

1

REVISIÓN CIENTÍFICA

NUEVAS TENDENCIAS EN LA MEJORA DE PRATENSES: LOS ENDOFITOS

JOSÉ ALBERTO OLIVEIRA PRENDES

Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo
Apartado 10. 15080 La Coruña (España)

RESUMEN

Aunque los endofitos de las gramíneas se conocen desde los años 30, su importancia económica no empezó a valorarse hasta que en los años 70 se encontrara en Estados Unidos una asociación entre el hongo *Acremonium coenophialum* Morgan-Jones y Gams y un síndrome tóxico en la festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb.). El ganado vacuno y caballar que consumían pastos de festuca alta infestados con el hongo tenían una disminución de crecimiento, producción de leche, fertilidad y poca tolerancia al calor. Por otra parte, el ganado ovino que consumía raigrás inglés (*Lolium perenne* L.) infestado con el hongo *Acremonium lolii* Latch, Christensen y Samuels en Nueva Zelanda también sufría un síndrome conocido como "ryegrass staggers", que produce trastornos neuromusculares y una disminución en la ganancia de peso. Esta simbiosis de los endofitos y las gramíneas confiere una serie de beneficios a las plantas hospedadoras como son una mayor resistencia a nematodos, tolerancia a la sequía y una mayor capacidad de competencia con otras plantas. Los céspedes infectados con endofitos tienen también una mayor resistencia a los estreses y un mayor crecimiento. Por otra parte, la utilización de cultivares de gramíneas sin endofitos en esos países implica unas mayores producciones animales pero conlleva la aparición de plantas menos tolerantes a las plagas, enfermedades, sequía y sobrepastoreo. En Europa, la infección en raigrás y festuca alta está muy extendida en praderas viejas, pero debido a que no ha habido una selección positiva para la infección con endofitos en la creación de variedades, las variedades europeas de raigrás inglés tienen niveles de infección muy bajos o nulos. Se están realizando estudios en la actualidad para evaluar la posibilidad de utilizar esta asociación endofitos-gramíneas como medio de aumentar la tolerancia a estreses bióticos y abióticos de las variedades de raigrás inglés y festuca alta en Europa.

Palabras clave: Gramíneas pratenses, hongos endofitos, estreses bióticos, estreses abióticos, mejora genética, *Acremonium spp.*

INTRODUCCIÓN

El raigrás inglés (*Lolium perenne*) es la gramínea pratense más utilizada en Europa, tanto por su producción forrajera como por su uso en céspedes. Sin embargo, presenta una mala adaptación en zonas de Europa con fríos extremos y sequías de verano, es susceptible a ciertas plagas y enfermedades, y no compete bien con otras gramíneas menos productivas en condiciones de baja fertilidad del suelo. En las zonas de Europa donde las sequías de verano ocurren regularmente, es decir en el Sur de Europa, la festuca alta (*Festuca arundinacea*) es la especie preferida debido a su mayor tolerancia a la sequía y a las altas temperaturas. La Política Agraria Comunitaria actual promueve la extensificación de las producciones forrajeras mediante variedades que sean persistentes y que mantengan una cierta producción en condiciones de baja fertilización.

Los hongos endofitos pertenecientes al género *Acremonium* viven como parásitos, generalmente simbióticos, en el interior de diversas gramíneas: *Acremonium lolii* en el raigrás inglés y *Acremonium coenophialum* en la festuca alta. En el raigrás inglés y la festuca, los endofitos no provocan ningún síntoma, pero disminuyen la apetencia de las plantas y sobre todo son responsables de graves toxicosis en el ganado ovino y vacuno, respectivamente, en Nueva Zelanda y Estados Unidos. La diseminación de los endofitos de la festuca y el raigrás parece efectuarse exclusivamente por las semillas portadoras del micelio interno (Neil, 1941). Los hongos crecen entre las células de toda la planta excepto en las raíces y en las láminas foliares. Durante la elongación de los tallos, los endofitos infectan el óvulo de la semilla en desarrollo. Permanecen inactivos en la semilla (Figura 1) hasta la germinación, entonces infectan a la plántula (Figura 2). La viabilidad de los endofitos en la semilla se mantiene con un contenido de humedad bajo en la semilla y temperaturas bajas. A temperatura ambiente la viabilidad de los endofitos baja al 0% en 12 meses en sacos de tela, pero se mantiene durante 3 años en semilla envasada con un contenido en humedad del 8,6% en bolsas de aluminio y polietileno. La viabilidad de los endofitos se mantiene durante 7 años a temperaturas entre 0°C y 5°C con un contenido en humedad de la semilla del 10% (Rolston *et al.*, 1993).

En los bancos de germoplasma se ha comprobado que la semilla almacenada durante largo tiempo (incluso en poco tiempo si las condiciones de humedad y temperatura son altas) pierde la viabilidad de los endofitos (Shelby y Dalrymple, 1987). Springler y Kindler (1990) encontraron que 17 de 41 *Festuca spp.* contenían endofito (E+) en plántulas crecidas a partir de semillas obtenidas de la colección del Departamento de Agricultura de Estados Unidos. Latch *et al.*, (1987) identificando la presencia de endofitos en semillas de muestras de raigrás inglés y festuca de la Estación

FIGURA 1.

Micelio de los hongos *Acremonium* entre los granos de aleurona de una semilla de raigrás inglés.

Mycelium of Acremonium fungus between aleurone cells in a seed of perennial ryegrass.

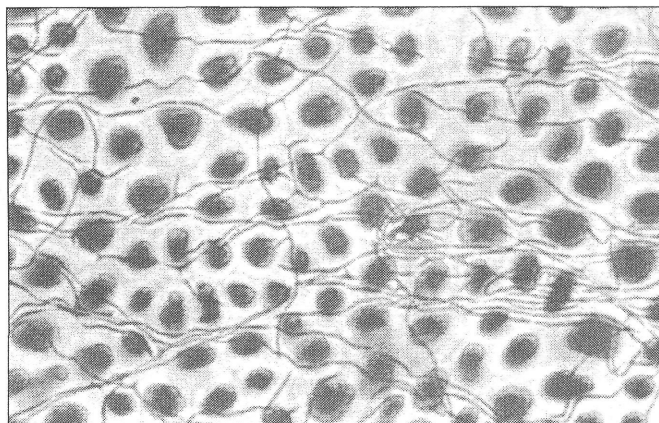


Foto: Jesús Collar

FIGURA 2.

Micelio de los hongos *Acremonium* en los tejidos de una vaina foliar de raigrás inglés.

Mycelium of Acremonium fungus in the intercellular space between plant cells in a leaf sheath of perennial ryegrass .

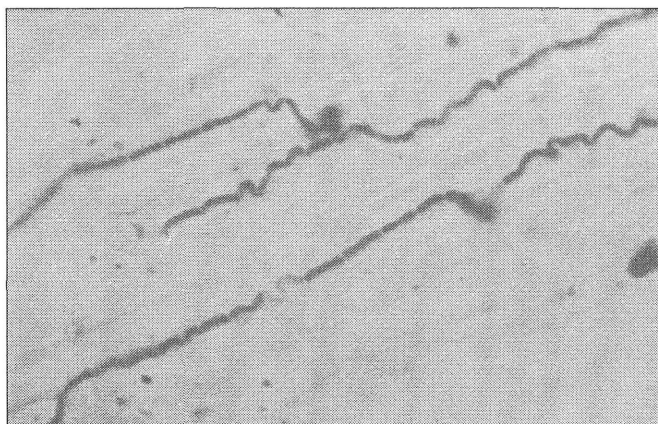


Foto: Jesús Collar

de Mejora de Plantas del País de Gales, encontraron que 53 de 64 muestras estaban infectadas con endofitos mientras que sólo cuatro de 16 cultivares comerciales contenían endofitos. Pfanmöller *et al.*, (1994) sólo encontraron endofitos en 17 de 135 cultivares comerciales europeos de varias especies de festuca examinados. El hecho de que la mayoría de los cultivares europeos estudiados no contuvieran endofitos (E-) se puede deber a que las nuevas técnicas de manejo de praderas, no permiten la resiembra de la propia pradera. En cambio en las praderas viejas se ha constatado un alto porcentaje de infección con endofitos en el caso de la festuca alta (Riccioni y Piano, 1994) y del raigrás inglés (Lewis y Clements, 1990; Oldenburg, 1994; Ravel *et al.*, 1994).

En Estados Unidos, las pérdidas en producción de carne producidas por el consumo de festucas altas infectadas por los *Acremonium* se evaluaron en 600 millones de dólares por año (Hoveland, 1993). Las pérdidas en producción de leche son también considerables (Hoveland *et al.*, 1983). En Nueva Zelanda, el raigrás inglés es la especie pratense más importante. Las pérdidas debidas a los endofitos en la producción ganadera de Nueva Zelanda se estimaron en más de 40 millones de dólares por año (Prestidge *et al.*, 1991). Para hacer frente a este problema, en este momento se están llevando a cabo programas de investigación en estos dos países sobre los endofitos.

En España, hasta ahora no se han señalado problemas sobre el ganado, probablemente debido al tipo de praderas utilizadas, a menudo mezclas de gramíneas y leguminosas y con un manejo intensivo que no permite la resiembra. Por otra parte el ganado siempre recibe un complemento nutricional en invierno y en verano, lo que puede diluir el posible efecto negativo de los alcaloides. Sin embargo están aún por determinar los posibles efectos subclínicos del consumo de pequeñas cantidades de alcaloides a largo plazo en el ganado.

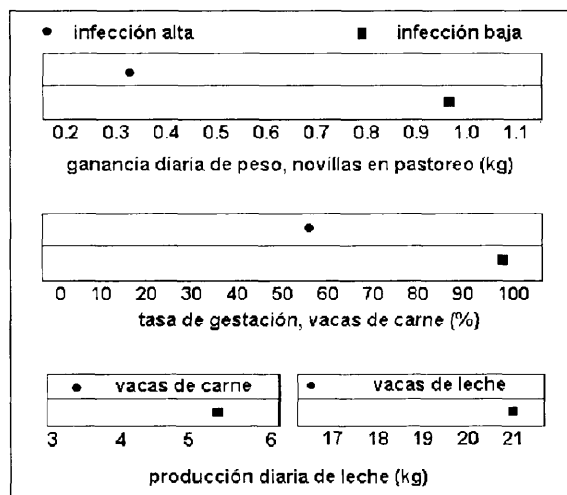
EFFECTOS DE LOS ENDOFITOS SOBRE LOS ANIMALES

Los *Acremonium* sintetizan unos alcaloides tóxicos para los animales en particular para los mamíferos. *A. coenophialum* sintetiza el alcaloide ergovalina que se encuentra en las semillas, tallos, vainas y limbos de las hojas. El contenido en alcaloides aumenta con la edad de las plantas y con la elevación de la temperatura. El alcaloide produce en el ganado una serie de problemas conocidos en Estados Unidos como “summer syndrome” en verano y “fescue foot” en invierno (Lyons *et al.*, 1986). Los principales síntomas son: una disminución en la hormona prolactina, baja ingestión de forraje, temperatura corporal elevada, pelo áspero, jadeos y excesiva salivación, permanencia de los animales a la sombra y en zonas con agua (Figura 3). La festuca se utiliza

FIGURA 3.

En varios experimentos en Estados Unidos se observa una disminución de las ganancias medias diarias en novillas de carne en pastoreo con el nivel de infestación de endofito en los pastos (parte alta del gráfico). El ganado vacuno de carne pastando pastos muy infestados muestra unas tasas de concepción más bajas (parte media) y la producción de leche tanto en vacas de carne como de leche, alimentadas de festuca (parte baja) se reduce mucho en presencia de la infección con endofitos.

Experiments in U.S.A. have measured the average daily weight gain of beef steers in pastures that had low or high levels of endophyte infestation, and found that weight gains were significantly depressed by endophyte infection. Results from an experiment are shown in the top of the figure. Beef cows grazing highly infected pastures are likely to have lower pregnancy rates (middle), and the daily milk production of both beef and dairy cows fed on tall fescue (bottom) is greatly reduced in the presence of endophyte infection.



Fuente: Stuedemman y Hoveland, 1988; Gay *et al.*, 1988

poco en Estados Unidos por los ganaderos de leche debido a que la presencia de los endofitos reduce la producción de leche (Hemken *et al.*, 1979).

En el caso del raigrás inglés, *A. lolii* produce los lolitrenos y en particular el lolitreno B, alcaloide complejo de acción neurotóxica, además de las sustancias producidas por *A. coenophialum* en la festuca.

Las ovejas que pastan praderas de raigrás E+ sufren el síndrome denominado "ryegrass staggers", caracterizado por una función neuromuscular reducida, temblores en el cuello y miembros, ganancias de peso reducidas y niveles de la hormona prolacti-

na bajos (Fletcher y Harvey, 1981). Esto produce perjuicios para el desplazamiento de los rebaños en zonas montañosas, debido a las caídas a veces mortales de los animales. Las ganancias de peso de las ovejas que pastan raigrás inglés E+ se reducen más en el comienzo del verano y menos durante el comienzo de la primavera o al final del verano (Fletcher y Barrell, 1984). La reducción de la productividad de los rebaños es proporcional al porcentaje de infección de las gramíneas.

El impacto del problema de los endofitos sobre los animales parece mucho menor en Nueva Zelanda, sobre los pastos de raigrás inglés, que en Estados Unidos, sobre la festuca alta. El síndrome "ryegrass staggers" puede ser serio en pastos con dominancia de raigrás (Keogh, 1986). Los pastos de Nueva Zelanda contienen raigrás inglés y trébol blanco (Daley, 1990). Por el contrario, la presencia de leguminosas es escasa en los pastos de festuca alta de Estados Unidos, y la mayoría de los agricultores prefieren utilizar praderas de gramíneas solamente con abonado nitrogenado (Hoveland, 1989). De esta manera el poder tampón de las leguminosas no puede contrarrestar el efecto del endofito en los pastos de festuca alta de Estados Unidos (Figura 4).

FIGURA 4.

La siembra de tréboles con la festuca o el raigrás puede reducir los efectos tóxicos de los endofitos.

Planting clovers with tall fescue or perennial ryegrass can reduce the toxic effects of the endophytes.

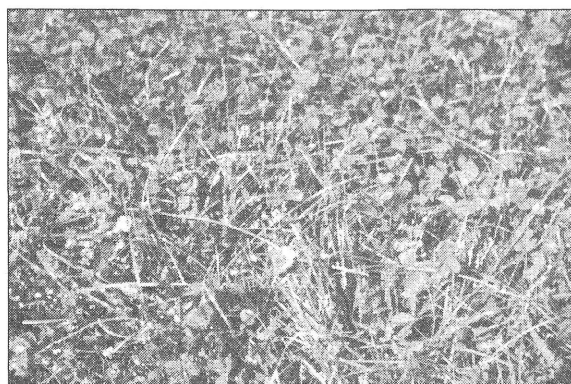


Foto: José Alberto Oliveira

EFFECTOS DE LOS ENDOFITOS EN EL CRECIMIENTO DE LAS GRAMÍNEAS

La influencia de los *Acremonium* en el crecimiento de las gramíneas comienza en la germinación. Pinkerton *et al.*, (1990) observaron una germinación significativamen-

te más alta en plantas E+ que en plantas E-, en 5 de 10 genotipos evaluados y una reducción significativa en la germinación en sólo un genotipo debido a la presencia de los endofitos.

Las dificultades de establecimiento debido a una germinación baja de la semilla E- pueden resultar en un incremento de la competencia por parte de malas hierbas y en una mala cubierta vegetal (Joost, 1994).

Algunos autores han atribuido diferencias en la cobertura vegetal a un incremento en el ahijamiento de las plantas E+ en relación con plantas E-. Clay (1987) observó un ahijamiento significativamente mayor en raigrás inglés E+ durante las 10 primeras semanas de crecimiento que en plantas E-, notando también una reducción en el número de tallos supervivientes en plantas E- durante las primeras 14 semanas de crecimiento con relación a plantas E+.

El ahijamiento en las gramíneas está controlado por fitohormonas del tipo del ácido indolacético (IAA). DeBattista *et al.*, (1990a) detectaron una producción de IAA en cultivos *in vitro* de dos genotipos de *Acremonium* aislados de la festuca alta. Las diferencias en producción de fitohormonas entre endofitos aislados pueden ser la causa de las diferencias en el ahijamiento entre genotipos de gramíneas E+.

Además del ahijamiento puede aumentar el crecimiento de los tallos por la presencia de los endofitos. La producción de materia seca, biomasa radicular y producción de tallos por planta se aumentaron por la presencia de los endofitos comparado con plantas E- en un estudio de invernadero en Georgia (DeBattista *et al.*, 1990b).

Un mejor crecimiento y ahijamiento de plántulas E+ en relación con plántulas E- implica una mayor capacidad de competencia de las plantas E+. Esto puede traer como consecuencia el paso de una situación de poca infestación a un predominio casi completo de plantas E+ en una pradera, ya que las plantas E- sucumbirían a los estreses ambientales (Clay, 1993).

La mayor capacidad competitiva de las plantas E+ puede ser importante en el establecimiento de praderas mixtas con tréboles así como en la competencia con malas hierbas. En Nueva Zelanda se ha observado que el raigrás inglés E+ reduce la supervivencia del trébol blanco con relación a praderas con raigrás inglés E- (Sutherland y Høglund, 1990). Un estudio posterior en laboratorio mostró que la reducción en la supervivencia de los tréboles fue debida a la competencia por la luz, agua y nutrientes y no a un efecto alelopático de ciertos exudados del raigrás sobre la germinación o el crecimiento (Prestidge *et al.*, 1992).

La mayor capacidad de competencia de las plantas E+ puede resultar también de una mayor capacidad de las plantas E+ a sobrevivir en condiciones ambientales adversas.

La infección con endofitos parece mejorar la capacidad de la festuca a sobrevivir a condiciones ambientales adversas. No hubo diferencias en la supervivencia de una pradera entre plantas E+ y E- en una localidad templada del Norte de Georgia, mientras en las partes Central y Sur sobre suelos arenosos con una capacidad de almacenamiento de agua baja, las plantas E+ mostraron una supervivencia de tallos un 80% mayor que las plantas E- (Bouton *et al.*, 1993). Este mismo resultado se observó en Luisiana, en un ensayo en que se evaluó el efecto de la presencia de los endofitos sobre la persistencia de 5 cultivares de festuca alta (Joost, 1995).

Latch *et al.*, (1985) en un ensayo indicaron un crecimiento mayor en raigrás inglés E+ respecto al mismo raigrás E-. Read y Camp (1986) también encontraron una mayor producción de forraje en pastos de festuca E+ respecto a los mismos pastos E-, sin embargo Siegel *et al.* (1984) indicaron que los rendimientos en heno y semilla de la festuca alta son independientes de los niveles de infección de los endofitos.

TOLERANCIA A ESTRESSES BIÓTICOS

El descubrimiento de la destrucción preferencial de las praderas de raigrás sin endofitos por el coleóptero "Argentine stem weevil" (*Listronotus bonariensis*) en Nueva Zelanda fue la primera referencia de una resistencia a una plaga inducida por los endofitos (Prestidge *et al.*, 1982). Estudios posteriores indicaron que hay una relación inversa entre el nivel de infestación en raigrás y la supervivencia de las larvas del coleóptero. Cuanta mayor sea la reducción en el número de larvas en respuesta a la infestación por los endofitos, mayor es la supervivencia de los tallos en el raigrás (Barker *et al.*, 1986).

La t pula (*Tipula oleracea*) es una plaga importante de las praderas en el Norte de Europa y en España, necesitando en muchas ocasiones la utilización de insecticidas para su control. De momento no se ha encontrado ninguna referencia bibliográfica sobre el efecto que pudieran tener los endofitos sobre las t pulas.

El aumento de la resistencia a las enfermedades mediante los endofitos es un nuevo campo de investigación. Los pulgones que atacan a la festuca son los vectores primarios del virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV). Mahmood *et al.*, (1993) demostraron que las plantas E+ tenían la mitad de probabilidades de ser infectadas por este virus transmitido por el pulgón *Rhopalosiphum padi*.

Entre las enfermedades foliares que afectan al raigrás inglés, la roya coronada (*Puccinia coronata*) y el oidio (*Erysiphe graminis*) son dos de las más importantes. Se han hecho muchos esfuerzos para crear variedades resistentes a estas enfermedades con

algún éxito, pero el desarrollo de nuevas razas de estos hongos por mutación hace difícil el incorporar una resistencia genética eficaz en los cultivares. Welty *et al.*, (1991) identificaron como resistentes una mayor proporción de plántulas E+ del cultivar de festuca "Kentucky 31" inoculadas con la roya, que de plantas E-; sin embargo, se identificaron como susceptibles un número similar de plantas con y sin endofitos. Esto conduce a la conclusión que los endofitos no afectan a la susceptibilidad de la planta a la roya. Roberts *et al.*, (1992) indicaron que el aumento de la resistencia a enfermedades por los endofitos puede ser debido a proteínas del tipo quitinasas, que están asociadas con reacciones de defensa de las plantas a las enfermedades.

Pedersen *et al.*, (1988) encontraron que plantas de festuca con endofitos mostraron una mayor resistencia a los nematodos. Gwinn y Bernard (1993) creen que esto puede ser debido a que los endofitos pueden estimular un engrosamiento de las paredes celulares interiores de las raíces de las plantas E+, resultando en una pérdida de la capacidad de los nematodos jóvenes para identificar los lugares donde empiezan su ataque. El efecto de la infección por endofitos sobre los nematodos en raigrás inglés varió con las localidades en estudios realizados en Gran Bretaña (Cook *et al.*, 1991).

El pastoreo representa otro estrés biótico que puede afectar a la persistencia de las plantas. Así por ejemplo, la ingestión de materia seca por ganado pastando festuca E+ fue de un 24 a un 44% menor que en ganado pastando festuca E- (Stuedemann *et al.*, 1989). Gran parte de estas diferencias se pueden deber a la reducción de la actividad del pastoreo durante el día debido al efecto de la toxicidad de la festuca sobre la tolerancia al calor en los animales pastando (Howard *et al.*, 1992). Además de la reducción en la presión de pastoreo sobre las plantas E+, los cambios morfológicos en las plantas de festuca ocasionados por los endofitos pueden proteger las plantas E+ del sobrepastoreo. Hill *et al.*, (1990) notaron que las coronas de las plantas E+ en el invernadero estaban enterradas en media unos 9 mm más profundas en el suelo que en el caso de plantas sin endofitos.

TOLERANCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS

El calor y la sequía son condiciones que se dan en una gran superficie de Europa y el estrés hídrico limita severamente la utilización de las gramíneas. En trabajos realizados por Ravel *et al.*, (1995) se observó que existía una influencia positiva de ciertas cepas de *Acremonium lolii* en la producción de materia seca a medida que la pradera se va haciendo más vieja en ciertas zonas con estrés hídrico en Francia. Resultados similares se encontraron en Galicia (Oliveira *et al.*, 1996). Trabajos realizados en Estados

Unidos han mostrado que los endofitos mejoran la tolerancia a la sequía en festuca (West, 1994). La tolerancia a la sequía causada por los endofitos parece deberse a la combinación de varios mecanismos fisiológicos. Los endofitos *Acremonium* influyen tanto en la tolerancia a la sequía como en el evitamiento de la sequía (Figura 5).

FIGURA 5

En invernadero, planta de festuca alta infectada con una cepa de endofito muestra una buena tolerancia a la sequía (izquierda). La planta sin endofito (derecha) tiene problemas para sobrevivir a la sequía.

Under greenhouse conditions, an endophyte-infected tall fescue plant exhibiting good drought tolerance (left). An uninfected plant (right) has trouble surviving the stress of drought.

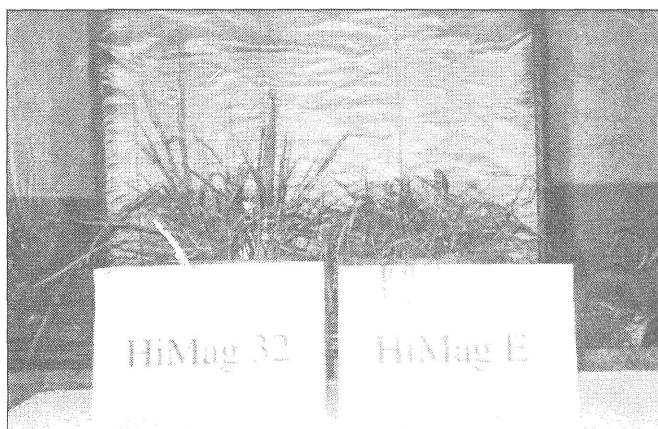


Foto: José Alberto Oliveira

Cualquier cambio morfológico que resulte en una reducción de la pérdida de agua debida a la evapotranspiración puede aumentar la supervivencia de las plantas durante el estrés hídrico. El cierre estomático, el enrollamiento de las hojas, la modificación del crecimiento de las raíces, la senescencia foliar, el engrosamiento de las hojas y de la superficie foliar pueden reducir la pérdida de agua. Arechavaleta *et al.*, (1989) observaron más enrollamiento de hojas en respuesta a la sequía y un engrosamiento de las hojas en plantas E+ que en plantas E-. Belesky *et al.*, (1989) también reseñaron una mayor senescencia foliar y una reducción en la tasa de expansión foliar en respuesta al estrés hídrico en festucas E+.

El cierre estomático es la respuesta más común de las plantas para conservar el agua. El ácido abscísico juega un papel regulador en la función estomática y se ha

encontrado un incremento en concentración cuando aumenta el estrés hídrico (Lachno y Baker, 1986). Investigaciones recientes realizadas en invernadero muestran un incremento en la concentración de ácido abscísico en hojas de festuca E+ en respuesta a la sequía (Joost, 1995).

Belesky *et al.*, (1987) demostraron en plantas de festuca E+ una mayor resistencia al estrés hídrico, como resultado del cierre estomático, con una disminución en la tasa fotosintética respecto a plantas E-. Otros autores han encontrado respuestas variables de la función estomática a la sequía con relación a la presencia o ausencia de endofitos (Richardson *et al.*, 1993).

Aunque la conservación de la humedad a través de los mecanismos descritos permite la supervivencia de las plantas a un estrés hídrico corto, para aumentar la supervivencia en un estrés más largo, se deben proteger los meristemas de la desecación. El mantenimiento de la turgencia de las células en las regiones meristemáticas permite el rebrote cuando vuelva la humedad después de un estrés hídrico. El ajustamiento osmótico se refiere a una acumulación de solutos resultando en una disminución del potencial osmótico de los tejidos afectados. La reducción del potencial osmótico resulta en el mantenimiento de la turgencia en los tejidos circundantes.

Elmi *et al.*, (1989) indicaron que las plantas E+ exhibieron un mayor grado de ajustamiento osmótico en las láminas foliares y las bases de los tallos que las plantas E- de festuca en respuesta a la sequía. Posteriormente, West *et al.*, (1990) indicaron que el mayor nivel de ajustamiento osmótico ocurre en el meristemo basal de la festuca E+. Otros autores han encontrado varios productos del metabolismo de los endofitos, particularmente arabitol y manitol en vainas foliares de plantas de festuca E+ estresadas, que podrían considerarse como potencialmente osmóticos (Richardson *et al.*, 1992).

Existen resultados que muestran que la presencia de los endofitos incrementa la capacidad de competir de las gramíneas en condiciones de bajo contenido en nitrógeno en el suelo (Lyons *et al.*, 1990). Sin embargo, como las limitaciones en nitrógeno coinciden siempre con las limitaciones en agua, los beneficios generales de los endofitos en condiciones de estrés son difíciles de imputar a un factor determinado. La acidez del suelo es otro factor abiótico que puede influir en la respuesta de plantas E+ y E-. Cheplick (1993) señaló que plantas de festuca E+ tuvieron una productividad más baja que plantas E-, en condiciones de suelos ácidos. Tasas de crecimiento bajas pueden dar a un organismo una ventaja competitiva en condiciones de bajo contenido en nutrientes (Grime y Hunt, 1975). Las plantas que mantienen un crecimiento activo en condiciones de nutrientes limitadas (como por ejemplo plantas E- en suelos ácidos) es probable que sean más pastadas que las plantas E+ que crecen menos.

CONSIDERACIONES ACERCA DE LOS ENDOFITOS EN LA CREACIÓN DE VARIEDADES PRATENSES

El primer paso, en todo programa de mejora genética es el acopio de recursos genéticos. Una colección con una base genética amplia es lo más deseable si se quiere obtener un progreso genético importante con la selección.

Una vez recopilado el material genético, es importante comprobar si existen endofitos en la semilla. Para ello se utiliza un método de detección microscópico mediante la coloración con azul de anilina (Latch *et al.*, 1987). De esta manera se obtiene el porcentaje de infección de los hongos, pero no su viabilidad, pues los hongos pueden estar presentes en la semilla, pero estar muertos. Si se quiere determinar la viabilidad de los hongos es necesario realizar el análisis microscópico en las vainas de las plántulas procedentes de semillas infectadas por los hongos (Latch *et al.*, 1987). Una vez identificados se debe tomar la decisión de eliminarlos o conservarlos. Los mejoradores de céspedes pueden querer desarrollar cultivares con endofitos para conferir una mayor tolerancia a ciertas plagas de insectos, mejor persistencia y resistencia a invasión de malas hierbas (Hurley *et al.*, 1984) y estreses ambientales (Funk *et al.*, 1985).

En el caso de la mejora genética forrajera, la situación es diferente según las zonas. En Estados Unidos y Nueva Zelanda, la eliminación de los endofitos permite a los mejoradores desarrollar programas de mejora que no tengan en cuenta los efectos tóxicos de los hongos en los animales. Los objetivos en sus programas de mejora incluyen el incremento del rendimiento en materia seca y semilla, la digestibilidad, la tolerancia a estreses y una mejor asimilación de minerales y eficiencia fisiológica (Sleper, 1985).

En cambio en estas zonas se produce una disminución en el valor agronómico de los cultivares por la eliminación de los hongos, debido a una mayor sensibilidad a enfermedades y plagas y pérdida de persistencia en pastoreo. Parece que estos efectos negativos son más patentes en zonas marginales con estreses ambientales.

Los mejoradores que estén seleccionando para altos rendimientos o mejores eficiencias fisiológicas deben considerar que estos caracteres pueden estar influidos por la presencia de los endofitos en algunas especies.

Existen, por tanto, dos posibilidades para la creación de nuevas variedades, una de ellas es la obtención de variedades con endofitos para aprovechar sus efectos positivos sobre las plantas, pero siempre que no tengan efectos negativos sobre los animales. En este caso, debido a que los endofitos se mueren en la semilla conservada a temperatura ambiente durante 7-10 meses, sería necesario utilizar procedimientos complementarios de conservación como la utilización de cámaras frigoríficas. Otra posibilidad sería la creación de variedades sin endofitos sobre todo en zonas en las que no haya mucho

estrés hídrico o de presencia de plagas y enfermedades. En este caso sería necesario realizar una mejora genética de los caracteres sobre los que influyen favorablemente los endofitos, como son el mayor crecimiento, la persistencia en condiciones de pastoreo, la tolerancia a estreses bióticos y abióticos etc. Esto tendrá la ventaja de no preocuparse por la conservación de los endofitos en la semilla comercial, ya que esto implicaría costes de conservación mediante la compra de cámaras frigoríficas que mantuvieran la viabilidad de los hongos en la semilla. Además si se quiere exportar semilla comercial de variedades de festuca o de raigrás inglés a Estados Unidos, Australia o Nueva Zelanda puede ser obligatorio el indicar si esa semilla tiene o no endofitos y si los contiene el porcentaje de endofitos viables o total (no especificando si están vivos o no).

Una buena alternativa para eliminar los hongos de las semillas es mediante la conservación a largo plazo y tratamientos cortos con calor. Siegel *et al.*, (1984) demostraron que los hongos dejan de ser viables tras 7 a 10 meses de conservación a 21°C. También los tratamientos con calor a 57°C durante 40 minutos o de 49°C durante 7 días eliminan los endofitos en festuca. Rolston *et al.*, (1993) eliminaron los endofitos de la semilla del raigrás inglés tras 3 semanas de almacenamiento a 37°C y 70% de humedad relativa.

Si se desearan incorporar los endofitos a un material genético interesante habría que cruzarlo con las plantas que contienen los endofitos, tomándolas como hembras y recogiendo la semilla sobre las plantas E+ ya que los endofitos se transmiten por semilla (Neil, 1941). También se pueden infectar artificialmente plantas de festuca y de raigrás con cepas de endofitos (Latch y Christensen, 1985).

PRIMEROS RESULTADOS EN GALICIA

Los efectos de los hongos endofitos en el raigrás inglés se evaluaron en plantas aisladas y en microparcels establecidas en dos localidades de Galicia: Mabegondo (La Coruña) y Puebla de Brollón (Lugo). Puebla de Brollón es una localidad interior situada a 400 m de altitud y que presenta un déficit hídrico acusado en el verano. Mabegondo es una localidad costera a 100 m de altitud y con unas buenas condiciones para el crecimiento del raigrás. Se evaluaron 56 familias de raigrás inglés de espigado tardío (fecha de espigado a finales de mayo), de las cuales 28 estaban infectadas con hongos endofitos (E+). Cada familia procedía de una planta obtenida por cruzamiento entre plantas de varios lugares de Galicia, después de haber seleccionado las mejores (Oliveira y Charret, 1988). En el campo de plantas aisladas, las familias se plantaron a 50 cm en un diseño en bloques con dos repeticiones, conteniendo cada repetición 10 plantas de cada familia a 50 cm de separación. En cada planta se evaluó la resistencia a

las royas de otoño el segundo año después del de la siembra y se clasificaron en una escala de uno (tolerante) a nueve (susceptible). En las microparcelas (1 m^2) se evaluó la producción de materia seca de cada familia en un diseño en bloques con tres repeticiones. En dos cortes de las mismas, uno en Junio del segundo año y otro en Julio del tercer año se evaluó la calidad nutritiva del forraje, es decir el contenido en proteína bruta, la digestibilidad de la materia orgánica, el contenido en fibra ácido detergente y los carbohidratos solubles. En el otoño del tercer año se analizó el contenido en ergovalina en una repetición de Mabegondo, que se analizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (Rotthingaus *et al.*, 1991). La persistencia de las plantas de cada familia se evaluó en las microparcelas con una escala de uno (poca persistencia) a nueve (muy persistente) en la primavera del cuarto año siguiente al de la siembra. Los hongos se detectaron extrayendo tiras epidérmicas de la superficie interior de las vainas foliares y tiñéndolas con azul de anilina (Latch *et al.*, 1984). Se examinaron cinco plantas por familia y cuatro tallos por planta en cada localidad. Solamente se consideraron como no infectadas (E-) las familias en las que nunca se detectó la presencia de hongos.

Como principales resultados se pueden destacar los siguientes: 1) no se encontraron diferencias significativas entre las familias E+ y E- en el caso de la tolerancia a las royas; 2) se detectó un efecto positivo de la presencia de los endofitos en el rendimiento del tercer año de ensayo en Puebla de Brollón, pero no en la persistencia (Tabla 1); 3) no se encontraron diferencias significativas en la calidad nutritiva entre las familias E+ y las familias E- en los dos cortes realizados. 4). Las concentraciones de ergovalina obtenidas en las 28 familias E+ estuvieron en el intervalo 0 a $551,70 \text{ microgramos} \cdot \text{kg}^{-1}$ materia seca. En la mitad de las familias sólo aparecieron trazas ($<100 \text{ microgramos} \cdot \text{kg}^{-1}$ materia seca), mientras que el resto tuvieron valores superiores a $100 \text{ microgramos} \cdot \text{kg}^{-1}$ materia seca.

La mayor producción total de materia seca en Puebla de Brollón en el tercer año de ensayo podría deberse a una mayor tolerancia a la sequía de las familias con endofito. Resultados similares se encontraron en Francia por Ravel *et al.*, (1995) en un ensayo con familias de raigrás inglés en varias localidades.

La presencia de los endofitos no parece tener efectos sobre la calidad nutritiva del raigrás inglés, como ocurre en otros estudios realizados en Estados Unidos sobre festuca. El contenido medio de ergovalina observado en Galicia no es lo suficientemente alto como para producir problemas en el ganado, si consideramos el nivel de $50 \text{ microgramos} \cdot \text{kg}^{-1}$ materia seca dado por Cornell *et al.*, (1990) para signos de toxicosis en ganado estresado por el calor. Sin embargo, es necesario hacer notar que el contenido en ergovalina es mayor a medida que la temperatura aumenta, con lo cual es probable que

TABLA 1.

Efecto de la presencia de los endofitos (E- o E+) en la producción de materia seca anual (Total, t MS / ha), resistencia a enfermedades (Eo, 1 poca, 9 alta) y persistencia (Per, 1 poca, 9 mucha) en 56 familias de raigrás inglés.

Effects of endophyte infection (E- or E+) on herbage yields (Total, t DM / ha), autumn crown rust susceptibility (Eo 1 low, 9 high) and persistence scores (Per 1 poor, 9 very good) in 56 families of perennial ryegrass.

	Mabegondo		Puebla de Brollón	
	E-	E+	E-	E+
1993 Total	14,71	14,30	11,53	11,37
1994 Total	5,91	6,12	8,62	8,66
Eo	4,32	4,18	2,04	1,87
1995 Total	13,21	13,05	8,69	9,15*
1996 Per	5,2	5,6	4,9	4,9
* Diferencias significativas entre medias al nivel $p < 0.05$. * Significant differences between means at $p < 0.05$. Fuente: Oliveira et al. (1996). Source: Oliveira et al. (1996).				

dicho contenido sería mayor si el muestreo se hubiese realizado al final de la primavera o en el verano. A pesar de los valores altos de ergovalina en algunas de las familias de raigrás inglés, hasta ahora no se tiene constancia de efectos negativos de este alcaloide en el ganado vacuno gallego, probablemente a causa del tipo de praderas utilizadas, a menudo mezclas de gramíneas y leguminosas y con un manejo intensivo que no permite la resiembra. Por otra parte, el ganado siempre recibe un complemento nutricional en invierno y verano, lo que diluye el posible efecto negativo de los alcaloides. Sin embargo están aún por determinar los posibles efectos subclínicos del consumo de pequeñas cantidades de ergovalina a largo plazo en el ganado vacuno.

Como se deduce de los resultados parece que puede haber una cierta influencia de los endofitos en la producción de materia seca a medida que la pradera va siendo más vieja y en condiciones de estrés hídrico. Sería necesario confirmarlo mediante estudios posteriores con genotipos de raigrás E+ y E-. Como sugieren Lewis y Clements (1990), algunas cepas de endofitos pueden aumentar la productividad de sus plantas hospedadoras mientras otras pueden ser perjudiciales. Quizás la selección de cepas de endofitos pudiera mejorar la producción y la persistencia del raigrás inglés en zonas con estrés

hídrico de Galicia, siempre teniendo en cuenta el efecto de su contenido en alcaloides en las producciones ganaderas.

IMPLICACIONES

El descubrimiento de la asociación endofitos-gramíneas y sus relaciones con las producciones animales ha provocado un gran trabajo de investigación durante estos últimos años en Estados Unidos y Nueva Zelanda. El descubrimiento de endofitos asociados al raigrás inglés que no producen o producen muy poco lolitreno B por parte de investigadores neozelandeses y que resultó en la obtención de un nuevo endofito que se comercializa desde 1992 en Nueva Zelanda con la marca "Endosafe", es un resultado de estos trabajos. Los efectos de estos endofitos en las gramíneas, en las producciones ganaderas, y sus implicaciones ecológicas son muy poco conocidas en Europa y en particular en España. En el Sur de Europa las sequías de verano son frecuentes y suponen una gran limitación al crecimiento de los forrajes. La introducción de nuevas variedades con endofitos, con una mayor tolerancia a la sequía y sin causar problemas a los animales, ayudaría a ampliar hacia el Sur el límite del cultivo del raigrás inglés. Si se confirman los efectos positivos de estos endofitos en España, su explotación en nuevas variedades supondría una mejora en la eficiencia de la producción forrajera, en particular en sistemas de bajos insumos, promovidos por la actual Política Agraria Comunitaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARECHAVALETA, M.; BACON, C.W.; HOVELAND, C.S.; RADCLIFFE, D.E., 1989. Effect of tall fescue endophyte on plant response to environmental stress. *Agron. J.*, **81**, 83.
- BARKER, G.M.; PRESTIDGE, R.A.; POTTINGER, R.P., 1986. Strategies for Argentine stem weevil control: Effects of drought and endophyte. *Proc. N.Z. Grassl. Assoc.*, **47**, 107.
- BELESKY, D.P.; DEVINE, O.J.; PALLAS JR., J.E.; STRINGER, W.C., 1987. Photosynthetic activity of tall fescue as influenced by a fungal endophyte. *Photosynthetica (Prague)*, **21**, 82.
- BELESKY, D.P.; STRINGER, W.C.; HILL, N.S., 1989. Influence of endophyte and water regime upon tall fescue accessions. I. Growth characteristics. *Ann. Bot. (Lond.)*, **63**, 495.
- BOUTON, J.H.; GATES, R.N.; BELESKY, D.P.; OWSLEY, M., 1993. Yield and persistence of tall fescue in the southeastern Coastal Plain after removal of its endophyte. *Agron. J.*, **85**, 52.
- CHEPLICK, G.P., 1993. Effect of simulated acid rain on the mutualism between tall fescue (*Festuca arundinacea*) and an endophyte fungus (*Acremonium coenophialum*). *International Journal of Plant Science*, **154**, 134-143.
- CLAY, K., 1987. Effects of fungal endophytes on the seed and seedling biology of *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea*. *Oecologia (Heidelb)*, **73**, 358.

- CLAY, K., 1993. The ecology and evolution of endophytes. *Agric. Ecosyst. Environ.*, **44**, 39.
- COOK, R.; LEWIS, G.C.; MIZEN, K.A., 1991. Effects on plant parasitic nematodes of infection of perennial ryegrass, *Lolium perenne*, by the endophytic fungus, *Acremonium lolii*. *Crop. Prot.*, **10**, 403.
- CORNELL, C.N.; LUEKER, J.V.; GARNER, G.B.; ELLIS, J.L., 1990. Establishing ergovaline levels for fescue toxicosis, with and without endoparasites, under controlled climatic conditions. En: *Proceedings of the International Symposium on Acremonium/Grass Interactions*, 75. Ed. S.S. QUISENBERRY, R.E. JOOST. Louisiana Agricultural Experiment Station. Baton Rouge (EEUU).
- DALEY, G.T., 1990. The grasslands of New Zealand. En: *Pastures, Their Ecology and Management*, 1-38. Ed. R.H.M. LANGER. Oxford Univ. Press. Auckland (Nueva Zelanda).
- DEBATTISTA, J.P.; BACON, C.W.; SEVERSON, R.; PLATTNER, R.D.; BOUTON, J.H., 1990a. Indole acetic acid production by the fungal endophyte of tall fescue. *Agron. J.*, **82**, 878.
- DEBATTISTA, J.P.; BOUTON, J.H.; BACON, C.W.; SIEGEL, M.R., 1990b. Rhizome and herbage production of endophyte-removed tall fescue clones and populations. *Agron. J.*, **82**, 651.
- ELMI, A.A.; WEST, C.P.; TURNER, K.E., 1989. *Acremonium* endophyte enhances osmotic adjustment in tall fescue. *Arkansas Farm Research*, **38**(5), 7.
- FLETCHER, L.R.; BARRELL, G.K., 1984. Reduced liveweight gains and serum prolactin levels in hoggets grazing ryegrass containing *Lolium* endophyte. *N.Z. Vet. J.*, **32**, 139-140.
- FLETCHER, L.R.; HARVEY, I.C., 1981. An association of a *Lolium* endophyte with ryegrass staggers. *N.Z. Vet. J.*, **28**, 185-186.
- FUNK, C.R.; HALISKY, P.M.; AHMAD, S.; HURLEY, R.H., 1985. How endophytes modify turf-grass performance and response to insect pests in turfgrass breeding and evolution trials. En: *Proc. 5th Int. Turf Res. Conf.*, 137-145. Ed. F. LEMAIRE. Avignon (Francia).
- GAY, N.; BOLING, J.A.; DEW, R.; MIKSCH D.E., 1988. Effects of endophyte-infected tall fescue on beef cow-calf performance. *Applied Agricultural Research*, **3**, 182.
- GRIME, J.P.; HUNT, R., 1975. Relative growth rate: Its range and adaptive significance in a local flora. *J. Ecol.*, **63**, 393-422.
- GWINN, K.D.; BERNARD, E.C., 1993. Interactions of endophyte-infected grasses with the nematodes *Meloidogyne marylandi* and *Pratylenchus scribneri*. En: *Proc. 2nd Intl. Symp. Acremonium/Grass Interactions*, 156. Ed. D.E. HUME, G.C.M. LATCH, H.S. EASTON. Palmerston North (Nueva Zelanda).
- HEMKEN, R.W.; BULL, L.S.; BOLING, J.A.; KANE, E.; BUSH, L.P.; BUCKNER, R.C., 1979. Summer fescue toxicosis in lactating dairy cows and sheep fed experimental strain of ryegrass-tall fescue hybrids. *J. Anim. Sci.*, **49**, 641-646.
- HILL, N.S.; STRINGER, W.C.; ROTTINGHAUS, G.E.; BELESKY, D.P.; PARROT, W.A.; POPE, D.D., 1990. Growth, morphological and chemical component responses of tall fescue to *Acremonium coenophialum*. *Crop. Sci.*, **30**, 156.
- HOVELAND, C.S., 1989. Legume persistence under grazing in stressful environments of the United States. En: *Persistence of Forage Legumes*, 375-383. Ed. G.C. MARTEN. American Society of Agronomy. Madison (EEUU).
- HOVELAND, C.S.; SCHMIDT, S.P.; KING, JR., C.C.; ODOM, J.W.; CLARK, E.M.; MCGUIRE, J.A.; SMITH, L.A.; GRIMES, H.W.; HOLLIMAN, J.L., 1983. Steer performance and association of *Acremonium coenophialum* fungal endophyte on tall fescue pasture. *Agron. J.*, **75**, 821-824.
- HOVELAND, C.S., 1993. Importance and economic significance of the *Acremonium* endophytes to performance of animals and grass plant. *Agric. Ecosyst. Environ.*, **44**, 3.

- HOWARD, M.D.; MUNTIFERING, R.B.; BRADLEY, N.W.; MITCHELL JR., G.E.; LOWRY, S.R., 1992. Voluntary intake and ingestive behavior of steers grazing Johnstone or endophyte-infected Kentucky-31 tall fescue. *J. Anim. Sci.*, **70**, 1227.
- HURLEY, R.H.; FUNK, C.R.; HALISKY, P.M.; SAHA, D.C.; JOHNSON-CICALESE, J.M., 1984. The role of endophyte enhanced performance in grass breeding. En: *Proc. 28th Grass Breeder's Work Conf.*, 65-89. College Station, Texas (EEUU).
- JOOST, R.E., 1995. *Acremonium* in Fescue and Ryegrass: Boon or Bane? A review. *J. Anim. Sci.*, **73**, 881-888. KEOGH, R.G., 1986. Fungal distribution and livestock defoliation patterns in pasture ecosystems, and the development and control of dietary-dependent disorders. *Proc. N.Z. Grassl. Assoc.*, **47**, 93-98.
- LACHNO, D.R.; BAKER, D.A., 1986. Stress induction of abscisic acid in maize roots. *Physiol. Plant.*, **68**, 215.
- LATCH, G.C.M.; CHRISTENSEN, M.J.; SAMUELS, G.J., 1984. Five endophytes of *Lolium* and *Festuca* in New Zealand. *Mycotaxon*, **20**, 535-550.
- LATCH, G.C.M.; CHRISTENSEN, M.J., 1985. Artificial infection of grasses with endophytes. *Ann. Appl. Biol.*, **107**, 17-24.
- LATCH, G.C.M.; HUNT, W.F.; MUSGRAVE, D.R., 1985. Endophytic fungi affect growth of perennial ryegrass. *N.Z. J. Agric. Res.*, **28**, 165-168.
- LATCH, G.C.M.; POTTER, L.R.; TYLER, B.F., 1987. Incidence of endophytes in seeds from collections of *Lolium* and *Festuca* species. *Ann. Appl. Biol.*, **111**, 59-64.
- LEWIS, G.C.; CLEMENTS, R.O., 1990. Effect of *Acremonium lolii* on herbage yield of *Lolium perenne* at three sites in the United Kingdom. En: *Proceedings of the International Symposium on Acremonium/Grass Interactions*, 160. Ed. S.S. QUISENBERRY, R.E. JOOST. Louisiana Agricultural Experiment. Station. Baton Rouge (EEUU).
- LYONS, P.C.; PLATTNER, R.D.; BACON, C.W., 1986. Occurrence of peptide and clavine ergot alkaloids in tall fescue grass. *Science (Wash DC)*, **232**, 487.
- LYONS, P.C.; EVANS, J.J.; BACON, C.W., 1990. Effects of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* on nitrogen accumulation and metabolism in tall fescue. *Plant Physiol.*, **92**, 726-732.
- MAHMOOD T.; GERGERICH, C.; MILUS, E.A.; WEST, C.P.; D'ARCY, C.J., 1993. Barley yellow dwarf viruses in wheat, endophyte-infected and endophyte-free tall fescue. *Plant Dis.*, **77**, 225.
- NEIL, J.C., 1941. The endophytes of *Lolium* and *Festuca*. *N.Z. J. Sci. Technol.*, **23**, 185-193.
- OLDENBURG, E., 1994. Occurrence of fungal endophytes in *Lolium perenne*. En: *Proceedings of the International Conference on Harmful and beneficial Microorganisms in Grasslands, Pastures and Turf*, **3**, 99-104.
- OLIVEIRA, J.A.; CHARMET, G., 1988. Characterization of wild perennial ryegrass populations from Galicia (Spain). *Pastos*, **XXVIII-XIX**, 51-68.
- OLIVEIRA, J.A.; COLLAR, J.; CASTRO, P., 1996. El hongo endofito del raigrás inglés. *Agricultura*, **767**, 483-485.
- PEDERSEN, J.F.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; SHELBY, R.A., 1988. Ryegrass cultivars and endophyte in tall fescue affect nematodes in grass and succeeding soybean. *Agron. J.*, **80**, 811.
- PFANMÖLLER, M.; EGGESTEIN S.; SCHÖBERLEIN, W., 1994. Endophytes in European varieties of *Festuca* species. En: *Proceedings of the International Conference on Harmful and beneficial Microorganisms in Grasslands, Pastures and Turf*, **3**, 105-109.

- PINKERTON, B.S.; RICE, J.S.; UNDERSANDER, D.J., 1990. Germination in *Festuca arundinacea* as affected by the fungal endophyte, *Acremonium coenophialum*. En: *Proc. Int. Symp. Acremonium/Grass Interactions*, 176. Ed. S.S. QUISENBERRY, R.E. JOOST. Louisiana Agric. Exp. Sta.. Baton Rouge (EEUU).
- PRESTIDGE, R.A.; POTTINGER, R.P.; BARKER, G.M., 1982. An association of *Lolium* endophyte with ryegrass resistance to Argentine stem weevil. En: *Proc. 35th N.Z. Weed Pest Control Conf.*, 119.
- PRESTIDGE, R.A.; BARKER, G.M.; POTTINGER, R.P., 1991. The economic cost of Argentine stem weevil in pastures in New Zealand. En: *Proc. 44th N.Z. Weed Pest Control Conf.*, 165.
- PRESTIDGE, R.A.; THOM, E.R.; MARSHALL, S.L.; TAYLOR, M.J.; WILLOUGHBY, B.; WILDERMOTH, D.P., 1992. Influence of *Acremonium lolii* infection in perennial ryegrass on germination, emergence, survival and growth of white clover. *N.Z. J. Agric. Res.*, **35**, 225.
- RAVEL, C.; CHARBONNEL, C.; CHARMET, G., 1994. A survey of *Acremonium*-endophytes in wild perennial ryegrass collected in France. En: *Proceedings of the 19th Eucarpia Fodder Crops Section Meeting*, 111-113. Ed. D. REHEUL, A. GHESQUIERE. Brujas (Bélgica).
- RAVEL, C.; CHARMET, G.; BALFOURIER, F., 1995. Influence of the fungal endophyte *Acremonium lolii* on agronomic traits of perennial ryegrass in France. *Grass and Forage Science*, **50**, 75-80.
- READ, J.C.; CAMP, B.J., 1986. The effect of fungal endophyte *Acremonium coenophialum* in tall fescue on animal performance, toxicity, and stand maintenance. *Agron. J.*, **78**, 848-850.
- RICHARDSON, M.D.; CHAPMAN JR., G.W.; HOVELAND, C.S.; BACON, C.V., 1992. Sugar alcohols in endophyte-infected tall fescue under drought. *Crop Sci.*, **32**, 1060.
- RICHARDSON, M.D.; HOVELAND, C.S.; BACON, C.W., 1993. Photosynthesis and stomatal conductance of symbiotic and nonsymbiotic tall fescue. *Crop Sci.*, **33**, 145.
- ROBERTS, C.A.; MAREK, S.M.; NIBLACK, T.L.; KARR, A.L., 1992. Parasitic Meloidogyne and mutualistic *Acremonium* increase chitinase in tall fescue. *J. Chem. Ecol.*, **18**, 1107.
- ROLSTON, M.P.; CRUSH J.R.; HARE, M.D.; MOORE, K.K., 1993. En: *Proceedings of the XVII International Grassland Congress*, 1876-1877. Nueva Zelanda y Australia.
- ROTTHINGAUS, G.E.; GARNER, G.B.; CORNELL, C.N.; ELLIS, J.L., 1991. HPLC method for quantitating ergovaline in endophyte-infested tall fescue: seasonal variation of ergovaline levels in stems with leaf sheaths, leaf blades, and seed heads. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 112-115.
- SHELBY, R.A.; DALRYMPLE, L.W.T., 1986. Incidence and distribution of the tall fescue endophyte in the United States. *Plant. Dis.*, **71**, 783-786.
- SIEGEL, M.R.; VARNEY D.R.; JOHNSON, M.C.; VARNEY, D.R.; NESMITH, W.C.; BUCKNER, R.C.; BUSH, L.P.; BURRUS II, P.B.; JONES, T.A.; BOLING, J.A., 1984. A fungal endophyte in tall fescue: incidence and dissemination. *Phytopathology*, **74**, 931-937.
- SIEGEL, M.R.; VARNEY, D.R.; JOHNSON, M.C.; VARNEY, D.R.; NESMITH W.C.; BUCKNER, R.C.; BUSH, L.P.; BURRUS II, P.B.; HARDISON, J.R., 1984. A fungal endophyte of tall fescue: evaluation of control methods. *Phytopathology*, **74**, 937-941.
- SLEPER, D.A., 1985. Breeding tall fescue. En: *J. Plant Breed. Reviews*, **3**, 313-342. Ed. JULES JANICK. AVI Publishing. Westport (EEUU).
- SPRINGER, T.L.; KINDLER, S.D., 1990. Endophyte-enhanced resistance to the Russian wheat aphid and the incidence of endophytes in fescue species. En: *Proc. Int. Symp. Acremonium/grass Interactions*, 194-195. Ed. S.S. QUISENBERRY, C.P. WEST. Louisiana Agric. Exp. Stn.. Baton Rouge. Louisiana (EEUU).
- STUEDEMANN, J.A.; HOVELAND C.S., 1988. Fescue endophyte: History and impact on animal agriculture. *Journal of Production Agriculture*, **1**, 39-44.

- STUEDEMANN, J.A.; BREEDLOVE, D.L.; POND, K.R.; BELESKY, D.P.; TATE JR., L.P.; THOMPSON, F.N.; WILKINSON, S.R., 1989. Effect of endophyte (*Acremonium coenophialum*) infection of tall fescue and paddock exchange on intake and performance of grazing steers. En: *Proc. XVI Int. Grassl. Congr.*, 1243. Nice (Francia).
- SUTHERLAND, B.L.; HOGLUND, J.H., 1990. Effect of ryegrass containing the endophyte *Acremonium lolii* on associated white clover. En: *Proc. Int. Symp. Acremonium/Grass Interactions*, 67. Ed. S.S. QUISENBERY, R.E. JOOST. Louisiana Agric. Exp. Sta., Baton Rouge (EEUU).
- WELTY, R.E.; BARKER, R.E.; AZEVEDO, M.D., 1991. Reaction of tall fescue infected and noninfected by *Acremonium coenophialum* to *Puccinia graminis* subsp. *graminicola*. *Plant Dis.*, **75**, 883.
- WEST, C.P.; OOSTERHUIS, D.M.; WULLSCHLEGER, S.D., 1990. Osmotic adjustment in tissues of tall fescue in response to water deficit. *Environ. Exp. Bot.*, **30**, 149-156.
- WEST, C.P., 1994. Physiology and drought tolerance of endophyte-infected grasses. En: *Biotechnology of Endophytic Fungi of Grasses*, 87-99. Ed. C.W. BACON, J.F. WHITE JR., CRC Press Inc. Boca Raton. Florida (EEUU).

NEW TENDENCES IN GRASS BREEDING: THE ENDOPHYTES

SUMMARY

Although the endophytes of grasses have been known since the 1930s, their economic importance was not recognized until an association was made in the late 1970s between *Acremonium coenophialum* Morgan-Jones and Gams and a toxicity syndrome in livestock consuming tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). Cattle and horses consuming endophyte-infected tall fescue have reduced growth, rate of conception, milk production and tolerance to heat. Moreover, sheep consuming perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) infected with the endophyte *Acremonium lolii* Latch, Christensen and Samuels are afflicted with a staggers syndrome, resulting in reduced weight gain. The mutualistic symbiosis of the endophyte and the grass confers a number of benefits on the host plant such as insect and nematode resistance, drought tolerance, and improved competition with other plant species. Endophyte infection of turf grasses confers improved growth and resistance to environmental stresses. In contrast, the use of endophyte-free grass cultivars for improved animal performance results in plants less tolerant of pests, drought and overgrazing. In Europe, the infection in perennial ryegrass and tall fescue is very spread in old meadows, but since there has been no positive selection for endophyte presence in plant breeding, European cultivars of perennial ryegrass have infection at low or zero levels. Research into the possibility of using this association for improving the tolerance to biotic and abiotic stresses in European cultivars of perennial ryegrass are currently underway.

Key words: Forage grasses, endophyte fungus, biotic stresses, abiotic stresses, plant breeding, *Acremonium* spp.