

2

TRABAJOS CIENTÍFICOS

INFECCIÓN DE FESTUCAS FINAS POR HONGOS ENDOFITOS *EPICHLÖ* EN LA CORDILLERA CANTÁBRICA

J. A. OLIVEIRA PRENDES¹, M. MAYOR DÍAZ² Y E. GONZÁLEZ ARRÁEZ³

¹Área de Producción Vegetal. Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Universidad de Oviedo.

Campus de Mieres. E-33600 Mieres (España). Correo-e: oliveira@correo.uniovi.es;

²Área de Botánica. Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Universidad de Oviedo.

Catedrático Rodrigo Uría s/n. E-33071 Oviedo (España). Correo-e: mmayor@correo.uniovi.es;

³Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM). Apartado 10. E-15080 A Coruña (España).

Correo-e: ernesto.gonzalez.arraez@xunta.es

RESUMEN

Se examinó la presencia de hongos endofitos *Epichloë* en 18 poblaciones naturales de festucas finas (10 de *Festuca ovina* L. y ocho de *Festuca rubra* L.) recogidas en la Cordillera Cantábrica. Se detectaron semillas infectadas en la totalidad de las poblaciones de *Festuca rubra* y en seis de las 10 de *Festuca ovina*. Las semillas de las poblaciones de *Festuca rubra* resultaron infectadas con una frecuencia media del 35,9% (d.e. = 20,7) variando de un 2% al 64%. En *Festuca ovina*, el 60% de las semillas de las poblaciones resultaron infectadas con el hongo endofito con una frecuencia media del 30,7% (d.e. = 25,6) variando el nivel de infección del 6% al 64%. La mayoría de las semillas de las poblaciones infectadas mostraron niveles de infección bajos a moderados: 10 poblaciones mostraron un porcentaje de infección por debajo del 50%, mientras que cuatro de las poblaciones tuvieron un porcentaje de infección por encima del 50%. Estos resultados sugieren que la asociación de hongos endofitos *Epichloë* con *Festuca rubra* y *Festuca ovina* es habitual y ocurre a frecuencias bajas a moderadas (0% a 50%) en los prados de la Cordillera Cantábrica.

Palabras clave: *Festuca rubra*, *Festuca ovina*, pastos.

INTRODUCCIÓN

La incidencia de los hongos endofitos *Neotyphodium* en raigrás inglés (*Lolium perenne* L.) y festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb.) se ha descrito en muchos países europeos (Lewis *et al.*, 1997; Zabalgogezcoa *et al.*, 1997; Oliveira y Castro, 1997; 1998). Algunos estudios han mostrado que los endofitos pueden ser responsables de una

mayor resistencia de las plantas infectadas a estreses bióticos y abióticos (West *et al.*, 1993; Latch, 1993) y también pueden causar problemas de salud en animales herbívoros (Fletcher *et al.*, 1993; Thompson y Stuedmann, 1993). Se ha mostrado que los efectos de los endofitos tanto en la producción de las gramíneas como en los animales están regulados por una serie de metabolitos secundarios incluyendo diferentes alcaloides tóxicos producidos por la interacción de la planta y el hongo. Christensen *et al.* (1993) recientemente mostraron una gran variación en la naturaleza y en la producción de estos metabolitos secundarios por distintas cepas de endofitos.

La ocurrencia y posibles efectos de estos endofitos en otras gramíneas están teniendo también una gran atención (Funk *et al.*, 1993; White *et al.*, 1993a; Liu *et al.*, 1996; Bazely *et al.*, 1997; Zabalgoeazcoa *et al.*, 1999; 2001).

Las festucas finas son especies de la sección *Ovinae* dentro del género *Festuca*. Las especies más importantes son la festuca ovina (*F. ovina* L.) y la festuca rubra (*F. rubra* L.). Ambas especies se utilizan primordialmente en céspedes ornamentales. En 1933, Sampson observó que el hongo *Epichloë typhina* (Pers.) Tul., que provoca un estrangulamiento en la vaina de la hoja bandera e impide la emergencia de la espiga (Lam *et al.*, 1995) infecta sistemáticamente las plantas de *Festuca rubra* y de *Festuca ovina*. La variabilidad en los síntomas va desde la producción de un estroma (micelio del hongo) en cada panícula de la planta a una falta total de síntomas externos. Halisky *et al.* (1985) revelaron la posibilidad de infección de gramíneas por hongos de tipo *Epichloë* que no producen estroma u otros síntomas visibles. Un estudio en Nueva Zelanda también mostró que *Epichloë typhina* se encuentra en plantas de *Festuca rubra* que no presentan síntomas visibles de infección (Latch *et al.*, 1984).

Más recientemente, Leuchtmann *et al.* (1994) indicaron una nueva especie de hongo endofito del género *Epichloë*, el *Epichloë festucae* Leuchtmann, Schardl y Siegel que infecta a las plantas de *Festuca rubra* y *Festuca ovina*. Las plantas infectadas por este hongo no muestran ningún síntoma visible durante la fase vegetativa de la planta. En cambio, durante su fase reproductiva, la interacción entre el hongo y las plantas puede ser de dos tipos. En el primer tipo, la planta no muestra ningún síntoma de infección, pero el hongo infecta las semillas y así es transmitido a la próxima generación. En el otro tipo de interacción, cuando el tallo floral se alarga, el hongo forma un estroma externo alrededor de la hoja bandera, impidiendo la formación de la inflorescencia de la planta (Zabalgoeazcoa *et al.*, 1999).

Las plantas de festucas finas infectadas por el hongo *Epichloë festucae* pueden contener los alcaloides peramina y ergovalina (Yue *et al.*, 1997), los cuales están asociados a una gran resistencia a los insectos (Funk *et al.*, 1993). En el norte de España, los prados pastados se encuentran en las zonas de más pendiente (brañas en las montañas

del Cantábrico), y las praderas en las zonas más accesibles para su aprovechamiento en verde y su conservación (heno y ensilado). Estas praderas son ricas en especies y festucas finas, en particular, *Festuca rubra* y *Festuca ovina* son constituyentes comunes de estos pastos.

El objetivo del presente trabajo es el de evaluar la presencia de hongos endófitos en poblaciones naturales de festucas finas de los pastos de la Cordillera Cantábrica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se examinó la presencia de micelio de hongos endófitos *Epichloë* en una muestra de diez poblaciones naturales de *Festuca ovina* y ocho de *Festuca rubra* recogidas como semillas en la Cordillera Cantábrica (Figura 1).



FIGURA 1

Origen geográfico de las poblaciones infectadas por el endofito de *Festuca ovina* (cuadrados blancos), no infectadas (cuadrados negros), y poblaciones de *Festuca rubra* infectadas (círculos blancos)

*Geographical origin of the fine-fescues populations. Endophyte-infected *Festuca ovina* (white squares), non-infected *Festuca ovina* (black squares), endophyte-infected *Festuca rubra* (white circles)*

Las muestras se recogieron en el verano de 2000. En cada uno de los lugares de recogida se recogieron semillas de al menos, 50 plantas en una zona ecológica (entre 100 m² y 1000 m²) lo más homogénea posible. Estas condiciones se supone que dan una

muestra representativa de la población original panmíctica (Tyler, 1987). Las semillas de todas las plantas se mezclaron sin tener en cuenta la contribución de cada planta. Las semillas se guardaron en bolsas de papel en envases herméticos a 4°C y una humedad relativa del 45%-50%. No se observó el estroma (micelio del hongo) en las panículas de las plantas en el momento de la recogida de las semillas.

Se introdujeron 100 semillas de cada una de las poblaciones en 50 g l⁻¹ NaOH durante 16 h. Posteriormente, se enjuagaron con agua de grifo, se les quitaron las glumas, y, finalmente, se colorearon con 5 g l⁻¹ de azul de anilina (Latch *et al.*, 1987). Cada una de las preparaciones se observó en un microscopio con 100 aumentos. Se anotó el número de semillas en las que se observó la presencia de micelio de hongos endofitos *Epichloë* según el trabajo de Latch *et al.* (1984) y se consideró el porcentaje de infección de cada muestra. Estas estimaciones no se pudieron mejorar mediante el examen de más semillas debido a la pequeña cantidad de semilla disponible.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 18 festucas finas examinadas, 14 (78%) resultaron infectadas. En *Festuca ovina*, el 60% de las poblaciones resultaron infectadas con el hongo endofito a una frecuencia media del 30,7% (d.e. = 25,6). El nivel de infección varió del 6% al 64% (Tabla 1).

Todas las poblaciones de *Festuca rubra* resultaron infectadas con el hongo endofito a una frecuencia media del 35,9% (d.e. = 20,7) variando del 2% al 64% (Tabla 1).

TABLA 1

Porcentajes de infección del hongo endofito en seis y ocho poblaciones naturales de *Festuca ovina* y *Festuca rubra* infectadas, respectivamente.

Percentages of endophytic infection in six and eight endophyte-infected natural populations of Festuca ovina and Festuca rubra, respectively.

| Localidad de procedencia de <i>Festuca ovina</i> | % de infección | Localidad de procedencia de <i>Festuca rubra</i> | % de infección |
|--|----------------|--|----------------|
| Pola de Lena (Asturias) | 26 | Vegadeo (Asturias) | 49 |
| Villanueva de Oscos (Asturias) | 64 | Paramios (Asturias) | 30 |
| Cangas de Onís (Asturias) | 17 | Barcena (Asturias) | 27 |
| Puerto de Tarna (León) | 6 | Tanes (Asturias) | 55 |
| Puerto de San Glorio (Cantabria) | 10 | Santa Eulalia de Oscos (Asturias) | 43 |
| Lebeña (Cantabria) | 61 | La Uña (León) | 2 |
| | | Riaño (León) | 64 |
| | | Carande (León) | 17 |
| Media ± desviación típica | 30,7 ± 25,6 | | 35,9 ± 20,7 |

La amplia distribución geográfica de los hongos endofitos en *Festuca rubra* y *Festuca ovina* en el norte de España (nivel de infección = 78%) está de acuerdo con otros trabajos realizados en España (Oliveira y Castro, 1997; 1998; Zabalgogea-coa *et al.*, 1997; 1999; 2001) y en otros países europeos (Lewis *et al.*, 1997). Las razones para la amplia distribución de plantas de festucas finas y festuca alta infectadas en Europa no están todavía claras. Las correlaciones significativas entre la frecuencia de infección y ciertas variables climáticas, particularmente el déficit hídrico (Lewis *et al.*, 1997; Oliveira y Castro, 1998), indican que las condiciones de sequía estival pueden actuar como una presión selectiva a favor de la infección. En la Cordillera Cantábrica, el clima muestra regularmente periodos de sequía durante uno a tres meses (Julio a Septiembre). En las zonas costeras, la causa de los periodos de sequía es el déficit de lluvia mientras que en los valles interiores son las altas temperaturas y la evapotranspiración. En las montañas, los periodos de sequía son menos frecuentes debido al efecto de las lluvias regulares y a las bajas temperaturas (Felicísimo, 1992). El pastoreo es otro factor que puede explicar la amplitud de la infección. Se ha demostrado que el pastoreo influye en el porcentaje de infección de los endofitos en poblaciones de *Festuca* (Bazely *et al.*, 1997; Gwinn *et al.*, 1998) y los pastos de la Cordillera Cantábrica se han sometido a diferentes presiones de pastoreo por el ganado vacuno y ovino durante muchos años.

En las zonas muestreadas, se observaron niveles de infección bajos a moderados (0% a 50%) en festucas finas. Las plantas obtenidas a partir de semillas de una planta individual de una gramínea infectada con un endofito se espera que contenga el mismo tipo de endofito presente en la planta madre (Welty *et al.*, 1987). No obstante, algunas semillas pueden escapar a la infección debido al desarrollo de tallos no infectados y, consecuentemente darían semillas libres del endofito. Este fenómeno podía explicar en parte el porqué muchas poblaciones naturales de gramíneas (White y Chambless, 1991) contienen plantas no infectadas distribuidas al azar, a pesar de los aparentes beneficios de los endofitos (Clay, 1987).

Los niveles de infección bajos a moderados de las festucas finas infectadas se pueden explicar por la imperfecta transmisión vertical (por la semilla) del hongo (Ravel *et al.*, 1997). El hecho de que en esa zona no se observaran frecuencias altas de infección en las festucas finas sugiere que la transmisión vertical de los endofitos pueda ser menos exitosa que en otras gramíneas, como la *Festuca arundinacea*, que presentan niveles de infección altos (Oliveira y Castro, 1997). Otra posible explicación podía ser que las cepas de los endofitos de las festucas finas no se basan solo en la transmisión a través de la semilla (método de reproducción clonal del hongo), como su único medio de propagación (White *et al.*, 1993b).

En este trabajo, se identificó la presencia de hongos endofitos del género *Epichloë* en semillas de festucas finas en las que no se observó en la floración la presencia de estroma

visible en las panículas. El micelio del hongo encontrado dentro de las semillas de las poblaciones de festucas finas fue muy parecido en apariencia al observado por Latch *et al.* (1994) en *Lolium*. Serían necesarios estudios posteriores de asilamiento del hongo en placas Petri, para poder determinar la especie del hongo endofito dentro del género *Epichloë*, siguiendo las descripciones dadas por Leuchtmann *et al.* (1994).

A pesar de haber encontrado un alto porcentaje de poblaciones de festucas finas infectadas por hongos endofitos, hasta ahora, no se han detectado en la Cordillera Cantábrica problemas de salud en animales herbívoros inducidos por la presencia de hongos endofitos en los pastos naturales. Esto puede ser debido, a que los pastos de la Cordillera Cantábrica son bastante diversos, apareciendo las festucas finas con otras especies como *Agrostis capillaris* L., *Bromus erectus* Huds., *Nardus stricta* L. y la Ericacea *Calluna vulgaris* (L.) Hull y diferentes especies de leguminosas (Mayor y Díaz, 1977).

Aparte de su aprovechamiento como pasto, las festucas finas se utilizan habitualmente en céspedes. En el caso de su utilización en céspedes, donde la tolerancia a diferentes estreses bióticos y abióticos es importante, resultaría interesante comprobar si la presencia de los hongos endofitos puede contribuir a que las plantas infectadas tengan un mejor comportamiento agronómico y persistencia en las condiciones ecológicas del Norte de España.

Debido a que en los céspedes, la biomasa cortada no se utiliza normalmente como alimento del ganado, los problemas en la salud de los animales asociados con los alcaloides producidos por la asociación endofitos-festucas finas, serían de poca importancia.

La utilización de hongos endofitos en la mejora genética de festucas finas es en la actualidad una opción interesante en aspectos como la mejora en la resistencia a insectos (Funk *et al.*, 1983). En el caso de obtener cultivares de festucas finas infectados con endofitos, es necesario considerar los problemas de mantenimiento de valores altos de endofito viable en la semilla debido a la pérdida de viabilidad del endofito con el tiempo (Williams *et al.*, 1984).

Los endofitos encontrados en las festucas finas de la Cordillera Cantábrica pueden diferir entre si de la misma manera que las poblaciones de festucas finas entre ellas. Algunos pueden ser más efectivos que otros en promover un mejor comportamiento de sus plantas hospedadoras. Por este motivo, la presencia de endofitos en las poblaciones de festucas finas de la Cordillera Cantábrica pueden presentar un interés en la selección de endofitos para la obtención de cultivares de festucas finas para su utilización en céspedes, revegetación de taludes y otros usos que requieran condiciones de bajo mantenimiento.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero del proyecto RF99-018-C3-1 del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAZELY, D.R.; VICARI, M.; EMMERICH, S.; FILIP, L.; LIN, D.; INMAN, A., 1997. Interactions between herbivores and endophyte-infected *Festuca rubra* from the Scottish islands of St. Kilda, Benbecula and Rum. *Journal of Applied Ecology*, **34**, 847-860.
- CLAY, K., 1987. Effects of fungal endophytes on the seed and seedling biology of *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea*. *Oecologia*, **73**, 358-362.
- CHRISTENSEN, M.J.; LEUCHTMANN, A.; ROWAN, D.D.; TAPPER, B.A., 1993. Taxonomy of *Acremonium* endophytes of tall fescue (*Festuca arundinacea*), meadow fescue (*F. pratensis*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Mycological Research*, **97**, 1083-1092.
- FELICÍSIMO, A.M., 1992. El clima en Asturias. En: *Geografía de Asturias*, 17-32. Editorial Prensa Asturiana, Tomo I, La Nueva España. Oviedo (España).
- FLETCHER, L.R.; GARTHWAITE, I.; TOWERS, N.R., 1993. Ryegrass staggers in the absence of lolitrem b. *Proceedings of the Second International Symposium on Acremonium/Grass Interactions*, 119-121. Palmerston North (Nueva Zelanda).
- FUNK, C.R.; HALISKY, P.M.; HURLEY, R.H., 1983. Implications of endophytic fungi in breeding for insect resistance. *Proceedings of Forage Turfgrass Endophyte Workshop*, 67-76. Corvallis, Oregon (Estados Unidos).
- FUNK, C.R.; WHITE, R.H.; BREEN, J.P., 1993. Importance of *Acremonium* endophytes in turf-grass breeding and management. *Agricultural, Ecosystems and Environment*, **44**, 215-232.
- GWINN, K.D.; FRIBOURG, H.A.; WALLER, J.C.; SAXTON, A.M.; SMITH, M.C., 1998. Changes in *Neotyphodium coenophialum* infestation levels in tall fescue pastures due to different grazing pressures. *Crop Science*, **38**, 201-204.
- HALISKY, P.M.; SAHA, D.C.; FUNK, C.R., 1985. Prevalence of non-choke-inducing endophytes in turf and forage grasses. *Phytopathology*, **75**: 1331.
- LAM, C.K.; BELANGER, F.C.; WHITE, J.F.; DAIE, J., 1995. Invertase activity in *Epichloë/Acremonium* fungal endophytes and its possible role in choke disease. *Mycological Research*, **99**, 867-873.
- 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.; POTTER, L.R.; TYLER, B.R., 1987. Incidence of endophytes in seeds from collections of *Lolium* and *Festuca* species. *Annals of Applied Biology*, **111**, 59-64.
- LATCH, G.C.M., 1993. Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts. Biotic stress tolerance of endophyte-infected grasses. *Agricultural, Ecosystems and Environment*, **44**, 143-156.
- LEUCHTMANN, A.; SCHARDL, C.; SIEGEL, M.R., 1994. Sexual compatibility and taxonomy of a new species of *Epichloë* symbiotic with fine fescue grasses. *Mycologia*, **86**, 802-812.
- LEWIS, G.C.; RAVEL, C.; NAFFAA, W.; ASTIER, C.; CHARMET, G., 1997. Occurrence of *Acremonium* endophytes in wild populations of *Lolium* spp., in European Countries and a relationship between level of infection and climate in France. *Annals of Applied Biology*, **130**, 227-238.
- LIU, H.; HECKMAN, J.R.; MURPHY, J.A., 1996. Screening fine fescues for aluminium tolerance. *Journal of Plant Nutrition*, **19**, 677-688.
- MAYOR M.; DIAZ, T.E., 1977. *La Flora Asturiana*, Ediciones Salinas, 710 pp. Oviedo (España).
- OLIVEIRA, J.A.; CASTRO, V., 1997. Incidence and viability of *Acremonium* endophytes in tall fescue accessions from North Spain. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **44**, 519-522.
- OLIVEIRA, J.A.; CASTRO, V., 1998. Incidence of *Neotyphodium* endophytes in Spanish perennial ryegrass (*Lolium perenne*) accessions. *Plant Genetic Resources Newsletter*, **113**, 1-3.
- RAVEL, C.; MICHALAKIS, Y.; CHARMET, G., 1997. The effect of imperfect transmission on the frequency of mutualistic seed-borne endophytes in natural populations of grasses. *Oikos*, **80**, 18-24.
- SAPMSON, K., 1933. The systemic infection of grasses by *Epichloë typhina* (Pers.) Tul. *Transactions of the British Mycological Society*, **18**, 30-47.

- THOMPSON, F.N.; STUEDMANN, J.A., 1993. Pathophysiology of fescue toxicosis. *Agricultural, Ecosystems and Environment*, **44**, 263-281.
- TYLER, B.F., 1987. Collection, characterisation and utilisation of genetic resources of temperate grass and clover. Ediciones IBPGR Training Courses, Lecture Series 1 IBPGR, 66 pp. Rome, (Italia).
- WELTY, R.E.; AZEVEDO, M.D.; COOPER, T.M., 1987. Influence of moisture content, temperature and length of storage on seed germination and survival of endophytic fungi in seeds of tall fescue and perennial ryegrass. *Phytopathology*, **77**, 893-900.
- WEST, C.P.; IZEKOR, E.; TURNER, K.E.; ELM, A.A., 1993. Endophyte effects on growth and persistence of tall fescue along a water supply gradient. *Agronomy Journal*, **85**, 264-270.
- WHITE, J.F.; CHAMBLESS, D.A., 1991. Endophyte-host associations in forage-grasses. XV. Clustering of stromata-bearing individuals of *Agrostis hiemalis* infected by *Epichloë typhina*. *American Journal of Botany*, **78**, 527-533.
- WHITE, J.F.; LEWIS, G.; SUN, S.; FUNK, C.R., 1993a. A study of distribution of *Acremonium typhinum* in populations of red fescue in Southwest England and *in vitro* growth comparisons to isolates from North American collections. *Sydowia*, **45**, 388-394.
- WHITE, J.F.; MORGAN-JONES, G.; MORROW, A.C., 1993b. Taxonomy, life cycle, reproduction and detection of *Acremonium* endophytes. *Proceedings of the Acremonium/Grass Interactions. Special issue of Agricultural, Ecosystems and Environment*, **44**, 13-37.
- WILLIAMS, M.P.; BACKMAN, P.A.; CLARK, E.M.; WHITE, J.F., 1984. Seed treatments for the control of the tall fescue endophyte *Acremonium coenophialum*. *Plant Disease*, **68**, 49-52.
- YUE, Q.; LOGENDRA, S.; FREEHOF, A.; RICHARDSON, M.D., 1997. Alkaloids of turf type fine fescue. En: *Neotyphodium/Grass Interactions*, 285-288. Ed. C.W. Bacon and N.S. Hill. Plenum Press. Nueva York (Estados Unidos).
- ZABALGOGEAZCOA, I.; GARCÍA-CIUDAD, A.; GARCÍA-CRIADO, B., 1997. Endophytic fungi in grasses from semiarid grasslands in Spain. En: *Neotyphodium/Grass Interactions*, 89-91. Ed. C.W. Bacon and N.S. Hill. Plenum Press. Nueva York (Estados Unidos).
- ZABALGOGEAZCOA, I.; VAZQUEZ DE ALDANA, B.; 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.
- ZABALGOGEAZCOA, I.; VAZQUEZ DE ALDANA, B.; GARCÍA-CIUDAD, A.; DIEGO, MARTÍN, S.; GARCÍA-CRIADO, B., 2001. *Epichloë* endophytes in coastal populations of *Festuca rubra* subsp. *litoralis*. *Proceedings of the 4th International Neotyphodium/Grass Interactions Symposium*, 409-412. Paderborn (Alemania).

THE INFECTION OF FINE-FESCUES BY THE *EPICHOË* FUNGAL ENDOPHYTES IN THE CANTABRIAN RANGE (N SPAIN)

SUMMARY

Eighteen wild populations of fine-fescues (10 of *Festuca ovina* L. and eight of *Festuca rubra* L.) collected in northern Spain were examined for the presence of the *Epichloë* fungal endophytes. One hundred seeds per population were examined. Seeds infected were detected in all the eight *Festuca rubra* populations and in six out of 10

Festuca ovina populations. *Festuca rubra* populations were infected with endophyte at a mean frequency of 35.9% (s.d. = 20.7) ranging from 2% to 64%. In *Festuca ovina*, 60% of the populations were infected with endophyte at a mean frequency of 30.7% (s.d. = 25.6) varying the infection level from 6% to 64%. Most of the infected populations showed a low to intermediate infection value: 10 populations had an infection under 50%, whereas four populations had an infection over 50%. These results show that association of *Epichlöe* with *Festuca rubra* and *Festuca ovina* is common and occurs at low to intermediate frequencies (0% to 50%) in northern Spanish grasslands.

Key words: *Festuca rubra*, *Festuca ovina*, grasslands.