

LA PRESENCIA DEL DR. NEALE R. TOWER EN LAS XXII JORNADAS URUGUAYAS DE BUFIATRIA FUE POSIBLE POR LA COLABORACION DEL LABORATORIO SANTA ELENA.

CORNEZUELO Y ENDOFITOS
COMO CAUSAS DE SINDROMES NERVIOSOS
Y ASOLEAMIENTO EN ESPECIES PECUARIAS

Neale R. Towers¹

RESUMEN

En salud animal, existen problemas asociados con la ingestión de pasturas infectadas con hongos que forman cornezuelos tóxicos, o asociaciones de beneficio mutuo hongos/planta. La mejor conocida de estas asociaciones que ocasionan problemas de salud animal que se reconocen fácilmente son *Acremonium lolii*: *Lolium perenne* (raigra perenne) y *Acremonium coenophialum*: *Festuca arundinacea* (*festuca alta*) que son responsables del síndrome nervioso del raigra y del pie de festuca/intoxicación por festuca respectivamente. Sin embargo, muchos otros pastos, incluyendo aquellos nativos de Sudamérica, alojan hongos endofíticos o parásitos capaces de producir toxinas que afectan adversamente la performance animal. Actualmente, la única forma de controlar estas enfermedades es reducir la ingestión de toxinas mediante la alimentación con pasturas no tóxicas o granos, y por la adopción de técnicas de manejo que minimicen la oportunidad de producción de toxinas por los hongos; y la ingestión de pastura tóxica por los animales.

INTRODUCCION

Los problemas neurológicos descritos generalmente como "temblores", y la baja performance referida como "asoleamiento" (intoxicación por festuca), y la pérdida por gangrena de las orejas, cola o pezuñas conocida como "pie de festuca" o "ergotismo gangrenoso", son los problemas micotóxicos mejor conocidos y ampliamente distribuidos de las áreas de pastoreo. Estos problemas son ocasionados por hongos capaces de producir dos grandes grupos y otros mas pequeños de toxinas; los alcaloides del corne-

¹Grupo de Investigación sobre toxinas de plantas y hongos/ Agresearch.
Centro de Investigación Ruakura /Hamilton Nva. Zelanda.

suelo, y los tremorgenos indol-diterpénicos. Aunque estos dos grupos de toxinas tienen estructuras químicas bastante diferentes, y causan sintomatología diferente en los animales intoxicados, están unidos estrechamente ya que varios tipos de los hongos implicados pueden producir ambos grupos de toxinas. Los pastos pueden infectarse con varios tipos de hongos simultáneamente, cada uno produciendo miembros de los dos grupos de toxinas. A veces esto puede hacer particularmente difícil determinar exactamente la causa de los temblores o de los problemas sanitarios que se investigan.

Ciclos vitales de los hongos

En el mundo existen cerca de 20 especies de Claviceps que pueden infectar un amplio rango de pastos y granos, pero sólo dos, C. purpurea y C. paspali, son causas importantes de enfermedad animal. C. purpurea infecta cientos de pastos y granos e históricamente ha causado problemas de salud en el hombre cuando granos de centeno contaminados con cornezuelo fueron consumidos luego de estaciones húmedas y frescas que favorecieron la extensión de la infección a la cosecha de los granos. C. paspali ocurre en el importante género Paspalum, donde ocasiona el "Síndrome nervioso" en ovinos y bovinos.

El ciclo vital de las especies de Claviceps involucra la germinación del duro cuerpo transhibernante conocido como esclerotium seguido por la producción de ascosporas, -- las que son esparcidas por el viento y el agua para infectar la flor del pasto en desarrollo. Las ascosporas germinantes infectan los ovarios y los reemplazan con la masa micelial del hongo que se endurece para formar los esclerotos, los que se conservan en la semilla o caen al suelo para pasar el invierno antes de germinar y empezar el ciclo nuevamente. La masa fúngica puede producir grandes cantidades de alcaloides farmacológicamente activos -- conocidos como alcaloides del cornezuelo -- que se basan en la estructura de un anillo ergólico pero que tiene varias otras estructuras que varían dependiendo de las especies fúngicas, la planta huésped, y el ambiente en el que crecen.

Mientras que el escleroto cornezuelo está reconocido como la etapa más tóxica del ciclo vital, la producción de toxina comienza en el momento en que el hongo invade la espiga y entra en la etapa de rocío de miel, en la cual el hongo en crecimiento produce secreciones espesas conteniendo los cuerpos de fructificación que pueden infectar otras espigas en desarrollo. Otros géneros de Clavicipitaceae también infectan los pastos, pero tienen ciclos vitales bastante diferentes.

En el otro extremo al del cornezuelo parásito que producen las especies de Claviceps están las especies de Acremonium que forman asociaciones mutuales simbióticas pasto-hongo en las cuales el hongo no tiene un ciclo sexual y es transferido de planta a planta sólo por vía materna a través de la semilla infectada. En esta asociación mutual el Acremonium endofítico crece intracelularmente dentro del pasto, obteniendo su nutrición de su huésped. Los endofitos producen (o contribuyen a la producción de) alcaloides, hormonas de la planta y otros metabolitos que parecen aumentar la tolerancia de la planta al pastoreo, y al ataque de insectos, hongos o nematodos, y a los estrés del ambiente tales como la sequía. Entre las toxinas hasta ahora identificadas como metabolitos del hongo están un cierto número de alcaloides del cornezuelo, tremorgenos indol-diterpénicos (paxilina, lolitremos), el repeiente de insectos peramina, y las lolinas un grupo de compuestos cuya función y actividad no ha sido aún determinada.

En esta asociación el hongo está provisto de ambiente y comida seguros, y la planta de una defensa tóxica al ataque animal y de insectos. Mientras esto beneficia a plantas y hongos, puede ocasionar problemas severos para los animales; cuando los pastos infectados son los principales componentes de su dieta. Los más conocidos de estos problemas son: el síndrome nervioso del raigrás -- que ocurre donde crece el raigrás -- perenne (Lolium perenne) infectado con el endofito, y la intoxicación con festuca -- que se da ampliamente en el sureste de EEUU, donde la festuca alta (Festuca arundinacea) infectada con el endofito se cultiva debido a su alta productividad y resistencia a la sequía. Sin embargo, hay otros síndromes ocasionados por los pastos infectados con el endofito. Por ejemplo el pasto del sueño (Stipa robusta) en el sudoeste de EEUU, y el pasto del caballo borracho (Achnatherum inebrians) del noreste de la China, son conocidos por sus efectos neurotóxicos para el caballo que los pastorea.

Intermedio entre estos dos estilos de vida está un grupo de hongos, tales como Epichloe typhina, que vive intracelularmente la mayoría de su vida pero que tiene ciclos

sexuales en los cuales las estructuras frutales producen ascosporas que pueden diseminarse e infectar nuevas plantas. En algunas circunstancias tales hongos también invaden la flor ocasionando la "enfermedad temblorosa". El rol de estas asociaciones planta-hongo como causante de problemas de salud o de producción es menos conocido probablemente ya que estas asociaciones son menos ventajosas para el pasto de manera que los pastos infectados no han sido seleccionados y están dispersos en la pastura. Sin embargo estas asociaciones hongo-planta son capaces de producir el mismo rango de toxinas que los Claviceps fructíferos de cornezuelo y las especies endofíticas de Acremonium. Puede ser que causen problemas similares donde los pastos infectados puedan producirlos como en estepas o pasturas no mejoradas.

PRODUCCION DE TOXINAS

Alcaloides del cornezuelo

Hay una gran cantidad de alcaloides del cornezuelo, con acción farmacológica y potencia variables, producidos tanto por las especies de Claviceps formadoras de cornezuelo, como por las especies endofíticas de Acremonium.

Los alcaloides del cornezuelo tienen como hecho en común la estructura del anillo de ergolina y varían de acuerdo a que si el anillo D esté abierto (la serie de la clavina, ej. Chanoclavina) o cerrado (para formar las amidas del ácido lisérgico eg. prometrina), y pueden derivarse ulteriormente para formar alcaloides peptídicos tales como la ergovalina - ver Fig. 1 para ejemplos de estructuras.

C. paspali produce alcaloides de la clavina y amidas simples del ácido lisérgico, pero también alcaloides peptídicos extremadamente activos como la ergotamina (común en los cornezuelos) y ergovalina (el más común de los alcaloides del cornezuelo en el raigrás y en la festuca infectados con endofitos).

Los alcaloides del cornezuelo son poderosamente vasoconstrictores, y los derivados del ácido lisérgico son también neurotóxicos. Los cornezuelos pueden contener hasta 1 por ciento (10g/Kg peso seco) de alcaloides, mientras que el raigrás perenne puede contener hasta 7 mg/Kg de ergovalina en pasto seco y semilla. En algunas asociaciones pasto-hongo, por ejemplo en el pasto del caballo borracho (A. inebrians), el contenido de alcaloides es mucho más alto y se acerca a aquel encontrado en los cornezuelos (G.Lane comunicación personal).

Tremorgenos indol-diterpénicos

Además de producir alcaloides del cornezuelo, C. paspali y las especies endofíticas de Acremonium, también sintetizan una serie de derivados indol-diterpénicos que son neurotóxicos, produciendo temblores, incoordinación muscular y tetania en los animales afectados. No todos los indol-diterpenos son tremorgénicos, y los hechos estructurales que determinan si un compuesto es o no tremorgénico, no están comprendidos aún, pero aparentemente variaciones menores de estructuras pueden resultar en una pérdida de tremorgenicidad. C. paspali produce las micotoxinas tremorgénicas paspalina, y los paspalitremos A y B, y los compuestos no tremorgénicos paspalina y paspalicina (Fig.2). El Acremonium lolii endofítico produce la paxilina tremorgénica (que se piensa sea el precursor de todos los tremorgenos indol diterpénicos); y los lolitremos A-M, de los cuales el lolitremo B es normalmente el miembro más abundante (aproximadamente 80% del total). El otro más común es el lolitremo E, que no es tremorgénico, ya que es lolitremo precursor del lolitriol (Fig.3). Aunque todas las especies de Acremonium probadas pueden producir estos tremorgenos en cultivo, los cultivos de A.lolii -en endofito del raigrás perenne- son los que producen las mayores cantidades. Hasta hace poco tiempo, los alcaloides tremorgénicos se habían encontrado sólo en el raigrás infectado por endofitos, donde las concentraciones de paxilina de 1-13 mg/Kg de peso seco y concentraciones de hasta 20 mg/Kg de lolitremo, aunque más normalmente de 0-5mg/Kg fueron halladas en muestras de pasturas. Las concentraciones de la toxina en las semillas son 2 a 5 veces mayores que en la hierba. Más recientemente, indol-diterpénicos del grupo de la paxilina se han encontrado en el pasto

Melica decumbens de Sudáfrica y Poa huecú y Festuca argentina de Sudamérica.

Aunque estas toxinas tremorgénicas son más evidentes por sus efectos dramáticos sobre los animales que ingieren esas pasturas, también son insecticidas y tienen actividad repelente de insectos.

Peramina

El raigrás perenne y la festuca alta infectada con los endofitos de Acremonium producen altos niveles de peramina (Fig.4), un compuesto con potente actividad repelente contra los adultos del gorgojo del tallo.

En las regiones norteañas de Nueva Zelanda la mayor persistencia del raigrás infectado con endofito en pasturas se debe fundamentalmente a la presencia del efecto repelente del gorgojo del tallo (Listronotus bonerensis) que impide su alimentación y la puesta de huevos sobre las plantas infectadas (ver Prestidge & Ball, 1993). Las concentraciones de peramina van de 10-70 mg/Kg de pastura seca. La peramina no es un repelente para la alimentación de todos los insectos (Prestidge & Ball 1993).

Lolinas

Además de los alcaloides del cornezuelo, los tremorgenos, y peramina, algunos pastos infectados con endofitos contienen también altos niveles de alcaloides pirrolizidínicos saturados conocidos como lolinas (Fig.5).

Estos no se considera que sean verdaderas micotoxinas, pero son producidas por la planta y pueden estar presentes en niveles muy altos hasta de 8g/Kg de pasto seco. El rol de las lolinas en los problemas de salud animal es incierto, pero pueden también tener un rol en repeler la alimentación de insectos específicos.

PROBLEMAS SANITARIOS OCASIONADOS POR CORNEZUELOS Y ENDOFITOS

Hay una larga historia de ergotismo en humanos y otras mamíferos ocasionados por alcaloides vasoconstrictores del cornezuelo y neurotoxinas tremorgénicas. Clásicamente, el ergotismo puede tomar dos formas: una forma agangrenosa en la cual la isquemia, seguida por gangrena puede conducir a la pérdida de pezuñas, colas y orejas, y una forma nerviosa o convulsiva, en la cual los animales pueden volverse hiperexcitables y desarrollar temblores musculares, espasmos y tetania. También asociados con la ingestión de cornezuelos o pastos infectados con endofitos están cierto número de efectos menos dramáticos sobre la salud animal que conducen a significativas pérdidas de producción.

Debido a la complejidad de las mezclas de toxinas que pueden estar presentes, no siempre es posible asignar una relación causa-efecto directa entre la toxina y la respuesta del animal a ella. Sin embargo de los alcaloides del cornezuelo, los derivados peptídicos (ergotamina, ergovalina, etc) son fuertemente vasoconstrictores y se consideran responsables del ergotismo gangrenoso y del estrés por calor y de la disminución de producción asociada con el pastoreo del raigrás y la festuca alta infectados con endofitos.

La forma nerviosa o convulsiva puede deberse tanto a la presencia de indoliterpenos tremorgénicos (ej. síndrome nervioso por paspalum o raigrás) o al efecto combinado de ambos grupos de toxinas, o a la presencia de derivados neurotóxicos del ácido lisérgico. Petroski et al. (1992) sugirieron que las amidas del ácido lisérgico eran responsables de los efectos narcóticos sobre los caballos que pastorean el pasto del sueño.

Ergotismo, "Pie de Festuca"

Los animales que consumen espigas con cornezuelo mientras pastorean, o son alimentados con suplementos con granos contaminados, o que pastorean pastos infectados con endofitos pueden mostrar síntomas variados de ergotismo gangrenoso. Estos síntomas incluyen isquemia, claudicación y gangrena de las extremidades que

caballos, ciervos, búfalos y alpacas. El problema está asociado con el raigrás perenne (*Lolium perenne*) infectado con *A. lolii*. La enfermedad es más común en Nueva Zelanda, pero también ocurre con bastante frecuencia en Australia y EEUU y ha sido reportada en el Reino Unido, Holanda y Francia. Recientemente, ha sido reportada en Argentina (Odriozola et al. 1993). El problema es bastante distinto de la toxicidad del raigrás anual reportada en Australia y del temblequeo del pasto (hipomagnesemia).

El síndrome nervioso del raigrás ocurre en verano y otoño en condiciones de calor seco, cuando la escasez de forraje fuerza a los animales a comer el pasto hasta abajo. También puede ocurrir cuando los animales ingieren pasturas semilladas. La morbilidad es alta pero la mortalidad es baja y resultan principalmente de accidentes (empantanadas, caídas). Los síntomas empiezan con temblores, balanceo de cabeza, y sacudidas de las patas, haciéndose más severos si los animales son molestados, pudiendo entonces balancearse, pararse en dos patas o tambalearse con las patas rígidas, cayendo luego con el lomo arqueado y las patas rígidas en un espasmo tetánico. Luego de varios minutos los animales se recuperan y se van, aunque si se los azuza o estresa otra vez, los síntomas vuelven a ocurrir.

El síndrome nervioso del raigrás es causado por los lolitremos, que son potentes neurotoxinas tremorgénicas indol-diterpénicas. La presencia de más de 2 mg/Kg de lolitremino B es pastura seca ha sido asociado con brotes de síndromes nerviosos del raigrás (di Menna et al. 1992). La concentración del micelio del endofito y el lolitremino B en las partes basales de la planta, y en las espigas, explica por que el pastoreo intenso, particularmente de pasturas con gran cantidad de espigas, es un factor predisponente del síndrome nervioso del raigrás.

Paxilina, otro tremorgeno, y un precursor de lolitremino B, ha sido detectada en cantidades significativas (1-13 mg/Kg) en semillas y hierbas, y aunque considerablemente menos termogénica que el lolitremino B, podría contribuir a la toxicidad total de la hierba (Fletcher et al. 1993).

Aunque es conocido desde hace muchos años que el raigrás infectado con endofitos contiene también los mismos alcaloides del cornezuelo que la festuca alta infectada con endofito, el posible rol de estas toxinas en el descenso de producción que se observa en animales comiendo pasturas donde predomina el raigrás sólo recientemente se ha reconocido. Se ha comunicado descenso en la velocidad de crecimiento de los corderos (Fletcher & Barrel 1984; Fletcher & Sutherland 1993), descenso de la sobrevivencia de corderos (Foot et al. 1988), y descenso de producción de leche en bovinos lecheros (Valentine et al. 1992) que pastoreaban raigrás infectado con endofito.

El estrés por calor ha sido observado en ovinos pastoreando raigrás infectado con un endofito modificado que producía niveles reducidos de lolitremino pero niveles altos de alcaloides del cornezuelo (Fletcher 1993). El estrés por calor (asoleamiento) no ha sido reconocido en animales que comían pasturas con raigrás en Nueva Zelanda. Este es probablemente porque las temperaturas en Nueva Zelanda son generalmente más bajas que los críticos 25°C asociados con la intoxicación por festuca, y porque las pasturas de raigrás están tan extendidas que cualquier signo de estrés por calor leve es considerado "normal". En zonas más norteñas de Nueva Zelanda, donde se dan temperaturas de 25°C o más y la hipertermia en los bovinos se ha reconocido como un problema, la festuca alta silvestre infectado con endofito es una especie común en sendas y costados de carreteras. En estas áreas la hipertemia ha sido atribuida (erróneamente tal vez) a la ingestión de alcaloides del cornezuelo en la festuca. Estudios recientes de los niveles de ergovalina en las pasturas de raigrás revelan que los niveles de alcaloides del cornezuelo eran altos, aún más altos que los que se encuentran normalmente en la festuca alta. Es por lo tanto probable que los alcaloides del cornezuelo en el raigrás perenne son capaces de causar los mismos problemas sanitarios y productivos que ocurren en pasturas de festuca alta.

SINDROME NERVIOSO DE PASPALUM

El síndrome nervioso del paspalum (SNP) es un problema de ovinos y bovinos que pastorean Paspalum spp. tropical o subtropical infectado con esclerotos de C. paspali, aunque se han comunicado casos en ganado que pastorea otros pastos (Lacey 1991). El síndrome nervioso obvio se considera que es ocasionado por la presencia de los tremorgenos indol-diterpénicos paspalinina y paspalitremos A-C. Como estas toxinas están relacionadas estructuralmente a la paxilina y a los lolitremos, tienen efectos similares sobre los animales y así como puede esperarse, los síntomas del síndrome nervioso del paspalum, son muy similares a los que produce el raigrás. Este síndrome es una instancia donde la ingestión de cornezuelo se señala como conducente a la forma nerviosa del ergotismo solamente pero los cornezuelos del paspalum contienen alcaloides del cornezuelo de la serie de las clavinas y estas pueden tener efectos menos obvios sobre la productividad animal.

DIAGNOSTICO DE LAS ENFERMEDADES INDUCIDAS POR EL CORNEZUELO Y EL ENDOFITO

Los problemas sanitarios asociados con el consumo de especies determinadas de pastos, con o sin espigas claramente contaminadas con cornezuelo, han sido observados en muchas partes del mundo. Algunos de estos se reconocen como siendo causados por las toxinas del cornezuelo o del endofito, pero en otros casos la naturaleza y origen de las toxinas es desconocido. Dondequiera que problemas sanitarios asociados con la ingestión de determinadas pasturas incluyan en sus síntomas

- i) signos de vasconstricción que llevan a la gangrena de la cola, pezuñas u orejas en tiempo frío,
- ii) performance animal pobre asociada con signos de estrés por calor (búsqueda de sombra, permanencia dentro del agua, revolcada en el barro) en verano,
- iii) reducción dramática de las concentraciones de prolactina, o
- iv) efectos neurológicos (soñolencia, nerviosismo, temblores y tambaleo),

entonces debe considerarse como una causa probable la implicancia de las espigas de pasto con cornezuelo o la infección endofítica de aquel.

Por ejemplo, los problemas ocasionados por el Pasto del Caballo Borracho (*Achnatherum inebrians*) a los ovinos y caballos en el norte de China se conoce desde hace tiempo. El pasto es más tóxico en la etapa de floración. Los síntomas de intoxicación pueden aparecer dentro de las 24 horas, y en ovinos pueden incluir: lagrimeo, salivación y espuma por boca, espasmo, andar tambaleante que da su nombre a la enfermedad y al pasto. Muchos de estos síntomas sugieren la implicancia de alcaloides del cornezuelo y toxinas tremorgénicas. El examen microscópico de muestras de pasto enviadas al Grupo de Investigación de Toxinas de Hongos y Plantas reveló la presencia de un endofito en el pasto. Los análisis mediante inmunoensayos confirmaron la presencia de altos niveles de alcaloides del cornezuelo, de un análogo de la peramina, y de compuesto similares a la paxilina que presumiblemente sean tremorgénicos (I. Garthwaite, comunicación personal). Niveles bajos de lolitrema B fueron detectados mediante HPLC (S. Munday, comunicación personal). En suma, la evidencia sugiere poderosamente que esta es otra instancia en la cual la mutua asociación benéfica entre el hongo endofítico y su pasto huésped va en fuerte detrimento de los animales que consumen ese pasto.

La infección endofítica de los pastos nativos también pueden causar síndromes tóxicos en Sudamérica. El trabajo realizado por el Grupo de Investigación de Toxinas de Hongos y Plantas en Ruakura, en colaboración con Francisco Uzal (en Bariloche, Argentina) mostró que Poa huecú y Festuca argentina contienen hongos endofíticos. Ambas plantas contenían análogos de paxilina, sugiriendo que los tremorgenos indol-diterpénicos pueden ser responsables del síndrome nervioso reportado en ovinos que pastoreaban Poa huecú. También se encontró que Poa huecú contiene alcaloides, y podría presumiblemente ocasionar intoxicación si se dan condiciones climáticas apropiadas.

CONTROL DE LOS PROBLEMAS SANITARIOS INDUCIDOS POR EL CORNEZUELO Y EL ENDOFITO

El control de los problemas sanitarios ocasionados por la ingestión de cornezuelos es relativamente simple en situaciones de pastoreo intensivo, donde el manejo del mismo puede ser dirigido a reducir o eliminar la formación de espigas, o cuando las espigas contaminadas con cornezuelo pueden ser mecánicamente removidas mediante corte o cosecha.

Aunque fuera una vez un problema común en Nueva Zelanda, "el síndrome nervioso del paspalum" -causado por el pastoreo de paspalum o raigrás con cornezuelos es ahora relativamente raro, debido a que estas pasturas son intensamente pastoreadas durante la primavera y principios del verano para evitar la floración y la espigazón. Aunque esto fue realizado en primer lugar para favorecer el crecimiento del raigrás y para evitar la floración y producción de semilla, extendiendo así el período de crecimiento vegetativo y el aumento en la producción de forraje, tiene el efecto secundario de reducir el riesgo de producción de cornezuelo.

El control de la intoxicación por raigrás y por festuca no se ha logrado tan prontamente ya que las toxinas están distribuidas por toda la planta, aunque se han encontrado en concentraciones más altas en las espigas y en las partes basales de las plantas. Nuevamente, el manejo del pastoreo y la pastura pueden reducir el riesgo de la intoxicación por raigrás (y en menor medida por festuca). El pastoreo intenso durante la floración reduce la formación de espigas, y el pastoreo ligero durante la última parte del verano evita que los animales sean forzados a comer en la región de la vaina basal de la hoja de la pastura, lo que ayudará a reducir la ingestión de toxinas, y así la severidad de cualquier brote de enfermedad.

La reducción de la ingestión de toxinas mediante el pastoreo de tapices en los cuales ni el raigrás ni la festuca son los pastos dominantes, o por la alimentación con forrajes conservados o concentrados, son formas alternativas de controlar la intoxicación tanto por raigrás como por festuca.

El hallazgo de que los hongos endofíticos eran la fuente de las toxinas que ocasionaban el síndrome nervioso del raigrás y de la festuca, creó la posibilidad de evitar estas enfermedades eliminando el hongo, y cultivando pasturas libres de endofitos. Esto se logró bastante rápidamente ya que los endofitos pierden viabilidad más rápidamente que las semillas -de ahí que semilla guardada durante dos o tres años tiene una tasa muy baja de infección endofítica. Este endofito puede ser también eliminado por un tratamiento con fungicidas con o sin almacenamiento a alta temperatura y humedad durante un corto lapso (Nott & Latch 1993).

Sin embargo, se hizo evidente rápidamente, que este camino no era una opción viable en todas las circunstancias. La asociación endofítica entre hongo y pasto se ha desarrollado porque provee una ventaja mutua para ambos socios por vía de resistencia aumentada al ataque de insectos, nematodos, seca, etc. En las partes norteñas de Nueva Zelanda, el raigrás libre de endofito es atacado por el gorgojo del tallo, y es eliminado de la pastura de 1 a 3 años luego de la siembra, aunque en las regiones más frías del sur las pasturas de raigrás libres de endofito pueden establecerse y mantenerse durante algunos años. Debido a que el gorgojo del tallo es originario de Sudamérica, parece improbable que el raigrás libre de endofito pueda ser apropiado para usarse en Uruguay y en países vecinos. De igual manera, en los EEUU la festuca libre de endofito tiene baja persistencia bajo el estrés de la sequía, así como tiene una producción de materia seca más baja y una menor resistencia a los ataques de ciertos insectos y nematodos, y no ha sido una alternativa apropiada frente a los cultivares infectados por endofito. Por el contrario, los cultivos de festuca usados en Nueva Zelanda están libres de endofito y, aunque su uso no se ha generalizado, parecen establecerse bien y persistir en condiciones apropiadas de manejo de pasturas.

De aquí que las limitaciones encontradas en el cultivo de pastos libres de endofito donde los problemas de producción y salud animal están asociados con pastos infectados por aquel, la habilidad para crecer, persistir y producir de los

cultivos libres del hongo, en las condiciones propias de cada lugar deberían ser probadas.

La investigación actual en Nueva Zelanda y EEUU está dirigida al hallazgo o generación de endofitos que produzcan los metabolitos que proveen la protección contra el ataque de insectos, el estrés de la sequía, etc., pero que no produzcan toxinas que causen problemas de salud animal. Esto puede ser difícil de lograr, debido al número de diferentes grupos de toxinas implicados y la posibilidad de que al eliminar una toxina no deseable para el animal, se esté también sacando otra con una recomendable actividad anti-insecto.

Eliminar una toxina puede evitar un problema pero revelar otro. Por ejemplo, la introducción de una combinación elegida Acremonium: raigrás que producía niveles muy bajos de lolitrema B produjo un cultivar que redujo en gran forma el riesgo del tambaleo del raigrás (Fletcher et al. 1992). Sin embargo, la ausencia del más evidente síndrome de tambaleo reveló la presencia de hipertemia y estrés por calor (síndrome distérmico) en animales que pastoreaban este cultivo. Los análisis mostraron que esta asociación Acremonium: raigrás produjo niveles inusualmente altos de alcaloides del cornezuelo. Este semillero ha sido desde entonces retirado de la venta y los endofitos aparentemente incapaces de producir tanto tremorgenos como alcaloides del cornezuelo están actualmente siendo introducidos en varios tipos de raigrás para ser testados.

Sin embargo, aún un nuevo lolitrema -y un cultivar libre de alcaloides del cornezuelo puede no ser apropiado en todas las regiones, ya que éstas toxinas pueden ser importantes en repeler pestes particulares comunes en zonas climáticas específicas (Tabla 1). En las partes más norteñas de Nueva Zelanda donde el estrés por calor (síndrome distérmico) causado por los alcaloides del cornezuelo es más factible que ocurra, el escarabajo negro (Heteronychus arator) es una de las principales enfermedades de la pastura. La alimentación del escarabajo negro sobre el raigrás es reducida por la presencia de los alcaloides del cornezuelo y su eliminación puede ir en detrimento de la sobrevivencia de la planta (Prestidge & Ball 1993).

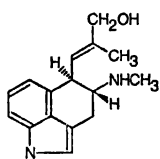
Parecería probable que la remoción total de varias toxinas no dará la última respuesta. Antes, será necesario tratar de reducir los niveles de toxina a un punto donde se minimicen los problemas de salud animal pero se mantengan el efecto repelente de insectos.

Puede ser posible evitar el tambaleo del raigrás y la intoxicación por festuca aumentando la resistencia de los animales a las toxinas. Esto puede ser logrado por (i) inmunizando el animal contra la toxina o (ii) seleccionando y cruzando para aumentar la resistencia. Usando paxilina como un tremorigeno modelo, hemos inmunizado activamente a ratones contra esta y luego los hemos desafiado con la toxina por inyección intraperitoneal. Sin embargo, los ratones inmunizados no fueron protegidos contra la toxina. Más bien, los temblores inducidos por la paxilina fueron más severos y duraron más tiempo que en los ratones no inmunizados. Resultados similares se han obtenido en intentos de inmunizar ovinos contra la hepatotoxina esporidesmina (Fairclough et al. 1981, Towers et al. no publicado) y el estrógeno zearalenona (Smith et al. 1991). Thompson et al. (1993) han inmunizado novillos recientemente contra los alcaloides del cornezuelo inyectando anticuerpos monoclonales y mostraron una inversión parcial de la disminución de los niveles de prolactina sérica. Estos investigadores tienen que demostrar todavía que la inmunización pasiva protege contra las pérdidas de producción y que es un procedimiento profiláctico practicable.

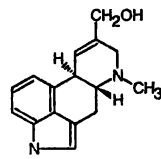
El aumento de resistencia al tambaleo del raigrás es un rasgo heredable (Campbell 1986) y majadas seleccionadas por resistencia y por susceptibilidad a aquel se han establecido en el Centro de Investigaciones Agropecuarias de Ruakura. El progreso ha sido estorbado por tener que confiar en las pasturas tóxicas para proveer el desafío en los test de performance empleados para identificar los animales susceptibles y resistentes. Debido a que el lolitrema no ha estado disponible no hemos sido capaces de desarrollar un test de performance similar al procedimiento que desarrollamos para identificar los padres de cabaña resistentes al eczema facial mediante la dosificación de la toxina aislada. Para solucionar el problema estamos investigando actualmente la posibilidad de usar tremorgenos

que se producen más rápido, ej. paxilina, como un sustituto en el test de performance, y estamos comparando la potencia y modo de acción de cierto número de tremorgenos indol-diterpénicos.

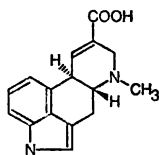
There are a number of animal health problems associated with grazing grasses infected with fungi that form toxic ergots, or form mutually beneficial fungus/plant associations. The best known endophytic fungus: grass associations causing easily recognised animal health problems are the *Acremonium lolii*: *Lolium perenne* (perennial ryegrass) and *Acremonium coenophialum*: *Festuca arundinacea* (tall fescue) associations causing ryegrass staggers and fescue foot/fescue toxicoses, respectively. However, many other grasses, including those native to South America, harbour endophytic or parasitic fungi capable of producing toxins that adversely affect animal performance. Currently, the only way to control these diseases is to reduce the ingestion of the toxins by supplying non-toxic pastures or feeds, and by adopting grazing management techniques which minimise the opportunity for toxin production by the fungi and the ingestion of toxic pasture by grazing animals.



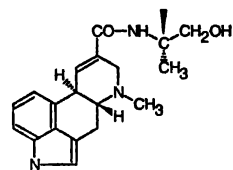
Chanoclavine



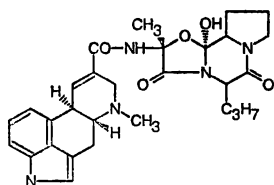
Elymoclavine



D-Lysergic Acid



Ergometrine



Ergovaline

Figura N°1

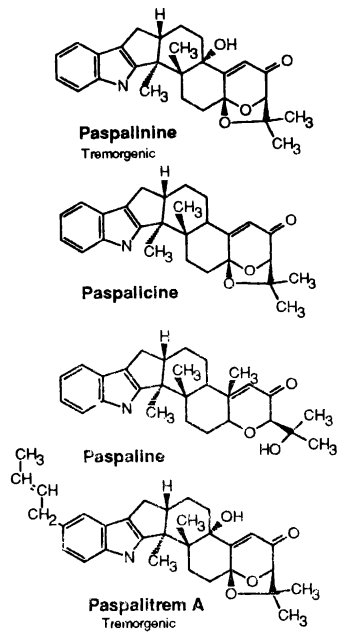


Figura N° 2

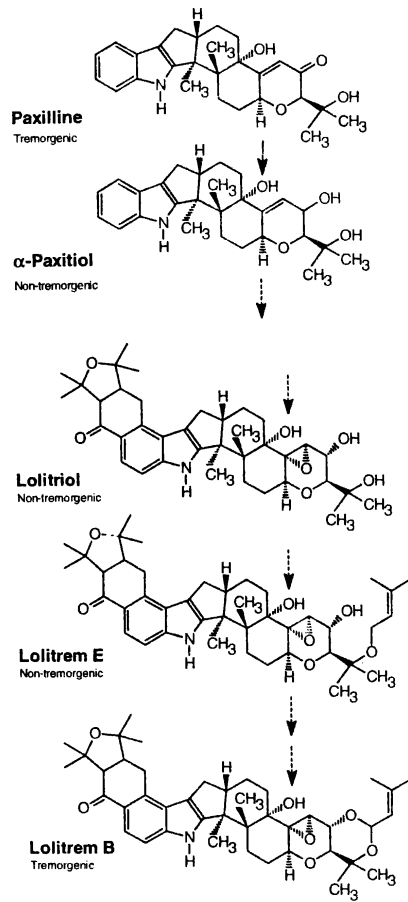
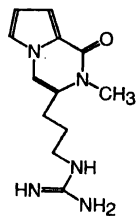
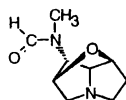


Figura N° 3

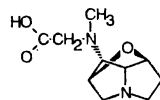


Peramine

Figura N° 4



N-Formyl Ioline



N-Acetyl Ioline

Figura N° 5