

ASOCIACION DE ENDOFITOS FUNGICOS - PASTOS FORRAJEROS EN SUELOS CHILENOS. ESTUDIO PRELIMINAR. I

E. PIONTELLI L. y M.A. TORO S.M.
Cátedra de Micología, Facultad de Medicina
Universidad de Valparaíso

Palabras clave : Endófitos fúngicos. *Acremonium* spp. Gramineas *Lolium*, *Festuca*, *Dactylis*.

Key words: Fungal endophytes *Acremonium* spp. Gramineae *Lolium*, *Festuca*, *Dactylis*.

RESUMEN

Se estudió la presencia de endófitos fúngicos en cinco tipos de semillas obtenidas de pastos forrajeros de la zona central y sur de Chile. Cuatro de ellos presentaron un alto índice de infección pudiéndose aislar dos tipos de *Acremonium* (*Acremonium* sp A y *Acremonium* sp B), el primero no descrito en la literatura y el segundo en estudio.

En la zona sur la presencia de endófitos fúngicos fue detectada en los siguientes porcentajes: *Festuca arundinacea* var. K-31 79,30%, *Lolium multiflorum* var. tama 86,50% y *Dactylis glomerata* 18,51%; mientras que en la zona central *Lolium multiflorum* presenta un 85%

SUMMARY

[Fungal endophytes associations-Forage grasses in Chilean soils. Preliminary Study I.]

The presence of fungal endophytes in five types of seeds obtained from forage grasses from the central and south zones of Chile were analysed. Four of them presented a high incidence of infection. We could isolated two strains of *Acremonium* (*Acremonium* sp A and *Acremonium* sp B) the first is not described in literature and the second one is in study.

The presence of fungal endophytes in the south zone indicated the following percentages: *Festuca arundinacea* var. K-31 79,30%, *Lolium multiflorum* var. tama 86,50% and *Dactylis glomerata* 18,51%, while in the central zone for *Lolium multiflorum* it was 85%.

INTRODUCCION

a) **MUTUALISMO:** Las interacciones ecológicas entre plantas y hongos en comunidades vegetales naturales, han sido mucho tiempo ignoradas por los biólogos. Recientemente los investigadores han comenzado a examinar el impacto de las "infecciones" fúngicas en plantas silvestres, especialmente gramíneas por su importancia en el incremento de forrajes para la ganadería.

Una planta infectada puede representar una situación ventajosa o no, si se compara con otra sin infección. La fuerza y dirección de esta asociación puede afectar las interacciones ecológicas planta-huésped o de otros miembros de la comunidad, así como los cambios evolutivos y coevolutivos entre los asociados (Clay 1987).

Un tema común en la evolución de las plantas superiores, ha sido la formación de asociaciones simbióticas con organismos heterótrofos, siendo uno de los mejores ejemplos las bacterias fijadoras de nitrógeno y los hongos micorrizales, los cuales exhiben un marcado aumento en la habilidad para adquirir nutrientes limitantes en el ecosistema u otorgar un mayor grado de tolerancia frente al "stress" físico (Lewis 1973).

En la actualidad los biólogos exploran un nuevo mutualismo entre vegetales y hongos, cuyas evidentes implicaciones se expresan en una rápida evolución de las defensas químicas que el hongo como endófito confiere en beneficio de su hospedador (mutualismo defensivo), permitiendo una eficaz protección selectiva hacia la herbivoría e independiente del genoma vegetal, generalmente restringido por un tiempo de generación más largo (Cheplick y Clay, 1988).

b) ENDOFITOS DE PASTOS Y JUNCOS (GRAMINEAS): El término endófito se emplea para un organismo que crece dentro de un vegetal ya sea en forma parasítica o no (Snell y Dick, 1971). Al usar el término en un amplio sentido de la palabra, incluye a todos los hongos que mayoritariamente poseen un ciclo de vida dentro de un pasto hospedante.

La literatura reciente ha demostrado que más de 80 géneros y varios cientos de especies de gramíneas silvestres o cultivadas hospedan endófitos fúngicos que viven ya sea en los tallos, hojas o semillas (Clay, 1986-1988-1989; Diehl, 1950; White, 1987), los cuales infectan sistemática y principalmente a pastos incluidos en 3 familias de gramíneas (*Poaceae*, *Cyperaceae* y *Juncaceae*).

Los endófitos fúngicos de pastos, se agrupan en la tribu *Balansiae* de las *Clavicipitaceae* (Ascomycetes) (Luttrell y Bacon, 1977). Dentro de la tribu se encuentran los géneros *Atkinsonella* y *Myriangiospora* (monoespecíficos), además de *Balansia*, *Balanslopsis* y *Epichlōe* (con más de una especie), siendo *Balansia* el más numeroso en éstas (Diehl, 1950).

Además de los géneros mencionados (teleomorfos), existen un buen número de especies que sólo producen anamorfos y la taxonomía de este grupo se ha concentrado mayoritariamente en la sección albo-lanosa del género *Acremonium* (Morgan-Jones y Gams, 1982), la cual incluye a los endófitos comúnmente encontrados en pastos forrajeros como especies de *Lolium* y *Festuca*. El primer endófito clasificado en este género fue *A. coenophialum* (Morgan-Jones y Gams, 1982), pero en la actualidad el número de nuevas especies aisladas es cercano a la decena, sin contar otros anamorfos endófitos semejantes a los géneros *Gliocladium* y *Phialophora*, también aislados de *Lolium* (*L. perenne*), como endófitos secundarios, por Sampson (1937), Latch y col. 1984; White & Morgan-Jones, 1987a-1987b.

Las especies de *Acremonium*, están estrechamente relacionadas con el anamorfo de *Epichlōe typhina*, las cuales no tienen la capacidad de esporular (sólo crecimiento vegetativo) en sus hospedadores, ni producir ningún síntoma de infección. A pesar que generalmente se emplea el término endófitos de pastos, varias especies pueden presentarse como epífitos con estromas visibles en los meristemas, hojas jóvenes o en las inflorescencias de sus hospedadores (Luttrell y Bacon, 1977). Cuando se presentan como endófitos, exhiben solamente hifas intracelulares, las cuales se ubican en forma paralela al eje largo de las células del hospedador, ya sea en hojas, tallos o entremezclados con las capas de células de aleurona en el ovario.

Basándose en las características fisiológicas de estas asociaciones, White (1988) clasifica a los endófitos de pastos bajo 3 categorías:

Tipo 1. Endófitos que forman estroma mayoritariamente en sus hospedadores, inhibiendo la reproducción sexual de la planta (en varias familias de las *Poaceae*)

Tipo 2. Endófitos que pocas veces forman estroma (1-10%) (sub-familia *Festucoideae* exclusivamente), con o sin inhibición de la reproducción sexual.

Tipo 3. Endófitos que no forman nunca estroma (sub-familia *Festucoideae* exclusivamente), especialmente en pastos del tipo *Festuca arundinacea*, *F. versuta*, *Lolium perenne*, *L. temulentum*, *L. multiflorum*, *Stipa eminens* y *S. robusta*, los cuales presentan una frecuencia de infección mayor del 90% en los individuos por todo el rango de las especies. Este último tipo de asociación no puede considerarse patógena, debido a que el hospedador no sufre ningún deterioro y las inflorescencias del vegetal son normales, lo que indica una asociación benéfica, asegurando además una descendencia por transmisión maternal directa de generación en generación mediante la colonización por hifas del óvulo y la semilla. Este particular y efectivo mecanismo de dispersión que no exhibe ningún tipo de fructificación para el hongo (ni esporas ni conidios), representa con seguridad un camino evolutivo que ha permitido al endófito reducir su ciclo de vida en favor de una gran dependencia nutricional y de diseminación de su hospedador (Clay, 1988).

Debido a que los endófitos transmitidos por semillas no producen ninguna sintomatología en los pastos que los hospedan, éstos sin duda ofrecen un gran potencial para su explotación como agente de biocontrol, sólo limitada por la dependencia de sus rangos de hospedadores, principalmente gramíneas de zonas frías o templadas, con vías fotosintéticas C3 y C4 (Clay, 1986).

c) INCIDENCIA: La sub-familia *Balansiae* infecta un amplio rango de pastos comunes en zonas tropicales (fotosíntesis C4), muchos de éstos considerados como malezas o con poca importancia en agricultura (Diehl, 1950). Sin embargo *E. typhina*, se ha encontrado en pastos forrajeros y de césped, como en otros de menor importancia (*Agrostis*, *Bromus*, *Calamagrostis*, *Dactylis*, *Elymus*, *Festuca*, *Lolium*, *Melica*, *Poa*, *Stipa*, etc. (Clay, 1989).

Los que tienen anamorfos en *Acremonium*, semejantes a *Acremonium*, *Gliocladium* y *Phialophora*, lo hacen principalmente en la sub-familia *Pooideae*, de preferencia en especies de *Lolium* y *Festuca*, pero también en *Bromus*, *Poa*, *Stipa*, *Melica*, *Elymus*, *Cinna*, etc.).

La incidencia de endófitos en semillas de la cañuela (*Festuca arundinacea*, *F. rubra* y *F. arizonica*), como en ballica (*Lolium temulentum*, *L. perenne*, *L. remotum* y *L. multiflorum*), se ha reportado en muchos países por su importancia ganadera, en especial en USA, Europa, Australia y Nueva Zelandia (Siegel y col., 1984-1987; Latch y col., 1984; White y col., 1985; Lewis y Clement, 1986). Sin embargo en Sud-América, África y Asia, casi no existe información disponible (Clay, 1988).

d) EFECTOS SOBRE LOS HERBIVOROS: En la actualidad es considerable el esfuerzo efectuado para dilucidar el rol de la infección fúngica en pastos y la herbivoría, en especial en cultivos de *Festuca arundinacea* y *Lolium perenne* considerados dentro de los más importantes para forrajes ganaderos en las áreas templadas en todo el mundo. Los endófitos de pastos y juncos, producen variados compuestos activos in vivo e in vitro, responsables de efectos tóxicos variables, ya sea en diferentes tipos de insectos rastroso o voladores, como en el ganado.

Esta toxicidad para los herbívoros y predadores de semillas, se debe a la producción de metabolitos secundarios pertenecientes al grupo de los alcaloides, cuyas actividades fisiológicas en los mamíferos son bien conocidas, en especial el envenenamiento por ergot (ergotismo), producido por las especies de *Claviceps* (Bowe, 1970).

Se ha determinado que los alcaloides y sus derivados producidos por los hongos de la tribu *Balanisae*, pueden ser extremadamente tóxicos para los insectos (Johnson y col. 1985; Bacon y col. 1986). Los endófitos del centeno que no producen alcaloides del tipo Ergot, elaboran peraminas y lolitremos u otros alcaloides con conocidas propiedades antiherbívoros (Rowan y col., 1986; Johnson y col., 1985; Prestidge y Gallagher, 1985).

La literatura es a veces contradictoria al afirmar por un lado que las plantas infectadas por virus y hongos, son más atractivas y palatables que las no infectadas (Lewis, 1984, entre otros), pero la mayoría de los casos publicados afirman lo contrario (Cheplick y Clay, 1988).

Para esta última situación, existen varias razones para suponer una reducción en la herbivoría, tales como: baja de nutrientes, cambios físicos en los tejidos del vegetal y la producción de toxinas de efectos a veces dramáticos en los insectos y animales de pastoreo, siendo mínimos o ausentes en el hospedador vegetal (Siegel y col., 1987; Clay, 1987b).

Los efectos negativos de los endófitos de pastos sobre los insectos, se han observado en especies de grillos (*Acheta domesticus*), escarabajos de la

harina (*Tribolium castaneum*), áfidos (*Schizaphis graminum*, *Rhopalosiphum padi*) y otros tales como *Spodoptera frugiperda*, *S. eridania*, etc. (Clay, 1989). Más aún, se ha demostrado que los endófitos presentes en la alta cañuela, limitan el número de nématodos, haciendo más resistente a la planta frente a las infecciones de patógenos fúngicos (White y Cole, 1986), situación ya conocida en los endófitos de tallos y hojas de coníferas (Carroll, 1988).

La toxicidad para el ganado, de algunos pastos forrajeros, es conocida desde varios siglos, y en la actualidad se ha determinado que ésta se debe a la presencia de un endófito. Los efectos tóxicos de la ballica anual (*Lolium temulentum*), están descritos en la biblia y por poetas del tiempo de los romanos entre otros. Varias especies de *Stipa* y *Melica*, conocidas bajo los nombres vulgares de pastos soporíferos, causan intoxicaciones y narcosis en equinos, bovinos y caprinos. Los alcaloides producidos por las especies endofitas del género *Acremonium*, producen síntomas diversos en estrecha relación con la cantidad ingerida y las estaciones del año. Las dietas bajas en estos alcaloides no producen síntomas (Jones y col., 1983) y resulta difícil pensar para el ganadero, que no puede apreciar este mutualismo invisible a ojos desnudos, que sus pastizales contengan hongos tóxicos. En los pastos llamados ballica perenne (*Lolium perenne*), los alcaloides conocidos como lolitremos, se relacionan directamente con el síntoma llamado bamboleo o modorra de la ballica ("ryegrass stagger") en las ovejas (Gallagher y col., 1981).

Las evidencias actuales permiten sugerir que la infección de los pastos por hongos endófitos no sólo es benéfica para ellos contra la herbivoría o los predadores de semillas, sino que es ventajosa para el vigor de la planta, su crecimiento, mayor producción de semillas y mayor sobrevivencia, lo que les permite expandirse clonalmente aún en poblaciones mixtas de otros pastos. Clay, 1988-89, en sus investigaciones, aporta una mayor información referente a este mutualismo defensivo entre plantas y hongos.

En este informe preliminar comentamos el aislamiento de endófitos de pastos forrajeros chilenos mediante su búsqueda en algunas semillas de especies de *Lolium*, *Festuca* y *Dactylis* en dos localidades de Chile, con el fin de obtener una información preliminar de esta situación.

MATERIAL Y METODO

a) OBTENCION DE LAS MUESTRAS: Entre los meses de Noviembre 1988 y Marzo 1989 se cose-

charon en 2 diferentes zonas del país 5 tipos de semillas de pastos forrajeros (predominantemente gramíneas).

1) Semillas de cultivos comerciales de *Lolium multiflorum* var. tama, *Festuca aurundinacea* var. K 31, *Dactylis glomerata* y *Trifolium pratense*, desde terrenos agrícolas colindantes al lago Riñihue, (X Región).

2) Semillas de *Lolium multiflorum* creciendo en forma silvestre en una comunidad mixta de gramíneas en zona densamente poblada en la V Región (Placilla de Peñuelas - Valparaíso).

b) **DETECCION DEL MICELIO EN LAS SEMILLAS:** De una cantidad aproximada de 250 gramos de semillas recogidas al azar en zonas de muestreo, por cada tipo de pasto estudiado (5 tipos diferentes), se seleccionó al azar una cantidad aproximada de 3 gramos (> 3000 semillas app.), las que se trataron según la técnica modificada de Latch. y col. (1987), dejándolas durante todo un día en una solución acuosa de NaOH al 5%, a temperatura ambiente. Posteriormente se lavaron con agua corriente para remover los remanentes del alcali, antes de ser colocada al azar (una muestra de las semillas de cada tipo de pasto) en 30 portaobjetos (una semilla por portaobjeto), disgregadas con un instrumento cortante y teñidas con lactofenol con azul de algodón.

Antes de cubrir las preparaciones con cubreobjetos, éstas se calentaron suavemente a la llama por 1 o 2 minutos, dejándose reposar por 12 horas para una mejor penetración del colorante.

La observación de conglomerados de hifas entre las células de las semillas fue considerada como positiva de la presencia del endófito (no necesariamente de su viabilidad).

c) **CULTIVO Y AISLAMIENTO DEL ENDOFITO DESDE LAS SEMILLAS:** Del set original de 5 tipos de semillas de pastos, se pesó nuevamente al azar 3 gramos de éstas, las que se esterilizaron superficialmente con Ac. sulfúrico al 50% durante 20 minutos. Luego se lavaron con agua estéril varias veces, siendo colocadas posteriormente en placas de petri de 100x15 mm con Agar Papa-Dextrosa (PDA), adicionado con Cloranfenicol (0,25 g/l).

Las semillas fueron depositadas en la superficie del agar en una disposición circular y equidistantes, en un número no inferior a 8 semillas por placa en triplicado. El período de incubación abarcó 3 a 4 semanas a temperatura ambiente (17-22°C).

d) **AISLAMIENTO DEL ENDOFITO:** Las colonias sospechosas que presentaban un crecimiento relativamente rápido (visibles en el lapso de una

semana aproximadamente), de color blanco o crema, de aspecto lanoso, fueron repicadas en Agar Malta y PDA. La determinación de los subcultivos se basaron en los trabajos de Morgan-Jones y Gams, 1982; Latch y col., 1984 y White y Morgan-Jones, 1987a, b, c.

e) **ESTIMACION DE LA PREVALENCIA DEL ENDOFITO FUNGICO:** Se contó el número de aislamientos positivos en cada una de las muestras de 30 preparaciones teñidas (punto b.) y se dividió por 30, obteniendo de este modo una estimación de la prevalencia de cada endófito por cada tipo de semillas examinada.

RESULTADOS Y DISCUSION

De los cinco tipos de semillas y pastos forrajeros analizados al azar, cuatro de éstos contenían un endófito. De los obtenidos de la zona sur (X Región), provenientes de cultivos comerciales de *Lolium multiflorum* var. tama, *Festuca K 31*, *Dactylis* y *Trifolium incarnatum*, solamente el último estaba libre de infección (100%). Las dos primeras presentaban alta prevalencia de infección, 86,5% y 79,30%, correspondiendo a semillas introducidas desde Nueva Zelandia y USA. *Dactylis glomerata*, nativa de zonas altas cordilleranas y sembrada a orillas del lago Riñihue contenía una prevalencia significativamente menor ($F < 0,01$) de endófitos (18,5%). Las semillas de *Lolium multiflorum* obtenido de la zona central (V Región) en localidad poblada creciendo junto a una comunidad mixta de gramíneas silvestres y en terrenos no agrícolas, mostraron una prevalencia muy alta de endófitos (85%) similar al de *Lolium multiflorum* var. tama en la zona sur.

Los intentos de cultivo del endófito fúngico desde los cinco tipos de semillas fueron exitosos sólo para tres de éstos: *Lolium multiflorum*, *Lolium multiflorum* var. tama y *Dactylis glomerata*. De *Festuca K 31*, a pesar de su alto contenido de infección fúngica no se pudo obtener el endófito, como tampoco en la leguminosa *Trifolium pratense*.

El endófito aislado por cultivos de semillas de *Lolium multiflorum* var. tama y *Dactylis glomerata* fue idéntico en su patrón de crecimiento y morfología macro - microscópica, correspondiendo a una especie de *Acremonium* de la serie albo-lanosa el cual denominamos *Acremonium* sp. A., no coincide con ninguna de las especies descritas en esta serie. Creemos se trata de una especie nueva, opinión confirmada por los

Drs. James White Jr. y Morgan-Jones (Auburn University at Montgomery USA) y su descripción será objeto de un posterior trabajo. El endófito aislado de *Lolium multiflorum* en la zona central, presenta características similares tanto en crecimiento como en morfología a un *Acremonium* de la misma serie. Son necesarios nuevos estudios comparativos para su determinación específica, por lo cual lo hemos determinado provisoriamente como *Acremonium* sp. B.

La distribución y abundancia de endófitos fúngicos en gramíneas, solo es conocida en algunos países y para algunas especies de pastos (Siegel, 1984; Latch y col., 1984; White, 1987; Clay, 1988-89), por ende su búsqueda debe ser motivo de investigación para conocer la real magnitud de esta situación. La capacidad de estos endófitos para proteger a los pastos frente al ataque de los insectos, parece representar una de las mayores ventajas ecológicas, salvo que estas defensas químicas son también dañinas para el ganado, situación que preocupa a los países ganaderos (Gallagher y col., 1981; Bacon, 1987; Siegel y col., 1987; Clay, 1987b). En Chile el problema no ha sido abordado, ni desde el punto de vista médico veterinario, ni agronómico y al parecer es poco conocido en el ámbito de las praderas (Ruiz, 1988), pero su magni-

tud relacionada con la presencia de endófitos, parece ser más amplia que la que suponíamos en la V Región (datos no publicados), donde el porcentaje de "infección" solo para las especies introducidas de *Lolium* y *Festuca*, es similar a otros países (Siegel, 1984; Siegel y col., 1985).

Nos parece de sumo interés la presencia de un nuevo endófito fúngico (Fig. 1 a, b, c, d, e, f) en *Dactylis glomerata* y *Lolium multiflorum* var. *tama*, la primera también introducida desde varios países en especial Francia, Inglaterra y Nueva Zelanda (Soto, 1986). En nuestro caso, obtenida de una siembra comercial y originaria de una zona cordillerana de la zona sur, creciendo vigorosamente en forma nativa (?). Deducir el origen de la infección en *Dactylis*, resulta más complejo que en *Lolium multiflorum* var. *tama* de la zona sur, que seguramente fue introducido al país con su endófito, situación que solo puede aclararse analizando los pastizales andinos chilenos e indagando el origen de las cepas introducidas.

Este interesante mutualismo fúngico permite nuevos antecedentes para las ya contrincadas interacciones entre las comunidades naturales, en especial hacia la predación y competencia, resaltando una vez más el importante rol de los microorganismos en el ecosistema.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Sr. Carlos Fischer, de Valdivia, la cooperación prestada en este trabajo.

REFERENCIAS

1. L. BACON, C.W.; PORTER, J.K.; ROBBINS, J.D. (1986) Ergot toxicity from endophyte infected grasses. A review, *Agron J.* 78: 106-116
2. BOVE, F.J. (1970) The story of ergot Karger Verlag, Berlin
3. CARROL, G. (1988) Fungal endophytes in stem and leaves: From latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 69:2-9
4. CHEPLICK, G.P. and CLAY, K. (1988) Acquired chemical defences in grasses: The role of fungal endophytes, *Oikos* 52: 309-318
5. CLAY, K. (1986) Grass endophytes. In J. FOKKEMA and J. van der Hoven (Ed.) *Microbiology of phyllosphere*, Cambridge Univ. Press London pp. 188-204
6. ----- (1987a) Symposium: The ecology of plant fungal interaction. *Ecological section. Amer. J. Bot.* 74: 631-632
7. ----- (1987 b) The effect of fungi on the interaction between host plants and their herbivores, *Can J. Plant. Path.* 9: 380-388
8. ----- (1988) Fungal endophyte of grasses: A defensive mutualism between plant and fungi, *Ecology* 69: 10-16
9. ----- (1989) Clavicipitaceous endophytes of grasses: Their potential as biocontrol agents. *Mycological Research*. 92: 1-12
10. DIEHL, W.W. (1950) *Balanisia and the Balansiae in America*. *Agricult. Monograph*. 4 U.S. Agr. Washington D.C.
11. GALLAGHER, R. T. ; WHITE, E. P.; MORTIMER, P. H. Rye grass staggers; Isolation New Zealand Vet. J. 29: 189-190

12. JOHNSON, M. C. ; DANLMAN D. L. ; SIEGEL, M.R.; BUSH, L.P.; LATCH, G.C.M.; POTTER, D.A.; VARNEY, D.R. (1985) Insect feeding deterrent in endophyte-infected tall fescue. *Appl. and Envir. Microbiol.* 49: 568-571
13. JONES, T.A. ; BUCKNER, R.C. ; BURRUS, P.B. ; BUSH, L.P. (1983) Accumulation of pyrrolizidine alkaloids in benomyl treated tall fescue parents and their untreated progenies *Crop. Science* 23:1135-1140
14. LATCH, G.C.M. ; CHRISTENSEN, M.J.; SAMUELS, G.J. (1984) Five endophytes of *Lolium* and *Festuca* in New Zealand. *Mycotaxon* 20: 535-550
15. LATCH, G.C.M. ; POTTER, L.R.; TYLER, B.F. (1987) Incidence of endophytes in seeds from collection of *Lolium* and *Festuca* species. *Ann. Bion.* 111: 59-64
16. LEWIS, D.H. (1973) The relevance of symbiosis to taxonomy and ecology with particular reference to mutualistic aymbioses and the exploitation of marginal habitat. In *Taxonomy and Ecology*, HEYWOOD, V.R. (Ed) Academic Press. London. pp. 151-172
17. LEWIS, G. C. (1984) Plant quality an graashopper feeding: Effects of sunflower condition on preference and performance in *Melanoplus differentialis* *Ecology* 65: 836-843
18. — and CLEMENTE, O.R. (1986) A survey of ryegrass endophyte (*Acremonium loliae*) in the U.K. and its apparent in effectuality on a seedling pest, *J. Agric. Sci. Camb.* 107: 633-638
19. LUTTRELL, E.S. and BACON, C.W. (1977) Classification of *Myriogenospora* in the *Clavicipitaceae*. *Can. J. Bot* 55: 2090-2097
20. MORGAN-JONES, G and GAMS, W (1982) Notes on hyphomycetes, XLI An endophyte of *Festuca arundinacea* and the anamorph of *Epichloe typhina*, new taxa in one of the new sections of *Acremonium*. *Mycotaxon* 15: 311-318.
21. PRESTIDGE, R.A. and GALLAGHER, R.T. (1985) *Lolitrems* B-A stem weevil toxin isolated from *Acremonium*-infected ryegrass. *Proc. N.Z. Weed Pest Contr.* 38: 38-40.
22. ROWAN, DD.; HUNT, M.B.; GAYNOR, D.L. (1986) Peramine a novel insect feeding de terrent from ryegrass infected with the endophyte *Acremonium loliae* *J. Chemic. Soc. D. Clem. Communications* 142: 935-936.
23. RUIZ, N.I. (Ed.) (1988) *Praderas para Chile*. Inst. Inv. Agropec. (INIA). Ministerio de Agricultura. Santiago.
24. SAMPSON, K. (1937) Further observations on the systemic infection of *Lolium*. *Trans. Br. Mycol Soc.* 21: 84-97
25. SIEGEL, M.R.; JOHNSON, R.C.; VARNEY, D.R.; NESMITH, W.C.; BUCKNER, R.C.; BUSH, L.P.; BURRUS, P.D.; JONES, T.A.; BOLING, J.A. (1984) endophyte in tall fescue: Incidence and dissemination *Phytopathologi* 74: 932-937.
26. SIEGEL, M.R.; LATOCH, G.C.M.; JOHNSON, M.C. (1987) Fungal endophytes of grasses *Ann.Rev. Phytopath.* 25: 293-315.
27. SNELL, W.H. and DICK, E.A. (1971) *A glossary of Mycology*. Cambridge, Mass. Harvard University Press.
28. SOTO, O.P. (Ed.) (1988) *Recomendaciones de especies y variedades forrajeras para diferentes zonas ecológicas del país*. Bol. Tec. 91 (INIA) Santiago.
29. WELTY, R.E. and ACEVEDO, M.D. (1985) Survival of endophyte hyphae in seed of tall fescue stored on year *Phytopathology* 75: 1331.
30. WHITE, J.F. Jr. and Cole, G.T. (1985) Endophyte-host associations in forage grasses. I. Distribution of fungal endophytes in some species of *Lolium* and *Festuca*. *Mycologia* 77: 323-327.
31. — (1980) Endophyte-host associations in forage grasses. IV. The endophyte of *Festuca versuta*. *Mycologia* 78: 102-107.
32. WHITE, J.F.Jr. (1987) The widespread distribution of endophytes in the Poaceae *Plant Dis.* 71: 340-342.
33. — and MORGAN-JONES, C. (1987a) Endophyte association in forage grasses. VII. *Acremonium chisosum*, a new species isolated from *Stipe eminens* in Texas. *Mycotaxon* 28: 179-189.
34. — (1987b) Endophyte-host association in forage grasses .X. Cultural studies on some species of *Acremonium* sect. *Albo-lanosa*. Including a new species *A. starri*. *Mycotaxon* 30: 87-95.
35. — (1987c) Endophyte- host association in forage grasses .IX. Concerning *Acremonium typhinum* the anamorph of *Epichloe typhina*. *Mycotaxon* 29: 489-500.
36. — (1988) Endophyte-host associations in forage grasses XI. A proposal concerning origin and evolution. *Mycologia* 80: 442-446.

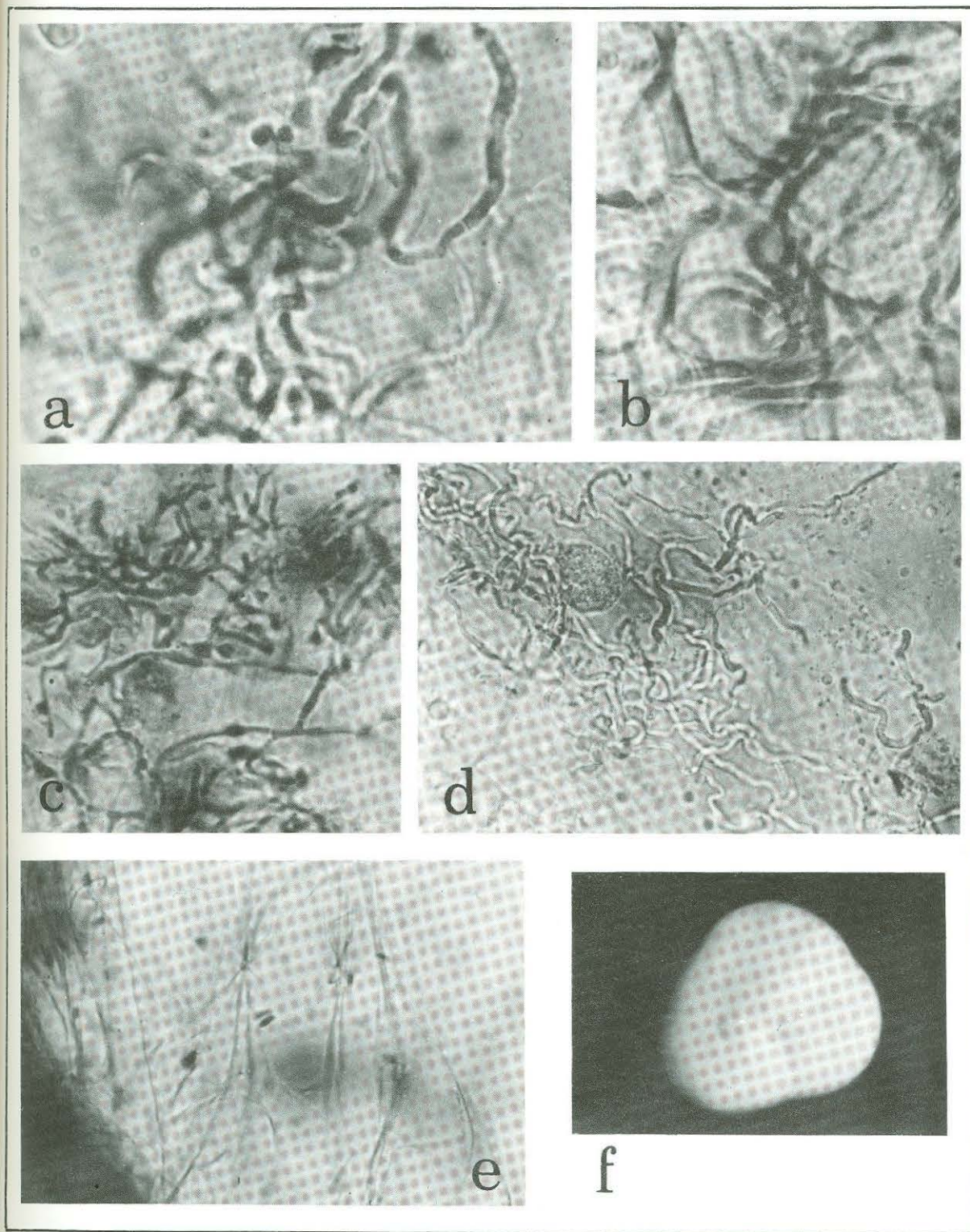


Fig. 1: a, b, c, d, e, f, *Acremonium* sp. A; a,b,c, Micelio septado del endófito en semillas de *Dactylis glomerata* (1000 x), teñidas con lactofenol y azul de algodón. d: 400 x. c: Hifas ramificadas del endófito en células del ovario, de *Lolium multiflorum*, que presentan estrangulaciones y dilataciones (1000 x). e: Conidios y conidióforos en Papa Dextrosa Agar a los 14 días de incubación (1000 x). f: Colonia en el mismo medio de cultivo a las 3 semanas de incubación a temperatura ambiente.