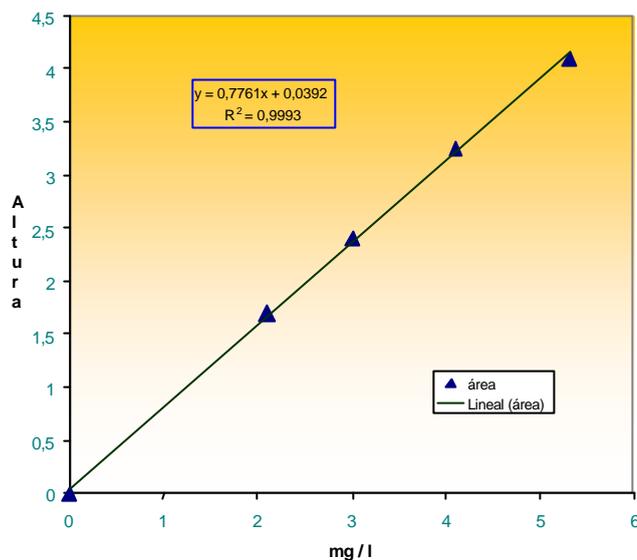


Figura 3.4 Curva para determinación de peramina

3.4 Evaluación de cultivares de ballicas

La necesidad de usar ballicas con hongo endófito depende de cada caso en particular. Donde existen antecedentes de ataques del gorgojo argentino de las ballicas, se deberían usar los cultivares que contengan el hongo. Este, no sólo protegerá a la planta de la plaga, sino que también provocará un mayor rendimiento (10% a 12%), mejor comportamiento frente al déficit hídrico estival, una persistencia más prolongada y tolerancia a otras plagas y enfermedades.

Sin embargo, de no existir pruebas de la presencia del gorgojo, el uso de ballicas con el hongo endófito debe ser cuidadosamente analizado, ya que si no se maneja bien este tipo de praderas, las toxinas producidas por el endófito, pueden provocar problemas de salud en los animales, con disminuciones de producción variables, de acuerdo a la gravedad de la intoxicación.

En la elección de un cultivar de ballica no sólo se debe considerar el nivel de endófito, sino que también su rendimiento, tolerancia al aluminio, precocidad, resistencia a la sequía, crecimiento invernal, vigor al establecimiento y calidad bromatológica, entre los más importantes.

Debido a lo anterior, se establecieron ensayos de cultivares en otoño del año 2000 en Los Lagos (Valdivia), Remehue (Osorno) y Nueva Braunau (Llanquihue); evaluándose por dos temporadas.

La fertilidad del suelo fue adecuada para el desarrollo de las ballicas en ambas temporadas y los niveles de nutrientes se corrigieron según el análisis de suelo.

En la Figura 3.5, se presentan los resultados del nivel de endófito encontrados en los diferentes cultivares de ballica perenne en las distintas localidades.

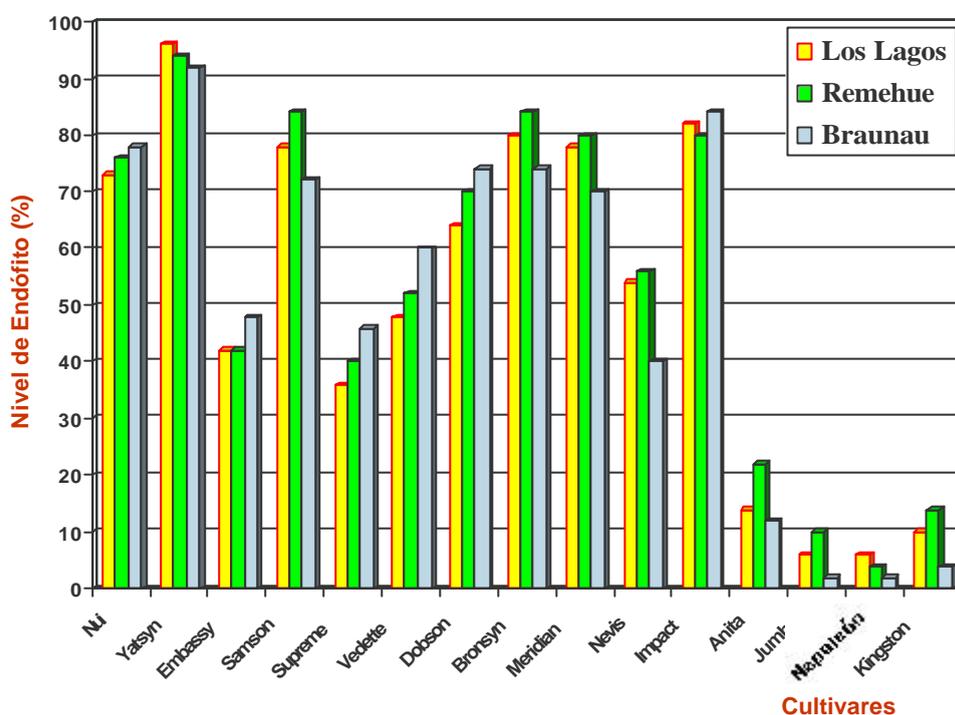


Figura 3.5 Nivel de endófito de la ballica perenne (%).

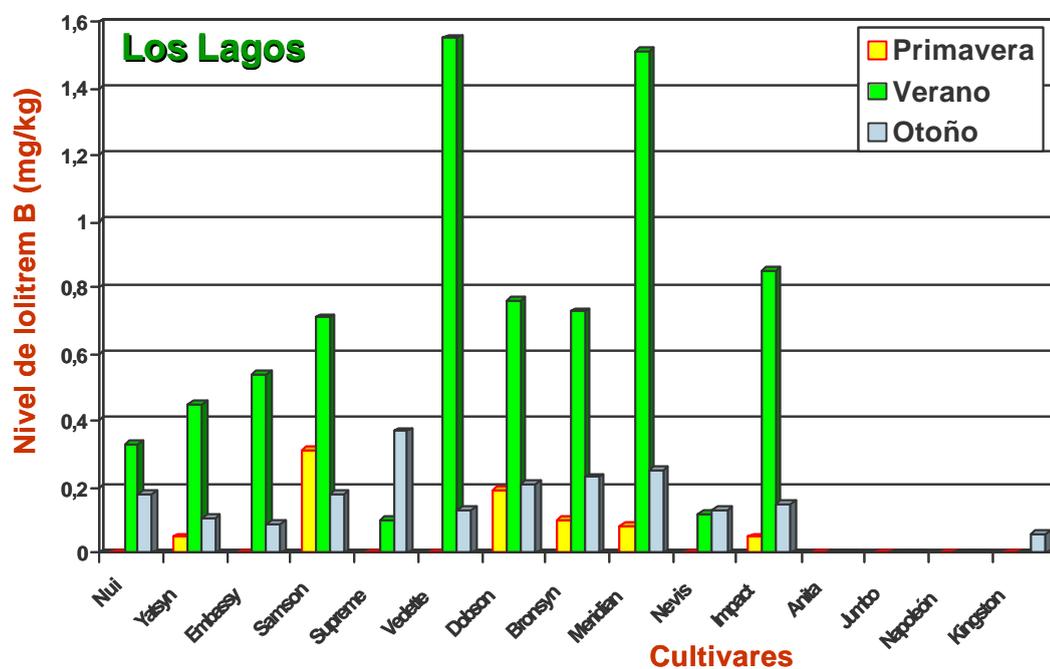
En relación al nivel de endófito, destaca el cultivar Nui con un 76% promedio, valor más alto encontrado en diferentes partidas de semillas analizadas, lo anterior, probablemente explica su buen comportamiento productivo. Este cultivar, no se comercializa con endófito y los diferentes niveles encontrados en la semilla importada desde Nueva Zelandia, se debe probablemente a la selección natural que produce el ataque del gorgojo en los semilleros de ese país, dejando cada vez más plantas con el hongo.

En el resto de los cultivares, la mayoría está dentro de lo normal. Sin embargo, hay cultivares que presentan niveles más bajos que lo descrito en ellas, como Supreme, Embassy, Nevis y Vedette. Esto, probablemente debido a que la viabilidad del hongo en la semilla, depende de factores como el tiempo de almacenamiento y sus

condiciones ambientales. A mayor tiempo de almacenaje, temperatura y humedad, menor viabilidad del endófito.

Otro grupo llama la atención por presentar pequeños porcentajes como Anita, Jumbo, Napoleón y Kingston, las que no deberían tener el hongo, esto puede deberse a contaminación con ballicas naturalizadas.

En la Figura 3.6 se presentan los niveles de lolitrem B de los cultivares por época del año en las tres localidades.



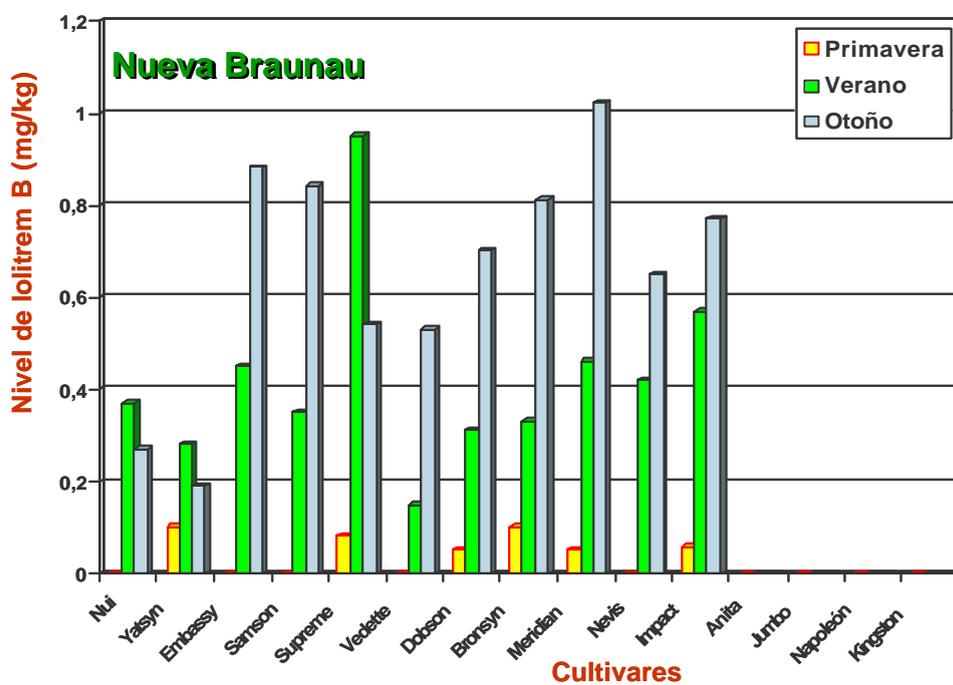
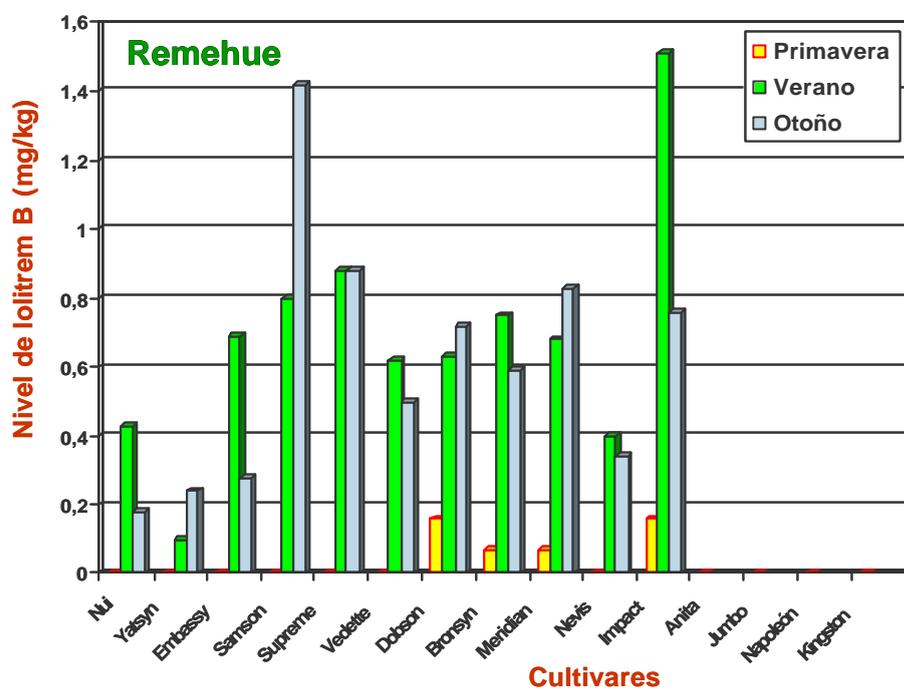
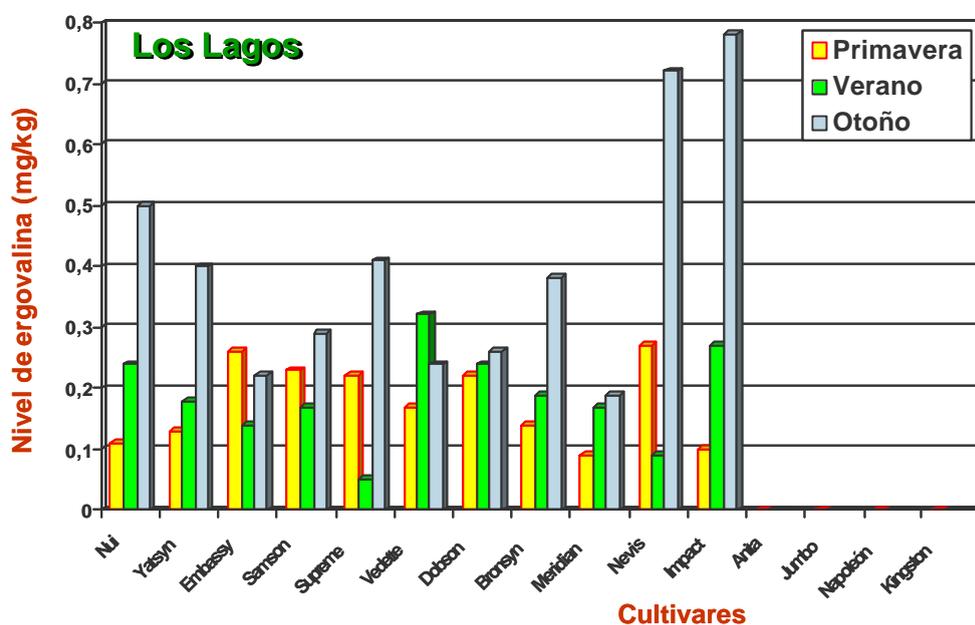


Figura 3.6 Nivel de lolitrem B de los cultivares por época del año en las tres localidades.

Se observa, que los valores se presentan significativamente más altos en verano en Los Lagos, siendo también otoño importante en Remehue y Nueva Braunau. Primavera es la época de menores niveles. Lo anterior concuerda con la información entregada por Lane *et al.* (1997), donde se indica que los niveles y la concentración del lolitrem B se incrementa en las estaciones de mayor temperatura ambiental y del suelo; por ende existe el riesgo de intoxicación de los animales. Otro fenómeno que explica niveles altos de lolitrem B en otoño es que en esta época, la pradera presenta alta cantidad de material senescente, fracción que se caracteriza por poseer altos niveles acumulados de la toxina (Keogh *et al.*, 1996).



El cultivar Impact es el que tiene el nivel más alto en las tres localidades; le siguen Samson, Meridian y Supreme. Por otra parte, entre los cultivares con endófito, los niveles más bajos de lolitrem B son para Yatsyn, Nui y Nevis. Finalmente, Anita, Jumbo, Napoleón y Kingston por no contener el endófito, no poseen lolitrem B.

En la Figura 3.7 se presentan los niveles de ergovalina de los cultivares por época del año en las tres localidades.

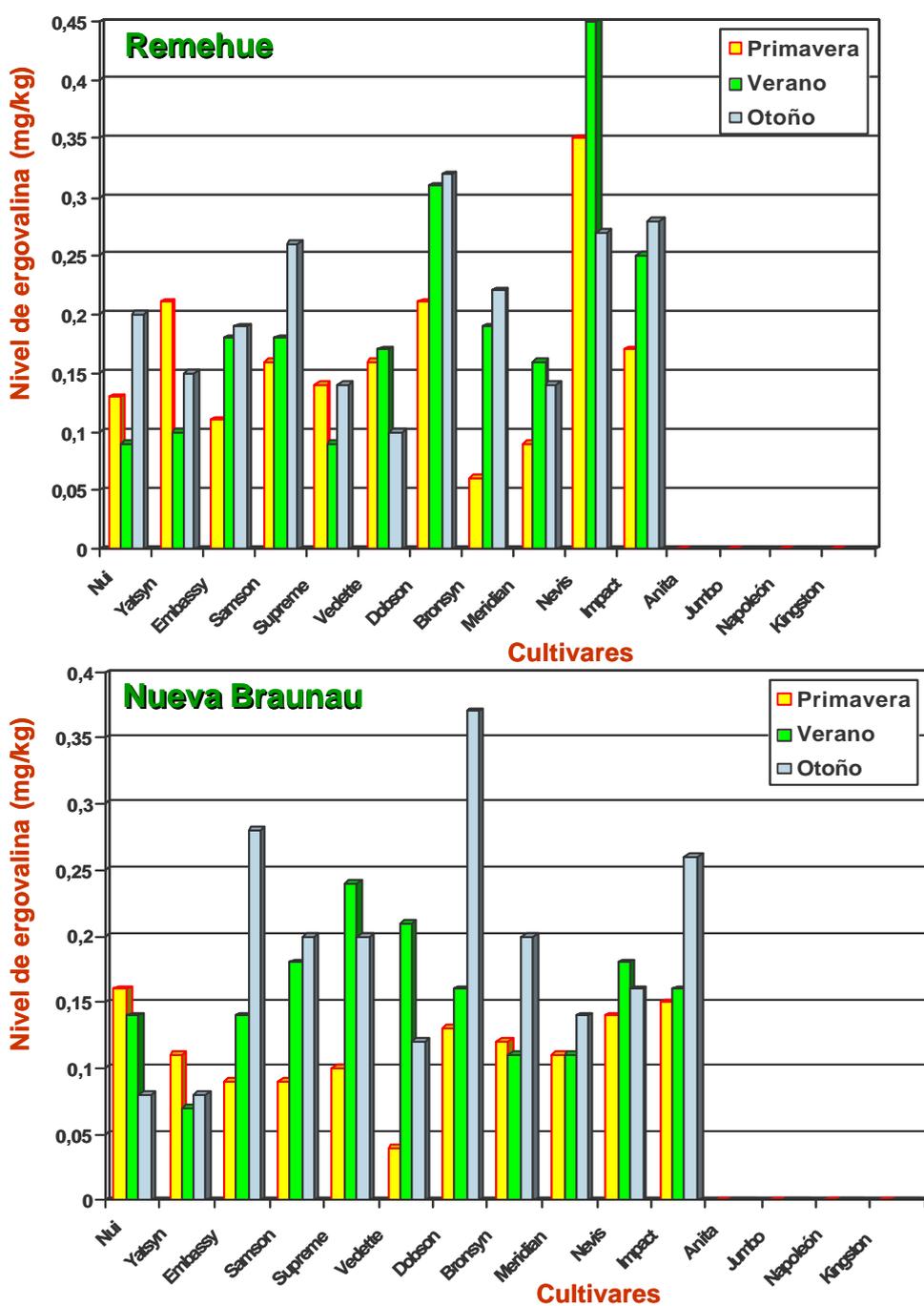
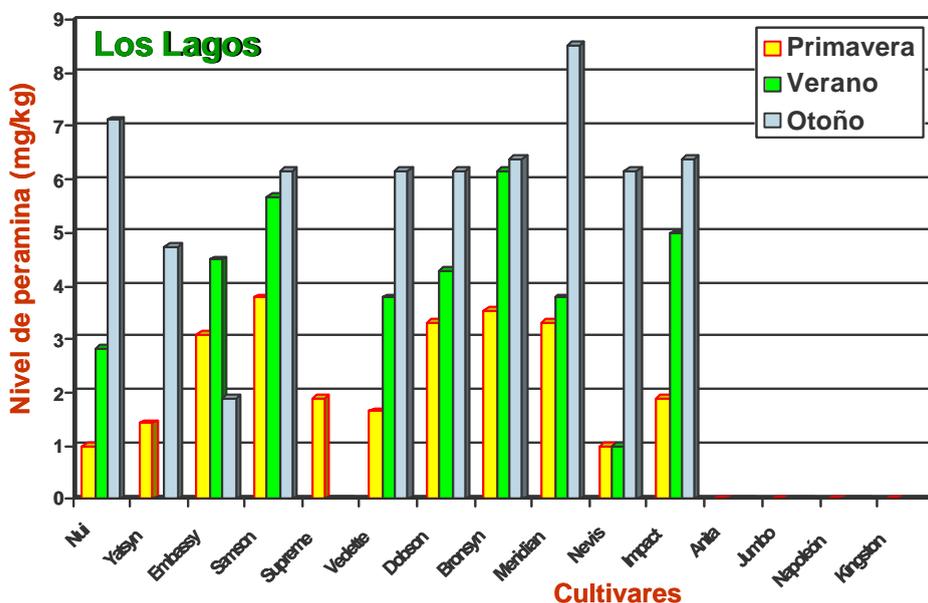


Figura 3.7 Nivel de ergovalina de los cultivares por época del año en las tres localidades.

Se puede observar, que los valores se presentan significativamente más altos en otoño en Los Lagos y Nueva Braunau, siendo también el verano importante en Remehue. Primavera es la época de los niveles más bajos. Al igual que con el lolitrem B, lo anterior concuerda con la información entregada por Lane *et al.* (1997), donde se indica que también los niveles y la concentración de ergovalina que produce el hongo se incrementa en las estaciones de mayor temperatura ambiental y del suelo, sin ser esta toxina de gran importancia por requerir de altas temperaturas para producir problemas en los animales. De la misma manera, los niveles altos de ergovalina en otoño se explican al igual que para lolitrem B, por la cantidad de material senescente en esta época (Keogh *et al.*, 1996).

El cultivar Impact contiene el nivel más alto de ergovalina en las tres localidades, le siguen Nevis, Dobson y Supreme. Finalmente, Anita, Jumbo, Napoleón y Kingston, por no tener endófito, no poseen ergovalina.

En la Figura 3.8 se presentan los niveles de peramina de los cultivares por época del año en las tres localidades.



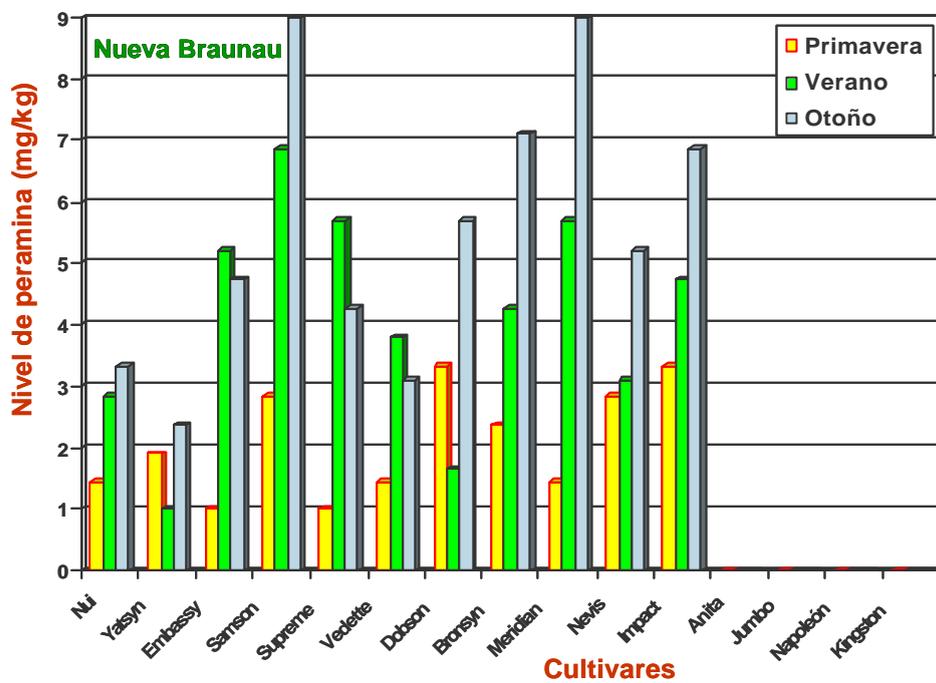
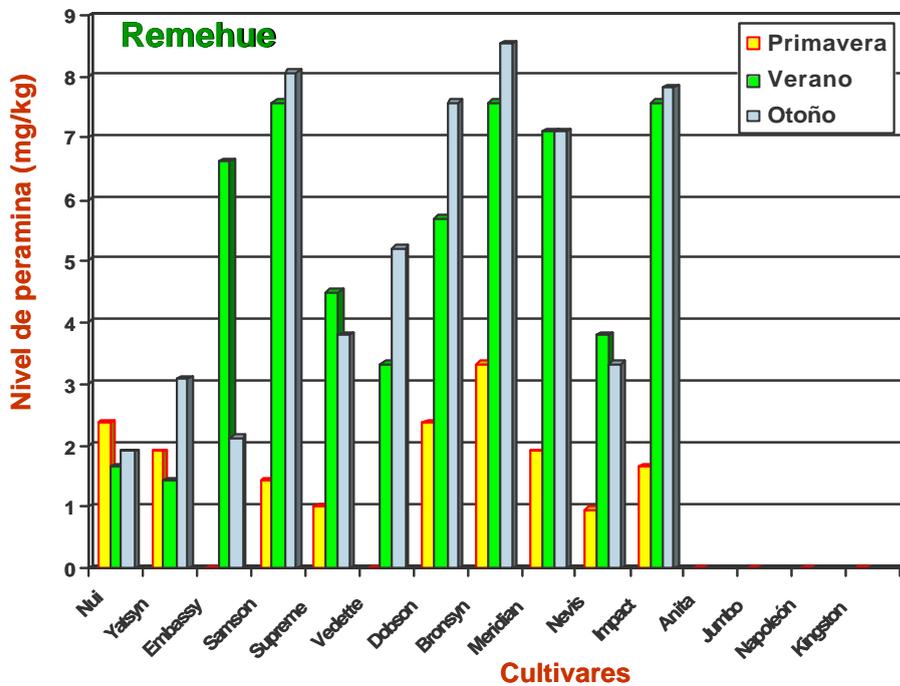


Figura 3.8 Nivel de peramina de los cultivares por época del año en las tres localidades.

Los valores se presentan significativamente más altos en otoño en Los Lagos y Nueva Braunau, siendo también el verano importante en Remehue. Primavera es la época de menor nivel de peramina.

Al igual que con el lolitrem B y ergovalina lo anterior, concuerda con la información entregada por Lane *et al.* (1997), quienes indican que la concentración de todos los metabolitos que produce el hongo se incrementa en las estaciones de mayor temperatura ambiental y del suelo. La peramina, es de gran importancia para repeler al *L. bonariensis*, además de otros insectos. A diferencia de lo que ocurre con lolitrem B y ergovalina, según Keogh *et al.* (1996), la peramina no se encuentra en el material senescente.

Lo anterior concuerda con información proveniente de Nueva Zelandia, donde se indica que los niveles de peramina también se incrementan en las estaciones de mayor temperatura.

Los cultivares con los niveles más altos de peramina en las tres localidades son Meridian, Samson, Bronsyn e Impact, le sigue el cultivar Dobson; mientras que Anita, Jumbo, Napoleón y Kingston, por no tener endófito, no poseen peramina.

En los Cuadros 3.2 y 3.3, se presenta el comportamiento de los cultivares de ballica perenne y de rotación, respectivamente, evaluados por su rendimiento, en las diferentes localidades de la Décima Región durante dos temporadas.

Cuadro 3.2 Rendimiento relativo (%) de ballicas perennes.

Los Lagos	%	Remehue	%	Nueva Braunau	%
Anita	100	Kingston	100	Yatsyn	100
Nui	100	Nevis	94	Dobson	99
Nevis	99	Vedette	92	Vedette	97
Yatsyn	99	Bronsyn	92	Supreme	96
Kingston	99	Nui	90	Nevis	94
Supreme	99	Yatsyn	89	Impact	94
Impact	97	Dobson	88	Bronsyn	93
Vedette	97	Meridian	87	Nui	92
Bronsyn	97	Embassy	86	Anita	91
Samson	96	Impact	86	Samson	90
Napoleón	93	Jumbo	85	Napoleón	90
Embassy	93	Anita	83	Embassy	88
Meridian	91	Samson	83	Jumbo	87

Dobson	88	Napoleón	81	Meridian	86
Jumbo	85	Supreme	80	Kingston	86

Cuadro 3.3 Rendimiento relativo (%) de ballicas de rotación.

Valdivia	%	Osorno	%	Llanquihue	%
Flanker	100	Cruzader	100	Cruzader	100
Ajax	94	Flanker	96	Flanker	99
Cruzader	94	Maverick	94	Maverick	96
Dominó	93	Dominó	88	Dominó	93
Concord	91	Conker	82	Concord	89
Conker	90	Concord	72	Conker	86
Maverick	90	Ajax	70	Sikem	86
Sikem	74	Sikem	62	Ajax	84

En los cuadros 3.2 y 3.3 se observa que los cultivares presentan distinto comportamiento productivo en las diferentes localidades. Sin embargo, hay cultivares que se mantienen en niveles similares en las tres localidades. Los valores indican el porcentaje de rendimiento obtenido con relación al cultivar de mayor producción. Diferencias menores de 10%, generalmente, no son significativas y pueden ser consideradas como similares.

La mayoría de los cultivares presenta un buen comportamiento, especialmente en la localidad de Los Lagos (Valdivia), le sigue Nueva Braunau (Llanquihue) y finalmente Remehue (Osorno), donde las diferencias son mayores.

Considerando el comportamiento en las tres localidades en ballica perenne, destacan los cultivares Yatsyn, Nevis, Vedette, Kingston y Bronsyn, siendo los de menor rendimiento, Samson, Embassy, Napoleón, Meridian y Jumbo.

En el caso de las ballicas de rotación, destacan los cultivares Flanker, Cruzader, Maverick y Dominó, siendo el cultivar de menor rendimiento, Sikem.

3.5 Localización y evolución de toxinas

Se estudió la evolución dinámica de las toxinas del hongo endófito (*N. loli*) en distintas épocas del año y su localización en diferentes partes de la planta en tres cultivares de ballica perenne; Yatsyn 1, Nui y Kingston. Los estratos del perfil de la pradera fueron; 0 a 4 cm, 4 a 8 cm y sobre 8 cm.

En el Cuadro 3.4 se muestran los resultados del análisis de endófito en los diferentes cultivares en primavera – verano.

Cuadro 3.4 Nivel de endófito (%) por cultivar en primavera – verano.

Cultivar	Septiembre	Noviembre	Enero
	2001	2001	2002
	(%)	(%)	(%)
Yatsyn	74	86	88
Nui	20	14	12
Kingston	0	0	0

Se puede observar que no hay grandes cambios entre las diferentes fechas de muestreo. Sin embargo, como era de esperar el nivel más alto corresponde al cultivar Yatsyn, un nivel intermedio para Nui (varía entre 0 y 78%, en semillas que se encuentran en el mercado) y sin la presencia de endófito el cultivar Kingston.

En los Cuadros 3.5, 3.6 y 3.7 se muestran los resultados de los análisis de lolitrem B, ergovalina y peramina, respectivamente en los diferentes cultivares a través del año.

Cuadro 3.5 Nivel de lolitrem B (ppm) por cultivar a través del año.

Cultivar	Estrato	Oct	Dic	May	Ago
	(cm)	2001	2001	2002	2002
		(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)
Nui	0 - 4 cm	0,06	0,13	0,1	0
Nui	4 - 8 cm	0,05	0,05	0,05	0
Nui	> 8 cm	0	0	0	0
Yatsyn	0 - 4 cm	0	0,35	0	0,15
Yatsyn	4 - 8 cm	0	0,1	0	0,17
Yatsyn	> 8 cm	0	0	0	0,22
Kingston	0 - 4 cm	0	0	0	0
Kingston	4 - 8 cm	0	0	0	0
Kingston	> 8 cm	0	0	0	0

Cuadro 3.6 Nivel de ergovalina (ppm) por cultivar a través del año.

Cultivar	Estrato (cm)	Oct 2001 (ppm)	Dic 2001 (ppm)	May 2002 (ppm)	Ago 2002 (ppm)
Nui	0 - 4 cm	0,15	0,05	0,08	0
Nui	4 - 8 cm	0,12	0,05	0	0,09
Nui	> 8 cm	0,11	0	0	0,05
Yatsyn	0 - 4 cm	0	0,08	0	0
Yatsyn	4 - 8 cm	0,06	0	0	0
Yatsyn	> 8 cm	0	0	0	0
Kingston	0 - 4 cm	0	0	0	0
Kingston	4 - 8 cm	0	0	0	0
Kingston	> 8 cm	0	0	0	0

Cuadro 3.7 Nivel de peramina (ppm) por cultivar a través del año.

Cultivar	Estrato (cm)	Oct 2001 (ppm)	Dic 2001 (ppm)	May 2002 (ppm)	Ago 2002 (ppm)
Nui	0 - 4 cm	0	0	0	0
Nui	4 - 8 cm	0	0	1	1
Nui	> 8 cm	1,42	0	0	1
Yatsyn	0 - 4 cm	0	0	0	0
Yatsyn	4 - 8 cm	0	0	0	0
Yatsyn	> 8 cm	0	0	0	0
Kingston	0 - 4 cm	0	0	0	0
Kingston	4 - 8 cm	0	0	0	0
Kingston	> 8 cm	0	0	0	0

Se observa, que sólo los cultivares con endófito presentan las toxinas lolitrem B, ergovalina y peramina en algunas épocas del año, estos son Nui y Yatsyn.

Es importante también mencionar, que en los meses de enero, febrero y marzo, los que deberían tener valores más altos de toxinas, no se pudieron muestrear por el nulo crecimiento de la pradera, dado el déficit hídrico estival.

Los valores de lolitrem B y ergovalina encontrados son bajos en general, lo que no permite ver con claridad las tendencias estacionales ni de los diferentes estratos de la planta. Davies *et al.* (1993), encontraron valores entre 0,4 y 3,9 ppm para lolitrem B y 0 a 1,5 ppm para ergovalina. El comportamiento del cultivar Nui está más cercano a lo que se menciona en la literatura, mayores contenidos hacia la base de la planta (Keogh *et al.*, 1996) y en épocas más calurosas (Lane *et al.*, 1997).

La peramina sólo se encontró en el cultivar Nui, con alguna tendencia a tener más toxina en las partes superiores de las plantas. Davies *et al.* (1993), encontraron entre 22,1 a 25,9 ppm de peramina.

3.6 Minisilos

Se confeccionaron minisilos en tres estados fenológicos de corte: bota, inicio de espigadura y espiga completa. Se realizaron dos tratamientos de pre-ensiladura: corte directo y premarchito (8 horas).

La acumulación de forraje al estado de bota, fue de 3.500 a 4000 kg/ha de materia seca, con un 14,6 % de materia seca.

El nivel de endófito de las praderas fue 94,5 % para la ballica Yatsyn con el hongo endófito (E+) y 2 % para la ballica sin endófito (E-).

En el Cuadro 3.8, se presentan los resultados de los análisis nutricionales y parámetros fermentativos de los minisilos, producto de los diferentes tratamientos en estudio.

Cuadro 3.8 Resultados de los análisis bromatológicos.

Estado Fenológico	Corte	Endófito	Materia seca (%)	Proteína (%)	E.M. (Mcal/kg)	pH	N-NH ₃
Bota	Directo	E+	16,0	25,2	2,60	4,8	13,2
Bota	Premarchito	E+	26,0	26,3	2,69	4,2	6,5
Inicio espiga	Directo	E+	15,5	19,8	2,53	4,6	12,3
Inicio espiga	Premarchito	E+	32,2	19,1	2,68	4,2	5,5
Espiga	Directo	E+	19,2	13,6	2,36	3,9	8,4
Espiga	Premarchito	E+	34,2	12,0	2,34	4,2	6,2
Espiga	Directo	E-	17,9	14,6	2,44	4,0	8,7
Espiga	Premarchito	E-	33,2	11,9	2,34	6,0	18,7

En el Cuadro 3.8 se observa que el contenido de materia seca es mayor en el ensilaje premarchito que en el corte directo. La proteína total es mayor en ensilaje de corte más temprano, al igual que el contenido de energía.

En relación a los parámetros fermentativos (pH y nitrógeno amoniacal) presentan valores normales, excepto en el tratamiento de ballicas con espiga, sin endófito y premarchito. Lo anterior, probablemente debido al ingreso de aire a las bolsas que lo contenían. También presentan algún problema los de corte directo en estados de bota e inicio de espiga, debido probablemente a la baja materia seca al corte.

En el Cuadro 3.9, se presentan los resultados de los análisis de lolitrem B y ergovalina de los ensilajes, producto de los diferentes tratamientos en estudio.

Cuadro 3.9 Contenido de lolitrem B y ergovalina (ppm) en los diferentes ensilajes.

Estado Fenológico	Corte	Endófito	Lolitrem B (ppm)	Ergovalina (ppm)
Bota	Directo	E+	0,075	0,155
Bota	Premarchito	E+	0,050	0,053
Inicio espiga	Directo	E+	0,085	0,350
Inicio espiga	Premarchito	E+	0,038	0,150
Espiga	Directo	E+	0,138	0,295
Espiga	Premarchito	E+	0,288	0,155
Espiga	Directo	E-	0	0
Espiga	Premarchito	E-	0	0

Se puede observar que los niveles de lolitrem B y ergovalina, en general son bajos. Probablemente se producen pérdidas de esta toxina en el proceso de ensilado y durante la fermentación, en donde ocurre un fuerte aumento de temperatura y acidez (bajo pH).

Dentro de los estados fenológicos de corte, el estado de espiga es el que presenta valores un poco más altos de ambas toxinas, lo que coincide con la migración del hongo a este estrato de la planta (Keogh *et al.*, 1996). Por otra parte, como era de esperar, los ensilajes de ballica sin endófito, no presentan toxinas.

Es importante destacar que la ergovalina tiende a presentar menor contenido en el ensilaje premarchito, esto puede deberse a la pérdida de agua o deshidratación en el proceso de premarchitamiento, donde también se arrastran otros compuestos, principalmente nutritivos.

3.7 Literatura citada

- BACON, C.W. and DE BATTISTA, J. 1991. Endophytic fungi of grasses. *In*: Handbook of Applied Mycology. Vol 1 : Soil and Plants. 9 : 231-254.
- CLARK, E.M., WHITE, J.F., and PATTERSON, R.M. 1983. Improved histochemical techniques for the detection of *Acremonium* in tall fescue and methods of in vitro culture of the fungus. *Journal of Microbiological Methods* 1: 149-155.
- DAVIES, E., LANE, G., LATCH, B., TAPPER, B., GARTHWAITE, I., TOWERS, N., FLETCHER, L. and POWELL, D. 1993. Alkaloid concentrations in field-grown synthetic perennial ryegrass endophyte associations. *Proceedings of the Second International Symposium on Acremonium/grass interactions*. (edited by Hume, D.; Latch, G. and Easton, H.), 72-76
- GALDAMES, R. 1990. El endófito de la Festuca. *IPA Carillanca*. Año 9, N° 3 ISSN-5943. Temuco, Chile. P 3-6.
- GALDAMES, RAFAEL. 1995. El hongo endófito de la festuca, *Acremonium coenophialum* MORGAN-JONES & GAMS, y su incidencia en el sur de Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 55 (1) : 67-70 (Enero – Marzo, 1995).

- GALDAMES, R. 1995. Hongos endófitos en praderas y sus implicancias en la ganadería *In*: Seminario de Protección Vegetal. CRI-Carillanca, INIA. Serie Carillanca N° 45. ISSN 0716-7679. P : 59-76.
- GOLDSON, S.L. 1982. An examination of the relationship between Argentine stem weevil (*Listronotus bonariensis* (Kuschel)) and several of its host grasses. New Zealand Journal of Agricultural Research. 25 : 395-403.
- KEOGH, R.G., TAPPER, B.A. AND FLETCHER, R.H. 1996. Distributions of the fungal endophyte *Acremonium lolii*, and the alkaloids lolitrem B and peramine, within perennial ryegrass. New Zealand Journal of Agriculture Research, 39: 121-127.
- LANE, G.A., TAPPER, B.A., DAVIES, E., HUME, D.E., LATCH, G.C.M., BARKER, D.J., EAST, H.S. AND ROLSTON, M.P. 1997. Effect of growth conditions on alkaloid concentrations in perennial ryegrass naturally infected with endophyte. Proceedings of 3rd International Symposium on Neotyphodium/Grass Interactions (Eds. Bacon and Hill), 179-182.
- LATCH, G.C.M. and CHRISTENSEN, M.J. 1982. Ryegrass endophyte, incidence and control. New Zealand Journal Agricultural Research. 25 :443-448.
- LATCH, G.C.M., CHRISTENSEN, M.J. and SAMUELS, G.J. 1984. Five endophytes of *Lolium* and *Festuca* in New Zealand. Micotaxon Vol XX, 2 :535-550.
- LATCH, G.C.M., HUNT, W.F. and MUSGRAVE, D.R. 1985. Endophytic fungi effect growth of perennial ryegrass. New Zealand Journal of Agricultural Research. 28 :165-168.
- LATCH, G.C.M., POTTER, L.R. and TYLER, B.F. 1987. Incidence of endophytes in seeds from collection of *Lolium* and *Festuca* species. Ann. Appl. Biol. 11 :59-64.
- PRESTIDGE, R.A. and THOM, E.R. 1994. Facts about endophyte. Proceedings 46th. Ruakura Farmers' Conference. P : 54-59.
- TORRES, A., CISTERNAS, E. y ANGULO, L. 1997. El rol del endófito (*Acremonium lolii*) en la tolerancia a la plaga *Listronotus bonariensis* de la ballica de rotación (*Lolium multiflorum*). XXII Reunión Anual SOCHIPA A.G., 29 al 31 de octubre de 1997, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. P 11-12.

Capítulo 4

CONSUMO DE BALLICAS CON ENDOFITO EN BOVINOS Y SALUD ANIMAL: “SÍNDROME TEMBLOR DE LAS BALLICAS”

Oscar Araya V., Fernando Wittwer M., Francisco Lanuza A. y Héctor Uribe M.

4.1 Introducción

Diversos cultivares de ballicas han sido introducidos a Chile en los últimos años con el objeto de mejorar su potencial para la producción de leche y carne, ya que este hongo produce peramina, alcaloide que permite controlar el daño a las plantas producido por el gorgojo argentino (*Listronotus bonariensis*). Sin embargo este hongo también produce otro alcaloide, lolitrem B, que induce la presentación de los cuadros tremorgénicos en los animales que consumen estas ballicas.

Los síndromes tremorgénicos comprenden una serie de cuadros tóxicos del bovino, que se caracterizan por una reducida función neuromuscular, que provoca temblores musculares que pueden variar desde leves, en los músculos del cuello y escápula, hasta ataxia e incoordinación total, lo que pueden llevar a la muerte; siendo ésta, de muy baja ocurrencia. Entre los cuadros que presentan esta signología están, además del temblor de las ballicas, el ergotismo convulsivo, cuadros tremorgénicos producidos por hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* y toxicidad anual por ballica.

4.2 Temblor de las ballicas

El síndrome “temblor de las ballicas” (“Ryegrass staggers”) es una alteración neuromuscular que afecta a bovinos, ovinos, caballos y otros animales que pastorean praderas con predominio de ballicas (*Lolium perenne* L) inoculadas con el hongo endófito *Neotyphodium lolii*. El cuadro clínico se presenta en los animales con grados variables de hiperexcitabilidad, incoordinación de movimientos, hipermetría, caminar rígido y ataxia.

Los efectos neurológicos son temporales y, aunque la mayoría de las veces los animales se recuperan rápidamente del cuadro clínico, en algunos casos este persiste por varios días. Los animales generalmente aparecen normales hasta ser sometidos a algún ejercicio, lo que complica la situación especialmente en animales que deben ser movidos diariamente de un lugar a otro, como es el caso de las vacas de lechería.

La morbilidad es bastante variable entre rebaños con porcentajes que van de 5 a 75%, pero la mortalidad es muy baja ocurriendo más bien como consecuencia de accidentes, como caída de los animales desde barrancos, dentro de pozos, bebederos o esteros, como consecuencia de la actividad neuromuscular incontrolable.

Los agentes causales son compuestos llamados tremógenos, de los cuales el más importante es el lolitrem B, un alcaloide producido por el hongo endófito *Neotyphodium lolii* (DiMenna *et al.*, 1992). El año 1981 fue reportado por primera vez el aislamiento de dos potentes neurotoxinas desde praderas en donde los animales enfermaban del síndrome, proponiendo el nombre general de lolitremos para estas toxinas, basados en su asociación con ballicas (*Lolium perenne* L) y de su habilidad para producir temblores musculares en los animales (Gallagher *et al.*, 1981).

El “temblor de las ballicas” comenzó a cobrar importancia a comienzo de la década del noventa en el sur de Chile, observándose con frecuencia en ganaderías que utilizan cultivares de ballicas inoculadas como principal recurso forrajero (Araya, 1995). En el Hospital Veterinario de la Universidad Austral se han recibido caballos provenientes de predios en que también se habían observado bovinos afectados con signos nerviosos correspondientes a la intoxicación. La frecuencia de presentación del cuadro es muy variable, ya que depende de condiciones de clima, y se presenta especialmente durante el verano-otoño. Condiciones ambientales como el déficit de agua ha sido asociado con el aumento de las concentraciones de lolitrem B. Se ha señalado que la ergovalina y el lolitrem B están en bajas concentraciones en la primavera temprana y van en aumento en la medida que se elevan las temperaturas y comienza el desarrollo reproductivo.

También en el verano existe una presencia mayor de hojas senescentes en la pradera que pueden ser una fuente significativa de toxinas (Easton, 1999). Estas condiciones mencionadas, asociadas a la localización del lolitrem B en las partes bajas de la planta y/o en las semillas, pueden ser factores que condicionan la presentación del cuadro en los animales que consumen estas ballicas como única ración alimenticia.

El “temblor de las ballicas” se caracteriza por ser una intoxicación de naturaleza transitoria, produciéndose los signos clínicos de tipo neuromuscular después de 7 a 14 días de exposición continua en praderas de ballicas con endófito y con condiciones climáticas favorables para el desarrollo del cuadro clínico. Los animales en reposo pueden parecer no afectados o tener leves movimientos de la cabeza y ocasionalmente temblores.

Cuando los animales son sometidos a algún tipo de tensión aparecen los signos clínicos en forma violenta caracterizados por un caminar envarado (Fotografía 4.1), temblores de la cabeza y con movimientos rápidos de la cola, los cuales pueden generalizarse posteriormente a músculos de la escápula y miembros posteriores, que finalmente llevan a la caída de los animales. En la mayoría de los casos, al ser sometidos a ejercicio los animales presentan caminar envarado, con un paso “robótico”, debilidad en los miembros anteriores, con lo cual los animales tropiezan y caen. En el suelo presentan severas convulsiones, tetania y opistótonos, los cuales pueden persistir por largos períodos de tiempo. Al dejarlos tranquilos estos signos cesan y los animales se reincorporan en algunos minutos, particularmente en los casos menos severos. En casos extremos, ellos quedan postrados por varios días. Los animales afectados de forma moderada no pueden ejecutar movimientos rápidos como consecuencia de la

rigidez del tronco y las extremidades y por su tendencia a la caída. Para estos animales es muy difícil cambiar de dirección en su desplazamiento.



Fotografía 4.1 Vaca con ataxia en síndrome “temblor de las ballicas”

Además de los signos nerviosos, otro signo que se puede observar son los esfuerzos aparentes que realiza el animal para frotar el abdomen con la punta de las extremidades posteriores. La anomalía de los reflejos posturales conduce a decúbito lateral o decúbito esternal, con las patas traseras estiradas (Fotografía 4.2).



Fotografía 4.2 Decúbito esternal en vaca con síndrome “temblor de las ballicas”

Las ovejas, caballos y venados son señalados como los animales más susceptibles a la intoxicación con endófitos de la ballica, debido a su hábito de pastoreo más bajo. En las vacas de lechería el problema es menos frecuente debido a que se les cambia rutinariamente a praderas en fase de crecimiento.

Además de los problemas neurotóxicos producidos por el endófito de la ballica, se han observado disminuciones en las tasas de incremento de peso, especialmente en periodos estivales y a inicios de otoño; adicionalmente se describe un aumento en la frecuencia respiratoria en forma más marcada que en el aumento de la temperatura corporal (Fletcher, 1993).

Los exámenes de laboratorio son útiles como elemento de ayuda en el diagnóstico diferencial ya que los animales no presentan ningún cambio hematológico o bioquímico sanguíneo importante. En los casos clínicos es posible encontrar un aumento de la actividad sérica de las enzimas aspartato amino transferasa (AST) y creatinfosfoquinasa (CK) que están relacionados con el daño de las células musculares consecuente a la severa actividad tremorgénica. De igual manera éstas enzimas se pueden encontrar muy elevadas, AST > 500 unidades por litro (U/L); CK > 1000 U/L en casos de traumatismos producto de golpes o caídas que pueden presentar los animales como consecuencia de su incoordinación.

A la necropsia no se han observado lesiones definidas importantes; en algunos casos crónicos de intoxicación es posible identificar, a nivel de cerebelo una axonopatía proximal de las células de Purkinje, las que corresponden a una tumefacción celular (Familton *et al.*, 1995) y rarificación de la sustancia blanca. Se presenta palidez macroscópica de los músculos esqueléticos e histológicamente se observan áreas focales de necrosis hialina. Sin embargo, estas lesiones serían secundarias a la anoxia y traumas de la fase convulsiva y de el decúbito prolongado.

El diagnóstico se puede realizar mediante la anamnesis y signología clínica de animales que pastorean ballicas perennes en los períodos críticos.

4.3 Diagnóstico y diagnóstico diferencial con otros cuadros tremorgénicos

Hay que tener en consideración que esta intoxicación es muy semejante a otros cuadros tremorgénicos que afectan al bovino, algunas de los cuales ya se han mencionado previamente, de los cuales haremos aquí una breve descripción de ellos.

4.3.1 Ergotismo convulsivo

Este cuadro ha sido descrito en bovinos a pastoreo en el sur de Chile producto del consumo de una pradera mixta constituida por ballica (*Lolium perenne*), pasto dulce o miel (*Holcus lanatus*) y pasto ovilla (*Dactylis glomerata*) y fuertemente afectada con esclerocios de “cornezuelo del centeno” (*Claviceps purpurea*), (Poo y Araya, 1989).

Este cuadro también ha sido descrito en diversos países como consecuencia de la ingestión de pastos atacados por *Claviceps paspalli*. Pareciera ser que el cuadro tremorgénico se produce por estos 2 tipos de hongos, dependiendo su presentación del pastoreo en praderas sobremaduras, fuertemente contaminadas con estos hongos, al final de veranos húmedos y calurosos. La presentación del cuadro estaría condicionada entonces por el consumo de alta cantidad de *Claviceps* en un corto período de tiempo. Un bovino adulto necesitaría consumir 1 a 4 kg de espigas con alto contenido de esclerocios por 2 a 6 días para presentar signos clínicos. La intoxicación en este caso se debe a la presencia de alcaloides indólicos, los que son polipéptidos derivados del ácido lisérgico. La morbilidad puede alcanzar a un 30-50% en 2 a 3 días en una pradera muy contaminada.

4.3.2 Síndrome tremorgénico por *Aspergillus* y *Penicillium*

Los hongos de estos géneros producen al menos seis diferentes tipos de micotoxinas tremorgénicas. Hay que tener en consideración que algunos de estos hongos se encuentran normalmente en el suelo y pueden ser ingeridos accidentalmente por los animales cuando se produce sobrepastoreo.

Los signos clínicos de esta intoxicación corresponden en general a lo descrito para los otros cuadros tremorgénicos descritos en este trabajo. En este caso los temblores musculares son muy finos, pero aumentan marcadamente al mover los animales. Los terneros afectados se balancean rítmicamente, manteniendo las manos separadas y rígidas.

4.3.3 Toxicidad anual por ballica

Es un cuadro neurológico con las características de un cuadro tremorgénico, causado por el consumo de espigas de ballica infectadas por un estado larvario del nemátodo *Anguina agrostis*. El nemátodo se encuentra infectado por un *Corynebacterium*, el cual produce una toxina del grupo de los glicolípidos, llamada corynetoxina (Vogel, 1987). El nemátodo parece tener una función más bien de vector, siendo la toxina bacteriana la causante del problema.

El cuadro clínico se caracteriza por disturbios neurológicos intermitentes, manifestados por ataxia, colapso, temblores y convulsiones, a menudo seguido de la muerte de los animales. Los animales caen al principio durante unos pocos segundos, para luego recuperarse. A medida que el cuadro progresa, los animales caen, presentan opistótonos, convulsiones y mueren. La alta mortalidad diferencia este cuadro de los otros síndromes tremorgénicos, particularmente del temblor de las ballicas.

4.3.4 Diagnóstico diferencial de los síndromes tremorgénicos y otros cuadros con signología nerviosa.

En la mayoría de los síndromes tremorgénicos descritos, los animales sólo presentan signos evidentes al ser movidos o estimulados de alguna manera, generalizándose rápidamente su presentación dentro del piño frente a estos estímulos. Posteriormente al dejarlos tranquilos por algunos minutos los signos van desapareciendo rápidamente en el grupo de animales.

Entre los cuadros que presentan alguna signología similar a los síndromes tremorgénicos están las intoxicaciones por insecticidas hidrocarburoclorados, actualmente de escasa presentación. Otros cuadros que podrían llevar a confusión y deberían tenerse en consideración, están la hipomagnesemia y la acetonemia, que pueden ser diferenciados mediante la anamnesis, sus signos clínicos específicos para cada uno de ellos y las determinaciones a nivel de laboratorio de concentraciones disminuidas de magnesio en sangre u orina o aumentos de cuerpos cetónicos en sangre o leche.

Literatura citada

- ARAYA, O. 1995. Síndromes tremorgénicos en bovinos. Buiatría. 2: 6-9
- DI MENNA, M., P. MORTIMER, R. PRESTIDGE, A. HAWKES, J. SPROSEN. 1992. Lolitrem B concentrations, counts of *Acremonium lolii* hyphae, and the incidence of ryegrass staggers in lambs on plots of *A.lolii* – infected perennial ryegrass. N. Z. J. Agric. Res. 35:211-217.
- EASTON, S. 1999. A background to endophytes. Dairy Farming Annual. Ed. Massey University, N.Z. pp. 17-28.
- FAMILTON, A., L. FLETCHER, D. POWNALL. 1995. Endophytic fungi in grasses and their effect on livestock. Proceedings 25th sheep and beef cattle seminar. Massey University, New Zealand. pp.160-173
- FLETCHER, L. 1993. Grazing ryegrass/endophyte associations and their effect on animal health and performance. Proceedings of the second international symposium on *Acremonium* /grass interactions. Ed. Hume, Latch & Easton. Palmerston North, N. Z. pp.115-120.
- GALLAGHER, R., E. WHITE, P. MORTIMER. 1981. Ryegrass staggers; Isolation of potent neurotoxins lolitrem A and lolitrem B from staggers producing pastures. N.Z. Vet. 29: 189-190.
- POO, L., O. ARAYA. 1989. Ergotismo convulsivo en novillos debido a la ingestión de gramíneas infectadas por *Claviceps purpúrea*. Arch. Med. Vet. 21: 66-68
- VOGEL, P. 1987. Annual Ryegrass Toxicity. Proceeding 103. Veterinary Clinical Toxicology. The University of Sidney. Australia.

Capítulo 5

EFECTO DEL CONSUMO DE BALLICAS CON ENDÓFITO (*N.lolii*) SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y CARNE BOVINA

Francisco Lanuza A.; Héctor Uribe M.; Oscar Araya V. ; Fernando Wittwer M.;
Alfredo Torres B.; Ernesto Cisternas A.; Stella Moyano A. ;
Nelly Morales R. y Cristián Vergara M.

5.1 Introducción

La alimentación del rebaño bovino en base a praderas es uno de los pilares estructurales de los sistemas lecheros en el Sur de Chile, ya que este ítem participa entre un 45-55% de los costos de producción. En la medida que estas praderas perduren mayor tiempo y sean altamente productivas será posible disminuir los costos de producción y así poder ser más competitivos en el mercado de la leche y carne.

Como se explicó anteriormente, frente al problema de la plaga de *L. bonariensis*, se cuenta con la opción del uso de ballicas con el endófito *N.lolii*, que permiten su perennidad a través del alcaloide peramina, que repele al insecto. Sin embargo, los otros dos tóxicos (ergovalina y lolitrem B), provocan problemas de salud en los animales que los consumen y en especial lolitrem B quién es el responsable principal del “Temblor de las ballicas”, cuadro tremorgénico ya descrito anteriormente.

El efecto adverso del endófito *N.lolii*, en ballica perenne sobre la salud y producción animal en Nueva Zelandia está bien documentado (Fletcher, 1993; Thom *et al.*, 1994; Clark *et al.*, 1996; Cosgrove *et al.*, 1996; Thom *et al.*, 1997) En Chile solo se han reportado experimentos relacionados al tema con vacas en lactancia (Butendieck *et al.*, 1994; Lanuza *et al.*, 1999) y con hembras de reemplazo (Lanuza *et al.*, 1998).

En general en los experimentos de producción de leche se han observado diferentes respuestas productivas al consumo de praderas de ballicas con endófito; en algunas ocasiones se ha afectado con distinta magnitud y en otras los efectos han sido inconsistentes o no han existido.

En producción de carne, no se han reportado efectos negativos en ensayos que abarcan buena parte de la estación de pastoreo, solo ha habido un efecto negativo en un período corto del verano en uno de los ensayos de Cosgrove *et al.*, 1993, citados por Easton (1999).

Se hace difícil homologar las distintas condiciones en las que se desarrollan los experimentos y junto a eso, los diferentes materiales forrajeros con niveles distintos de *N.lolii* y las condiciones climáticas de verano-otoño, llevan a respuestas productivas diferentes en los animales.

Los experimentos que más adelante se mencionan abordan varios temas relacionados con el uso de ballicas con endófito *N. lolii* a saber: la intensidad de pastoreo en el verano-otoño con vacas lecheras y vaquillas en crecimiento; el manejo alimenticio de vacas lecheras a pastoreo en verano-otoño; el forraje conservado como ensilaje para vacas con lactancia invernal y el consumo permanente de ballicas con endófito desde edad temprana hasta la primera lactancia de las hembras de reemplazo.

5.2 Intensidad de pastoreo en verano-otoño

5.2.1 Vacas lecheras

Para establecer una norma de manejo de pastoreo de praderas de ballicas con alto nivel de endófito *N. lolii* asociadas a trébol blanco en vacas lecheras durante el verano - otoño se llevó a cabo un ensayo para evaluar el efecto de la intensidad de pastoreo sobre su salud y producción.

El ensayo se desarrolló entre los meses de noviembre del 2000 y abril 2001 y se dispuso de 34,4 ha de pradera mixta formada por ballica perenne cultivar Yatsyn 1 y trébol blanco, que fueron sembradas al azar con endófito (16,2 ha) y sin endófito (16,2 ha), en los años 1996 y 2000. Las praderas se utilizaron con una disponibilidad inicial de 1.800 a 2.200 kg de MS/ha, en potreros que fueron parcelados, dividiendo las franjas con y sin infección de endófito. Además, dentro de cada franja una mitad se utilizó dejando un residuo de 8 cm. y la otra mitad con 4 cm de residuo medidos con plato.

Se emplearon 44 vacas con parto en primavera distribuidas en un diseño factorial de medidas repetidas a los siguientes tratamientos:

- (T1): sin endófito y 4 cm de residuo post-pastoreo.
- (T2): sin endófito y 8 cm de residuo post-pastoreo.
- (T3): con endófito y 4 cm de residuo post-pastoreo.
- (T4): con endófito y 8 cm de residuo post-pastoreo .

Adicionalmente a la pradera recibieron 1 kg. de trigo chancado, como suplemento energético, 1 kg de concentrado comercial (18% PC ; 2,90 Mcal/kg, base MS) y 200 g de sales minerales por vaca/día, además de agua *ad libitum*.

Semanalmente, se evaluó individualmente la condición clínica de los animales en cuanto a su temperatura rectal y frecuencia respiratoria. El peso vivo de cada animal se registró cada 15 días.

La presentación del síndrome “temblor de ballicas” en los animales, se observó en la pradera y al momento del arreo a la sala de ordeña, ó en los cambios de potrero; según la severidad de los signos, se le asignó un puntaje de 0 a 4, desde ningún efecto (grado 0), hasta animal postrado con imposibilidad de movimiento (grado 4); la pauta evaluativa diseñada por Araya citado por Vergara (2002) se basó en una escala utilizada para describir el temblor de las ballicas en ovejas (Keogh, 1973, citado por Thom *et al* 1997)

Cuadro 5.2.1.1 Pauta evaluativa para el cuadro “temblor de las ballicas”

Grado	Intensidad	Signos clínicos
0	Negativo	No presenta
1	Leve	Tremor de cabeza, orejas y musculares leves
2	Mediano	Tremores musculares severos e hipermetría
3	Intenso	Tremores severos y ataxia
4	Grave	Incoordinación severa, caídas y postración, convulsiones y opistótono

Se tomaron muestras de sangre para bioquímica clínica de las vacas mensualmente, a fin de detectar afecciones de tipo neuromuscular de los animales durante el estudio, evaluando los niveles plasmáticos de las enzimas séricas CK y AST.

En la pradera, se realizaron evaluaciones de disponibilidad, contenido de materia seca, proteína cruda, digestibilidad *in vitro* y energía metabolizable.

Las mediciones realizadas en cada vaca y en cada período de evaluación están correlacionadas por lo que se pierde la independencia de los elementos de la variable de intereses a medir. Una manera de corregir estadísticamente esto es usando el efecto vaca, anidada dentro de tratamiento como error experimental. También al incluir el efecto fijo de vaca dentro del tratamiento implica incluir como covariable parámetros propios del animal como es la medida inicial de la variable a estudiar. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza, los datos se editaron utilizando el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS/TAT (1999).

Producción y composición de Leche

Al analizar estadísticamente los resultados de la producción diaria de leche por vaca, para los controles efectuados durante todo el ensayo, se encontró un efecto

significativo de los factores hongo endófito ($P=0,018$) y altura del residuo postpastoreo ($P=0,040$). La interacción entre ambos factores no fue estadísticamente significativa ($P >0,05$).

En la Figura 5.1, se puede apreciar las diferencias que se generan entre los distintos grupos experimentales a causa de los factores en estudio y se confirma que la interacción entre ambos factores no es significativa, debido al paralelismo que se observa entre las dos alturas de residuo para cada uno de los niveles de infección de endófito en las ballicas.

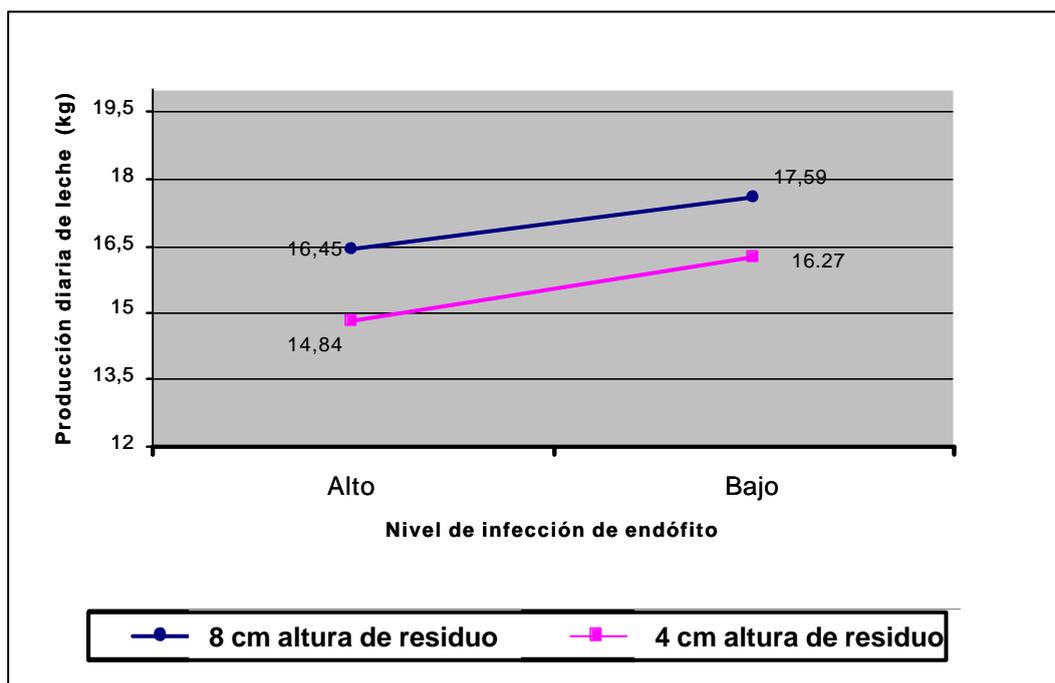


Figura 5.1 Promedios de producción diaria de leche por vaca, según nivel de infección de endófito y residuo postpastoreo.

De esta forma, independiente de la altura de residuo postpastoreo, el factor endófito se traduce en una menor producción diaria de leche, 1,47 kg, lo que representa una disminución promedio del un 9%, en comparación a la producción de los grupos que consumen ballicas con bajo nivel de endófito.

Los resultados son consistentes con lo informado en la literatura, en cuanto a que el consumo de ballicas infectadas con endófitos provoca una disminución en la producción individual de leche (e.g. Valentine *et al.*, 1993), aun cuando en algunos trabajos no se ha demostrado este efecto (Thom *et al.*, 1999).

Pese a la menor producción individual que se encontró en este estudio debido al efecto con de alto nivel de endófito, puede existir también una situación de mayor producción por hectárea, de acuerdo a lo encontrado por Lanuza *et al.*, (1999), donde se observó que las praderas de ballicas con alto nivel de endófito soportaron una mayor carga animal, a lo que en este caso puede sumarse la intensidad de pastoreo.

Además, la reducción en la producción de leche encontrada es similar con la literatura nacional e internacional, donde se informa una disminución relativa, que fluctúa entre un 4 y 34% para las vacas que consumen ballicas infectadas con el hongo endófito (Valentine *et al.*, 1993; Butendieck *et al.*, 1994; Clark *et al.*, 1996; Thom *et al.*, 1997). Al respecto, debe tenerse presente que es difícil comparar los resultados obtenidos en los ensayos, dado que el efecto del endófito sobre la producción individual de leche puede variar entre los estudios o años debido a la influencia de numerosos factores, tales como condiciones climáticas, manejo de pastoreo, niveles de producción de leche de las vacas, cultivares de ballica, especies acompañantes, niveles de infección de endófito y largo de los ensayos.

De lo expuesto se desprende que la menor producción de leche, cuando se presenta, puede deberse en forma primaria al efecto de los tóxicos tremorgénicos sobre los animales afectados más severamente por el cuadro “temblor de las ballicas”, debido a la imposibilidad de ordeñar las vacas postradas, ó secundariamente por la reducción del consumo de alimentos, asociada a la dificultad o imposibilidad de deambulación que exhiben algunas de estas vacas, lo que limita su capacidad de pastoreo.

Por otra parte, en las vacas que no se observaron afectadas por el cuadro y disminuyeron su rendimiento lácteo, es posible que las toxinas del endófito generen un cuadro subclínico, donde éstas afectarían de alguna forma el consumo y/o los procesos de síntesis de leche.

También, la intensidad de pastoreo medido por la altura del residuo afectó en forma significativa la producción diaria de leche de las vacas del ensayo. La utilización de las praderas dejando un residuo postpastoreo bajo (4 cm), provoca en promedio una disminución de 1,29 kg en la producción de leche (8%), respecto a un residuo de mayor altura. Sin embargo, ambos factores ejercen su efecto de manera independiente sobre el rendimiento lácteo, dado que no se encontró una interacción estadísticamente significativa ($P > 0.05$). Esto puede entenderse, debido a que el pastoreo con un residuo de 8 cm, les permitió a los animales efectuar una mayor selección y con ello acceder a las partes más nuevas y nutritivas de las plantas.

En los grupos experimentales de alto nivel de endófito, la mayor intensidad de pastoreo (4 cm de residuo, Fotografía 5.1), generó una reducción en la producción láctea de casi el 10%, en comparación a la reducción de 7,5% observada para el

residuo de 8 cm. Ello concordaría con los resultados de Lanuza *et al.*, (1999), obtenidos en INIA-Remehue, donde se manejó un solo residuo postpastoreo, sin evaluar la intensidad de pastoreo, encontrándose una disminución en la producción láctea de 7,5% debido al alto nivel de endófito de las ballicas.

La composición de leche (grasa, proteína, lactosa), no se afectó por el consumo de ballicas con alto nivel de endófito, ni por la intensidad de pastoreo utilizado. Los valores promedios de grasa fluctuaron entre 3,66 y 4,08%, los de proteína entre 3,16 y 3,23% y los de lactosa entre 4,86 y 4,97%. Resultados similares se observaron en un trabajo realizado por Lanuza *et al.*, (1999).



Fotografía 5.1 Vacas en pastoreo del tratamiento con endófito y 4 cm. de residuo.

Por otra parte, los resultados también son consistentes con lo informado en algunos trabajos extranjeros, en los cuales se describe un comportamiento similar para la producción de leche, grasa y proteína; particularmente en aquellos estudios donde se verifica una disminución el volumen de leche, atribuible al consumo de ballicas con endófito, conjuntamente con una reducción de magnitud similar en la producción (kg) de los sólidos lácteos (Valentine *et al.*, 1993; Thom *et al.*, 1999; Blackwell y Keogh, 1999).

Los valores promedio de recuento de células somáticas por mililitro fluctuaron entre 55 mil y 96 mil, y no hubo diferencias entre tratamientos; también no se presentó ningún caso de mastitis durante el ensayo. Esto permitiría suponer que ninguna de las toxinas del endófito de las ballicas utilizadas en el ensayo afecta los mecanismos de defensa de la glándula mamaria. Autores de Nueva Zelanda (Auld y Thom,

2000) también observaron que las células somáticas no se afectaron por el consumo de ballicas con endófito.

Ganancia de peso

En el Cuadro 5.2, se presentan los resultados de ganancia de peso. El efecto nivel de endófito afectó significativamente esta variable ($P < 0,007$).

Cuadro 5.2 Medias marginales de ganancia diaria de peso vivo (kg), de vacas alimentadas en base a praderas compuestas mayoritariamente por ballicas, según nivel de infección de endófito y residuo postpastoreo.

Nivel de endófito	Altura de residuo post-pastoreo		
	4 cm	8 cm	Total
Bajo	0,167Aa ($\pm 0,07$)	0,335Aa ($\pm 0,06$)	0,251a ($\pm 0,05$)
Alto	0,026Ab ($\pm 0,08$)	0,064Ab ($\pm 0,08$)	0,045b ($\pm 0,06$)
Total	0,096A ($\pm 0,05$)	0,199A ($\pm 0,05$)	

() : Error estándar

A,A : Superíndices iguales indican ausencia de diferencias significativas según altura de residuo postpastoreo ($P > 0,05$)

a,b : Superíndices distintos indican diferencias significativas según nivel de infección de endófito ($P < 0,05$)

Los valores promedios indican que los dos grupos de vacas que pastoreaban las praderas de ballicas con alto nivel de endófito, solamente mantuvieron el peso corporal durante el ensayo. En cambio, aquellos animales que consumieron praderas de ballicas con bajo nivel de endófito tuvieron una ganancia diaria de 0,2 a 0,3 kg. que tendió a ser mayor en el grupo con alto residuo postpastoreo.

Temperatura rectal

El promedio de temperatura rectal determinada semanalmente fue muy similar entre los grupos experimentales y se encuentran dentro del rango de referencia de temperatura corporal del bovino adulto. En un sector del ensayo se determinó el contenido de alcaloides en forrajes en el mes de febrero, encontrándose concentraciones de ergovalina 0,37; 0,43 mg/kg MS.

Ello permite suponer que la ergovalina producida por el endófito de las ballicas consumidas por las vacas no fueron niveles suficientes como para generar alteraciones a la disipación de calor en la época estival ó que también la humedad y temperatura ambiente no fueron suficientemente elevadas.

Frecuencia respiratoria

El promedio de frecuencia respiratoria de las vacas en todos los grupos fluctuó entre 31 y 35 ciclos por minuto, levemente por sobre el límite superior del rango de normalidad en el bovino. La revisión de los promedios en cada semana de evaluación no reveló diferencias ($P>0,05$) entre los grupos experimentales ni incrementos que pudieran asociarse al endófito de las ballicas en algún periodo del ensayo en particular, en que hubiera un aumento de la temperatura y humedad ambiente.

Enzimas séricas

Aspartato aminotransferasa (AST)

El valor promedio de AST tendió a ser mayor en las vacas que consumían ballicas con alto nivel de endófito. Ello fue particularmente evidente en el grupo de vacas del tratamiento 3 (alto nivel de endófito y bajo residuo postpastoreo), donde el promedio de esta enzima supera en aproximadamente un 60% al promedio correspondiente a su control de bajo nivel de infección de endófito.

No obstante, la diferencia entre los promedios de ambos tratamientos se debe a la influencia que ejerce elevado valor de AST (662 U/l), de una vaca del tratamiento 3. Al excluir esta medición, el promedio de AST de dicho tratamiento disminuye a 127 U/l, sin diferenciarse mayormente de los promedios de los demás grupos experimentales. Una sola vaca fue afectada por el “temblor de las ballicas” con grado 3 y 4 que presentó un valor elevado de AST. El resto de los animales de este tratamiento, mostró valores de AST dentro del límite superior del rango de normalidad (< 150 U/l), descrito por Wittwer (2000).

Los niveles de AST de los animales que pastoreaban praderas con alto nivel de endófito y un residuo postpastoreo más alto se ubicaron en todos los casos por debajo del límite superior del rango de referencia de la enzima.

Creatinfosfoquinasa (CK)

El rango de CK alcanzaron valores comprendidos entre 176 y 730 (T_1), 166 y 1071 (T_2), 163 y 9.087 (T_3), y 174, 2.789 (T_4) U/l, respectivamente. De lo que se deduce que en un pastoreo más intensivo de praderas de ballica con alto nivel de endófito alcanzaron un promedio de CK casi 5 veces mayor que el promedio correspondiente a los animales que consumieron ballicas con bajo nivel de endófito, con el mismo manejo de pastoreo. Para la condición de alto residuo postpastoreo, el promedio de CK de las vacas alimentadas en base a praderas con alto nivel de endófito, superó sólo en un 80% al valor correspondiente al de los animales manejados en praderas de ballicas con bajo nivel de endófito. En la Figura 5.2, se representa gráficamente los valores promedio de la enzima.

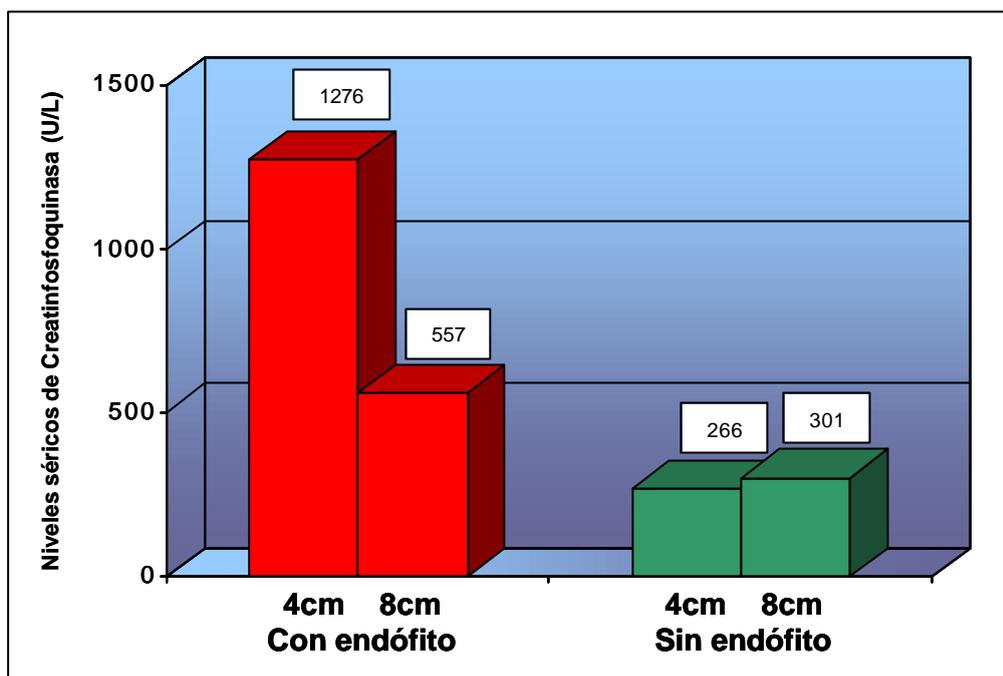


Figura 5.2 Niveles séricos de creatinfosfoquinasa (U/L).

En los mayores valores de CK de las vacas que pastorearon las ballicas con alto nivel de endófito, constituirían un indicador de daño (Kaneko *et.al.*, 1989).

Analizados globalmente, los resultados obtenidos para las determinaciones enzimáticas son consistentes con lo señalado por Wittwer (2002) citado por Vergara (2002) que considera a la enzima CK como un indicador de lesiones musculares en las vacas afectadas por el “temblor de las ballicas”; mientras que la enzima AST refleja fundamentalmente alteraciones hepáticas, lo que explica que sus valores se encontraran dentro del rango de normalidad en la casi totalidad de las vacas que consumieron ballicas con alto nivel de endófito, lo que permitiría suponer que las toxinas del endófito no generan inflamación del tejido hepático.

Presentación del síndrome “temblor de las ballicas”

Durante la estación estival, especialmente en el mes de febrero se presentaron los signos del “temblor de las ballicas”, con una intensidad mediana a grave (grados 2 a 4) (Cuadro 5.1), solamente en vacas pertenecientes al tratamiento 3 (alto nivel de endófito en la ballica y bajo residuo postpastoreo). Los casos afectaron a 7 de las 11 vacas de este grupo, observándose en algunas de ellas reincidencia de los ataques. En su grupo control de mayor residuo, sólo se observó grados leves (1), en una baja proporción de animales (2 de 11 vacas).

Los grupos de bajo nivel de endófito en las ballicas, no presentaron ningún signo del síndrome en las 22 vacas experimentales.

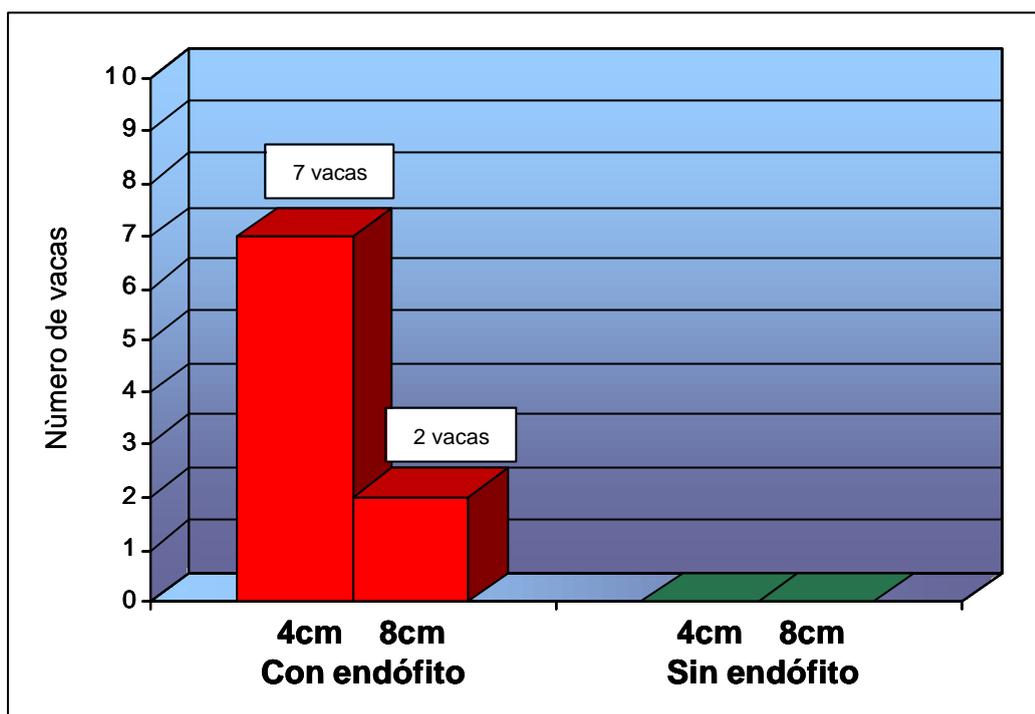


Figura 5.3 Número de vacas afectadas por el “temblor de las ballicas”

De lo expuesto, se desprende que el consumo de ballicas con alto nivel de endófito, especialmente en el sistema con bajo residuo postpastoreo, se asocia a la presentación del “temblor de las ballicas” en una proporción importante de casos durante los meses de verano. Sin embargo, se observó una alta variabilidad en la presentación de casos y en los valores de las transaminasas.

Para graficar el efecto de la intoxicación sobre la producción de leche en la Figura 5.4, se representa la curva de la vaca más afectada versus el promedio de producción de las vacas que no presentaron signología del cuadro temblor de las ballicas. Esta vaca fue retirada del ensayo por presentar el cuadro con intensidad grave y con reincidencia; luego de ser incorporada al rebaño pudo recuperar en parte su nivel productivo en un plazo de 2 semanas, como se observa en la Figura 5.4.

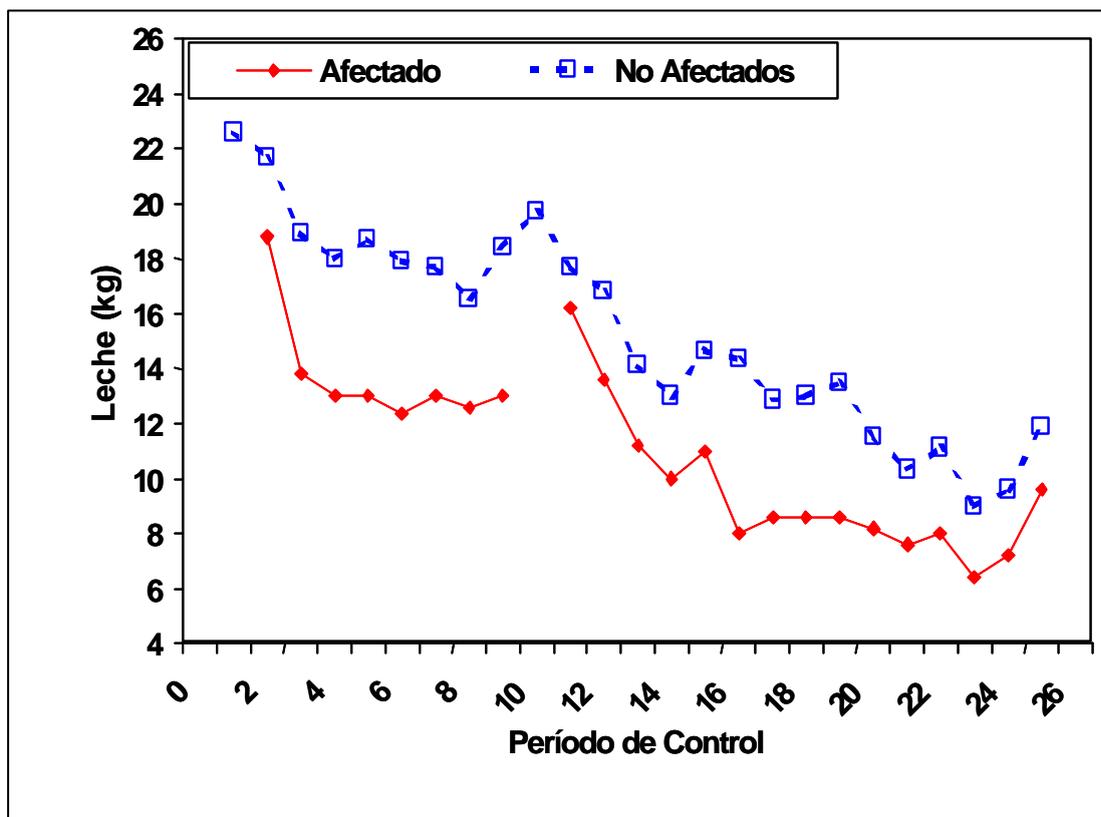


Figura 5.4 Producción de leche del animal más afectado versus el promedio dentro del tratamiento, sin considerar otros tres animales afectados.

Conclusiones

El consumo de praderas mixtas, con un alto nivel de endófitos, provoca una disminución significativa de un 9% en la producción diaria de leche en vacas con partos de primavera durante el período de pastoreo (diciembre a abril); respecto de vacas que pastorean praderas con bajo nivel de endófito.

La menor producción de leche se asocia a vacas que consumen praderas con alto nivel de endófito y bajo residuo.

La composición de la leche (grasa, proteína, lactosa), no se afecta por el consumo de ballicas con un alto nivel de endófito, ni por la intensidad de pastoreo.

La ganancia diaria de peso se afecta negativamente por el consumo de ballicas con un alto nivel de endófitos, pero no se observa un efecto por la altura del residuo postpastoreo.

El endófito de las ballicas no se relaciona con la susceptibilidad a infecciones intramamarias, dado que el recuento de células somáticas de la leche.

En base al análisis de sangre durante el mes de febrero en el que se presentaron los problemas de intoxicación, el endófito de las ballicas no afecta la concentración de la AST, evidenciándose en cambio un incremento en los niveles de la CK, especialmente en las vacas que pastorearon praderas con una baja altura de residuo, alza que indicaría hiperactividad y lesiones del tejido muscular asociada al cuadro del “temblor de las ballicas”.

Los casos clínicos alcanzaron una frecuencia y severidad importante, sólo en las vacas que consumieron las estratas bajas de las ballicas con altos niveles de endófitos.

No se presentaron casos de “heat stress” por consumo de praderas con altos niveles de endófitos, probablemente porque los niveles de ergovalina del endófito de las ballicas no fueron suficientemente altos y/o las características climáticas del verano de la Xª Región no predisponen a enfermar.

5.2.2 Vaquillas de reemplazo

Para establecer una norma de manejo del pastoreo en vaquillas de reemplazo que pastorean ballicas con hongo *N. lolii* en mezclas con trébol blanco durante el verano-otoño, se llevó a cabo un ensayo para evaluar el efecto de la intensidad de pastoreo sobre la salud y ganancia de peso vivo; y así generar una estrategia de utilización de estas praderas para el control del síndrome “temblor de las ballicas”.

Para la ejecución de este ensayo se establecieron praderas de ballica con y sin endófitos. (*N. lolii*) en mezcla con trébol blanco. Estas se utilizaron en pastoreo rotativo ingresando los animales con una disponibilidad inicial de 1.800-2.000 kg MS/ha. El ensayo se realizó con 4 tratamientos de acuerdo a la altura de pastoreo y presencia o ausencia del hongo endófito. Los tratamientos fueron:

- a) E+ 4: pastoreo en ballicas con endófito dejando un residuo de 4 cm, medido con plato.
- b) E+ 7: pastoreo en ballicas con endófito dejando un residuo de 7 cm, medido con plato.
- c) E- 4: pastoreo en ballicas sin endófito dejando un residuo de 4 cm, medido con plato.
- d) E- 7: pastoreo en ballicas sin endófito dejando un residuo de 7 cm, medido con plato.

En cada tratamiento hubo 12 vaquillas, las que fueron bloqueadas por peso vivo inicial. Además de las praderas, los animales recibieron una suplementación alimenticia de 1 kg. de concentrado y 0,1 kg de sales minerales. Los animales se evaluaron desde diciembre de 1999 hasta abril de 2000.

Los animales se observaron a diario para evaluar su condición clínica y determinar la presentación de la signología del cuadro “temblor de las ballicas” y en tres ocasiones se tomaron muestras de sangre para determinación de las enzimas AST y CK.

El diseño estadístico correspondió a bloques completos al azar con peso inicial como covariable. La variable dependiente fue el promedio de ganancia diaria de peso en todo el período de estudio. Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza y los datos fueron editados usando los procedimientos del paquete estadístico SAS (1993). El análisis de varianza fue hecho usando el procedimiento PROC GLM de SAS.

Peso vivo y ganancias de peso

Los promedios de peso inicial, peso final y ganancia diaria total se presentan en el Cuadro 5.3.

Cuadro 5.3 Peso vivo y ganancia de peso.

Tratamiento	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Ganancia diaria promedio (kg/día)	Promedio de los mínimos cuadrados (kg/día)
E+4	245	318	0,51 ^a	0,52
E+7	248	342	0,74 ^b	0,73
E-4	254	344	0,71 ^b	0,72
E-7	256	362	0,80 ^b	0,78

(letras diferentes a través de columnas indican diferencias estadísticamente significativas $P < 0,01$).

El efecto tratamiento fue estadísticamente significativo ($P < 0,01$) para ganancia diaria de peso. Las vaquillas que pastorearon ballicas con endófito y dejaron un residuo de 4 centímetros ganaron significativamente menos peso que los otros tratamientos. Las ganancias de peso para los tratamientos E+7, E-4 y E-7 no fueron significativamente diferentes ($P > 0,05$).

En la Figura 5.5, se presenta la evolución de peso vivo de los cuatro tratamientos. Se observa que las menores ganancias de peso ocurrieron en los meses de febrero y parte de marzo, esto ocurrió en especial en los animales del tratamientos E+4 en que prácticamente mantuvieron el peso vivo desde el 18 de febrero al 22 de marzo.

Por el contrario la curva del tratamiento E-7 es más sostenida y supera a los otros dos tratamientos E-4 y E+7 que prácticamente coincidieron en gran parte del período de estudio.

La diferencia de ganancia de peso total para el período experimental fue de alrededor de 0,20-0,30 kg/día a favor de los grupos sin endófito (E-7, E-4) y del grupo con endófito con residuo de 7 cm. Cosgrove *et al.*, (1996), señalan que el efecto directo de los alcaloides del endófito sobre el consumo y la ganancia de peso fue pequeño y está influenciado por la estación del año.

También Mc Callum y Thomson (1994), en ensayos con ganado lechero en crecimiento no han encontrado efectos del endófito sobre la performance animal. En un ensayo anterior Lanuza *et al.*, 1998, reportan los resultados de un ensayo en donde no hubo diferencias en la ganancia de peso en vaquillas que consumieron ballicas con endófito versus sin endófito, bajo similar manejo de residuo post-pastoreo.

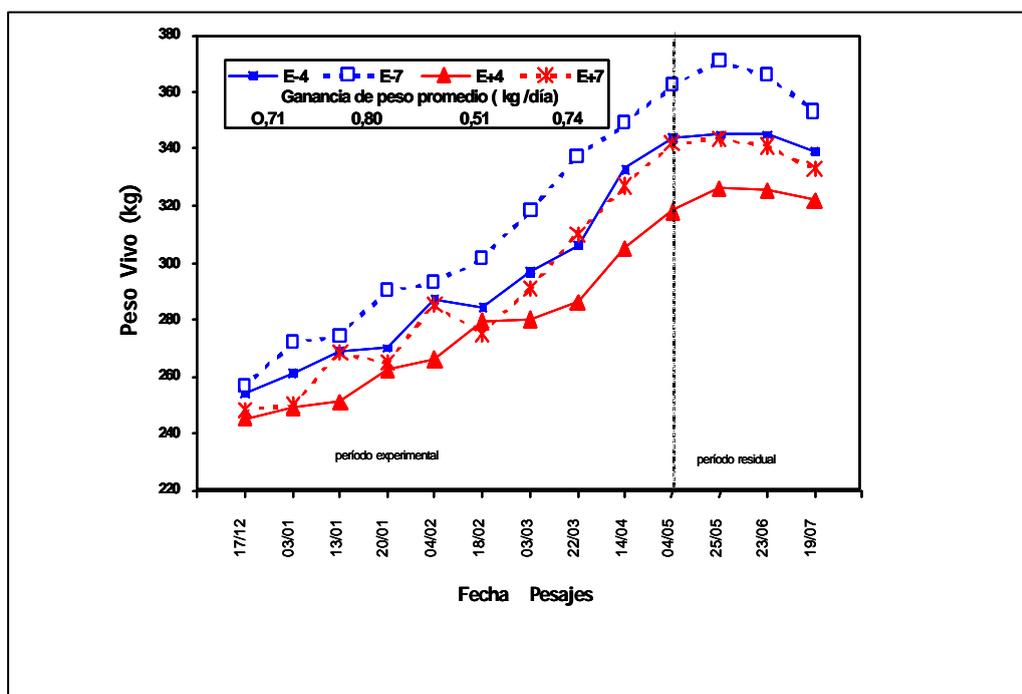


Figura 5.5 Evolución del peso vivo de las vaquillas durante el período experimental y residual

Presentación del síndrome “temblor de las ballicas”

El examen visual de las vaquillas en el campo permitió diagnosticar el síndrome de temblor de las ballicas en algunos de los animales del tratamiento E+4. Estas fueron

principalmente clasificadas de leves a moderados con temblores de cabeza y cuello, caminar incoordinado y con tendencia a rigidez de los miembros, afectando aproximadamente al 30 % de los animales en E+4. Los síntomas fueron más visibles durante el mes de febrero donde se registraron mayores temperaturas.

No se observaron síntomas de “temblor de las ballicas” en los animales que pastorearon ballicas con endófito y dejaron un residuo de 7 centímetros (E+7). Tampoco se observó sintomatología en los animales que pastorearon ballicas sin el hongo endófito.

La Figura 5.6, muestra la evolución de peso vivo comparando las cinco vaquillas del tratamiento E+4 que presentaron el síndrome descrito versus el resto de los animales.

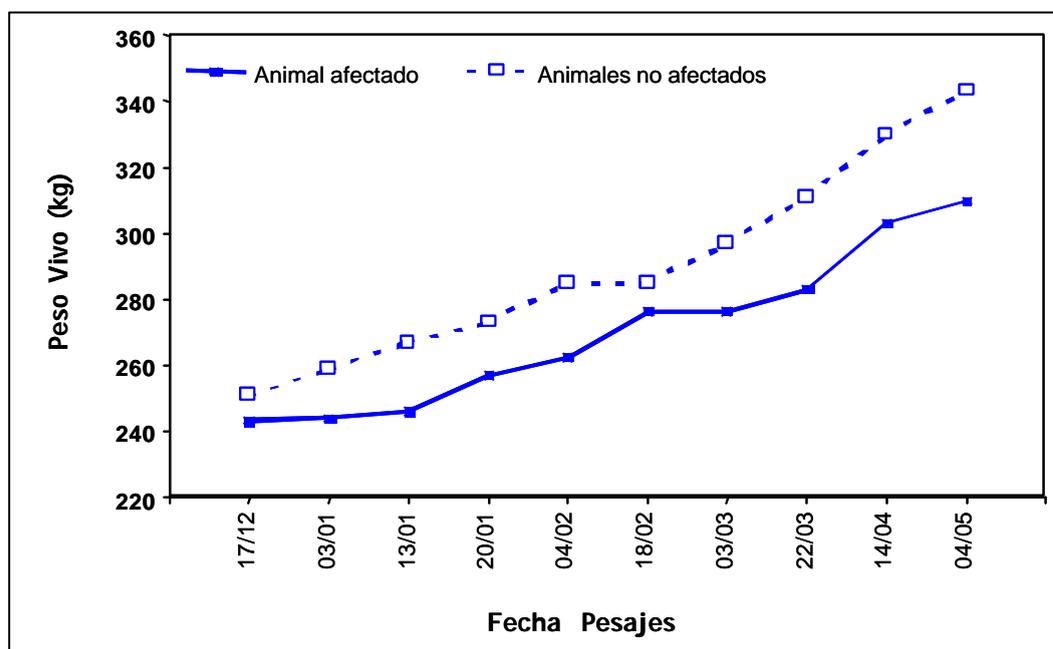


Figura 5.6 Evolución del peso vivo de las vaquillas qafectadas y no afectadas por el síndrome.

En este caso se observa una clara superioridad en el desarrollo corporal de aquellos animales que no sufrieron el síndrome del temblor de las ballicas comparado con vaquillas que si sufrieron el síndrome. Las ganancias diarias fueron de 708 y 484 gramos diarios para las vaquillas sin y con presentación del síndrome, respectivamente.

Enzimas séricas CK y AST

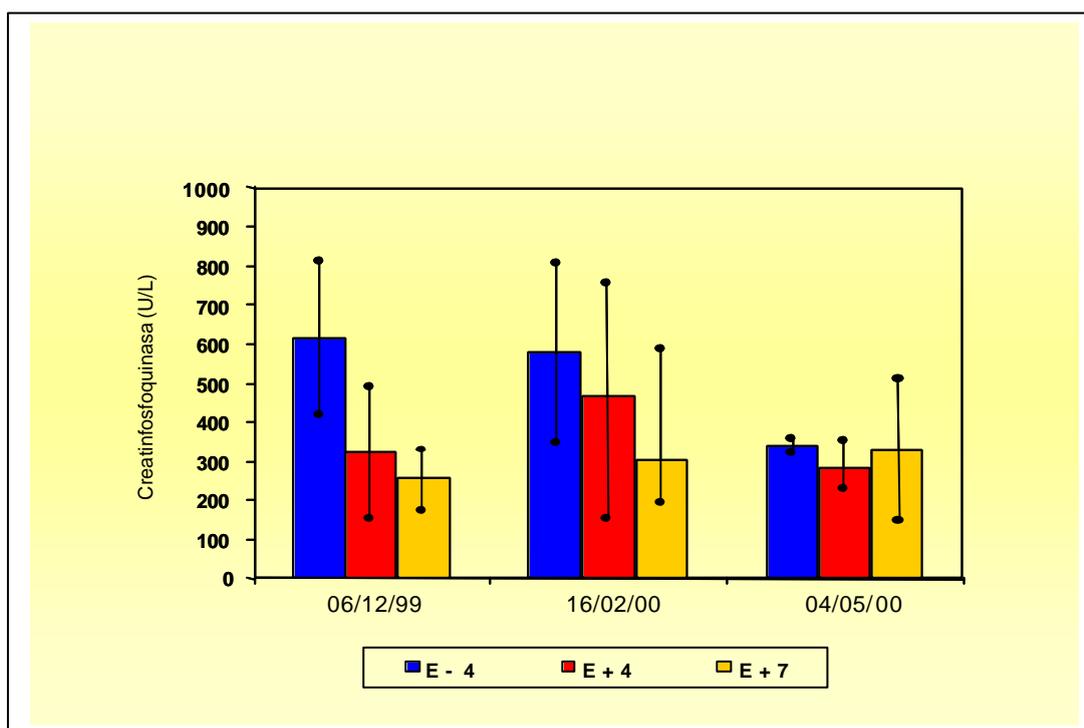
En tres oportunidades durante el ensayo, se analizaron las muestras de sangre de los animales que presentaron sintomatología, o que tenían menor peso en el tratamiento E+4, y en los animales con menor ganancia de peso en los tratamiento E-4 y E+7.

Los promedios totales, por tratamiento y a través del tiempo de medición para la enzima se presentan en el Cuadro 5.2.2.3.

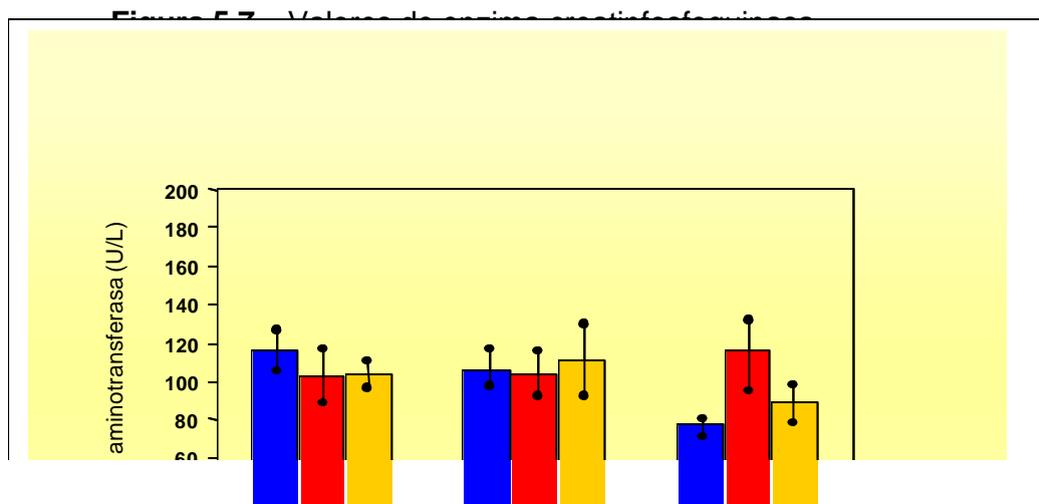
En la Figuras 5.7, se presentan los resultados de concentración de la enzima CK en la sangre. Se observa una alta variabilidad, en las tres muestras. Sin embargo además del posible daño muscular por los temblores, esto también se puede interpretar como respuesta a un estrés de los animales en el arreo y extracción de sangre. Por lo general, aparentemente el efecto de la intoxicación, fue pasajero, y no coincidió el muestreo de sangre con algunos de los episodios del síndrome temblor de las ballicas.

Los resultados de la enzima AST a ésta muestra no permiten concluir que sea indicadora de la presentación del síndrome.

Los resultados de la enzima AST (Figura 5.8) no permiten concluir que ésta sea Indicadora de la presentación del cuadro de intoxicación.



* Línea en centro de barra indica desviación estándar.



* Línea en centro de barra indica desviación estándar.

Figura 5.8 Valores de enzima Aspartato aminotransferasa

Conclusiones

Las vaquillas que pastorean ballicas con endófito y dejan un residuo de 7 cm pueden ser tan productivas como aquellas que pastorean ballicas sin endófitos.

Pastoreos intensos de ballicas con endófito, (residuo de 4 cm. medido con plato) con vaquillas afectan la ganancia de peso vivo en un 30%.

Falta tener claridad sobre la interpretación de los valores de transaminasas en el cuadro clínico, en especial la creatinfosfoquinasa.

5.3 Manejo alimenticio de vacas lecheras a pastoreo en verano-otoño

Se realizó una investigación entre los meses de diciembre del 2001 y marzo del 2002, para establecer una norma de manejo alimenticio en vacas lecheras que pastorean praderas de ballicas Yatsyn 1 con endófito *N.lolii* asociadas a trébol blanco durante el verano - otoño bajo condiciones del secano en la Décima Región,. El objetivo fue evaluar el efecto de la utilización de suplementos alimenticios a vacas lecheras que pastorean praderas mixtas permanentes, compuestas con ballica perenne (*Lolium perenne*), infectada con el hongo endófito *N. lolii*, asociadas con trébol blanco sobre su salud y comportamiento productivo.

Se dispuso de 16,2 ha de praderas mixtas de ballica perenne variedad Yatsyn 1 con endófito *N. lolii* trébol blanco, que fueron sembradas en los años 1996 y 2000. La pradera se utilizó con una disponibilidad inicial de 1.800 a 2.200 kg. de m.s./ha., pastoreándolas hasta dejar entre 6 y 7 cm de residuo de pastoreo, en potreros que fueron parcelados, según un ensayo anterior (Lanuza *et al.*, 2002)

Se utilizaron 39 vacas con parto en primavera, cuyo promedio de producción diario, no fue mayor a 25 kg de leche y que se encontraban en la etapa posterior al pico de lactancia. Las vacas fueron alimentadas con praderas utilizadas en pastoreo rotativo. Los animales se asignaron en un diseño de bloques al azar de medidas repetidas a tres tratamientos que fueron :

T₁: pastoreo + suplementación con 0,15 kg sales minerales.

T₂: pastoreo + suplementación con 30 kg ensilaje de pradera y 0,15 kg de sales minerales.

T₃: pastoreo + suplementación con 5,6 kg concentrado, 0,15 kg sales minerales y 0,2 kg de bicarbonato de sodio.

Además las vacas dispusieron de agua permanentemente.

La decisión de avance en la rotación se realizó, evaluando la altura del residuo en la pradera, de 6-7 cm. (medidos con plato), y se llevó a cabo mediante cerco eléctrico móvil.

La producción de leche se midió semanalmente en 2 días sucesivos, usando medidores volumétricos. También, se evaluó la condición clínica de los animales.

El peso vivo y la condición corporal individual se registró cada 14 días.

La intensidad del síndrome se observó en el potrero y al momento de ser los animales arreados a la sala de ordeña ó en los cambios de potrero, y se le asignó un

puntaje. Basado en la pauta evaluativa (Cuadro 5.1) Se tomaron muestras de sangre para bioquímica clínica de las vacas en cuatro oportunidades, a fin de detectar problemas de tipo neuromuscular y de hígado de los animales durante el estudio, evaluando los niveles plasmáticos de las enzimas séricas CK y AST y gama glutamil transferasa (GGT).

En la pradera, se evaluó la disponibilidad, con cuatro marcos de muestreo de 0,25 m², por franja de tratamiento distribuidos al azar y cortados a ras de suelo, para determinar la materia seca, proteína cruda, digestibilidad *in vitro* y energía metabolizable. Además se estimó la altura al ingreso y salida de la franja (40 observaciones por franja). Se tomaron muestras de forraje de las praderas que pastoreaban las vacas para analizar la concentración de las toxinas

Resultados

De las 16,32 hectáreas de ballicas con endófito para este ensayo se utilizaron para los tratamientos 5,96 ha (T₁); 5,65 ha (T₂) y 4,71 ha (T₃); la carga promedio para el período de 86 días fue de 2,07 ; 2,08 y 2,57 vacas por hectárea en T₁, T₂ y T₃, respectivamente. No se pudo prolongar más el período experimental por la sequía estival del año 2002.

En enero precipitaron 16,6 mm distribuidos en siete ocasiones, con nula efectividad. Al final de febrero cayeron 22,3 mm, pero ya la recuperación de la pradera no era posible.

En el Cuadro 5.4, se observan los resultados de lolitrem-B y de ergovalina. En general los resultados señalan que la concentración de lolitrem B es mayor que la de ergovalina en ballicas en estado vegetativo. Resultados similares se entregan en la literatura (Cosgrove *et al.*, 1996; Thom *et al.*, 1999). Solo una de las muestras de la parte apical de las ballicas, que se tomó a modo de observación de la distribución de los tóxicos arrojó una concentración mayor de ergovalina.

Esto sucedió en un período de déficit de lluvias y concuerda con la evidencia de que el aumento de la concentración de la ergovalina parece ser mayor con el déficit de agua que lo que sucede con el lolitrem-B (Barker *et al.*, 1993, Lane *et al.*, 1997)

Cuadro 5.4 Concentración de lolitrem-B y ergovalina en muestras de praderas.

Fecha muestreo	Potrero	Muestra	Lolitrem B	Ergovalina
----------------	---------	---------	------------	------------

			mg/kg MS	mg/kg MS
21/02	Cacique 2/3 E+	Residuo	0,47	0,16
21/02	41 E+	1/3 basal	0,71	0,50
21/02	41 E+	1/3 apical	0,78	1,28
21/02	41 E+	1/3 medio	0,24	0,18
21/02	Hijuela 3 E+	Franja 2	1,53	0,37
21/02	Hijuela 3 E+	Franja 3	1,08	0,40
21/02	Hijuela 3 E+	Franja 4	1,49	0,41
21/02	Hijuela 3 E+	Franja 8	0,93	0,43

La suplementación en los animales de T₂ y T₃ permite un efecto de dilución de las toxinas. Esto también se logra cuando el trébol blanco que acompaña a la ballica, participa con un porcentaje importante en la mezcla (> 10%). El consumo de los suplementos permitió utilizar menor superficie de pradera, en especial en T₃, donde aumentó la carga animal.

En las observaciones de los animales en la pradera y ordeña no se presentó signología del “temblor de las ballicas”. Esto a pesar de que según los resultados del Cuadro 5.4 existían niveles de hasta 1,49 mg/kg de m.s. de lolitrem B y de tener altas temperaturas en el mes de enero y febrero (máximas entre 27 y 29°C, algunos días), la pluviometría fue escasa durante todo enero y primera mitad de febrero, teniendo así una baja humedad relativa. Esto hizo la diferencia al clima del año anterior, donde se presentó del cuadro clínico. En esta temporada, tal vez hubo síntomas en forma sub-clínica.

Producción y composición de leche

La producción promedio de leche en T₃ fue significativamente mayor ($P < 0,01$) que la producción en T₁ (12,7%) y T₂ (27,6%), respectivamente. Sin embargo entre los tratamientos T₁ y T₂, no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) en la producción de leche. En general hubo una alta variación dentro de los grupos (desviación estándar T₁: 5,05; T₂: 4,80; T₃: 3,88), denotando una respuesta animal variable al efecto de las toxinas y a la suplementación alimenticia. La evolución de la curva de lactancia real promedio para los animales de los distintos tratamientos se observa en la Figura 5.9.

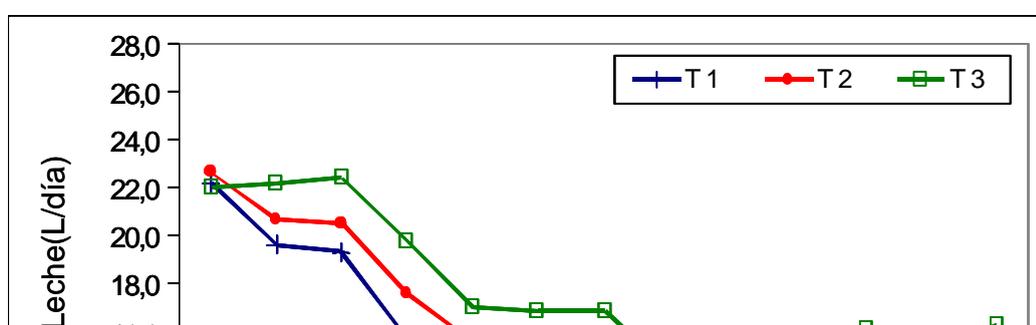


Figura 5.9 Evolución de la curva promedio de leche por tratamiento

La composición láctea fue significativamente diferente ($P < 0,01$), en el contenido de materia grasa y sólidos totales, siendo menor en las vacas del T3 en comparación con T2 y T1.

Peso vivo y condición corporal

Tanto el peso vivo promedio como la condición corporal no fueron diferentes ($P > 0,05$) entre los tratamientos. Durante el ensayo, se mantuvo el peso vivo y una tendencia a mejorar la condición corporal hacia el final del período experimental.

Recuento de células somáticas y urea en leche

El conteo de células somáticas no reveló diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre las vacas de los tratamientos. Hubo una a dos vacas por tratamiento que mostraron elevados conteos de células en alguno de los controles. En general para la etapa de lactancia en que se encontraban las vacas promedios estuvo entre 45.000 y 253.000 células somáticas por mililitro, considerados como muy buenos a buenos.

Enzimas séricas

La actividad sérica de la enzima AST presentó, diferencias significativas ($P < 0,01$) para los tratamientos, siendo T_3 mayor a T_1 y T_2 , y entre estos últimos hubo similares promedios (T_1 : 112,2b ; T_2 :102,06b y T_3 :127,7a) encontrándose todos los valores dentro de los rangos de referencia.

No ocurrió lo mismo con la actividad sérica de la enzima GGT donde no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los promedios de los tratamientos (T_1 : 30,5; T_2 :27,12 ; T_3 :27,20) que se situaron en los rangos de referencia que describe la literatura. (Wittwer, 2000).

Respecto a la CK, en general se acepta que animales en pastoreo, presenten niveles más elevados, pero dentro del rango del promedio poblacional. Los valores promedios para T_1 , T_2 y T_3 fueron 253,2; 326,1 y 396,7, respectivamente, no siendo estadísticamente diferentes ($P > 0,05$) (Figura 5.10).

Hubo 2 a 3 animales en alguno de los muestreos que tuvieron elevados valores de CK. Sin embargo los promedios de todos los tratamientos superaron los niveles considerados de referencia, pero permitidos para muestras post-ejercicio que son hasta 500 U/L.

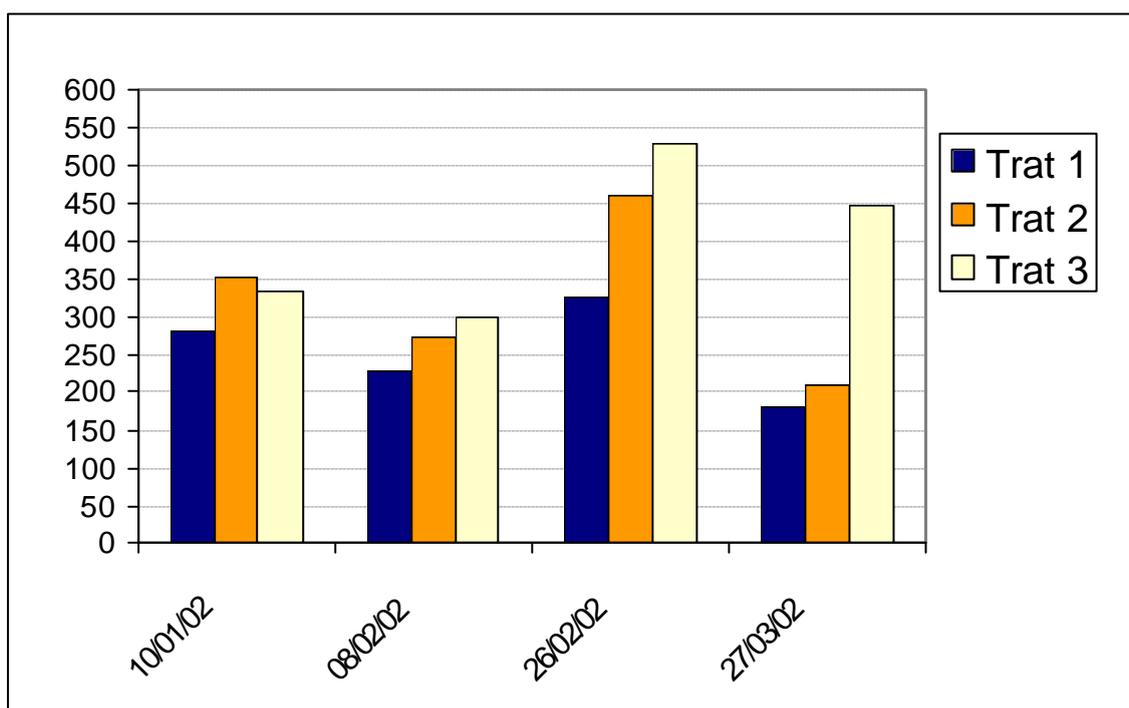


Figura 5.10 Valores de creatinfosfoquinasa (U/L).

Por las condiciones ofrecidas a los animales era esperable que los del tratamiento 1, pastoreo con solo suplementación de sales minerales y agua, consumieran una dieta de forraje conducente a la intoxicación. Sin embargo, a pesar del contenido de tóxicos del forraje no se observó sintomatología clínica; quizás fue por haber dejado un residuo mayor (6 cm) o porque hubo condiciones climáticas distintas.

A su vez la vacas de T₁ presentaron una mayor concentración de grasa láctea, al igual que las de T₂, suplementadas con ensilaje. En éste, el factor nutricional pudo ser determinante.

El respaldo de un monitoreo mas frecuente de la concentración de toxinas en la pradera y conjuntamente con variables climáticas de humedad y temperatura podrían explicar el diferente comportamiento de los animales entre temporadas y dentro de una misma estación del año. En la literatura, se describen tanto efectos detrimentales sobre la salud y producción de las vacas, y también, ausencia de tales efectos.

La suplementación con alimentos sin endófito, sin duda ayuda a mitigar el efecto nocivo de los tóxicos mediante la dilución de los alcaloides en la ración consumida.

Conclusiones

Las praderas de ballicas con endófito *N.lolii*, presentan concentraciones variables de lolitrem-B (0,24 y 1,49 mg/kg de MS) y de ergovalina, (0,16 y 1,28 mg/kg MS), durante el mes de febrero.

La suplementación con concentrado aumentó la producción de leche en vacas que consumen ballicas con *N. lolii*.

La producción de grasa láctea se afectó al suplementar con concentrado, no fue así cuando se suplementó con ensilaje.

No se observó signología clínica del “temblor de las ballicas” durante el verano 2002, en pastoreo rotativo y con residuos de 6 a 7 cm (medido con plato).

Los valores de las enzimas séricas AST y GGT se movieron en los rangos de normalidad. Sin embargo los valores de CK en todos los tratamientos presentaron promedios sobre el límite de referencia, pero en el rango permitido en animales post-ejercicio.

Es necesario profundizar en el estudio de los factores que determinan la presentación de la intoxicación por lolitrem B y/o por ergovalina.

5.4 Vacas lecheras alimentadas con ensilaje de ballicas con endófito

Esta investigación se realizó entre mayo y diciembre del 2001, con el objetivo de determinar el efecto del consumo de ensilaje de pradera de ballica perenne con endófito (*N.lolii*) y su efecto tremorgénico en vacas. Además evaluar el efecto en la producción y composición de leche, el cambio de peso vivo, condición corporal, la actividad sérica de algunas enzimas y el nivel de consumo del ensilaje.

Se ensilaron praderas de ballicas Yatsyn-1 (con y sin endófito), en mezcla con trébol blanco.

Se utilizaron 30 vacas en lactancia Frisón Negro, asignadas aleatoriamente según su producción, número de partos y días en leche, a los siguientes tres tratamientos: T₁. Ensilaje de corte temprano sin endófito. T₂. Ensilaje de corte temprano con endófito. T₃. Ensilaje de corte tardío con endófito. El estado fenológico de las ballicas del corte temprano fue a inicio de espiga y el tardío con espiga completa, en floración.

Los animales fueron estabulados por 15 semanas y alimentados dos veces al día según tratamiento. El ensilaje fue el 80% de la ración total, además de un núcleo proteico, cebada y sales minerales; el rechazo promedio por grupo fue pesado 4 veces a la semana.

Se registró el peso vivo y condición corporal cada 14 días, producción y composición de leche 2 días seguidos por semana mañana y tarde frecuencia respiratoria y examen visual de los animales, semanalmente. Se tomaron muestras de sangre los días 1, 45 y 90. Se utilizaron bloques al azar de medidas repetidas con covarianza.

Presentación del “temblor de las ballicas”

Durante el desarrollo del ensayo no se presentó sintomatología de la intoxicación por micotoxinas tremorgénicas. Los animales permanecieron en estabulación completa y cerca de la sala de ordeña, por lo que no fueron sometidos a arreos. Los análisis de toxinas de muestras de ensilaje no mostraron elevadas concentraciones de lolitrem B, Cuadro 5.5 .

Cuadro 5.5 Determinación de lolitrem-B en muestras de ensilajes de ballica perenne con trébol blanco.

Fecha	Tratamiento	Muestra	Lolitrem -B (mg/kg MS)
27/06/01	T1	Ensilaje s/E (L)	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte(L)	ND
	T3	Ensilaje c/E 2do corte(L)	0.15
18/07/01	T1	Ensilaje s/E (L)	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte(L)	Trazas
	T3	Ensilaje c/E 2do corte(L)	0.13
22/08/01	T1	Ensilaje s/E (L)	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte(L)	ND
	T3	Ensilaje c/E 2do corte(L)	Trazas
22/09/01	T1	Ensilaje s/E (L) c/barreno	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte(L) c/b*	ND
	T3	Ensilaje c/E 2do corte(L) c/b*	Trazas
22/08/01	T1	Ensilaje s/E c/b seca a 60°C	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte c/b -s 60°C	ND
	T3	Ensilaje c/E 2do corte c/b -s 60°C	0.10
Muestra en fresco			
	27/11/00	Hijuela 2 1/3 sup. alt.1m (L)	0.41
	27/11/01	Hijuela 2 1/3 sup. alt.1m -s 60°C	0.33

T : tratamiento / S/E : Sin Endófito / C/E : Con Endófito / C/b : muestra tomada con barreno / L : Liofilizada / S : seca a 60°C / ND : No Detectado / * hijuela 2 1/3 superior mg/kg ms: miligramos de lolitrem-B por kilo de muestra seca. Límite de cuantificación (LC) : 0.1 ppm

Las muestras de ensilaje fueron tomadas en la medida que avanzó el período experimental. Los valores fueron bajos y solo se observaron en el tratamiento 3 con ballicas cosechadas en espiga. La muestra fresca tomada en la fecha de corte y del tercio superior arroja una concentración 3 a 4 veces mayor de lolitrem-B. Esto permite suponer el efecto de dilución existente y/o que el tóxico sufre cambios con las fermentaciones, ó escurre por los efluentes del ensilaje.

Fletcher *et al.*, (1999), han demostrado la presencia de dos toxinas en el ensilaje, la ergovalina y el lolitrem-B, pero su estabilidad en el ensilaje, y la toxicidad en los animales no ha sido demostrada.

La frecuencia respiratoria fue estadísticamente diferente ($P < 0,05$), siendo el tratamiento T_1 menor a los tratamientos T_2 y T_3 , que resultaron con valores similares, Cuadro 5.6.

Sin embargo estos se encuentran dentro de los rangos de referencia para la especie bovina (Radostis *et al.*, 1994).

Cuadro 5.6 Promedios de frecuencia respiratoria de tres grupos de vacas, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

Frecuencia Respiratoria (ciclos/min.)	Tratamientos		
	T1 Sin hongo corte temprano	T2 Con hongo corte temprano	T3 Con hongo corte tardío
Promedio	21,3 a	22,6 b	22,4 b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

No se observó diferencias significativas, ($P > 0,05$) en la actividad sérica de las enzimas AST, GGT y CK. En la literatura consultada no se han reportado casos, de niveles séricos elevados en animales que consumen ensilaje de ballica con endófito. Tampoco se presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en el peso vivo y condición corporal de los animales que consumieron ensilajes de ballicas con hongo endófito.

Producción y composición láctea.

Producción de leche

El efecto de la alimentación de ensilaje de ballica con y sin hongo endófito sobre la producción láctea promedio por semana para los tres tratamientos se presenta en la Figura 5.11, y para el período total en el Cuadro 5.7.

Cuadro 5.7 Producción láctea total (litros) del ensayo, producción promedio de leche semanal, desviación estándar y porcentajes de la producción promedio de leche, de tres grupos de vacas, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito.

Leche	Tratamientos		
	T1 Sin hongo corte temprano	T2 Con hongo corte temprano	T3 Con hongo corte tardío
Producción total (Litros)	15.960	16.433	13.755
Promedio/vaca/litros	15,20 a ($\pm 2,72$)	15,65 a ($\pm 2,43$)	13,10 b ($\pm 2,90$)

Porcentaje (%)	97,12	100,0	83,70
----------------	-------	-------	-------

Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

() Cifras desviación estándar

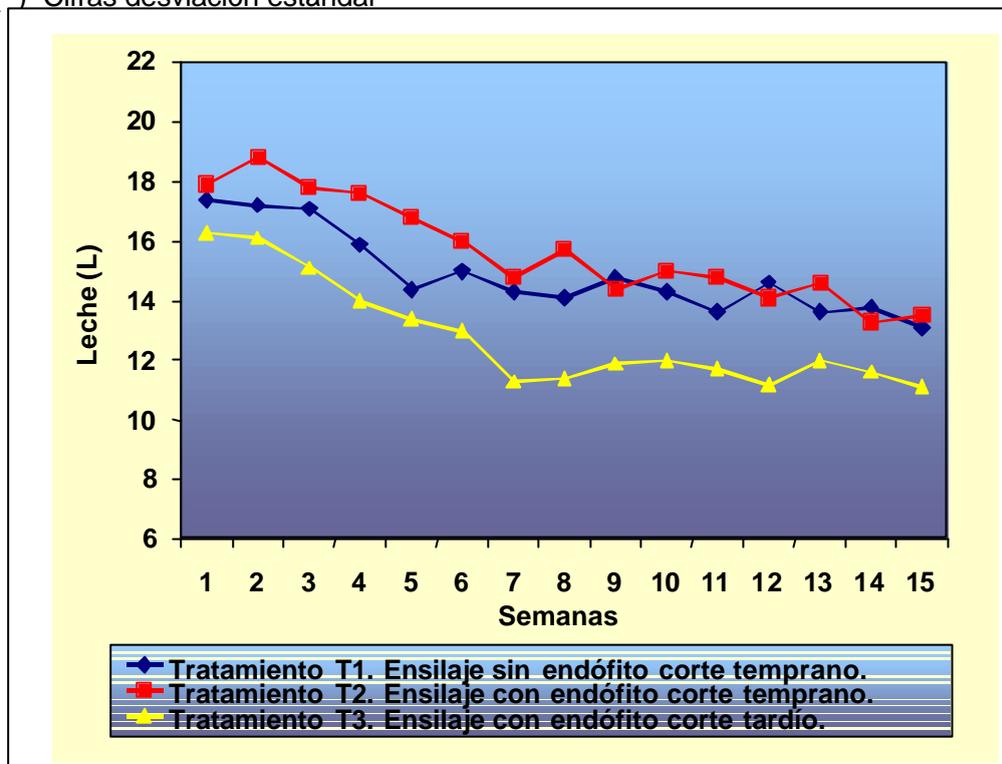


Figura 5.11 Evolución de la producción promedio de leche de tres grupos de vacas, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

Las diferencias para la producción de leche resultó significativa ($P < 0,05$). En la figura 5.11, observamos que las curvas de producción difieren levemente, entre los tratamientos T_1 y T_2 , presentando la menor producción el tratamiento T_3 .

En el Cuadro 5.7, se observan los promedios de producción diaria de leche que fueron 15,20, 15,65 y 13,10 L, para los tratamientos T_1 , T_2 y T_3 , respectivamente. La diferencia entre los tratamientos resultó significativa ($P < 0,05$), siendo T_3 diferente a T_1 y T_2 . Este último fue el que alcanzó la mayor producción promedio de leche (100%), teniendo los tratamientos y una menor producción, siendo 2,9% y 16,3% respectivamente, respecto a T_2 .

La menor producción de las vacas del tratamiento 3, se debe principalmente al menor consumo de ensilaje (ver Cuadro 5.9), debido a su menor contenido de energía y mayor fibra; probablemente en menor medida por los tóxicos, debido a la baja concentración de lolitrem-B, encontrado en las muestras (ver Cuadro 5.5)

Estos resultados son comparables con trabajos realizados en alimentación de vacas lecheras con una dieta basada principalmente en ensilaje de pradera, en los que se han tenido resultados similares. En Francia, Dulphy *et al.*, (1981), concluyen, que si los ensilajes de pradera se realizan, en un estado de corte temprano, con una digestibilidad de la materia orgánica superior a 70%, sustentan producciones diarias desde 10 a 17 kg. de leche Castle y Watson (1976), señalan que ensilajes de pradera de alta digestibilidad y ofrecidos como único alimento a vacas en lactancia media, sostienen una producción promedio de 14,6 kg de leche.

Composición láctea

Los resultados de la composición de leche y recuento de células somáticas (RCS), de las vacas del ensayo, se observan en el Cuadro 5.8.

Cuadro 5.8 Composición de la leche y RCS, de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito.

Componentes lácteos	Tratamientos		
	T1 Sin hongo corte temprano	T2 Con hongo corte temprano	T3 Con hongo corte tardío
Materia grasa (%)	3,65 ± 0,52	3,55 ± 0,38	3,36 ± 0,42
Proteína (%)	2,90 ± 0,21	2,89 ± 0,20	2,80 ± 0,19
Lactosa (%)	5,08 ± 0,15 a	5,08 ± 0,15 a	4,88 ± 0,24 b
Sólidos totales (%)	12,81 ± 0,81	12,74 ± 0,66	12,20 ± 0,79
Sólidos no grasos (%)	8,83 ± 0,29 a	8,83 ± 0,26 a	8,53 ± 0,36 b
Urea (mg/L)	330 ± 80	340 ± 90	390 ± 110
RCS (x 1000)	225 ± 322	105 ± 268	177 ± 188

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Dentro de los componentes de la leche que presentaron diferencias significativas, ($P = 0,05$) fueron los sólidos no grasos y la lactosa. Probablemente la falta de energía en la dieta del tratamiento T₃, determinó la menor síntesis de lactosa.

Los tratamientos T₁ y T₂ presentaron valores promedios similares con un porcentaje de 8,83% de sólidos no grasos en la leche, cada uno. En cambio el tratamiento T₃ difiere de los dos anteriores, con un valor promedio, de 8,53%.

La lactosa en la leche presentó diferencias significativas ($P=0,05$). Los tratamientos T_1 y T_2 presentaron igual promedio (5,08%), siendo mayor al tratamiento T_3 , (4,88 % de lactosa).

Peso vivo y condición corporal.

El promedio de peso vivo de los animales durante el periodo experimental, fueron de: 507(T_1); 483(T_2) y 489(T_3)kg. Las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas ($P>0,05$).

En cuanto al efecto del hongo endófito en animales que consumen praderas de ballicas con endófito, no se conoce si el efecto dominante de éste en el cambio del peso vivo se debe a un efecto directo de las toxinas en el animal o es un efecto secundario en la reducción del consumo por baja palatabilidad o por una reducción del apetito debido a efectos neuroquímicos (Fletcher, 1993). Tampoco se ha medido el consumo de forraje conservado de praderas de ballicas con y sin endófito, que permitan determinar efectos en el cambio del peso vivo de los animales.

La condición corporal promedio de los animales, durante el período experimental, fueron de 2,43(T_1), 2,38(T_2) y 2,36(T_3) puntos; diferencias no significativas ($P>0,05$). No se ha encontrado información sobre consumo de ensilaje de ballicas con endófito como base de la dieta alimenticia y su efecto sobre la ganancia de peso.

Consumo de alimentos

El consumo de las raciones en base fresco, realizadas por los animales según los tratamientos tuvieron como promedio: 67,58, 67,18 y 53,96 kg. de ensilaje por vaca, para los tratamientos T_1 , T_2 y T_3 , respectivamente. Los resultados del consumo de los animales al análisis estadístico fueron significativos ($P\leq 0,05$) en donde el tratamiento T_3 tuvo un 20,6% menos de consumo en relación a los tratamientos T_1 y T_2 que fueron similares ($P > 0,05$).

Cuadro 5.9 Ración ofrecida y consumida de materia seca a tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica, en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

Item.	Tratamientos		
	T1 Sin hongo corte temprano	T2 Con hongo corte temprano	T3 Con hongo corte tardío
Ensilaje T.C.O.(kg) ¹	71,2	71,6	58,3
Concentrado ofrecido (kg)	3,4	3,5	3,4
Total ofrecido (kg)	74,65	75,15	61,75

Total Consumido (kg)	67,6 ± 5,17 ^a *	67,2 ± 3,98 ^a	54,0 ± 4,31 ^b
Consumo Relativo (%) entre tratamientos del total consumido	100,0	99,4	79,3

* Letras distintas en filas indican diferencias significativas (P<0,05).

1 T.C.O.: alimento tal como ofrecido

El rechazo promedio fue de 8,7; 9,0 y 9,8% del forraje ofrecido lo que revela que el forraje fue administrado *ad-Libitum*. El consumo de materia seca promedio fue de 14,4; 14,2 y 13,5 kg MS/animal/día, para los tratamientos T1, T2 y T3, respectivamente (P>0,05).

El menor consumo de materia seca de ensilaje de las vacas en el tratamiento 3, se debe al menor contenido de energía por el estado fenológico de las plantas a la cosecha. El mayor contenido de paredes celulares disminuye la velocidad de digestión y por ende aumenta el tiempo de retención en el rumen, limitándose el consumo de nuevo alimento.

Conclusiones

La alimentación de vacas lecheras con ensilajes de corte temprano de ballicas con hongo endófito (*N.lolii*), no provocó la presentación clínica del síndrome tremorgénico, debido fundamentalmente al bajo contenido de lolitrem-B que los ensilajes.

La actividad sérica de las enzimas CK, GGT y AST, de los animales que consumieron ensilajes de ballicas con endófitos, estuvieron dentro de los rangos de referencia.

La producción y composición de la leche y el consumo del alimento en el grupo con ensilaje cosechado tardíamente se afectó por la menor calidad nutritiva de éste.

El peso vivo y la condición corporal no se afectó por el consumo de los ensilajes de ballica con endófito.

Respecto a este tema existen interrogantes y sobre el camino de las toxinas durante el proceso de ensilado y fundamentalmente en los ensilajes de segundo corte (período estival), en donde debiera aumentar el contenido de tóxicos.

5.5 Consumo permanente de ballicas con endófito en hembras de reemplazo

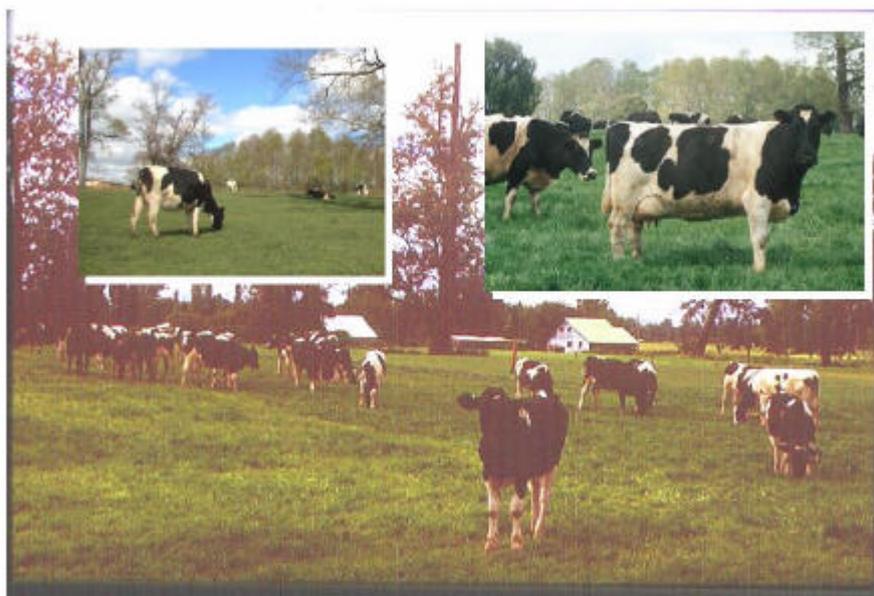
Este estudio se desarrolló para evaluar el efecto del consumo permanente de ballicas con y sin endófito *N. lolii* asociadas con trébol blanco sobre la producción y salud animal. Al respecto la literatura revisada no entrega detalles del efecto en

salud bovina del consumo permanente de ballicas infestadas con el hongo endófito, solo se reportan ensayos de corta duración. El objetivo fue cuantificar productivamente el efecto del consumo permanente de ballicas con endófitos en salud y producción animal.

El ensayo consistió en un seguimiento comparativo durante 30 meses, de hembras bovinas desde 6 meses de edad y aproximadamente hasta los 6 meses de su primera lactancia, consumiendo forrajes en pastoreo y conservados como ensilajes, provenientes de praderas de ballicas con y sin endófito *N. lolii*. El resto del manejo en ambos grupos correspondió al rutinario usado en el Centro Lechero INIA-Remehue.

El ensayo tuvo dos tratamientos: alimentación (pastoreo y suplementación) con forrajes con endófito (E+) y alimentación sin endófito (E-), cada tratamiento tuvo 12 vaquillas. Durante el invierno los animales fueron suplementados con concentrados para balancear la ración de ensilaje. Las terneras entraron con un peso de 173 kilogramos en ambos tratamientos. En la etapa pre-productiva de estas hembras la variable en estudio fue ganancia de peso vivo, realizándose los pesajes cada 14 días. Se llevaron a cabo observaciones diarias en potrero para detectar algún signo de intoxicación. Posteriormente estas vaquillas alcanzaron su edad reproductiva y fueron encastadas artificialmente de acuerdo al manejo normal del predio Remehue. Luego del parto, adicional control de peso vivo, se midieron variables de producción y composición de leche. Hacia el final del periodo de observación se tomaron muestras de sangre para bioquímica clínica de las vaquillas en producción; el objeto de estos análisis fue detectar afecciones de tipo neuromuscular de los animales durante el estudio, evaluando los niveles plasmáticos de las enzimas séricas CK AST y GGT.

Las diferencias entre tratamientos fueron cuantificadas mediante análisis de varianza. El diseño estadístico correspondió a bloques completos al azar con medidas repetidas. Los datos fueron editados usando diferentes procedimientos del paquete estadístico SAS (1993), el análisis de varianza fue hecho usando el procedimiento PROC GLM de SAS.



Fotografía 5.2 Composición de vistas de vaquillas vírgenes, preñadas y vacas Lecheras del ensayo.

Peso Vivo y ganancia de peso

Los promedios de peso inicial, peso final y ganancia diaria, con sus respectivos errores estándares, en etapa pre-productiva de las hembras, se presentan en el cuadro 5.10:

Cuadro 5.10 Peso vivo inicial, final y ganancia diaria de peso

Tratamiento	Peso inicial	Peso final	Ganancia diaria promedio (kg/día)
E+	175 ± 29,84	482 ± 54 ^a	0,53 ± 0,05 ^a
E-	172 ± 29,62	483 ± 46 ^a	0,54 ± 0,05 ^a

Letras diferentes a través de columnas indican diferencias estadísticamente significativas $P > 0,05$).

La evolución de peso vivo en el tiempo se presenta en la Figura 5.12.

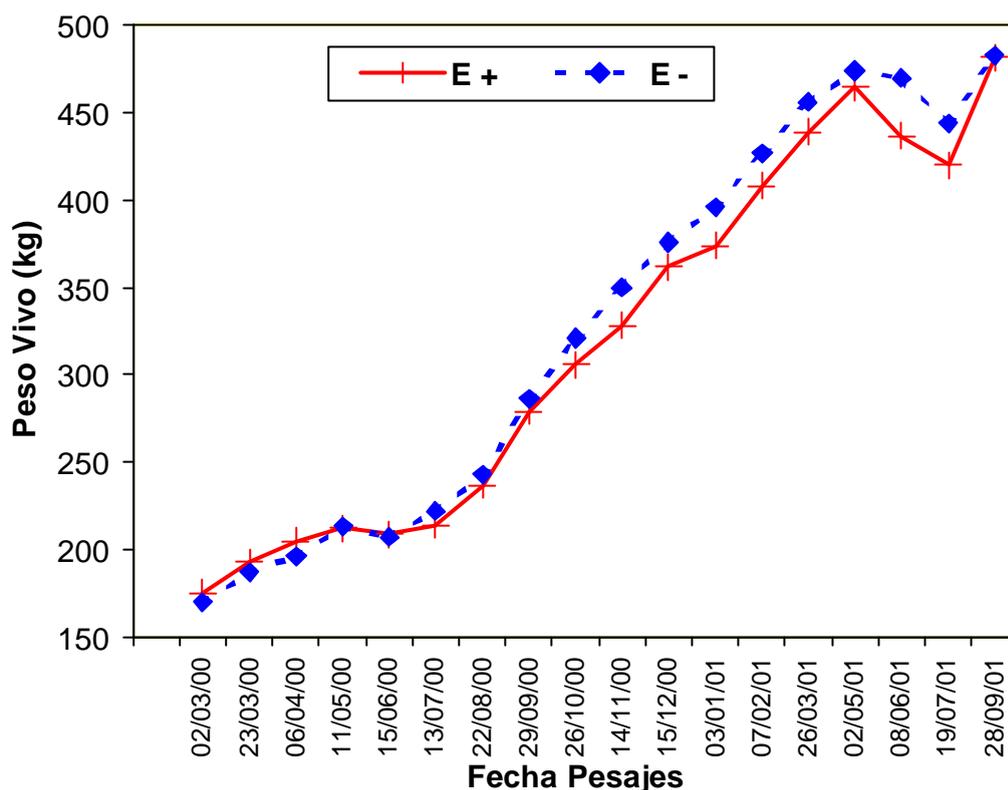


Figura 5.12 Evolución del peso vivo de las terneras-vaquillas durante la fase de crecimiento.

Los pesos de las terneras (vaquillas) en el tratamiento con endófito (E+) se mantuvieron más bajos durante gran parte del ensayo, pero hacia el final estos fueron iguales, pero las diferencias no fueron significativas ($P > 0,05$) por lo que se concluye que el consumo permanente de ballicas con endófitos no afectó el peso vivo ni el promedio de ganancia en las vaquillas.

Los promedios de peso vivo hasta 34 semanas, en el post-parto fueron 498 ± 48 kg y 495 ± 47 kg, para E+ y E-, respectivamente. Los promedios de peso no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$). Esto permite concluir, el consumo prolongado de ballicas con endófito no tiene un efecto sobre el

peso vivo de las vacas en su primera lactancia, bajo una norma de pastoreo rotacional y con residuos de alrededor de 7 cm (Fotografía 5.3) y con suplementos alimenticios para balance de ración.



Fotografía 5.3. Sector de pastoreo con vacas lecheras (residuo 6-7 cm)

Producción de Leche

En este ensayo se registraron producciones de leche en las primeras 34 semanas de la primera lactancia. Los resultados promedios y desviación estándar de producción de leche se presentan en el cuadro 5.11

Cuadro 5.11 Promedios sin corregir y desviaciones estándares para producción de leche.

Tratamiento	Promedio (L/vaca)	Desviación estándar
E+	15,49 ^a	2,89
E-	16,04 ^a	3,73

(Letras iguales en columnas no indican diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$)).

Como las vaquillas parieron en diferentes meses, se incluyó en el modelo estadístico el efecto fijo de días en lactancia. Las diferencias entre tratamientos no fueron estadísticamente significativas ($P > 0,05$), concluyendo que el consumo de ballicas

con endófitos durante el periodo de crianza no tiene un efecto sobre la producción de leche en la primera lactancia.

Componentes de la leche, grasa, proteína, urea y recuento de células somáticas

Los promedios sin corregir y desviaciones estándares de los distintos componentes en leche se presentan en el Cuadro 5.12.

Cuadro 5.12 Componentes de la leche, grasa, proteína, urea y células somáticas.

	Tratamiento		P<0,05
	E+	E-	
Materia grasa (%)	3,42 ± 0,73	3,55 ± 0,98	N.S. ¹
Proteína (%)	3,04 ± 0,36	3,18 ± 0,44	N.S.
Urea (mg/L)	375,6 ± 81	362,5 ± 72	N.S.
RCS ² (cal/ml)	11,8 ± 1,04	12,23 ± 1,56	N.S.

1 N.S. : No Significativo

2 RCS : Recuento de células somáticas

Los resultados de urea se encuentran dentro de los rangos normales que revela que los animales recibían dietas balanceadas nutricionalmente (energía-proteína)

Aunque la concentración de materia grasa en la leche producida por vacas de primer parto que consumieron ballicas con endófitos fue menor que la concentración de grasa en leche de aquellas alimentadas con ballicas sin endófito. El análisis estadístico indicó que la probabilidad que esta diferencia fuera producto del azar y no del tratamiento es mayor a un 5 %.

Al igual que en el caso de porcentaje de grasa, la proteína de la leche no se vió afectada significativamente por el consumo permanente de ballicas con endófitos.

El recuento de células somáticas promedio fue de 176.000 (E+) y 374.000 (E-). Como esta variable no sigue una distribución normal, ésta debe ser transformada para ser analizada con análisis de varianza que asume una distribución normal. La fórmula para transformar el recuento de células somáticas fue:

Variable Transformada = $\log(\text{variable original}+10)$

Los promedios de recuento de células somáticas transformado en una escala logarítmica se presentan en el Cuadro 5.12.

De acuerdo al análisis de varianza, las diferencias observadas entre tratamientos, para recuento de células somáticas, no fueron estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en las primeras 34 semanas de lactancia. Similares resultados fueron observados en los experimentos ya informados en este documento (puntos 5.2.1 y 5.3) así como lo señalado por Auld y Thom, (2000).

Análisis de Enzimas

Se analizaron 7 muestras del tratamiento con endófito (E+) y 5 muestras del tratamiento sin endófito E-. Las enzimas estudiadas fueron AST, GGT y CK. Debido al bajo número de muestras que se entrega en este boletín solo se presenta información estadística descriptiva de las 3 enzimas estudiadas. (Cuadro 5.13).

Cuadro 5.13 Valores promedios, mínimos y máximos y desviaciones estándares para las enzimas AST, GGT y CK

		AST (U/L)	GGT (U/L)	CK (U/L)
E+	Promedio	112,28	41,00	243,28
	Desv. estándar	21,12	36,96	73,57
	Valor Mínimo	86,00	16,00	162,00
	Valor Máximo	150,00	123,00	378,00
E-	Promedio	135,20	21,40	189,00
	Desv. estándar	26,56	139,70	28,95
	Valor Mínimo	115,00	28,00	150,00
	Valor Máximo	180,00	360,00	229,00

Debido al bajo número de observaciones y a la alta variabilidad del contenido de enzimas en la sangre no se considera pertinente usar estos datos en un análisis de varianza como el descrito anteriormente para las otras variables.

Conclusión

La exposición prolongada a ballicas con endófito en pastoreo dejando un residuo de 6-7 cm. como suplemento de ensilaje, no tiene efecto sobre la ganancia de peso de hembras de reemplazo ni afecta su producción de leche al menos en las 34 primeras semanas de la primera lactancia.

Literatura citada

- AULDIST, M.J. ; THOM, E.R. 2000. Effects of endophyte infection of perennial ryegrass on somatic cell counts, mammary inflammation, and milk protein composition in grazing dairy cattle. *New Zealand f. of Agr. Research* 43:345-349.
- BARKER, D.J.; DAVIES, E. ; LANE, G.A. ; LATCH, C.C.M. ; NOTT, H.M. ; TAPPER, B.A. 1993. Effects of water deficit on alkaloid concentration in perennial ryegrass endophyte associations. In Hume, D.E., Latch, G.C.M., Easton, S. Ed. *Proceedings of second International Symposium on Acremonium/Grass Interactions*. pp 67-71.
- BLACKWELL, M.B., KEOGH, R.G. 1999. Endophyte toxins and performance of spring calving dairy cows in Northland Ryegrass endophyte : an essential New Zealand symbiosis. *Grassland Research and Practice Series N°7*:45-50.
- BUTENDIECK, N. ; ROMERO, O. ; HAZARD, S. ; MARDONES, P y GALDAMES, R. Caída del consumo y producción de leche en vacas alimentadas con *Lolium perenne*, infectada con *Acremonium lolii* (1994) *Agricultura Técnica (Chile)* 54 (1) ; 1-6.
- CASTLE, M. ; WATSON, J. 1976. Silage and milk production. A comparison between barley and groundnut cake as supplements to silage digestibility. *J. Bri. Grass. Soc.* 31:191-195.
- CLARK, A. THOM, E. and milk production. From pasture and pasture silage with different levels of endophyte infection (1996) *Prod. of the N.Z. Soc. of Prod.* 56:292-296.
- COSGROVE, G.P. ; ANDERSON and T.R.N. BERQUIST. 1996. Fungal endophyte effects on intake, health and live weight gain of grazing cattle. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 57: 43-48.
- DULPHY, J. ; DEMARQUILLY, C. ; ANDRIEU, J. 1981. Intake of grass silage by dairy cows and its potential to meet requirements of maintenance and milk production feeding value. *Proceeding of the XVI International Grassland Congress : held at Lexington, Kentucky, USA* ed: Smitd, J. A., Hays, V. W. Boulder Co: Westview Press 702-703.
- EASTON, H.S. 1999. A background to endophytes. *Dairy farming annual*. Ed Massey University, New Zealand. Pág. 17-28.
- FLETCHER, L. 1993. Grazing ryegrass/endophyte associations and their effect on animal health and performance. *Proceedings of the second international symposium on Acremonium/grass interactions*. Ed. Hume, Latch & Easton. Palmerston North, N.Z. pp. 115-120.
- FLETCHER, L. ; SUTHERLAND, B. ; FLETCHER, C. 1999. The impact of endophyte on the health and productivity of sheep grazing ryegrass-based pastures. *Ryegrass Endophyte: an essential New Zealand symbiosis*. *Grassland Research and Practice Series N°7*. Ed : Woodfield, D.R. Matthew, C. Published by New Zealand Grassland Association:11-17.

- KANERO, J.J. ; HARVEY, J.W. ; BRUSS, M.C. 1989. Clínica enzymology, Normal blood analyte values in large animals, In: Clínica biochemistry of domestic animals. 4th Ed. Academic Press, New York U.S.A. pp. 886-889.
- LANE, G. A. ; TAPPER, B. A. ; DAVIES E. ; HUME D. E. ; LATCH G.C.M. ; BARKER D.J.; EASTON H.S. ;ROLSTON, M.P. 1997. Effect of growth condition on alkaloid concentrations in perennial ryegrass naturally infected with endophyte. In: Neotyphodium/Grass Interactions. Eds. Bacon, C.W., Hill N.S. Plenum Press, New York & London pp.179-182.
- LANUZA, F. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. ; ANGULO, L. y VILLAGRA, M. 1998. Efecto del consumo de praderas permanentes con ballica Yatsyn 1 con y sin endófito *A.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de terneras en crecimiento a pastoreo. Resumen XXIII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán-Chile, INIA -Quilamapu 21-23. Oct. 214.
- LANUZA, F. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. y VILLAGRA, M. Efecto del consumo de praderas permanentes compuestas por ballica Yatsyn 1 con y sin endófito *N.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de vacas lecheras a pastoreo. Primera temporada (1999) Resumen XXIV Reunión Anual SOCHIPA A.G., Temuco-Chile, Universidad Católica de Temuco 27-29 Oct. 13-14.
- LANUZA, F. ; VERGARA, C. ; URIBE, H. ; AGÜERO, H. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. 2002. Intensidad de pastoreo de praderas de ballicas infectadas con hongo endófito (*A.lolii*) en vacas lecheras. I Efectos sobre producción de leche y componentes. Resumen XXVII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán, Chillán 2-4 Octubre: 81-82.
- Mc CALLUM, D. A. ; THOMSON, N. A. 1994. The effects of different perennial ryegrass cultivars on dairy animal performance. Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production 54:87-90.
- RADOSTITS, O. ; BLOOD, D. ; GAY, C. 1994. Veterinary Medicinae 8º ed. Bailliere Tindall, London. SAS INSTITUTE INC. 1993. SAS User`s guide. Statistics, Version 6.03 Ed. SAS Institute Inc., Cary, N. C. U.S.A.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; PRESTIDGE, A. ; CLARKSON, H. and WAUGH, D. 1994. Ryegrass endophyte cow health and milk solids production for the 1993/94 season. Proc of the N. Z. Grassland Ass 56:259-264.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; WAUGH, D. ; Mc CABE J. ; VAN VUGHT, T. and KOCH, L. 1997. Effects of ryegrass endophyte and different white clover levels in pasture on milk production from dairy cows. Proc of 3rd International Symposium on Neotyphodium/grass Interactions Eds. Bacon and Hill 443-445.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; WAUGH, D. 1999. Growth persistence, and alkaloid levels of endophyte-infected and endophyte-free ryegrass pasture grazed by dairy cows in northern New Zealand. N.Z.J. of Agr. Research 42:241-253.

- VALENTINE, C. ; BARTSH, D. and CARROL, D. 1993. Production and composition of milk by dairy cattle grazing high and low endophyte cultivar of perennial ryegrass. Proc. of the 2th. International Symposium of Acremonium/grass Interactions : 138-141.
- VERGARA, C. 2002. Efecto de la utilización de ballicas perenne (*Lolium perenne*) infectada con el hongo endófito (*Acremonium lolii*), sobre la producción y la salud de vacas lecheras. Tesis. Fac. Cs. Veterinarias, U. de Chile.
- WITTWER, F. 2000. Valores referenciales de constituyentes bioquímicos sanguíneos en animales domésticos. Laboratorio Patología Clínica Veterinaria. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Capítulo 6

EFFECTOS ECONÓMICOS EN LA PERSISTENCIA DE LA PRADERAS DEL COMPLEJO GORGOJO DE LA BALLICAS/HONGO ENDÓFITO

Rodrigo Bravo H.

6.1 Introducción

En los sistemas de producción animal, los costos de producción están determinados de manera significativa por la alimentación del ganado. Este ítem va a determinar en gran medida la viabilidad económica de un sistema de producción animal, el que a su vez, está limitado por la eficiencia de la transformación de alimento en producto animal leche y/o carne.

En las regiones Novena y Décima, la manera más eficiente de alimentación del ganado es sobre la base de praderas de buen rendimiento, calidad y persistencia, constituyendo casi el 28 % de los costos de producción, siendo el ítem de mayor importancia relativa en los costos de producción de leche (Díaz *et al.*, 1998; Anrique *et al.*, 1999).

Dentro de la producción forrajera, el uso de ballicas se ha consolidado como una alternativa de alta productividad que ha permitido que se vayan estructurando sistemas de producción animal en base a forraje. Sin embargo, uno de los problemas detectados en la producción de forraje en los años noventa a sido la incidencia y el daño provocado por ataque del gorgojo argentino (*L. bonariensis*), con niveles distintos de ataque en varias especies gramíneas, entre las que se encuentran mayoritariamente ballicas anuales, bianuales y perennes (Cisternas y Torres, 1997; Lanuza, 2001).

6.2 Daños provocados por ataques del gorgojo argentino.

En Nueva Zelanda, el gorgojo argentino de las ballicas ha representado un problema importante para la producción animal. Prestidge *et al.*,(1991), señalan que este insecto habría infectado alrededor de 7 millones de hectáreas en dicho país y que el costo anual del daño provocado sería sobre los MMNZ\$78. Esta cifra suma los daños estimados por deterioro de la salud animal, pérdida de productividad de las praderas y los costos de regeneración de las mismas.

En Chile, los casos reportados por Cisternas y Torres (1997), constituyen una preocupación para el sector de producción animal del sur de Chile; se señala que existen zonas y productores que han sido afectados por ataques con un nivel significativo de impacto en la economía predial.

Estos autores señalan que el gorgojo argentino causa sobre la pradera un daño que puede reducir su productividad y/o persistencia dependiendo del nivel de ataque presentado. En relación a la productividad anual, Cisternas (2001), reporta pérdidas de 44% en producción de materia seca en un período que va entre enero y agosto, en una pradera de ballica bianual producto del daño producido por el insecto (Figura 6.1).

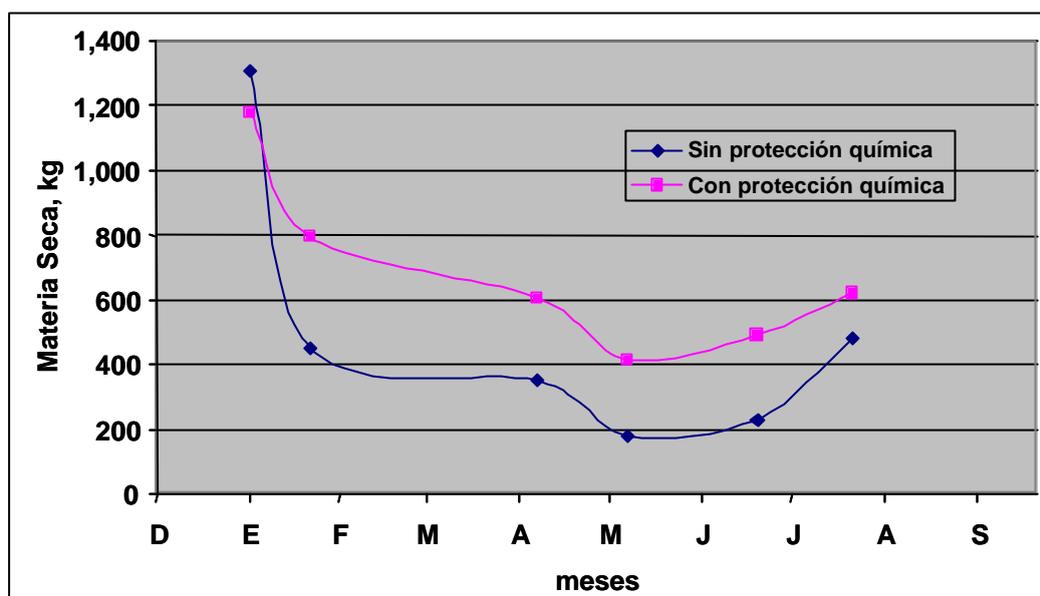


Figura 6.1. Efecto del gorgojo argentino sobre la pérdida de materia seca en ballica bianual. (Fuente: Cisternas, 2001)

No obstante lo anterior, el daño potencial más importante que puede producir esta plaga es sobre la persistencia de las praderas. En el caso de praderas recién establecidas o en regeneraciones, las plántulas se pueden afectar de tal manera que la superficie afectada es invadida por malezas perdiendo, su valor nutritivo y por consiguiente pérdidas para productor. El daño puede reducir en forma significativa la persistencia de la ballica perenne, lo que puede ocurrir en el transcurso de 2 a 3 años (Cisternas, 2001).

Dada la importancia en los costos de producción que tienen el uso de praderas de alta productividad, la reducción en su persistencia afectará en forma significativa la competitividad de los sistemas de producción animal. Según Ponce (2001), en el caso de productores ganaderos, que habiendo corregido los niveles de fertilidad del suelo, la opción de mejorar la productividad mediante la incorporación de ballicas como forraje de alto valor nutritivo, es una decisión que busca reducir los costos de producción.

Por otra parte, la manera más efectiva que se ha desarrollado para combatir los efectos del gorgojo argentino es la utilización de ballicas infectadas con el hongo *Neotyphodium lolii*. Esto, si bien puede traer efectos sobre la salud animal no

reduce de manera significativa la productividad (Lanuza, 2001) y por otra parte, aumenta significativamente la persistencia de la pradera cuyos costos de establecimiento deben ser sustentados por la producción animal asociada.

6.3 Persistencia de la pradera e implicancias en los costos de producción.

En la producción animal basada en praderas, la mayor persistencia de éstas reduce en forma notable los costos de alimentación del rebaño y en consecuencia, el costo de producción de leche y/o de carne.

Para analizar los efectos del posible daño del gorgojo argentino en la producción de materia seca y su costo de producción, se construyeron fichas técnicas de establecimiento y mantención de praderas de ballica perenne y bianual a partir del trabajo realizado por Teuber y Navarro (1997).

La estimación del costo de establecimiento y mantención de praderas de ballica perenne y bianual se presentan en el Cuadro 6.1. En ambos casos, se supone una situación en que se ha corregido el nivel de fertilidad antes del establecimiento y se atribuyen los costos directos de establecimiento y mantención, prorrateándose el costo de establecimiento por el número de años de duración de la pradera y sin considerar el costo del capital.

Como se puede ver en el Cuadro 6.1, el costo de producción de una pradera de ballica bianual es mayor por razones del tiempo de duración, es decir los costos de establecimiento se reparten en menos años en relación a una pradera de ballica perenne. Para los rendimientos señalados en el mismo cuadro, el costo de producción por kilogramo de materia seca son lo que debiera tener un agricultor que establece praderas de ballicas y realiza un uso eficiente de las mismas y que alcanzan un valor de \$23,1 para una pradera de ballica bianual utilizada en pastoreo y ensilaje; y de unos \$13,7/kg de materia seca para una pradera de ballica perenne. No obstante lo anterior, los costos señalados corresponden a praderas que tienen una duración normal.

Cuadro 6.1 Costo de producción de materia seca para pradera de ballica anual y bianual. \$ de julio del 2003 .

Costos según el tipo de pradera	Pradera ballica bianual	Pradera ballica perenne
Costo Establecimiento	299.737	239.656
Costo Mantención	220.044	113.070
Costo anual	369.913	137.036
Rendimiento pastoreo (kg MS/ha)	5.850	10.000
Rendimiento ensilaje (kg MS/ha)	4.000	---
Costo MS (\$/kg)	23,1	13,7

Fuente: (Teuber y Navarro, 1997)

De lo anterior, surge la importancia de evitar el ataque del gorgojo argentino, pues el costo mencionado podría verse incrementado rotablemente si la persistencia de la pradera es afectada, ya que la inversión realizada en el establecimiento de

una pradera tendrá que ser absorbida en menos años (Figura 6.2). Siguiendo el ejemplo del Cuadro 6.1, para el caso del establecimiento de una pradera de ballica perenne, la importancia que ésta tenga una larga vida útil está dada por que de esta forma se reducen los costos de producción de materia seca. Como se observa en la Figura 6.2, al ir disminuyendo la vida útil de la pradera el costo de producción por kilogramo de materia seca va aumentando en forma notable. Este aumento no es lineal, es decir, con cada año de disminución de la vida útil de la pradera el costo no se incrementa de la misma manera.

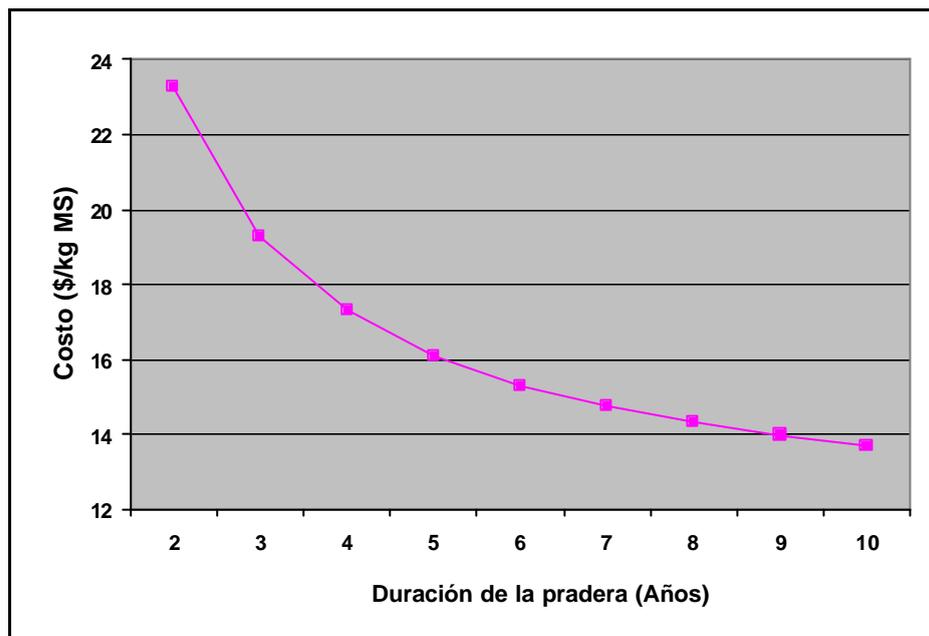


Figura 6.2. Estimación del costo de producción de materia seca según los años de vida útil de una pradera de ballica perenne.

En el Cuadro 6.2, se puede ver el ejemplo en forma numérica con el costo por kilogramo de materia seca según los años de duración de la pradera y la diferencia en \$/kg que significa disminuir en un año la vida útil de la pradera perenne. Como se puede ver si la pradera se pierde, por ejemplo, en el año 4 el costo de \$17,3/kg y si se pierde al tercer año es de \$19,3/kg, de esta manera la diferencia en el costo de materia seca entre los dos años es de \$2/kg, mientras que la diferencia entre una vida útil de 9 y 10 años es de 0,3\$/kg con costos de \$14/kg y \$13,7/kg, respectivamente, por lo cual el alargar la vida útil de la pradera permite ir reduciendo en forma significativa el costo de producción del principal alimento del ganado en los sistemas de producción basados en recursos pratenses.

Cuadro 6.2 Costo por kilogramo de materia seca según los años de duración de la pradera y la diferencia en \$/kg según vida útil.

Años de vida útil	Costo de materia seca. (\$/kg MS)	Diferencia en el costo según vida útil (\$/kg MS)
2	23,3	4,0
3	19,3	2,0
4	17,3	1,2
5	16,1	0,8
6	15,3	0,6
7	14,7	0,4
8	14,3	0,3
9	14,0	0,3
10	13,7	-

Fuente: Elaboración propia a partir del ejemplo del Cuadro 6.1.

Literatura citada

- ANRIQUE, R., L. LATRILLE, O. BALOCHI, D. ALOMAR, V. MOREIRA, R. SMITH, D. PINOCHET Y G. VARGAS. 1999. Competitividad de la producción lechera nacional. Universidad Austral de Chile. Facultad de Cs. Agrarias. Valdivia, Chile. 222 p.
- CISTERNAS, E Y A. TORRES. 1997. Gorgojo Argentino de las ballicas: antecedentes biológicos, daños e incidencia en praderas. Boletín técnico n 242. INIA Remehue.
- CISTERNAS, E. 2001. Plagas claves en la producción de praderas. En: Serie Actas N 9. Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- DIAZ, C Y C. WILLIAMSON. 1998. Acuerdos comerciales y competitividad: evidencia del sector lácteo chileno. Revista Abante. Vol 1 N 1. pp 59-88
- LANUZA, F. 2001. El endófito de las ballicas *Neothypodium lolii* y su efecto en la salud y producción bovina. En : Jornadas Chilenas de Buiatría. Puerto Varas. Chile.
- PONCE, M. 2001. Respuesta Económica en el mejoramiento de praderas permanente. En: Serie Actas N 9. Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- TEUBER. N. Y H. NAVARRO. 1997. Establecimiento de praderas permanentes en la Décima Región de Chile. Boletín Técnico N 243. INIA Remehue.

Capítulo 7

RECOMENDACIONES

Francisco Lanuza A.; Alfredo Torres B.; Ernesto Cisternas A.

En base al conocimiento actual del complejo *Listronotus bonariensis*, *Neotyphodium lolii*, relacionado con la producción de leche y carne bovina se pueden establecer una serie de acciones y recomendaciones de manejo que permiten anticiparse a la presentación de los problemas.

Como el insecto es nativo y se encuentra en toda la región, su control natural es bajo y circunscrito a áreas menos intervenidas. Por lo tanto, cuando se inicie el establecimiento de ballicas y el manejo posterior de la pradera con los animales se deberá considerar los siguientes puntos:

1. Sembrar en otoño

Las siembras en ésta época tendrán un período de ataque menor en comparación a las siembras de primavera y por ende una menor tasa de ataque. Sin embargo se debe cuidar el establecimiento de las plantas, si la plaga está presente en el potrero, además si la siembra es en cero labranza o regeneración y el cultivo anterior es una gramínea. La presencia de la plaga en niveles superiores a 50 adultos/m² pueden causar porcentajes de ataque superiores al 20%.

2. Detección temprana de *L. bonariensis*

El insecto durante el invierno se encuentra en hibernación e inicia su actividad temprano en la primavera cuando las temperaturas en promedio son superiores a 10°C. Esto en la Xª Región es mas regular a partir de octubre.

Primaveras temperadas activarán tempranamente al insecto y primaveras frías retrasarán su actividad. Iniciar los muestreos desde fines de septiembre. En siembras de primavera revisar el follaje de las plántulas durante el período de emergencia.

3. Control químico

Solo después de detectar el insecto en niveles superiores a 50 adultos/m² o en la eventualidad de presentar un historial de ataques en el predio. Recomendable es un análisis desde el punto de vista económico de la medida.

4. Usar ballicas con hongo endófito *N. lolii*

Existe en el mercado un gran número de cultivares con hongos endófito. Chequear que su cosecha sea reciente o mayor a una temporada y haya sido

almacenada con baja temperatura y humedad. Intentar obtener antecedentes de niveles de infestación por endófito en las semillas.

El endófito, no solo protege a la planta del gorgojo, sino que también produce un mayor rendimiento (10 a 12%), mejor comportamiento frente al déficit hídrico estival, una persistencia más prolongada y tolerancia a otras plagas y enfermedades.

Cultivares antiguos, como Nui, presentan endófito en forma natural, en niveles bajos y medios, siendo los cultivares de niveles más altos, los procedentes de Nueva Zelanda, llegados en estos últimos años al país y a los cuales se les ha introducido artificialmente el hongo.

En la elección de un cultivar de ballica, no solo se debe considerar el nivel de endófito, sino que también otros factores como su rendimiento, tolerancia al aluminio, precosidad, resistencia a la sequía, crecimiento invernal, vigor al establecimiento y calidad bromatológica, entre los más importantes.

Existen cultivares sin endófito, que toleran con éxito los ataques del gorgojo argentino del tallo, por lo tanto hay otro factor no identificado que influye en la tolerancia de algunos cultivares al ataque del *L. bonariensis*, esto se ha denominado “factor químico antialimentario”.

5. Ubicación del hongo

La mayor cantidad de micelios, se encuentra en la vaina de las hojas de mayoría de los macollos, tallos, inflorescencias y semillas. Cantidades muy pequeñas del hongo, viven en la lámina, raíces y polen. Esto permite orientar su utilización con los animales.

6. Presencia de toxinas

El hongo endófito produce una serie de toxinas, la peramina que ejerce un control sobre varias plagas, entre las que está el gorgojo de la ballica (*L. bonariensis*). Sin embargo, el lolitrem B y la ergovalina pueden provocar intoxicación en mamíferos, dentro de los cuales están los ovinos, bovinos y equinos, pudiendo disminuir su producción.

7. Establecimiento de mezclas forrajeras

No es recomendable establecer praderas con ballicas en mezclas de cultivares con y sin endófito, pues frente a un ataque de la plaga, se reducirá fuertemente la población de las ballicas sin endófito y con ello la productividad de la pradera.

Incorporar las semillas en suelos con niveles adecuados de fertilidad para aumentar la capacidad de recuperación de la pradera frente a un ataque de la plaga.

Es conveniente asociar alguna leguminosa como trébol blanco de acompañante para diluir el efecto de las toxinas.

8. Ubicación de las toxinas

Los compuestos tóxicos, se concentran mayoritariamente en la base de las hojas y semillas y muy poco en las láminas y las raíces. A través del año, las mayores concentraciones de toxinas se encuentran en el verano y otoño y disminuyen considerablemente en invierno y primavera, dependen directamente de la temperatura ambiental y del suelo. Además, en otoño, la pradera puede tener una gran cantidad de material senescente, fracción que se caracteriza por poseer altos niveles acumulados de las toxinas, principalmente lolitrem B y ergovalina. Lo anterior permite prevenir la ingesta de toxinas a través de manejo de la utilización en las distintas épocas.

9. Análisis de toxinas

Para el análisis de toxinas, el procedimiento de toma de muestras comienza con el corte de la planta a ras de suelo o a una altura que dependerá del objetivo del análisis, se coloca de inmediato en una bolsa de plástico negro u otro envase que impida la exposición a la luz, se transporta de inmediato y con la menor temperatura posible a un laboratorio para proceder a su liofilización (secado en frío) o si no es posible congelar la muestra a 20°C para su envío al Laboratorio Central de INIA -La Platina en Santiago.

En relación a los animales es necesario señalar que en un predio, no existen pruebas de la presencia del gorgojo, el uso de ballicas con el hongo endófito debe ser cuidadosamente analizado, ya que si no se maneja bien este tipo de praderas, las toxinas producidas por el endófito, pueden provocar problemas de salud en los animales, con variables disminuciones de producción, de acuerdo a la gravedad de la intoxicación.

10. Manejo de pastoreo de ballicas con endófito

Un adecuado manejo debe evitar la utilización de la pradera cuando las ballicas se encuentren en etapa reproductiva (espiga emergida). Cuando la pradera se encañe, sobre todo en los manchones no pastoreadas, debe hacerse un corte de limpieza mecánica.

No llevar a cabo un pastoreo intenso de la pradera (residuo menor a 5 ó 6 cm) para no consumir las partes bajas de las plantas, lugar donde se concentran los mayores niveles de endófito y de toxinas. Esto es particularmente necesario durante el período estival y en el otoño, sobre todo cuando hay residuos de material senescentes del verano.

11. Períodos de presentación de “temblor de las ballicas”.

En los períodos de mayor frecuencia de presentación del cuadro temblor de las ballicas (verano-otoño), se puede contemplar alguna suplementación alimenticia, estratégica para disminuir el riesgo de intoxicación al diluir las toxinas con alimentos que no contienen endófito (forrajes frescos como soiling o pastoreo, conservados como ensilajes y/o heno, y concentrados)

Los animales deben contar con agua en forma permanente.

12. Manejo animal

El movimiento de los animales debe hacerse lento y con cuidado de no someterlos a estrés como arreos con perros y a gritos. Esto es de mayor importancia en las vacas lecheras que transitan a la sala de ordeña dos veces al día y en ocasiones existe una gran distancia a las praderas.

13. Animales afectadas con la intoxicación

Si se llega a presentar el cuadro temblor de las ballicas en los animales, debe cambiarse a otras praderas con forrajeras sin endófito (ballicas anuales o de leguminosas (alfalfa-trébol rosado). Si el animal cae y permanece echado, debe dejársele tranquilo y ofrecérsele agua y otros alimentos sin hongo hasta que se recupere.

En lo posible se debe registrar a los animales que presentaron síntomas, para que en futuros episodios puedan ellos servir para una detección precoz y así anticipar la presentación de problemas. Regularmente hay animales muy sensibles o susceptibles a la intoxicación, en cambio otros son muy tolerantes.

Capítulo 8

COMPENDIO Y DESAFÍOS FUTUROS

Francisco Lanuza A.; Alfredo Torres B.; Ernesto Cisternas A.

8.1 Compendio

El complejo *Listronotus bonariensis* – *Neotyphodium lolii*, en relación a la producción animal de leche y carne es un tema técnico económico que en Chile se ha abordado desde inicios de los noventa. Inicialmente no se dimensionó adecuadamente el problema del ataque de la plaga del insecto (*L. bonariensis*) a las praderas en la Zona sur, hasta que hubo un reconocimiento explícito de que el fracaso del establecimiento de ballicas se debía al aumento real de la población del insecto que atacaba en su estado adulto y de larva a las plantas de ballica. Esto fue avalado por estudios de Cisternas y Torres (1997), que respondiendo al llamado de algunos productores de la X Región, identificaron el problema.

Otros estudios en la novena Región (Aguilera y Marín, 1994), reportaron resultados de ensayos que revelaron daños en tallos de las ballicas, pero se señaló que la incidencia del gorgojo era inferior a los niveles que ocurren en Nueva Zelanda país en el cual este insecto es exótico. Se estableció una estrategia institucional para enfrentar esta amenaza de la praderas del Sur, (X y IX Regiones), que constituyen el pilar fundamental de la fortaleza competitiva de los rubros de leche y carne bovina.

Al mismo tiempo, este problema estaba afectando también a las praderas de N.Zelandia, desde hace varias décadas, manifestándose en la presentación de un cuadro tremorgénico en los animales mamíferos (bovinos, ovinos, ciervos, equinos) que consumían ballicas que contenían el hongo endófito (*Neotyphodium lolii*). En ese país los endófitos estaban presentes en el 70% de los macollos de las ballicas en la Isla Sur y en el 99% en la parte alta de la Isla Norte. Este hongo tiene una relación simbiótica de tipo mutualista que beneficia a la planta porque repele del ataque del insecto (*L. bonariensis*), pero que además, perjudica bajo ciertas circunstancias a los animales que la consumen por contener unos compuestos tóxicos que solo fueron identificados recién el año 1981 por Gallagher, *et al.* Estos fueron el lolitrem B y la ergovalina. El primero es el principal responsable del cuadro tóxico “temblor de las ballicas” (“Ryegrass staggers”) y el segundo es responsable del cuadro denominado stress por calor. Luego de reconocido e identificado el problema en Nueva Zelanda, hubo un sostenido plan de investigación para contribuir a solucionar el problema de la plaga, incorporando el hongo endófito a las semillas de ballicas y al mismo tiempo desarrollando estrategias de uso de estos para minimizar los efectos negativos en los animales que la consumían.

Aspectos relacionados con el endófito y la producción ovina fueron los más estudiados (Fletcher, *et al.*, 1981; Fletcher 1983; Fletcher y Barrel, 1984, Fletcher, *et al.*, 1991). Mucho menos abordados fueron los problemas con otras especies. Durante el primer quinquenio de los noventa se reportaron escasos trabajos en bovinos de carne (Cosgrove *et al.*, 1996) ; y en bovinos de leche (Valentine *et al.*, 1993; Thom *et al.*, 1994 ; Butendieck *et al.*, 1994 ; McCallum y Thomson, 1994).

En consideración a que la gran mayoría de las semillas de ballicas provenían de Nueva Zelandia y en su gran mayoría contenían el endófito, la empresa distribuidora de semillas ECSA Ltda. de Osorno, se adjudicó un Proyecto FONTEC de Innovación Tecnológica para respaldar con información nacional el uso de estas nuevas tecnologías.

La ejecución de este proyecto fue realizado por INIA -Remehue, que diseñó una serie de ensayos en relación a los tres componentes principales de este complejo, el insecto *L. bonariensis*, el endófito *N. lolii* de las ballicas, y la utilización de estas ballicas en asociación con trébol blanco para la producción de leche y carne bovina.

En el Llano Central de la Xª Región, se realizó un ensayo para estudiar el comportamiento de la ballica perenne Yatsyn 1 con y sin endófito, y con y sin control químico de *L. bonariensis*. Se observó que el rendimiento de forraje puro, fue significativamente superior en la ballica Yatsyn 1 con endófito (E+), en comparación con la ballica Yatsyn 1 sin endófito (E-). El factor insecticida presentó un mayor rendimiento estadísticamente significativo para la ballica Yatsyn 1 con aplicación de insecticida (I+), en comparación a la ballica Yatsyn 1 que no fue aplicada con insecticida (I-).

Se determinó que el periodo de mayor actividad de *L. bonariensis* se encuentra entre las semanas 39 y 19 , es decir fines de septiembre y primeras semanas de mayo.

A través de las muestras de población y grado de ataque de *L. bonariensis*, durante la época de mayor incidencia (verano) se ha determinado una clara relación de población y ataque versus presencia o ausencia de endófito, regularmente la de ballica Yatsyn E(+) presenta los niveles más bajos de población y nivel de ataque de ejes.

De los resultados expuestos se desprende que el rendimiento de forraje puro fue significativamente superior en la ballica Yatsyn 1 con endófito (E+), en comparación con la ballica Yatsyn 1 sin endófito (E-). Al analizar el factor insecticida, también se aprecia un mayor rendimiento, estadísticamente significativo, para la ballica Yatsyn 1 con aplicación de insecticida, en comparación con la ballica donde no se aplicó.

A través del análisis de los datos se pudo determinar la existencia de interacción negativa, la aplicación de insecticida anula el efecto del endófito, en comparación

cuando no existe el factor insecticida, observándose claramente la acción del endófito sobre la población de *L. bonariensis*.

Los ensayos con animales se llevaron a cabo en el período en donde se manifiestan con mayor frecuencia los efectos de los endófitos (verano y parte del otoño).

Respecto de los ensayos en producción de carne, se utilizaron hembras de reemplazo evaluándose el efecto del consumo de praderas con y sin endófito, en mezcla con trébol blanco, sobre la ganancia de peso. No se observaron diferencias por el efecto endófito en los animales ni se presentó el síndrome “temblor de las ballicas”, pero si hubo una mayor carga animal en el sector de las ballicas con endófito (Lanuza *et al.*, 1998).

En producción de leche se evaluó en 2 temporadas el efecto del consumo de ballicas con endófito sobre la producción de leche y la salud de vacas lecheras con parto de primavera.

En la primera temporada se observó una mayor producción de leche de 7,5% en las vacas que consumieron ballicas sin endófito. Sin embargo la producción por superficie fue similar porque el sector de ballicas con endófito soportó una mayor carga animal. Durante esta primera temporada se presentó el síndrome “temblor de las ballicas”, en dos ocasiones en algunos animales debido a que hubo un pastoreo profundo en una de las parcelas. En general el residuo post-pastoreo que se utilizó fue de 7 ó 8 cm medido con plato (Lanuza *et al.*, 1999). Durante la segunda temporada, la pradera se afectó por una intensa sequía, que obligó a reducir la carga animal y además hubo que realizar una alimentación suplementaria que enmarcó un posible efecto de los tóxicos endófito; las vacas produjeron similar cantidad y composición de leche (Lanuza *et al.*, 2000).

Frente a muchas interrogantes del complejo *Listronotus bonariensis-Neotyphodium lolii* en producción animal, se formuló este Proyecto con el apoyo institucional y el de muchas organizaciones de productores, empresas lácteas y distribuidoras de insumos agropecuarios.

Bajo condiciones de la X Región el gorgojo argentino de las ballicas *L. bonariensis* presenta dos generaciones al año. La primera se desarrolla en primavera –verano (agosto a diciembre) y la segunda en verano–otoño (diciembre–marzo), permaneciendo los adultos de ésta generación en estado de diapausa invernal.

La acción de los enemigos naturales sobre la plaga principalmente parasitoides determinada en distintos predios y localidades de la región fue baja a nula en muchos de ellos, detectándose sólo dos agentes de control natural promisorios. Un parasitoide de huevos *Patasson atomarius* (0 a 3%) y un hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* atacando adultos y pupas (0 a 15 %). No se encontró el parasitoide de adultos aunque se conoce la existencia de éste en la IV y VIII Regiones.

Se clasificó los cultivares evaluados según su susceptibilidad a la plaga en tres áreas de la Región (Los Lagos, Osorno (Remehue) y Puerto Varas (Nueva Braunau). Los cultivares de las especies de rotación y las perennes sin endófito fueron los más susceptibles al insecto. La susceptibilidad promedio de las tres localidades de todas los cultivares perennes con endófito fue moderada (25 a 49 % de ataque). Lo regular es que a mayor población de la plaga mayor nivel de daño en las ballicas y a mayor nivel de endófitos menor población de la plaga. En Nueva Braunau casi todos los cultivares fueron más susceptibles al ataque de la plaga. Los cultivares de rotación corta mostraron una alta y muy alta susceptibilidad a la plaga en todas las localidades, solo dos cultivares fueron moderadamente susceptibles Maverik y Flanker.

Poblaciones iguales y superiores a 125 gorgojos/m² son capaces de dañar fuertemente el establecimiento de una pradera de ballicas de rotación y perennes sin endófito. En 15 días poblaciones cercanas a 50 gorgojos/m² pueden causar ataques al 20 % de los macollos, dependiendo de los cultivares.

Así mismo se pudo establecer a través de un muestreo en 12 localidades que el inicio del ataque de la plaga ocurrió el año 2001 / 2002 entre fines de septiembre y principios de octubre. Además, ha quedado de manifiesto que la plaga vuela desde mediados de octubre a principios de enero y luego en marzo.

La detección precoz del insecto esta relacionada con las técnicas de muestreo y su relación a factores climáticos determinándose que el término de la diapausa invernal ocurre cuando las temperaturas son en promedio cercanas a 10 °C, las que son regulares desde septiembre. Se confirma que la temperatura umbral inferior sería 10 °C. Los Grados Día necesarios para el desarrollo del ciclo del insecto serían entre 422 y 486 GD. El plan de manejo de la plaga considera entre sus medidas preventivas el reconocimiento real del insecto y oportuna detección a través de muestreos y el conocimiento de factores claves. El plan preventivo contempla el uso de ballicas con endófitos, siembras en otoño, detección temprana del insecto y control químico. Se estableció además la eficacia del control químico en cobertera y en aplicaciones a la semilla. Destacable es reconocer la alta mortalidad y su efecto sobre la población del gorgojo de las ballicas en aplicaciones de insecticidas contra la cuncunilla negra.

La mayoría de los cultivares de ballica evaluados presenta un buen rendimiento, especialmente en la localidad de Los Lagos, (Valdivia) le sigue Nueva Braunau (Llanquihue) y finalmente Remehue(Osorno), donde las diferencias son mayores. Considerando el comportamiento en las tres localidades en ballica perenne, destacan los cultivares Yatsyn 1, Nevis, Vedette, Kingston y Bronsyn. Los cultivares de menor rendimiento fueron Samson, Embassy, Napoleón, Meridian y Jumbo. En el caso de las ballicas de rotación, destacan los cultivares Flanker, Cruzader, Maverick y Dominó, siendo el cultivar Sikem el de menor rendimiento. El contenido de peramina se presenta en niveles más elevados en otoño en Los Lagos y Nueva Braunau, siendo también el verano importante en Remehue. Primavera es la época de los niveles más bajos. Al igual que con el Iolitre B y

ergovalina, la concentración de todos los metabolitos que produce el hongo, se incrementan en las estaciones de mayor temperatura ambiental y del suelo. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con lolitrem B y ergovalina, la peramina no se encuentra en el material senescente. Los cultivares con los niveles más altos de peramina en las tres localidades son Meridian, Samson, Bronsyn e Impact, le sigue el cultivar Dobson. Finalmente los cultivares, Anita, Jumbo, Napoleón y Kingston, no poseen peramina por no tener endófito.

Los contenidos de lolitrem B, se presentan significativamente más altos en verano en Los Lagos, siendo también otoño importante en Remehue y Nueva Braunau. Primavera es la época de los niveles más bajo. Lo anterior, debido a que este tóxico se incrementa en las estaciones de mayor temperatura ambiental y del suelo. Además en otoño, la pradera tiene un gran cantidad de material senescente, fracción que se caracteriza por poseer altos niveles acumulados de la toxina. El cultivar con el nivel más alto en las tres localidades es Impact, le siguen Samson, Meridian y Supreme. Por otra parte, entre los cultivares con endófito, los niveles más bajos son para Yatsyn, Nui y Nevis. Finalmente los cultivares, Anita, Jumbo, Napoleón y Kingston, no poseen lolitrem B. por no tener endófito.

Los contenidos de ergovalina se presentan más altos en otoño en Los Lagos y Nueva Braunau, siendo también el verano importante en Remehue. Primavera es la época de los niveles más bajos. Al igual que con el lolitrem B, la ergovalina que produce el hongo se incrementa en las estaciones de mayor temperatura ambiental y del suelo. De la misma manera, los niveles altos de ergovalina en otoño, se explican al igual que para lolitrem B, por la cantidad de material senescente en ésta época. El cultivar con el nivel más alto de ergovalina en las tres localidades es Impact, le siguen Nevis, Dobson y Supreme. Finalmente, Anita, Jumbo, Napoleón y Kingston, no poseen ergovalina por no tener endófito.

En el trabajo de localización y evolución de toxinas, solo el comportamiento del cultivar Nui, está más cercano a lo que se menciona en la literatura, mayores contenidos hacia la base de la paja y en épocas más calurosas.

En los minisilos, se encontraron niveles de lolitrem B y ergovalina, en general bajos. Probablemente, se producen pérdidas de éstas toxinas en el proceso de ensilado y durante la fermentación, en donde ocurren fuertes aumentos de temperatura y acidez (baja de pH). Dentro de los estados fenológicos de corte, el estado de espiga es el que presenta valores un poco más altos de ambas toxinas, lo que coincide con la migración del hongo a este estrato de la planta. Es importante destacar que la ergovalina tiende a presentar menores contenidos en los ensilajes premarchitos, esto puede deberse a la pérdida de agua o deshidratación en el proceso de premarchitamiento, donde también se arrastran otros compuestos, principalmente nutritivos.

Los experimentos en producción y salud animal se diseñaron para generar información de manejo de pastoreo durante el período de verano-otoño para vaquillas de reemplazo y vacas lecheras; para establecer un manejo alimenticio y así prevenir la intoxicación de los animales; para observar el efecto de alimentar

con ensilajes de ballicas con endófito a vacas lecheras; para evaluar el efecto de consumir permanentemente ballicas con endófito desde temprana edad de las hembras de reemplazo hasta la primera lactancia, bajo un sistema de pastoreo con residuos de 6 a 7 cm durante el verano-otoño y suplementos para balancear la ración con ensilaje y concentrado.

En vaquillas vírgenes se estableció un manejo de pastoreo que contempla residuos de 7 cm medido con plato permite no afectar la ganancia de peso y disminuir notablemente el riesgo de intoxicación clínica. Cuando se aumenta la intensidad de pastoreo dejando un residuo de 4 cm (medido con plato), se disminuye significativamente ($P < 0,05$) la ganancia de peso y un 30% de los animales presentaron síntomas clínicos del cuadro “temblor de las ballicas”, de grados leve a moderados.

En vacas lecheras se compararon dos intensidades de pastoreo que consideraron residuos post-pastoreo de 4 y 8 cm en ballicas con alto y bajo nivel de endófito. Se observó una disminución significativa de leche de un 9% en las vacas que consumieron ballicas con alto nivel de endófito. También la altura de residuo menor a 4 cm provoca una disminución de un 8% de la producción de leche respecto de las vacas que dejaban un residuo de 8 cm. No se observó efecto sobre la composición y calidad de la leche. Se presentó el síndrome “temblor de las ballicas” en el 64% de las vacas que dejaban un residuo de 4 cm; en aquellas que dejaban 8 cm de residuo solo se observó a dos vacas (18%) con síntomas leves del cuadro. Algunas de las vacas intoxicadas del tratamiento con residuo menor reincidieron en la presentación del cuadro por lo que fueron retiradas del ensayo.

La ganancia diaria de peso vivo resultó afectada negativamente por el consumo de ballicas con alto nivel de endófito, pero no se observa un efecto por la diferente intensidad de pastoreo impuesta.

En una segunda temporada para reducir el riesgo de intoxicación por consumo de ballicas con alto nivel de endófito que dejan un residuo de 6 a 7 cm se suplementó con el equivalente a 5 kg de materia seca por animal/día con ensilaje de praderas con bajo nivel de endófito o con concentrado; esto para provocar un efecto de dilución de las toxinas ingeridas.

En muestras de las praderas ofrecidas, se determinaron concentraciones de entre 0,24 y 1,49 mg/kg de materia seca de lolitrem B y de entre 0,16 y 1,28 mg/kg de materia seca de ergovalina durante el mes de febrero. No se presentaron síntomas del “temblor de las ballicas”, en ninguna vaca del ensayo durante esta temporada y a pesar de que hubo temperaturas máximas cercanas a 30°C. La suplementación alimenticia con concentrado permitió aumentar la producción de leche. Sin embargo la de grasa disminuyó. El ensilaje suplementado no afectó ningún parámetro productivo respecto de las vacas no suplementada, salvo el permitir una mayor carga animal.

La alimentación con ensilajes de ballicas con alto nivel de endófito de corte temprano y tardío no provocó el cuadro “temblor de las ballicas”, debido fundamentalmente al bajo contenido de lolitrem B (trazas a 0,15 mg/kg MS). El ensilaje de corte tardío suplementado afectó la producción de leche por su menor calidad nutritiva.

El consumo permanente de ballicas con alto nivel de endófito en hembras de reemplazo, desde edad temprana (7-8 meses) hasta su primera lactancia no afectó el comportamiento productivo (ganancia de peso, ni la producción y composición de leche); tampoco hubo problemas de salud asociadas al consumo de ballicas con endófito y la presentación del síndrome. El manejo de pastoreo contempló residuos de 6 a 7 cm (medido con plato) y se suplementó con concentrados de balance de ración en los períodos de déficit forrajero y/o según estado fisiológico de los animales.

8.2 Desafíos futuros

En relación a *Listronotus bonariensis*, la baja a nula acción de los parasitoides sobre los distintos estados de desarrollo del insecto plaga nos lleva a tener que desarrollar estudios sobre la tabla de vida del insecto para determinar la existencia de otros factores de mortalidad, como la acción de la temperatura y humedad y bióticos como depredación, canibalismo, y enfermedades, aún cuando conocemos de la acción de *B. bassiana* como agente entomopatogénico, será preciso estudiar relaciones con otros agentes como protozoos, nemátodos, bacterias y otros.

También será necesario determinar la eficacia de *B. bassiana* colectada, aislada y producida en laboratorio según el momento de la aplicación, dosis, formulación y tecnología de aplicación. Esto podría conducir el manejo de la plaga hacia un cambio en el uso de insecticidas para que los productos exportables estén siendo producidos sobre un sustrato alimenticio libre de agentes químicos.

Será preciso establecer estudios que permitan establecer el efecto del hongo endófito sobre los insectos distintos a la plaga, presentes en la comunidad pratense, estableciendo de esta forma el impacto o efecto sobre la comunidad de insectos en praderas antropogénicas en el sur de Chile.

Sin lugar a dudas, la evaluación cuantitativa de los daños y o susceptibilidad de los nuevos cultivares de ballicas a la plaga deberá ser una preocupación permanente tanto para agricultores como para empresarios productores de semillas.

En torno a *Neotyphodium lolii*, se hace necesario estudiar el efecto de distintos niveles de fertilización en ballicas con alto y bajo nivel de y sin endófito sobre la producción de las toxinas y tolerancia a la plaga.

Así mismo generar información nacional sobre los nuevos endófito o “endófito noble”, NEA 2 (cultivar Tolosa) con niveles medios de peramina y ergovalina y el tipo AR1 (cultivares Bronsyn, Impact, Meridian y Nevis) solo con peramina.

Es cada vez más importante en la evaluación de éstos cultivares de ballicas hacer con y sin endófitos estudios de palatabilidad y producción bovina de leche y carne. Sería de gran utilidad realizar una prospección de los endófitos nativos de la zona sur de nuestro país, asociados a las diferentes especies gramíneas que componen la pradera naturalizada.

Al no estar totalmente claras las condicionantes de la mayor producción de toxinas, es conveniente hacer un monitoreo diario y observar cómo varían las concentraciones de toxinas durante el día con factores de temperaturas y humedad relativa. Esto a objeto de mejor focalizar la estrategia de prevención. A pesar de que la intoxicación es pasajera, falta conocer más el cómo y porque del impacto en la fisiología animal.

No hay aún drogas y químicos que sean efectivos en prevenir o aminorar el efecto de las toxinas que el endófito tiene sobre los animales en pastoreo. De ahí que por ahora los esfuerzos están por prevenir la ocurrencia de la intoxicación e identificar si aquellos animales más tolerantes a las toxinas es por su hábito de pastoreo o se debe a factores genéticos de resistencia. Algo de esto ya se ha desarrollado en Nueva Zelandia con ovinos, especie que por pastorear más profundo, tiene mayores probabilidades de consumir mayor cantidad de las toxinas.

La asociación endófito-planta, ha sido construida desde siempre como un mecanismo de sobrevivencia y beneficio mutuo; la intervención humana deliberada es solo reciente. El desarrollo de un mayor y completo entendimiento de la complejidad de las asociaciones endófito-planta en relación a los herbívoros, que forman parte de la cadena trófica, es un desafío permanente para la comunidad científica que tiene que generar los conocimientos necesarios para desarrollar la producción de alimentos de calidad que exigen cada vez el resguardo del medio ambiente y el respeto del bienestar animal.

Literatura citada

- AGUILERA, A. y MARÍN, G. 1994. El Gorgojo o taladro del tallo de las ballicas en la IX Región de la Araucanía. *Investigación y Progreso Agropecuario Carillanca* 13(2): 19-22.
- BUTENDIECK, N. ; ROMERO, O. ; HAZARD, S. ; MARDONES, P. y GALDAMES, R. 1994. Caída del consumo y producción de leche en vacas alimentadas con *Lolium perenne*, infectada con *Acremonium lolii* (1994) *Agricultura Técnica (Chile)* 54 (1) ; 1-6.
- CISTERNAS, E y TORRES, A. 1997. Gorgojo Argentino de las Ballicas: Antecedentes biológicos, daños e incidencia en praderas. INIA Remehue, Osorno – Chile. *Boletín técnico* N° 242 8p

- COSGROVE, G. P. ; ANDERSON and T.R.N. BERQUIST. 1996. Fungal endophyte effects on intake, health and live weight gain of grazing cattle. Proceedings of the New Zealand Grassland association 57: 43-48.
- FLETCHER, L.R. 1983. Effects of presence of Lolium endophyte on growth rates of weaned lambs, growing on to hoggets, on various ryegrasses. Proceedings of N.Z. Grassland Assoc. 44-237-239.
- FLETCHER, L.R. y BARREL, G. K. 1984. Reduced liveweight gains and serum prolactin levels in hoggets grazing ryegrasses containing Lolium endophyte N.Z. Vet. J. 32:139-140.
- LANUZA, F. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. y VILLAGRA, M. 1999. Efecto del consumo de praderas permanentes compuestas por ballica Yatsyn 1 con y sin endófito *N.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de vacas lecheras a pastoreo. Primera temporada (1999) Resumen XXIV Reunión Anual SOCHIPA A.G., Temuco-Chile, Universidad Católica de Temuco 27-29 Oct. 13-14.
- LANUZA, F. ; VERGARA, C. ; URIBE, H. ; AGÜERO, H. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. 2002. Intensidad de pastoreo de praderas de ballicas infectadas con hongo endófito (*A.lolii*) en vacas lecheras. I Efectos sobre producción de leche y componentes. Resumen XXVII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán, Chillán 2-4 Octubre: 81-82.
- LANUZA, F. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. ; ANGULO, L. y VILLAGRA, M. 1998. Efecto del consumo de praderas permanentes con ballica Yatsyn 1 con y sin endófito *A.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de terneras en crecimiento a pastoreo. Resumen XXIII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán-Chile, INIA -Quilamapu 21-23. Oct. 214
- Mc CALLUM, D. A. ; THOMSON, N. A. 1994. The effects of different perennial ryegrass cultivars on dairy animal performance. Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production 54:87-90.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; PRESTIDGE, A. ; CLARKSON, H. and WAUGH, D. 1994. Ryegrass endophyte cow health and milk solids production for the 1993/94 season. Proc of the N. Z. Grassland Ass 56:259-264.
- VALENTINE, C. ; BARTSH, D. and CARROL, D. 1993. Production and composition of milk by dairy cattle grazing high and low endophyte cultivar of perennial ryegrass. Proc. of the 2th. International Symposium of Acremonium/grass Interactions : 138-141.

Capítulo 9

GLOSARIO

- Acremonium : Nombre científico de un género o grupos de hongos, *Neotyphodium* fue formalmente clasificado en este género, pero más tarde reclasificado.
- Alcaloide : Compuestos que contienen nitrógeno; pero no un aminoácido. Muchas plantas y hongos producen alcaloides, aparentemente como un mecanismo de defensa.
- Aleurona : Gránulos de proteína que se encuentran en el endosperma de las semillas.
- Anoxia : Oxigenación insuficiente de tejidos por inadecuado aporte de oxígeno a ellos.
- Aspartato Amino transferasa (AST) : Enzima cuyos niveles séricos se elevan respondiendo a daño de las Aminotransferasa a daño de las células musculares.
- Ataxia : Irregularidad de la coordinación, especialmente de los movimientos musculares sin debilidad de éstos.
- Axonopatía : Alteración del cilindro-eje de una célula nerviosa.
- Bivoltino : Que tiene dos generaciones o crías por año.
- Creantinfosfoquinasa (CK) : Enzima cuyos niveles séricos se elevan en respuesta a daño muscular.
- Críptica : Relativo a la coloración y las marcas que se parecen al sustrato o sus alrededores y ayudan al ocultamiento.
- Decúbito esternal : Posición del cuerpo echado con el esternón (de pecho) apoyado en el suelo.
- Decúbito lateral : Posición del cuerpo echado de lado.
- Diapausa : Fase de descanso; periodo de crecimiento o de desarrollo suspendido, caracterizado por una actividad metabólica muy reducida, usualmente durante la hibernación o la estivación.

- Ecotipo : Población adaptada localmente; raza ecológica o grupo que posee caracteres distintivos que son resultado de las presiones selectivas del ambiente local.
- Endófito : Un organismo que vive dentro de la planta. En este documento se refiere especialmente a *Neotyphodium lolii* que crece en simbiosis dentro de la ballica perenne (*Lolium perenne*).
- Endosafe : Término en inglés que significa endófito suave. Se le llama así por poseer menor concentración de lolitrem B y/o ergovalina.
- Endosperma : Porción nutritiva contenida en las semillas, que sirve como alimento a la planta durante la germinación.
- Entomopatógeno : Agente que ocasiona enfermedad a los insectos.
- Epizootia : Enfermedad epidémica en animales.
- Ergovalina : El principal de los alcaloides del grupo ergor, producido por especies de hongos del género *Neotyphodium*
- Esclerotio : Masa compacta de hifas (filamentos) de hongos.
- Gamaglutamyl transpeptidasa (GGT) hepática : Enzima del hígado que aumenta en respuesta a daño hepático transpeptidasa.
- Días Grado : Unidad que se utiliza en la medición de la duración de un ciclo de vida o de una fase de crecimiento particular de un organismo, se calcula como el producto del tiempo por la temperatura promedio entre un intervalo específico (GD).
- Hifa : Unidad básica de la mayoría de los hongos, semejan filamentos que se entrecruzan en el entorno de las células y tejidos, constituye el micelio de los hongos.
- Hirsuto : Pelo disperso y duro.
- Intoxicación : Intoxicación sin signos clínicos evidentes.
- Listronotus : Nombre científico del gorgojo argentino de las ballicas, insecto plaga bonariensis en algunas zonas de la X Región.
- Lolitrem B : Alcaloide del grupo de las indol-diterpenos producido por especies de endófitos como el *Neotyphodium lolii* y que es el principal responsable del síndrome "temblor de las ballicas" (*Ryegrass staggers*).

Lolium perenne	: Nombre científico de la balli ca perenne.
Macollo	: Unidad básica de reproducción vegetativa de las gramíneas.
Micelio	: El cuerpo filamentososo de un hongo constituido de hifas. Puede ser superficial, intercelular, intracelular o subcuticular.
Movimiento espasmódico	: Convulsión tónica de músculos con movimientos irregulares. Tétano intermitente
Necrosis de Zenker	: Destrucción de células musculares, la que toman un aspecto hialino (gelatinoso).
Neoinfección	: Infección nueva
Oviposición	: Acto o proceso de depositar huevos
Opistótono	: Animal en posición decúbiteo con rigidez muscular de la nuca y cuello (como mirando hacia atrás).
Peramina	: Alcaloide del grupo Pyrrolopyrazina, que actúa como el principal repelente de <i>Listronotus bonariensis</i> .
Reflejo postural	: Actitud o posición adoptada por la transformación en un centro nervioso de un estímulo en acción.
Ryegrass staggers	: Traducción al inglés del cuadro temblor de las ballicas.
RGS	: Véase Ryegrass staggers.
Rarefacción de la sustancia blanca	: Disminución de la densidad y peso, sin alteración de volumen de la sustancia blanca del cerebro.
Septadas	: Con división celular.
Simbiosis	: Dos organismos que viven juntos en una relación de beneficio mutuo.
Tetania	: Contracción tónica (mantenida) y dolorosa de los músculos debido a una neuropatía (afección nerviosa).
Tremor	: Temblor leve (muscular). Comienzo de temblor.
Tumefacción	: Aumento de volumen o hinchazón de una célula.

celular