

## 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/m<sup>2</sup> 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/m<sup>2</sup> 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.