

LA ACTIVIDAD CELULOLÍTICA DEL SUELO COMO UN POSIBLE INDICADOR DEL EFECTO SUPRESOR FRENTE A FUSARIUM SPP

De Luca, Laura ¹ ; Sarandón, Santiago ²; Zamora, Angela ³

¹Ing. Agrónoma y Agroecóloga. Laboratorio de Microbiología. UNMdP, Argentina. ldeluca@mdp.edu.ar, ² Agroecología-UNLP, CIC Pcia Bs. As, Argentina, sarandon@sinectis.com.ar, ³, Med.Vet Prof. Adjunta Introducción a la Microbiología UNMdP azamora@mdp.edu.ar

Palabras claves: actividad celulolítica – efecto supresor – Fusarium spp.

INTRODUCCIÓN

Fusarium spp es un hongo del suelo ampliamente distribuido en la producción hortícola, y uno de los causantes de la enfermedad denominada “damping off” que afecta a los almácigos y a los invernáculos de plantas hortícolas, forestales y florícolas (Rasmussen et al, 2002). La supresión edáfica espontánea de este hongo patógeno, puede estar influenciada por características físico químicas del suelo, como capacidad de retención de agua o cantidad de materia orgánica, y la composición y actividad de la población microbiana del suelo (Alboubuvette, 1990). La incorporación continua de residuos celulósicos al suelo hortícola, incrementa la actividad de los microorganismos celulolíticos en el proceso de mineralización. Las enzimas necesarias para esta degradación son producidas por un amplio rango de microorganismos incluidos hongos, actinomicetes y bacterias, por lo cual suele denominárselos grupo funcional. Kundsén et al (1999) señalan la posible existencia de una relación entre las enmiendas de alto contenido de celulosa y la capacidad supresiva del suelo frente a hongos patógenos. Sin embargo, no se han establecido relaciones entre este grupo funcional y supresividad edáfica.

Considerando que la actividad hortícola mantiene constantes aportes de material celulósico, se pretende establecer si la actividad celulolítica del suelo puede ser un indicador de supresividad de *Fusarium spp* causante del “damping – off” de los almácigos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se manejó en bandejas almacigueras sembradas con tomate var. Platense (*Lycopersicum esculentum* var *platense*). Se buscó comprobar la supervivencia del inóculo inicial de *Fusarium spp.*, en suelo con distintos tratamientos 1) Testigo, 2) con bromuro de metilo, 3) esterilizado con vapor de agua 4) tratado con estimulantes de microorganismos (Nutrilomb), 5) tratado con supermagro (de fabricación casera), 6) con

compost de lombriz (lombricompost). Los tratamientos 4,5 y 6 de “estimulación” de microorganismos tuvieron un período de estabilización de 7 días anterior a la siembra. Los tratamientos 2 y 3, de “eliminación” de microorganismos se realizaron tres días antes de la siembra. Cada tratamiento fue regado con un inóculo inicial, esparcido en cada bandeja, de 10 esporas /ml, en dos aplicaciones de 250 ml cada una, en intervalos de 24 hs. para evitar sobresaturación de las bandejas, se estimó el porcentaje de supervivencia de *Fusarium spp* de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Supervivencia de } \textit{Fusarium spp} \% = \frac{\delta \text{ poblacional final (ufc/g)} \times 100}{\delta \text{ poblacional inicial (ufc/g)}}$$

Para los cultivos de laboratorio, se recurrió a la metodología de Nash y Snyder (1962) modificada por Lori y Wolcan, 1999 ¹. Luego del período de incubación, se efectuó el recuento de las colonias típicas de *Fusarium spp.*, sobre la base de las características morfológicas y de las estructuras reproductivas, confirmando con microcultivos realizados de cada colonia sospechosa. Los recuentos se hicieron en los siguientes momentos: a) Con anterioridad a la siembra de la semilla de tomate (PRESIEMBRA): b) En estado de cotiledón (EMERGENCIA), c) En Primer par de hoja verdadera. (1º PAR HOJA).

La **toma de muestra** se realizó con dos cortes de 5 cm de diámetro por cada tratamiento y su correspondiente repetición. Las muestras de suelo fueron llevadas a laboratorio en donde se realizaron diluciones sucesivas en frasco de buffer fosfato (PBS), aplicando luego la metodología específica para la determinación de poblaciones microbianas consideradas como indicadoras del estado supresor o permeable del suelo:

Grupo funcional celulolítico: se procedió a la siembra de 1 ml de cada dilución sobre Caldo específico para celulolíticos, en serie de 3,3,3 para la determinación del NMP/g de suelo, según tabla de Mc Grady. El desarrollo de los mismos se registró sobre banda de papel de filtro ya que esta constituye la única fuente carbonada. Esto puede apreciarse luego de una incubación de 15 días a 28°C según Frioni (1987).

Reaislamiento de *Fusarium spp.*: Se realizó por el método de siembra en placa por extensión, sobre el medio selectivo de Nash y Snyder (1962) modificado por Lori y Wolcan (1996). Se incuban a temperatura ambiente durante 5 días.

Otras determinaciones sobre el bioensayo:

Porcentaje de plantas afectadas por la enfermedad: Como tales, se consideran aquellas plantas muertas, afectadas con síntomas típicos de marchitamiento causado por

¹ Este medio es semiselectivo para *Fusarium spp.* Desarrollan además *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.*, pero permite en cambio que se manifiesten la mayor cantidad de especies de *Fusarium*. (G. Lori comunicación personal)

la podredumbre basal o con síntomas iniciales de marchitamiento. También se incluyeron plantas con detención de crecimiento y las no emergidas.

$$\% \text{Plantas afectadas} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de plantas enfermas}}{\text{N}^\circ \text{ total de plantas}} \times 100$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A diferencia de un suelo hortícola normal, en este ensayo llevado a cabo en bandejas plásticas, la fuente de carbono estaba dada principalmente por los agregados que se hicieron al suelo “original” (testigo). En los tratamientos de “esterilización” de suelo (2 y 3), se observó que los microorganismos celulolíticos, contrariamente a lo que se esperaba, colonizaron finalmente el medio: aunque un poco mas postergado en el tratamiento n°2 (bromuro de metilo), donde el poder residual del agroquímico se evidenció por sobre el tratamiento con vapor de agua, la población celulolítica pudo restablecerse para el ultimo muestreo. Los tratamientos 4, 5 y 6, donde se estimuló la carga de microorganismos, contaron con una carga inicial celulolítica alta, y se visualizó, básicamente una sumatoria de poblaciones, es decir, las propias del suelo testigo mas las adicionadas en los productos de ensayo.

Por otra parte la supresividad del suelo queda evidenciada por la incapacidad de supervivencia de *Fusarium spp* . En la figura 1 puede verse que en los tratamientos donde la población celulolítica es mas numerosa (N° 4, 5 y 6) el hongo fitopatógeno permanece en niveles bajos, a pesar de haber sido inoculado en todos los tratamientos por igual. En los tratamientos de “eliminación” de microorganismos (N° 2 y 3), la supervivencia se manifiesta con niveles del 100 % y mas hasta el último recuento efectuado .

De todos modos, cabe aclarar que la supervivencia de *Fusarium spp* no es un indicador absoluto de la presencia de la enfermedad sobre el cultivo, lo que puede apreciarse claramente comparando en el tratamiento n°6 (tratamiento de estimulación) con el n°1 (testigo sin tratamiento). (ver tabla N°1)

El mecanismo de “defensa” del suelo, denominado en este trabajo, **efecto supresor**, puede definirse como el equilibrio que existe entre las poblaciones, de manera de conseguir un control biológico para suprimir agentes patógenos.

Si bien existe consenso que este efecto es la suma de una serie de factores, y de interacciones entre poblaciones del suelo, es apreciable la relación inversa que existe entre poblaciones celulolíticos bien desarrolladas y la posibilidad de supervivencia del

hongo patógeno, causante del “damping – off” de los almácigos, considerando, entonces que esta población puede valorizarse como un buen indicador de la actividad supresora del suelo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alabouvette Ct (1990) “Characteristic of Fusarium wilt suppressive soils and prospects for their utilization in biological control” Soil-borne plant pathogens. Schippers and Grams ED. Academic Press.
2. Frioni, L. (1989) Ecología microbiana del suelo. Ed. de la Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 258pp.
3. Kundsen I , Deboz K, Hockenhull J, Jensen D (1999) “Suppresiveness of organically and conventionally managed soil towards brown foot rot of barley”. Applied Soil Ecology 12 (1999) 61 – 72.
4. Lori G y S Wolcan (1996) “Identificación mediante observación en placa de agar con medio de Nash y Snyder” revista Iberoamericana de Micología 13: 33 – 36.
5. Rasmussen P, Kundsen I, Elmholt S, Jensen D (2002) “ Relationship between soil cellulolytic activity and suppression of seedling blight of barley in arable solis” Applied Soil Ecology 19 (2002) 91 – 96.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla N°1: Emergencia de Plántulas y plantas afectadas sobre una siembra de 50 semillas

TRATAM	CULTIVO SANAS	AFFECTADAS	% AFFECT.	% SUPERV.FUS
1	28	22	78.5	60
2	38	12	31.5	20
3	34	16	47.05	200
4	23	27	85.5	80
5	8	42	91	0
6	28	22	78.5	0

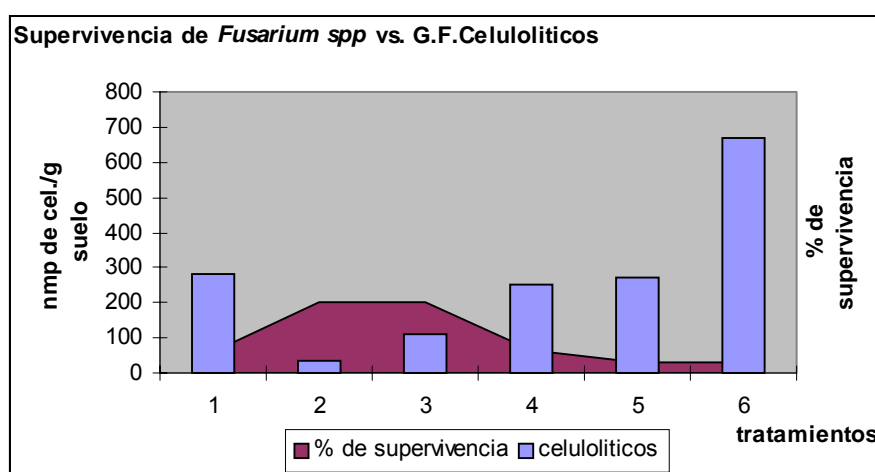


Figura 1: Grupo funcional Celulolíticos vs Supervivencia de *Fusarium spp*