

ENDOFITOS FUNGICOS EN ESPECIES SUDAMERICANAS DE *FESTUCA* (POACEAE)

Por MARIA DELIA BERTONI¹, DANIEL CABRAL¹, NURIA ROMERO¹ y JORGE DUBCOVSKY²

Summary *Fungal endophytes in South American species of Festuca (Poaceae).* Fungal endophytes were found in the aleurone layer of the caryopsis of eight South American and one Asiatic *Festuca* spp. The survey included 60 populations belonging to 25 taxa of this genus. Nearly all populations of *F. argentina* (Speg.) L. Parodi and *F. hieronymi* Hackel, previously reported as toxic to livestock, were found to present most of their plants (95-100%) infected with endophytic fungi. This correlation between toxicity and fungal endophytes is also well established in cultivated *F. arundinacea* Schreb. Some correlation was also found between endophyte presence or absence and infrageneric *Festuca* classification. All the species analyzed belonging to subgenera *Subulatae* and *Mallopetalon* were colonized with endophytes, while those belonging to subgenera *Helleria* and *Drymanthele* were not. Within subgenus *Festuca* species belonging to *F. pallescens* (St.-Yves) Parodi and *F. pampeana* Speg. groups were also endophyte free while *F. hieronymi* Hackel and some of the species belonging to the *F. ovina* L. group exhibited fungal endophytes in their caryopsis.

INTRODUCCION

Hace cerca de 90 años que se conoce la existencia de hongos asintomáticos asociados a los tejidos de las estructuras aéreas de las gramíneas (Freeman, 1904, 1906; Mc Clennan, 1920; Sampson, 1935; Neill, 1940). Estos estudios, aislados y olvidados, de interés académico sólo para los micólogos, comienzan a ser reconocidos cuando se relaciona la presencia de estos endofitos fúngicos en *Festuca arundinacea* Schreb. y *Lolium perenne* L. con enfermedades del ganado de gran importancia económica, como la festucosis o pie de festuca y el "ryegrass stagger" (Bacon *et al.*, 1977; Fletcher & Harvey, 1981).

Desde entonces se ha demostrado la presencia de endofitos en numerosas gramíneas (White, 1987; Clay & Leuchtman, 1989), y en *Festuca* en particular (White & Cole, 1985; Saha *et al.*, 1987).

Se postula que la interacción endofito-gramínea es del tipo simbiótico-mutualista, donde el hospedante se beneficia con un aumento de su crecimiento, supervivencia y reproducción, incremento en la resistencia a insectos y mamíferos herbívoros y nematodos, así como una mayor y más rápida recuperación en situación de stress (Siegel *et al.*, 1987; West *et al.*, 1987; Clay, 1988; Cheplick & Clay, 1988). Experiencias recientes demuestran que

la presencia de endofitos también tiene efectos positivos en la competencia intra e interespecífica del hospedante (Marks *et al.*, 1991).

El endofito se beneficia en la asociación por tener asegurada su nutrición, dispersión y supervivencia, en un ambiente protegido y con escasa o nula competencia (Siegel *et al.*, 1987).

Los objetivos de este trabajo son, realizar un relevamiento de la presencia de endofitos fúngicos en especies autóctonas del género *Festuca*, correlacionar los resultados con la toxicidad reconocida de alguna de las especies estudiadas, y establecer si la presencia de endofitos puede ser utilizada como un aporte más a la taxonomía de los hospedantes.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio sobre la presencia de endofitos fúngicos se realizó en especies sudamericanas del género *Festuca*. Si bien el mayor número de muestras corresponden a especies y poblaciones patagónicas, se incluyen también entidades de otras regiones del país, Chile, Brasil y Perú. A efectos comparativos se estudiaron, una muestra comercial de *F. arundinacea*, poblaciones introducidas de *F. rubra* L. y dos muestra de herbario de *F. extremiorientalis* Ohwi de origen asiático. Los taxones estudiados, así como sus datos de colección se detallan en la Tabla 1, ordenados según la clasificación propuesta por Alexeev (1984) y Dubcovsky (1989). La mayor parte de las muestras

¹ Dpto. Ciencias Biológicas, Fac. Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Pb. II, 4to. Piso, Ciudad Universitaria, 1428, Buenos Aires.

² Inst. Recursos Biológicos, CIRN, INTA, 1712, Castelar, Prov. Buenos Aires.

Tabla 1.— Especies de *Festuca* estudiadas, lugar de colección, colector, presencia/ausencia de endofitos y porcentajes de cariopses colonizadas

Especie	Lugar de colección-Colector	%
Subgénero Subulatae		
<i>F. ulochaeta</i> Steud.	Brasil, Los Pinares, Martínez s/n (BAB)	+ 100%
	Brasil, Sta. Catarina, Smith y Klein 15888 (SI)	— (12)
	Arg., Misiones, Dpto. Iguazú, Paraná, Angely s/n (BAA)	+ 100%
<i>F. sp₁</i>	Perú, Dpto. Amazonas, Chachapoyas, Puma Urcu, Martínez 33 (BAB)	+ 100%
<i>F. extremiorientalis</i> Ohwi	URSS, Herbario Acad. Petrop. 349	+ 100%
	URSS, Herbario Leningrado 283	+ 100%
Subgénero Mallopetalon		
<i>F. fimbriata</i> Nees	Arg., Corrientes, Dpto. Tomé, Ao. Chirimay, Cristóbal 2042 (BAB)	+ 100%
	Arg., Misiones, Dpto. Capital, Ao. Vera, Cristóbal 2040 (BAB)	+ 75%
<i>F. argentina</i> (Speg.) L. Parodi	Arg., Chubut, Dpto. Rawson, Trelew, Dubcovsky y Martínez 80 (BAB)	+ 85%
	Arg., Chubut, Dpto. Escalante, Golfo San Jorge, Dubcovsky y Martínez 83 (BAB)	+ (5)
	Arg., Neuquén, Dpto. Huiliches, Junín de los Andes, Dubcovsky y Martínez 201 (BAB)	+ 100%
	Arg., Neuquén, Dpto. Aluminé, Dubcovsky y Oliva 648 (BAB)	+ 100%
	Arg., Chubut, Dpto. Futaleufú, de Corcovado a Tecka, Dubcovsky y Oliva 693 (BAB)	+ 100%
Subgénero Drymanthele		
<i>F. purpurascens</i> Banks et Solander	Arg., Río Negro, Dpto. Bariloche, Cda. de los Alerces, Dubcovsky J55 (BAB)	—
	Arg., T. del Fuego, Dpto. Ushuaia, Lago Fagnano, Guiñazú 227 (BAA)	—
<i>F. sp₂</i>	Arg., Tucumán, La Banderita, Giusti s/n	— (10)
Subgénero Helleria		
<i>F. contracta</i> Kirk	Arg., T. del Fuego, Dpto. Ushuaia, Lago Fagnano, Guiñazú 226 (BAA)	—
Subgénero Festuca		
Grupo F. pampeana		
<i>F. pampeana</i> Speg.	Arg., Bs. As., Dpto. Tornquist, Sa. de la Ventana, Dubcovsky y Martínez 175 (BAB)	—
	Idem, Dubcovsky y Martínez 73 (BAB)	— (7)
	Arg., Bs. As., Dpto. Tornquist, Co. Bahía Blanca, Dubcovsky J5 (BAB)	—
Grupo F. ovina		
<i>F. rubra</i> L.	Arg., T. del Fuego, Dpto. Ushuaia, Canal de Beagle, Dubcovsky y Martínez 284 (BAB)	— (14)
	Arg., Mendoza, Dpto. Malargüe, Las Leñas, Dubcovsky y Oliva 625 (BAB)	—
<i>F. magellanica</i> Lam.	Arg., Chubut, Dpto. Futaleufú, Lago Rivadavia, Dubcovsky y Martínez 153 (BAB)	—
	Arg., Neuquén, Dpto. Lacar, S. M. de los Andes, Dubcovsky y Martínez 168 (BAB)	+ 80%
	Idem, Dubcovsky y Martínez 181 (BAB)	—
	Arg., Neuquén, Dpto. Huiliches, Huechulafquien, Dubcovsky y Martínez 197 (BAB)	+ 90%
	Arg., Neuquén, Dpto. Aluminé, Cuesta del Rahue, Dubcovsky y Martínez 208 (BAB)	—

<i>F. roigii</i>	Arg., Mendoza, Dpto. Luján, La Crucecita, Co. Verde, Ruiz Leal 5387 (HRL)	—	(3)
Dubcovsky et Rúgolo	Arg., Mendoza, Dpto. San Carlos, San Carlos, Ao. El Rosario, Roig 7225 (HRL)	—	(9)
<i>F. simpliciuscula</i>	Arg., Mendoza, Dpto. Malargüe, Las Leñas, Dubcovsky y Oliva 622 (BAB)	+ 100%	
(Hackel) Alexeev	Arg., Neuquén, Dpto. Aluminé, Lago Aluminé, Dubcovsky y Oliva 636 (BAB)	+ 100%	
	Arg., Neuquén, Dpto. Minas, Cordillera del Viento, Boelcke 11322 (BAA)	+ 75%	
	Arg., Sta. Cruz, Dpto. Guer Aike, Laguna el Cóndor, Boelcke 12449 (BAA)	—	(15)
Grupo <i>F. pallescens</i>			
<i>F. acantophylla</i> Desv.	Arg., Mendoza, Dpto. Malargüe, Las Leñas, Dubcovsky y Martínez 239 (BAB)	—	
	Idem, Dubcovsky y Martínez 240 (BAB)	—	
<i>F. gracillima</i> Hook. f.	Arg., Sta. Cruz, Dpto. Guer Aike, Oliva s/n (BAB)	—	
	Arg., T. del Fuego, Dpto. Río Grande, Collantes s/n (BAB)	—	
<i>F. kurtziana</i> St.-Yves	Arg., Mendoza, Dpto. Malargüe, Las Leñas, Dubcovsky y Martínez 235 (BAB)	—	
	Arg., Mendoza, Dpto. Malargüe, Pehuenche, Dubcovsky y Martínez 241 (BAB)	—	
<i>F. monticola</i> Philippi	Arg., Neuquén, Dpto. Lacar, Co. Chapelco, Dubcovsky y Martínez 185 (BAB)	—	
	Chile, Dpto. Temuco, Ricardi y Matthei 5304 (BAA)	—	(11)
<i>F. pallescens</i>	Arg., Chubut, Dpto. Sarmiento, Sa. San Bernardo, Dubcovsky y Martínez 114 (BAB)	—	
(St.-Yves) Parodi	Arg., Neuquén, Dpto. Bariloche, Cañadón de la Mosca, Dubcovsky y Martínez 154 (BAB)	—	
	Arg., Neuquén, Dpto. Aluminé, Cuesta del Rahue, Dubcovsky y Martínez 210 (BAB)	—	
	Arg., Sta. Cruz, Dpto. Guer Aike, Oliva s/n (BAB)	—	
	Arg., Sta. Cruz, Dpto. Guer Aike, Bella Vista, Oliva s/n (BAB)	—	
<i>F. pallescens</i>	Arg., Neuquén, Dpto. Lacar, S. M. de los Andes, Dubcovsky y Martínez 193 (BAB)	—	
var. <i>scabra</i>	Arg., Neuquén, Dpto. Aluminé, Rahue, Dubcovsky y Martínez 206 (BAB)	—	
(St.-Yves) Parodi			
<i>F. scabriuscula</i>	Arg., Neuquén, Dpto. Picunches, Pino Hachado, Dubcovsky y Martínez 213 (BAB)	—	
Philippi	Idem, Dubcovsky y Martínez 221 (BAB)	—	
	Arg., Neuquén, Dpto. Huiliches, Lago Tromen, Cabrera 5123 (BAA)	—	
<i>F. thermanum</i>	Arg., Neuquén, Dpto. Picunches, Pino Hachado, Dubcovsky y Martínez 215 (BAB)	—	
Philippi			
<i>F. tunicata</i> Desv.	Chile, Dpto. Santiago, Manquehue, Dubcovsky y Martínez 244 (BAB)	—	
	Idem, Dubcovsky y Martínez 246 (BAB)	—	
	Chile, Valle del Yeso, Dubcovsky y Martínez 249 (BAB)	—	
<i>F. ventanica</i> Speg.	Arg., Bs. As., Dpto. Tornquist, Co. Bahía Blanca, Dubcovsky J6 (BAB)	—	(2)
	Arg., Bs. As., Dpto. Tornquist, Sa. de Curamalal, Cabrera 5517 (BAA)	—	
	Idem, Spegazzini 1880 (SI)	—	(2)
Grupo <i>F. hieronymi</i>			
<i>F. hieronymi</i> Hackel	Arg., Tucumán, Dpto. Tafí, Abra del Infiernillo, Dubcovsky y Oliva 694 (BAB)	+ 100%	
	Idem, Martínez 758 (BAB)	+ 95%	
	Arg., San Luis, Dpto. Capital, El Volcán, Del Vito 930 (BAB)	+ 100%	
Especie no agrupada	Arg., Jujuy, Dpto. Capital, Laguna de Yala, Dubcovsky y Martínez 424 (BAB)	+	(7)
<i>F. superba</i> Parodi			

% de 20 cariopses analizados

() en el caso de menos de 20 cariopses se indica el número entre paréntesis

+/- presencia/ausencia de endofitos

fueron obtenidas directamente de poblaciones naturales. Ejemplares de las especies estudiadas se hallan depositados en el herbario BAB. En el caso de muestras obtenidas de herbarios institucionales se identifican con el número y sigla correspondientes.

La detección de la presencia de endofitos se llevó a cabo fundamentalmente en cariopse. En los casos en que se dispuso de plantas vivas se analizaron también estructuras vegetativas de uno o más ejemplares.

Detección de endofitos en cariopse

Aproximadamente 50 cariopses maduros de cada población, se trataron con NaOH 5% por 16-22 hs a temperatura ambiente y se enjuagaron repetidamente en agua. Se separaron las glumas y glumelas, descartándose aquellos cariopses inmaduros o que presentaban alteraciones en su desarrollo. Para obtener porcentajes de colonización comparables, se analizaron 20 cariopses de cada población. Este número fue menor sólo en los casos de muestras con gran cantidad de cariopses inmaduros o con alteraciones, o cuando provenían de herbario.

Luego del tratamiento, cada cariopse se colocó sobre un portaobjetos, se presionó levemente con una aguja de disección para separar el contenido de la cubierta, y se tiñó con una gota de colorante compuesto por dos partes de azul de anilina (solución 1% en agua), 1 parte de ácido láctico 85% y 15 partes de agua (Clark *et al.*, 1983). Se dejó reposar 5-10 min, se colocó el cubreobjetos presionando levemente hasta obtener una película uniforme y se observó bajo microscopio óptico. En algunos casos se aceleró y/o intensificó la tinción calentándolo levemente sobre la llama.

Detección de endofitos en vaina y escapo floral

El análisis se realizó únicamente en aquellas especies en las que se pudo obtener material vivo: *F. fimbriata* Nees; *F. ulochaeta* Steud.; *F. argentina* (Speg.) L. Parodi y *F. hieronymi* Hackel. De cada planta se extrajo la vaina completa de la que se cortó la parte basal, correspondiente a la zona de menor pigmentación. Se separó la epidermis, y la zona parenquimática se colocó sobre un portaobjetos, y se tiñó del mismo modo que los cariopses.

Los escapos florales fueron cortados longitudinalmente, y de ellos se extrajeron porciones de tejido parenquimático, que fueron tratados como se señaló anteriormente.

RESULTADOS

ENDOFITOS FUNGICOS EN CARIOPSE

En la tabla 1 se muestran los resultados del análisis de colonización de cariopses por endofitos fúngicos. De las 22 especies sudamericanas estudiadas, ocho demostraron estar colonizadas por endofitos fúngicos. *F. fimbriata*, *F. argentina* y *F. hieronymi* presentan colonización en todas las poblaciones estudiadas, mientras que *F. simpliciuscula* (Hackel) Alexeev y *F. ulochaeta* muestran tanto poblaciones colonizadas como sin colonizar. En *F. magellanica* Lam. sólo dos de las cinco poblaciones estudiadas están asociadas con endofitos. Se ha considerado a *F. magellanica* en el sentido amplio propuesto por Moore (1983) y Alexeev (1984). En *Festuca* sp 1 y *F. superba* Parodi sólo fue posible estudiar una población, que resultó colonizada. En el primer caso por la imposibilidad de obtener mayor número de muestras y en el segundo debido a que se conoce una única población de la especie.

El porcentaje de colonización en las 8 especies mencionadas varía entre 75 y 100% y las hifas de los endofitos están asociadas con la capa de aleurona del cariopse (Fig. 1 y 2) al igual que en *F. arundinacea*, *L. perenne* y otras gramíneas analizadas.

Al comparar las características morfológicas del micelio endofítico entre las diferentes poblaciones de una misma especie no se observaron diferencias significativas. Sin embargo, estas diferencias son evidentes cuando se comparan los endofitos de diferentes especies del hospedante y con el endofito de *F. arundinacea*. Los resultados observados son los siguientes:

Acremonium coenophialum, endofito de *F. arundinacea*

(Fig. 1 B)

Hifas abundantes, poco ramificadas, tabicadas, de grosor uniforme, con un promedio de 2 µm de ancho, dispuestas en tramos de recorrido recto, pero más frecuentemente sinuoso o zigzagueante. Disposición intercelular en la capa de aleurona del cariopse. Es muy característica la presencia de manojos de hifas paralelas, en particular en las zonas sinuosas o zigzagueantes.

Endofito de *F. fimbriata*

(Fig. 1 A)

Hifas escasas y poco ramificadas, tabicadas, 3-4,8 µm de ancho, dispuestas en forma sinuosa entre

las células de la capa de aleurona, con pocos sectores rectos. No se observa la disposición en manojos de hifas paralelas característica de *A. coenophialum*. Células de 11,2-32 µm de largo, muy gutuladas, de paredes muy gruesas representando 1/4 del ancho total de la hifa.

Endofito de *F. magellanica*
(Fig. 1 C)

Hifas abundantes, ramificadas, tabicadas, de grosor irregular, 1,6-3,2 µm de ancho, dispuestas en tramos rectos y tramos sinuosos entre las células de la capa de aleurona. Con sectores en donde las hifas se disponen en forma paralela. No forman ovillos. Células largas, 25,6-57,6 µm, abundantemente gutuladas, de paredes delgadas. Algunos tabiques presentan constricciones.

Endofito de *F. simpliciuscula*
(Fig. 1 D)

Hifas escasas, muy ramificadas y tabicadas, de grosor uniforme, 1,6 µm, solitarias en largos tramos rectos, o en ovillos laxos. Se observan pocos sectores en manojos de hifas paralelas. En general estos coinciden con las zonas donde las hifas tienen recorrido sinuoso. Células de 16-48 µm de largo, de pared delgada, sin constricciones en los tabiques, gutuladas.

Endofito de *F. ulochaeta*
(Fig. 2 A)

Hifas escasas, dispersas, poco ramificadas, muy tabicadas, de grosor irregular, 1,6-2,4 µm de ancho con pocos tramos de recorrido en paralelo. Vistas con poco aumento, debido al grosor variable de la pared hialina, presentan el aspecto de una línea discontinua. Células de 9,6-19,2 µm de largo, abundantemente gutuladas, pared de grosor variable, generalmente ancha, 0,8-1 µm. Contenido celular débilmente coloreable.

Endofito de *F. hieronymi*
(Fig. 2 B)

Hifas muy abundantes, ramificadas, tabicadas, básicamente de grosor uniforme, pero con ensanchamientos triangulares en los puntos de ramificación, 1,6-3,2 µm de ancho, dispuestas en forma sinuosa, zigzagueante o en largos tramos rectos. Ocupan completamente los espacios entre las células de aleurona. Sectores, particularmente los sinuosos o zigzagueantes, formando cordones de hifas en paralelo. Células de 8-48 µm de largo, con

gran cantidad de pequeñas gúttulas, de pared delgada, uniforme. El contenido hifal se ensancha y parece interrumpirse a nivel de los tabiques.

Endofito de *F. argentina*
(Fig. 2 C)

Hifas abundantes, con pocas ramificaciones, muy tabicadas, anchas, de grosor irregular, 3,2-4,8 µm, dispuestas en forma desordenada entre las células de la capa de aleurona. Células cortas, 11-13 µm, no gutuladas, de paredes gruesas, 0,6 µm de ancho en promedio, con contenido que se colorea débilmente. Algunas veces constrictas en los septos.

Endofito de *F. superba*

Hifas abundantes, poco ramificadas, tabicadas, de grosor irregular, entre 1,6-3,2 µm de ancho, dispuestas en forma sinuosa, sin tramos rectos. Presentan zonas, generalmente correspondientes a una célula completa, visiblemente más anchas que el resto. Con gran frecuencia se observan sectores cortos donde se disponen en manojos de hifas paralelas. Células de 19,2-43,2 µm de largo, sin gúttulas, de pared delgada con grosor uniforme. Las células más anchas presentan constricciones marcadas en los septos.

Endofito de *Festuca* sp. 1
(Fig. 2 D)

Hifas escasas, ramificadas, tabicadas, delgadas, de grosor uniforme, 0,8-1,6 µm de ancho, dispuestas laxamente, entre las células de la capa de aleurona. Se observan pocos sectores en los cuales las hifas se disponen en manojos paralelos, generalmente estos coinciden con extensos tramos rectos. Nunca forman ovillos. Células de 8-48 µm de largo, abundantemente gutuladas, débilmente teñidas en comparación con los endofitos descritos anteriormente, con pared delgada de grosor uniforme.

ENDOFITO FUNGICO EN VAINA Y ESCAPO FLORAL

En la tabla 2 se detallan los resultados obtenidos. De las cuatro especies analizadas, sólo se verificó la presencia de endofito en vainas de *F. fimbriata* y *F. argentina*, y en escapos florales de la última. Las hifas de los endofitos de las dos especies de *Festuca*, en ambas estructuras, muestran una disposición intercelular, recorriendo longitudinalmente el tejido parenquimático. Su aspecto es similar al descrito para *Acremonium coenophialum* en *F. arundinacea* (Clark et al., 1983) pero difieren en que el recorrido de sus hifas es menos zigzagueante. En

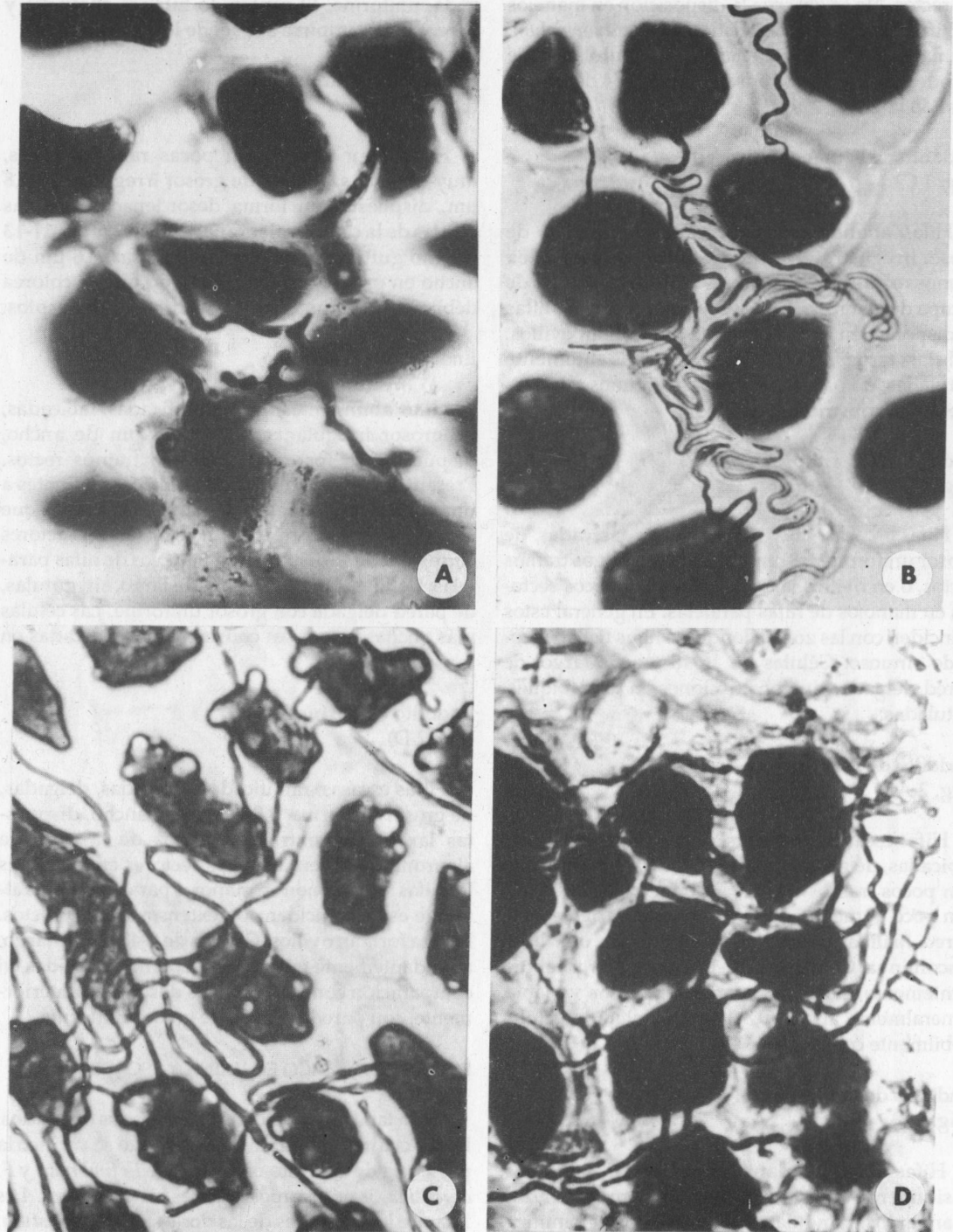


Fig. 1.— Endofito en la capa de aleurona del cariopse: A: *F. fimbriata* (750 X), B: *F. arundinacea* (600 X), C: *F. magellanica* (750 X) y D: *F. simpliciuscula* (750 X).

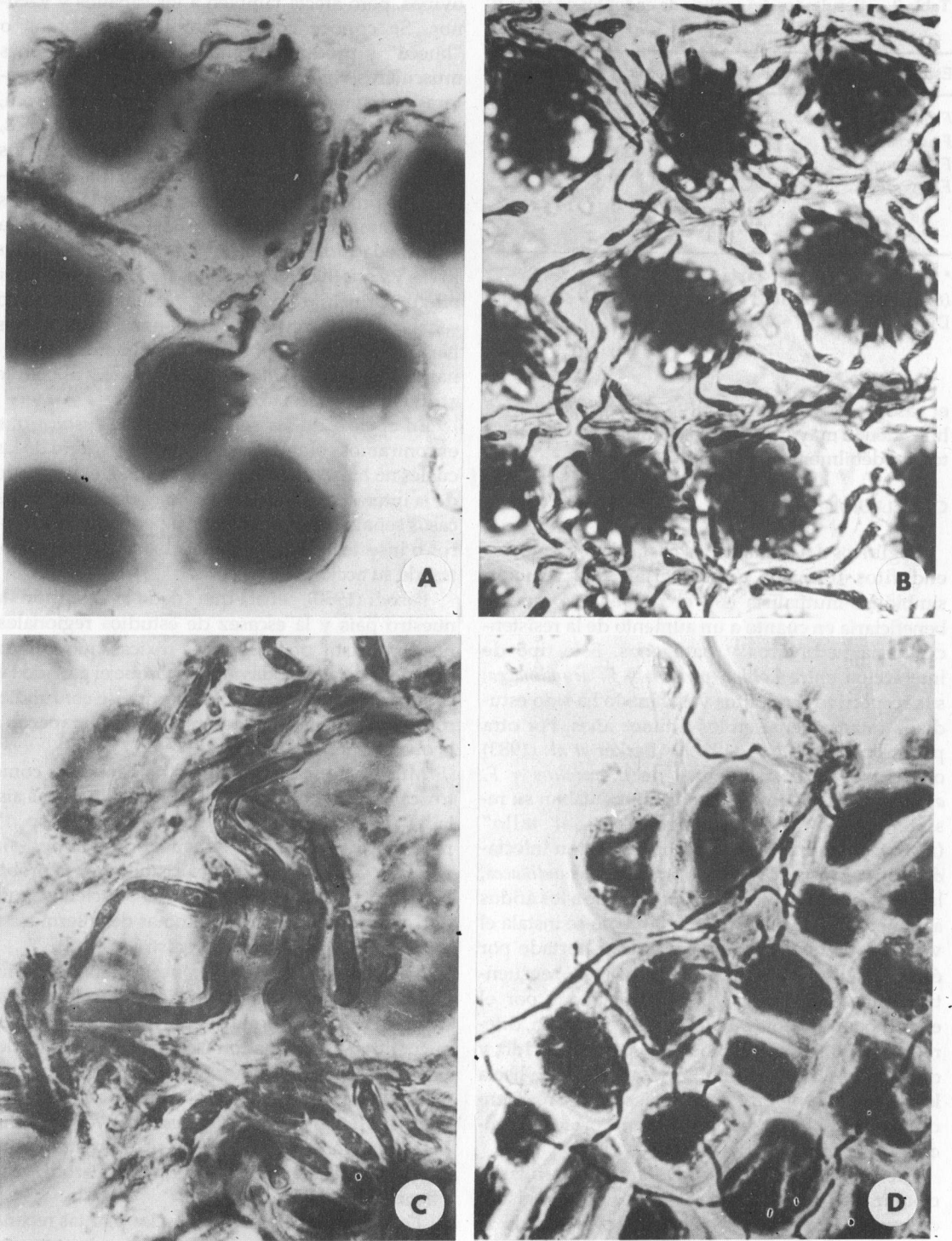


Fig. 2.—Endofito en la capa de aleurona del cariopse. A: *F. ulochaeta* (750 X), B: *F. hieronymi* (600 X), C: *F. argentina* (960 X) y D: *F. sp.* (600 X).

Tabla 2.— Resultados del análisis de endofitos en vaina y escapo floral

Especie	Población	Vaina	E. floral
<i>F. fimbriata</i>	2042	+	—
<i>F. ulochaeta</i>	sn*	—	—
<i>F. hieronymi</i>	694	—	—
<i>F. argentina</i>	648	+	+
	675*	+	—
	683	+	+

* sn, col. Martínez (ver Tabla 1) (675) Arg., Neuquén, Dpto. Lacar, Paso Córdoba, Dubcovsky y Oliva 675 (BAB).

el caso particular del endofito de *F. fimbriata*, las hifas tienen mayor diámetro, y en el de *F. argentina* toman débilmente el colorante.

CONCLUSIONES

Según los datos existentes hasta el momento, los endofitos fúngicos establecerían una relación simbiótico-mutualista con el hospedante, que lo beneficiaría en cuanto a un aumento de la resistencia hacia herbívoros y patógenos. Este tipo de interacción entre *Lolium perenne* y *F. arundinacea*, sus respectivos endofitos y el ganado ha sido estudiada intensamente en los últimos años. Por otra parte, Prestidge *et al.* (1982) y Barker *et al.* (1983) observaron que las plantas de *L. perenne* y *F. arundinacea* en Nueva Zelanda, aumentaban su resistencia al "gorgojo argentino del tallo" (*Listronotus bonariensis* Kuschel) si estaban infectadas con sus respectivos endofitos. En *F. arundinacea*, la presencia de *A. coenophialum* disuade a los áfidos a alimentarse de ella, y por lo tanto no se instala el virus enano de la cebada que es transportado por éstos (Latch *et al.*, 1985). Rowan *et al.* (1986) encuentran en plantas de *L. perenne* infectadas por el endofito, un alcaloide denominado peramina, diferente al que actuaría como tóxico para el ganado, y que parece ser el responsable de la resistencia hacia los insectos herbívoros. Esto sugiere que la resistencia hacia mamíferos tendría diferente origen químico que la dirigida a insectos (Clay, 1988).

De las ocho especies de *Festuca* que resultaron colonizadas por endofitos, sólo dos están registradas en la literatura como tóxicas para el ganado: *F. argentina* y *F. hieronymi*. La primera, conocida vulgarmente como "coirón negro, coirón grande o pampa grass" es reconocida como tóxica desde principios de siglo. La enfermedad que produce su ingestión en el ganado se registra especialmente en

ovinos, pero afecta también a los caballos y vacunos. Se conoce como "tembleque", "loco" o "huecú" y produce debilitamiento, contracciones musculares, rigidez de los miembros, parálisis motoras, espamos y muerte de los animales (Parodi, 1950). *F. hieronymi* tiene acción tóxica sobre equinos, ovinos, bovinos y caprinos, siendo los asnos los animales más sensibles a su ingestión. La enfermedad que produce se conoce como "tembladera". Es interesante señalar que el estudio de las causas de la enfermedad fue iniciada a principios de siglo por Rivas y Zanolli (1909), quienes no lograron extraer ningún principio tóxico de la planta. Sin embargo señalan que encontraron un hongo en los tejidos herbáceos, que describieron parcialmente y designaron como *Endoconidium tembladera*, y al cual le atribuyen la acción tóxica.

En el caso de las seis especies de *Festuca* que encontramos colonizadas por endofitos, pero de las cuales no hay registros de su toxicidad, el resultado de la interacción podría estar dirigido, como en los casos señalados previamente, a pequeños herbívoros o insectos sobre los que no existen observaciones de su acción.

Parodi (1950), señala que "dada la extensión de nuestro país y la escasez de estudios regionales, pueden existir otras especies tóxicas que no han sido denunciadas todavía, sea porque el ganado las come excepcionalmente, sea porque se confundieron, o porque los animales intoxicados escaparon a la observación del técnico".

Muchas de las seis especies no conocidas como tóxicas, son poco frecuentes y crecen en matas aisladas (*F. simpliciuscula*, *F. ulochaeta*, *Festuca* sp. 1), presentando algunas de sus poblaciones sin endofito. Ambas condiciones disminuyen la probabilidad de que el ganado coma la suficiente cantidad como para presentar síntomas de enfermedad, y de que esta toxicidad sea registrada.

Teniendo en cuenta lo expuesto sería de interés analizar, desde un punto de vista toxicológico, las especies de *Festuca* que según nuestro estudio se encuentran asociadas con endofitos y de las cuales podría sospecharse algún tipo de toxicidad.

Entre las muestras que no presentan endofitos, como las del grupo *F. pallescens* (St.-Yves) Parodi o las del subgénero *Drymanthele*, se encuentran especies señaladas por su valor forrajero (Parodi, 1953; Nicora, 1978).

La presencia de endofitos en las plantas reconocidas como tóxicas y su ausencia en las especies reconocidas como buenas forrajeras, apoyarían en parte la hipótesis de que los endofitos fúngicos están relacionados de alguna manera con la toxicidad de las plantas.

En términos generales la ubicación y disposición general de las hifas de los endofitos en la capa de aleurona del cariopse, en las diferentes especies de *Festuca* analizadas, es similar a la descrita para *Acremonium coenophialum* Morgan-Jones & Gams en *F. arundinacea* o *A. lolii* Latch, Christensen & Samuels en *Lolium perenne*. Sin embargo, ciertas diferencias en las medidas de las células hifales, diámetro de las hifas, presencia y número de tabiques, así como la abundancia y disposición particular de las hifas de algunos de ellos, nos permite suponer que se trataría de organismos diferentes de los señalados anteriormente, o de otros endofitos estudiados, y posiblemente, también diferentes entre sí. El aislamiento e identificación de estas entidades es parte del proyecto en curso en nuestro laboratorio.

La inspección de vaina y escapo floral dio resultados negativos en *F. ulochaeta* y *F. hieronymi*. Esto podría deberse a inconvenientes metodológicos, ya que la vaina de estas dos especies es muy pequeña y dificulta la observación del endofito, mientras que, en las otras dos especies (*F. fimbriata* y *F. argentina*), la vaina es más conspicua y de más fácil observación.

La información sobre endofitos fúngicos acumulada durante los últimos años indica que estos organismos, del mismo modo que los patógenos (Hijwegen, 1988), pueden ser utilizados como herramienta para medir las afinidades taxonómicas entre las plantas superiores (Carroll & Carroll, 1978; Petrini, 1986; Clay, 1988).

Si consideramos la clasificación subgenérica (Alexeev, 1984; Dubcovsky, 1989) de las especies de *Festuca* analizadas en este estudio, se observa una cierta correlación con la presencia de endofitos (Tabla 1).

Las especies de los subgéneros *Subulatae* y *Mallopetalon*, y las de los grupos *F. ovina* L. y *F. hieronymi* del subgénero *Festuca*, están colonizadas por endofitos, en tanto que las de los subgéneros *Drymanthele*, *Helleria* y los grupos *F. pampeana* y *F. pallescens* no lo están.

En el subgénero *Subulatae* se estudiaron dos especies sudamericanas, *F. ulochaeta* y *Festuca* sp. 1, ambas con endofitos. A estos resultados debe agregarse que, la especie tipo del subgénero, *F. subulata* Trin., se cita también como colonizada por un endofito (White & Cole, 1985) y que las dos muestras de *F. extremiorientalis* perteneciente al mismo subgénero y provenientes de Rusia, mostraron colonización del 100% de los cariopses analizados.

La presencia de endofitos en especies sudamericanas, norteamericanas y asiáticas del subgénero *Subulatae* plantea la necesidad de un estudio de las restantes especies con el fin de verificar la extensión

de la presencia de endofitos y de determinar la relación entre los endofitos que colonizan estas especies.

Alexeev (1984) incluye como única especie del subgénero *Mallopetalon* a *F. fimbriata*. Dubcovsky (1989) agrega a este subgénero la especie *F. argentina* en base a características florales y cromosómicas comunes. La presencia de endofitos en alta frecuencia en las poblaciones de ambas especies, puede ser considerado como un dato más sobre la afinidad de estas dos entidades.

El subgénero *Festuca* es el más numeroso y ampliamente distribuido, siendo el mejor representado en Patagonia (Dubcovsky, 1989). De los cuatro grupos en que están separadas las especies representadas en este estudio, el grupo *F. ovina* y *F. hieronymi* presentan endofitos, en tanto que el grupo *F. pampeana* y *F. pallescens* no están asociados con estos organismos.

Sobre las especies del grupo *F. ovina* se encontraron resultados heterogéneos. *F. rubra* y *F. roigii* Dubcovsky et Rúgolo no presentan endofitos en las poblaciones estudiadas, en tanto que *F. magellanica* y *F. simpliciuscula* tienen algunas poblaciones colonizadas. En el caso de *F. rubra*, en la que obtuvimos resultados negativos, existen estudios previos en los EEUU, donde diferentes autores registran presencia (Saha et al., 1987) o ausencia (White & Cole, 1985) de colonización. En *F. ovina*, los mismos autores citados obtienen resultados idénticos a los de *F. rubra*.

La heterogeneidad observada, en cuanto a la presencia de endofitos, en diferentes poblaciones de la misma especie, coincide con el hecho de que *F. rubra* y *F. ovina* sean consideradas especies colectivas (Markgraf-Dannenberg, 1980). Es posible que, cuando se aclaren los problemas taxonómicos en el grupo, la distribución de endofitos en las nuevas especies sea más homogénea.

F. hieronymi, una especie con alta frecuencia del endofito en todas las poblaciones analizadas, constituye un grupo aislado dentro del subgénero *Festuca* (Alexeev, 1984).

Por otra parte, *F. superba*, colonizada por endofitos, no ha sido incluida en ninguno de los subgéneros, pero, por sus características particulares, podría considerarse que forma parte de un subgénero diferente a los propuestos en la clasificación de Alexeev (1984).

BIBLIOGRAFIA

- ALEXEEV, E. B. 1984. On the new taxa and typification of some taxa of the genus *Festuca* (Poaceae) from South America. *Botanical Journal USSR* 69 (3): 346-353.
BACON; C. W., J. K. PORTER, J. D. ROBBINS & E. S.

- LUTTRELL, 1977. *Epichloe typhina* from toxic tall fescue grasses. *Appl. Environ. Microbiol.* 34: 576-581.
- BARKER, G. M., R. P. POTTINGER & P. J. ADDISON. 1983. Effect of tall fescue and ryegrass endophytes on Argentine stem weevil. *Proc. N. Z. Weed Pest Control Conf.* 36: 216-219.
- CARROLL, G. C. & F. E. CARROLL. 1978. Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. *Can. J. Bot.* 56: 3034-3043.
- CLARK, E. M., J. F. WHITE & R. M. PATTERSON. 1983. Improved histochemical techniques for the detection of *Acremonium coenophialum* in tall fescue and methods of in vitro culture of the fungus. *J. Microbiol. Methods* 1: 149-155.
- CLAY, K. 1988. Fungal endophytes of grasses: a defensive mutualism between plants and fungi. *Ecology* 69 (1): 10-16.
- & A. LEUCHTMANN. 1989. Infection of woodland grasses by fungal endophytes. *Mycologia* 8 (5): 805-811.
- CHEPLICK, G. P. & K. CLAY. 1988. Acquired chemical defences in grasses: the role of fungal endophytes. *Oikos* 52: 309-318.
- DUBCOVSKY, J. 1989. Estudios citogenéticos y evolutivos de las especies patagónicas del género *Festuca* (Poaceae). *Tesis Doctoral*, Fac. de Cs. Exactas y Nat., UBA.
- FLETCHER, L. R. & I. C. HARVEY. 1981. An association of a *Lolium* endophyte with ryegrass staggler. *N. Z. Vet. J.* 29: 185-186.
- FREEMAN, E. M. 1904. The seed-fungus of *Lolium temulentum* L., the darnel. *Philosophical Trans. Roy. Soc.*, London, B 214: 1-28.
- 1906. The affinities of the fungus of *Lolium temulentum* L. *Ann. Mycol.*, 4: 32-34.
- HIJWEGEN, T. 1988. Coevolution of flowering plants with pathogenic fungi. En: *Coevolution of fungi with Plants and Animals*. Eds: K. A. Pirozynski & D. L. Handksworth, Academic Press, London, pp: 63-77.
- LATCH, G. C. M., M. J. CHRISTENSEN & D. L. GAYNOR. 1985. Aphid detection of endophyte infection in tall fescue. *N. Z. J. Agric. Res.* 28: 129-132.
- McCLENNAN, E. 1920. The endophytic fungus of *Lolium*, Part I. *Proc. Roy. Soc. Victoria*, 11: 252-301.
- MARKGRAF-DANNEMBERG, I. VON. 1980. *Flora Europea*, vol. 5 Eds: T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters & D. A. Webb. Cambridge University Press, pp. 125-153.
- MARKS, S., K. CLAY & G. P. CHEPLICK. 1991. Effects of fungal endophytes on interspecific and intraspecific competition in the grasses *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne*. *J. Appl. Ecol.* 28: 194-204.
- MOORE, D. M. 1983. *Flora of Tierra del Fuego*. Ed.: Anthony Nelson, England. Missouri Botanical Garden, USA. 396 pp.
- NEILL, J. C. 1940. The endophyte of ryegrass (*Lolium perenne* L.). *N. Z. J. Sc. Technol. Sec. A* 21: 280-291.
- NICORA, E. G. 1978. Gramíneas. En: *Flora Patagónica*. Ed.: M. N. Correa. III. Colección Científica del INTA. Buenos Aires.
- PARODI, L. R. 1950. Las gramíneas tóxicas para el ganado en la República Argentina. *Rev. Arg. Agron.* 17 (3): 163-228.
- PARODI, L. R. 1953. Las especies de *Festuca* de la Patagonia. *Rev. Arg. Agron.* 20 (4): 117-229.
- PETRINI, O. 1986. Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. En: *Microbiology of the phyllosphere*. Eds: N. J. Fokkema & J. van den Heuvel, Cambridge University Press, pp. 175-188.
- PRESTIDGE, R. A., R. P. POTTINGER & G. M. BARKER. 1982. An association of *Lolium* endophyte with ryegrass resistance to Argentine stem weevil. *Proc. N. Z. Weed Pest Control Conf.* 35: 199-222.
- RIVAS, H. & C. ZANOLLI. 1909. La tembladera. Enfermedad propia de los animales herbívoros de las regiones andinas. *Rev. Fac. Agr. Vet.*, La Plata 5: 160.
- ROWAN, D. D., M. B. HUNT & D. L. GAYNOR. 1986. Peramine, a novel insect feeding deterrent from ryegrass infected with the endophyte *Acremonium loliae*. *J. Chem. Soc. D. Chemical Communications* 142: 935-936.
- SAHA, D. C., J. M. JOHNSON-CICALESE, P. M. HALISKY, M. I. VAN HEEMSTRA & C. R. FUNK. 1987. Occurrence and significance of endophytic fungi in the Fine Fescues. *Plant Disease* 71 (11): 1021-1024.
- SAMPSON, K. 1935. The presence and absence of an endophytic fungus in *Lolium temulentum* and *L. perenne*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 19: 337-343.
- SIEGEL, M. R., G. C. M. LATCH & M. C. JOHNSON. 1987. Fungal endophytes of grasses. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 293-315.
- WEST, C. P., E. IZEKOR, D. M. OOSTERHUIS & R. T. ROBBINS. 1987. Endophytic fungus effects on tall fescue tolerance of drought and nematodes. *Arkansas Farm Research*, Nov.-Dec.: 3.
- WHITE, J. E. Jr. 1987. The widespread distribution of endophytes in the Poaceae. *Plant. Dis.* 71 (4): 340-342.
- & T. G. COLE. 1985. Endophyte-host association in forage grasses. I. Distribution of fungal endophytes in some species of *Lolium* and *Festuca*. *Mycologia* 77 (2): 323-327.