

Zabalgogezcoa I., Vázquez de Aldana B.R., García Criado B., García Ciudad A.  
TÍTULO: Asociaciones entre gramíneas y hongos endofíticos clavicipitales en  
pastos semiáridos  
LIBRO: Actas III Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes, Conselleria de  
Agricultura, Ganadería e Política Agroalimentaria (ed.), pp. 159-163 (2000)

ISBN: 84-453-2775-5

# ASOCIACIONES ENTRE GRAMÍNEAS Y HONGOS ENDOFÍTICOS EN PASTOS SEMIÁRIDOS

ZABALGOGEAZCOA, B.R. VÁZQUEZ DE ALDANA, B. GARCÍA CRIADO Y A. GARCÍA CIUDAD

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, CSIC

Apartado 257, 37071 Salamanca (España)

## RESUMEN

Los hongos endofíticos de los géneros *Neotyphodium* y *Epichloë* infectan a diversas especies de gramíneas. Los órganos vegetativos de las plantas infectadas no muestran ningún síntoma, sin embargo algunas especies de *Epichloë* producen en los tallos una agregación de micelio que impide la emergencia de la espiga y esteriliza a la planta. Las interacciones entre gramíneas y hongos endofíticos han recibido atención debido a que las plantas infectadas contienen alcaloides tóxicos para herbívoros. Por otro lado, una mejora de la resistencia a plagas y tolerancia a la sequía han sido observadas en algunas especies de gramíneas infectadas por endofitos.

Entre 1996 y 1999 se realizó un censo de especies de gramíneas asociadas a hongos endofíticos en pastos semiáridos de la provincia de Salamanca. Se encontraron 12 especies de gramíneas asociadas a hongos endofíticos de los géneros *Neotyphodium* y *Epichloë*. Este número es relativamente elevado en comparación con resultados obtenidos en otros países. Se observaron diversos tipos de interacción; en algunas especies las plantas infectadas no presentan síntomas, mientras que en otras el hongo esteriliza a la gramínea. En los pas-

tos estudiados, la infección endofítica es común en *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Dactylis glomerata* y *Lolium perenne*, mientras que en otras especies es rara. El conocimiento de las especies de gramíneas asociadas a endofitos y la incidencia de la infección en éstas es una información importante a la hora de valorar aspectos nutricionales y posibles usos alternativos de los pastos.

**Palabras clave:** *Neotyphodium*, *Epichloë*, toxicidad, dehesas

## INTRODUCCIÓN

Desde hace varias décadas es conocido el rechazo experimentado en algunas ocasiones por el ganado vacuno hacia pastos de *Festuca arundinacea*. Aparte del rechazo al pasto, otras manifestaciones más serias del "síndrome de *Festuca*" son la pérdida de peso, abortos, y otros síntomas adversos en los animales. En 1977 se descubrió que estos problemas asociados al consumo de *Festuca* alta eran debidos a la presencia de hongos en las plantas (Bacon et al., 1977). Estos hongos, posteriormente llamados endofitos de gramíneas, producen alcaloides tóxicos para herbívoros.

Actualmente se conocen dos géneros de hongos endofíticos de gramíneas: *Epichloë* y *Neotyphodium*. Este último descende de *Epichloë* y ha perdido la capacidad de reproducirse sexualmente. Las gramíneas infectadas por especies de *Epichloë* no muestran ningún síntoma de infección durante la fase vegetativa de su ciclo vida, sin embargo, durante la fase reproductiva de la planta pueden o no presentarse síntomas, dependiendo de las especies de hongo y gramínea asociadas. En casos de patogenicidad extrema, la planta hospedadora es completamente esterilizada cuando el hongo abandona el interior de la misma y produce un estroma en la vaina de la hoja bandera que impide la emergencia de la espiga. Este síntoma se conoce como estrangulamiento. En otras asociaciones gramínea/endofito, las plantas no muestran nin-

gún síntoma a pesar de estar infectadas, en estos casos el hongo infecta las semillas y se transmite a la próxima generación de plantas hospedadoras. Este tipo de interacción asintomática es la que se observa en gramíneas infectadas por *Neotyphodium*.

Varios estudios con *F. arundinacea* y *Lolium perenne* han demostrado que la interacción con endofitos beneficia a las plantas hospedadoras, al obtener del endofito protección química contra herbívoros. Las plantas infectadas son más resistentes a numerosas especies de insectos y nematodos que las plantas no infectadas. También se ha observado una mayor tolerancia a la sequía en plantas infectadas (Schardl, 1996).

La mayor parte de la investigación sobre inte-

**Tabla 1. Gramíneas hospedadoras de hongos endofíticos, incidencia geográfica y frecuencia de infección en poblaciones**

Gramínea /hongo	Tipo de interacción (a)	Localidades con infección (b)	Frecuencia de infección en poblaciones (c)
<i>Agrostis castellana</i> / <i>Epichloë</i> spp	P	3/12	baja
<i>Alopecurus arundinaceus</i> / <i>Epichloë</i> spp	P	1/18	baja
<i>Brachypodium phoenicoides</i> / <i>Epichloë</i> spp	P	1/4	mediana
<i>Brachypodium sylvaticum</i> / <i>Epichloë</i>	A	1/1	?
<i>Dactylis glomerata</i> / <i>Epichloë typhina</i>	P	9/9	alta
<i>Festuca ampla</i> / <i>Epichloë</i>	A	1/1	?
<i>Festuca arundinacea</i> subsp. <i>arundinacea</i> / <i>Neotyphodium coenophialum</i>	A	8/8	alta
<i>Festuca arundinacea</i> subsp. <i>fenas</i> / <i>Neotyphodium coenophialum</i>	A	1/1	alta
<i>Festuca ovina</i> / <i>Epichloë festucae</i>	A	1/1	?
<i>Festuca rubra</i> / <i>Epichloë festucae</i>	A/P	27/28	alta
<i>Holcus lanatus</i> / <i>Epichloë</i>	P	3/12	baja
<i>Hordeum</i> spp./ <i>Epichloë</i> spp.	P	1/1	baja
<i>Lolium perenne</i> / <i>Epichloë typhina</i> / <i>Neotyphodium lolii</i>	A/P	11/11	alta

(a) A: asintomática, P: patogénica.

(b) Número de localidades donde se detectaron plantas infectadas / número de localidades donde se examinaron plantas de la especie.

(c) Alta 50% de las plantas infectadas, media 5% o mas, baja: < 1%, ? desconocida.

raciones entre endofitos y gramíneas se ha llevado a cabo con las especies *F. arundinacea/Neotyphodium coenophialum* y *L. perenne/N. lolii*. Esto se debe a la importancia que tienen estas especies en la pratericultura de Nueva Zelanda y EE.UU. y a los importantes problemas que la infección endofítica en estas especies representa para la producción ganadera en ambos países. No obstante, un considerable número de especies de gramíneas son hospedadoras de hongos endofíticos

El objetivo de este trabajo es determinar qué especies de gramíneas son hospedadoras de hongos endofíticos, entre las presentes en pastos de dehesas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los meses de primavera y verano de 1996 a 1999 se recogieron gramíneas en pastos de las provincias de Salamanca y Zamora. Estos muestreos se realizaron en 29 localidades, las cuales eran dehesas arboladas con encina o roble, con la excepción de dos localidades, una de bosque en la Sierra de Francia y un humedal en Torres del Carrizal (Zamora).

En las especies en las que inicialmente se detectaron endofitos, se intentó analizar un número de plantas tan grande como posible. En las especies en las que se estimó la frecuencia de infección en poblaciones (Tabla 1), un mínimo de 25 plantas fueron analizadas al menos en una localidad donde se detectaron plantas infectadas. En algunas especies no se pudo estimar esta frecuencia al no encontrarse un número suficiente de individuos de la especie.

Para determinar la presencia de hongos endofíticos, en una primera fase se analizaron al microscopio muestras de la médula del tallo de la espiga, teñidas con azul de anilina. La detección de hifas mediante este método seleccionaba las plantas para una segunda fase en la que se aisló el hongo de piezas de tallo y vaina floral esterilizadas superficialmente y colocadas en placas de agar de patata y dextrosa (Clark et al., 1983). Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente durante un periodo de al menos tres semanas. Por lo general, los endofitos pertenecientes a *Epichloë spp.* son visi-

bles en las placas tras unos 10 días de incubación. Los hongos aislados por esta técnica fueron clasificados en base a caracteres morfológicos (White y Morgan-Jones, 1987).

En el caso de interacciones patogénicas en las cuales las plantas estaban estranguladas, también se analizaron plantas sanas de estas especies para determinar la posibilidad de interacciones asintomáticas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución de gramíneas en los ecosistemas de dehesas es irregular. Algunas especies se encontraron en muchas localidades, mientras que otras rara vez fueron observadas, o lo fueron tan solo en una localidad. En total, durante el muestreo se analizaron 51 taxones (50 especies) de gramíneas, detectándose la presencia de hongos de los géneros *Epichloë* o *Neotyphodium* en los citados en la Tabla 1. Las especies en las cuales no se detectó la presencia de hongos endofíticos son las siguientes (número de plantas examinadas entre paréntesis): *Aegilops ventricosa* (2), *Agrostis pourretii* (2), *Alopecurus geniculatus* (8), *Anthoxanthum odoratum* (12), *Arrhenatherum album* (3), *A. elatius* (4), *Avena sterilis* (2), *Briza maxima* (5), *Bromus catarcticus* (7), *B. commutatus* (6), *B. diandrus* (1), *B. hordaceus* (7), *Cynosurus cristatus* (10), *C. echinatus* (10), *Deschampsia media* (3), *Echinochloa crus-galli* (4), *Elymus caninus* (2), *E. pungens* (5), *Festuca elegans* (40), *Gaudinia fragilis* (2), *Glyceria declinata* (9), *Holcus mollis* (2), *Hordeum hirtum* (1), *H. murinum* (2), *Lolium rigidum* (40), *Milium vernale* (1), *Nardus stricta* (5), *Phalaris arundinacea* (4), *Phleum pratense* (8), *Poa bulbosa* subsp. *vivipara* (32), *P. pratensis* (6), *P. trivialis* (4), *Polypogon monspeliensis* (2), *Stipa lagascae* (6), *Taeniatherum caput-medusae* (1), *Vulpia membranacea* (1), *V. myuros* (2) y *V. bromoides* (10).

Trece taxones de gramíneas (25% del total examinado) resultaron ser hospedadores de hongos endofíticos. Esta proporción es relativamente elevada teniendo en cuenta que este estudio ha sido realizado principalmente en localidades pertenecientes a un mismo ecosistema, como es la dehesa. Aunque

se han realizado otros estudios en los cuales se han descrito más de diez especies de gramíneas hospedadoras de endofitos, estos estudios han abarcado países completos o paisajes más heterogéneos que los utilizados en este trabajo (Clay y Leuchtman, 1989; Eckblad y Torkelsen, 1989). Por lo tanto, este estudio demuestra que en los ecosistemas de dehesa las interacciones entre gramíneas y hongos endofíticos son comunes.

Las incidencias más altas dentro de especies hospedadoras, se observaron en *F. arundinacea*, *F. rubra*, *Dactylis glomerata* y *L. perenne*. La incidencia de infecciones endofíticas en *F. rubra* ha sido estudiada con más detalle: en poblaciones de esta especie, una media del 70% de las plantas resultaron estar infectadas (Zabalgogea et al., 1999). En todas las localidades donde se encontraron *D. glomerata* y *L. perenne*, se observaron plantas de ambas especies con síntomas de estrangulamiento de las cuales se aisló el hongo *Epichloë typhina*. En el caso de *L. perenne*, también se detectaron endofitos en plantas asintomáticas espigadas; en los cultivos obtenidos a partir del material fúngico aislado de estas plantas se identificó al endofito *Neotyphodium lolii*. Las gramíneas *F. ampla*, *Brachypodium phoenicoides* y *Agrostis castellana* no han sido identificadas como especies asociadas a endofitos en otras localidades o estudios sobre este tema.

Es posible que en los pastos de dehesa la asociación con endofitos sea beneficiosa para las plantas, especialmente en el caso de las interacciones asintomáticas o mixtas como *F. arundinacea/N. coenophialum* o *F. rubra/E. festucae*. Interacciones patogénicas cuyo resultado es la esterilización parcial o total de la planta hospedadora (ej. *D. glomerata/E. typhina*) podrían también favorecer la adaptación de estas especies al ambiente de la dehesa; hay que tener en cuenta que estas gramíneas son perennes y de propagación modular.

Los endofitos son un problema para la producción ganadera en Nueva Zelanda y EE.UU., donde las praderas de siembra de monocultivo de *F. arundinacea* y *L. perenne* son abundantes, y la incidencia de endofitos es elevada. Sin embargo, en Europa más del 80 % de los pastos son de tipo per-

manente, es decir, que no han sido sembrados en los últimos 5 años. Esta diferencia puede ser uno de los motivos de que en Europa el número de casos descritos de toxicosis de endofitos en ganado sea mucho menor que en los dos países antes mencionados (Lewis, 1997). En la provincia de Salamanca la mayoría de los pastos son naturales (dehesas) y el uso de praderas artificiales es muy reducido. La riqueza botánica de estos pastos y la irregular distribución espacial de especies en ellos actúa como un factor de dilución de las toxinas presentes en plantas infectadas. No obstante, en pastos naturales puede haber zonas en las cuales abundan especies hospedadoras y se registren concentraciones de alcaloides antiherbívoros que podrían causar problemas al ganado.

No hay que olvidar que uno de los síntomas asociados al consumo de pastos infectados por endofitos es una reducción en la ganancia media diaria de peso del ganado (Patterson et al., 1995). Todavía no se ha demostrado si síntomas tan sutiles como éste suceden en ganado que consume pastos con ciertos componentes botánicos infectados.

## CONCLUSIONES

Aproximadamente la cuarta parte de las especies de gramíneas examinadas en pastos naturales de la provincia de Salamanca resultaron ser hospedadoras de hongos endofíticos de los géneros *Epichloë* y *Neotyphodium*. La infección endofítica es común en plantas de *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Dactylis glomerata* y *Lolium perenne* y es rara la localidad donde se encuentran estas especies y no hay ejemplares infectados.

Las gramíneas infectadas por endofitos contienen alcaloides tóxicos para herbívoros, por lo tanto los resultados de este trabajo ponen de manifiesto que, a la hora de evaluar la calidad de los pastos naturales de la zona estudiada, la infección endofítica debe ser considerada como un factor antinutricional. No obstante, la alta biodiversidad de los pastos de dehesa puede diluir las toxinas aportadas por plantas infectadas al forraje, pero, en zonas particulares en las cuales especies de gramíneas hospedadoras sean muy frecuentes, el forraje podría tener efectos adversos en el ganado.

El conocimiento de las especies de gramíneas hospedadoras de endofitos es útil para conocer el potencial valor antinutricional del forraje causado por la presencia de estos hongos en zonas específicas de explotaciones ganaderas extensivas.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos AGF99-1119 de la CICYT y CSI 3/98 de la Junta de Castilla y León. Se agradece la colaboración de M. Hernández Martín y J.C. Estévez González.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACON, C.W., PORTER, J.K., ROBBINS, J.D., LUTTRELL, E.S., 1977. *Epichloë typhina* from toxic tall fescue grasses. *Applied and Environmental Microbiology* **34**, 576-581.
- CLARK, E.M., WHITE, J.F., PATTERSON, R.M., 1983. Improved histochemical techniques for the detection of *Acremonium coenophialum* in tall fescue and methods for *in vitro* culture of the fungus. *Journal of Microbiological Methods* **1**, 149-155.
- CLAY, K., LEUCHTMANN, A., 1989. Infection of woodland grasses by fungal endophytes. *Mycologia* **81**, 805-811.
- ECKBLAD, F., TORKELSEN, A., 1989. *Epichloë typhina* in Norway. *Opera Botanica* **100**, 51-57.
- LEWIS, G.C., 1997. Significance of endophyte toxicosis and current practices in dealing with the problem in Europe. En: *Neotyphodium/Grass Interactions*, 377-383. Ed. BACON, C.W., N. Hill. Plenum Press. Nueva York (EE.UU.).
- PATTERSON, J., FORCHERIO, C., LARSON B., SAMFORD M. y KERLEY, M., 1995. The effects of fescue toxicosis on beef cattle productivity. *Journal of Animal Science* **73**, 889-898.
- SCHARDL, C.L., 1996. *Epichloë* species: fungal symbionts of grasses. *Annual Review of Phytopathology* **34**, 109-130.
- WHITE, J.F., MORGAN-JONES, G., 1987. Endophyte-host association in forage grasses. X. Cultural studies on some species of *Acremonium* section *Albo-lanosa*, including a new species, *A. starrii*. *Mycotaxon* **30**, 87-95.
- ZABALGOGEAZCOA, I., VÁZQUEZ DE ALDANA B.R., GARCÍA CRIADO B., GARCÍA CIUDAD, A., 1999. The infection of *Festuca rubra* by the fungal endophyte *Epichloë festucae* in Mediterranean permanent grasslands. *Grass and Forage Science* **54**, 91-95.

## GRASS - ENDOPHYTE ASSOCIATIONS IN SEMIARID GRASSLANDS

### SUMMARY

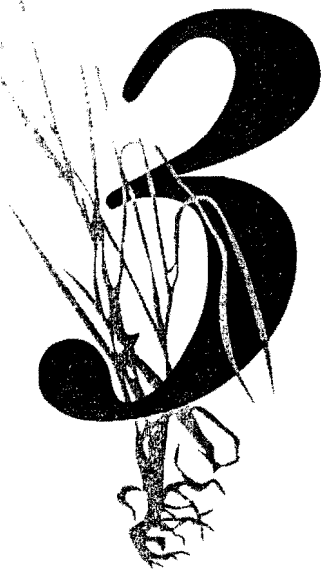
*Neotyphodium* and *Epichloë* endophytes infect several species of grasses. The vegetative organs of infected plants remain asymptomatic. However, in some grass/*Epichloë* interactions, the fungus produces a stroma of mycelium which prevents the panicle to emerge. As a result, the plant is sterilized.

Grass-endophyte interactions have received a good deal of attention because infected plants contain alkaloids which are toxic to herbivores. These plants cause health problems in livestock, but also are more resistant to insects and nematodes than uninfected plants. Increased drought tolerance has also been observed in some infected grasses.

From 1996 to 1999, a survey of grass hosts of endophytes was made in grasslands of the province of Salamanca, in Spain. Twelve species of grasses were found to be infected by *Neotyphodium* and *Epichloë* spp. This number of host grasses is relatively high when compared to surveys made in other places of the world. Endophytic infection was found to be common in *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Dactylis glomerata*, and *Lolium perenne*. In other host species, infected plants were found in few locations and their incidence in those sites was low. Knowing which species are endophyte hosts in a given ecosystem is useful information to evaluate forage quality.

**Keywords:** *Neotyphodium*, *Epichloë*, toxicity, dehesas

*XXI Reunião de  
Primavera da Sociedade  
Portuguesa de Pastagens  
e Forragens*



*XL Reunión Científica  
de la Sociedad Española  
para el Estudio  
de los Pastos*

*Bragança - A Coruña - Lugo  
7 - 13 maio / mayo 2000*



ISBN: 84-453-2775-5  
Depósito Legal: C-826-2000

Edita:  
Consellería de Agricultura, Gandería  
e Política Agroalimentaria

Maqueta e imprime:  
Gráficas Garabal, s. l.