

MICOTA CELULOLITICA DE SUELOS CON CULTIVO DE TRIGO Y TRATAMIENTO HERBICIDA

Delia P. Alvarez, Alicia G. Luque, María Luciana D'Anna

Departamento de Microbiología. Area Micología. Facultad de Ciencias Bioquímicas
y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531. Rosario (2000)
Santa Fé. República Argentina

Palabras clave: Hongos celulolíticos, suelos, trigo, herbicidas

Key words: Cellulolytic fungi, soils, wheat, herbicides

RESUMEN

De muestras de suelos correspondientes a parcelas sembradas con trigo y que recibieron aplicación de 5 herbicidas post-emergentes: 2-4 D más Dicamba; 2-4 D más Picloram, Metsulfurón-metil; Fluroxypyr, Metsulfurón-metil más Dicamba, en las dosis habituales; se realizó el aislamiento y clasificación de cepas celulolíticas con el objeto de conocer la influencia de esos fitotóxicos sobre la evolución de las mismas durante el ciclo de cultivo del trigo. Para ello, las muestras de suelos testigos y con tratamiento desmalezante fueron extraídas a los 7, 14, 30, 45, 60 y 90 días posteriores a su aplicación, entre los meses de Agosto a Diciembre, durante los años 1989, 1990, 1991.

De acuerdo a los aislamientos en un medio selectivo, se determinó el número de unidades formadoras de colonias (u.f.c.) por gramo de suelo, su frecuencia en las siembras durante los tres ciclos de cultivo y la población relativa en los 6 muestreos de cada año.

Los promedios de u.f.c. correspondientes a suelos tratados con Metsulfurón-metil y 2-4 D más Picloram, mostraron una disminución importante con respecto a los testigos, en los 3 ciclos; para los demás herbicidas, esas diferencias variaron, según el año del muestreo.

Las especies celulolíticas, de la parcela testigo son en general similares, durante todo el tiempo de la experiencia, pero esa colonización varía marcadamente, en los suelos con desmalezantes. Tienen mayor frecuencia las cepas de *Aspergillus niger*, *A. candidus*, *A. ochraceus*, *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Rhizopus oryzae*.

La estimación de la población de especies aisladas difiere para cada tiempo del muestreo en la parcela control y en relación con las demás, reflejando las fluctuaciones de la micota en las interrelaciones suelos-cultivos por un lado y por otro suelo-cultivos-herbicida.

SUMMARY

[Cellulolytic mycota of wheat cultivated soils and herbicide treatment]

Cellulolytic strains from soils corresponding to farms sown with wheat and treated with 2-4 D plus Dicamba; 2-4 D plus Picloram, Metsulfuron-metil; Fluroxypyr; Metsulfuron-metil plus Dicamba in habitual doses during cultivation cycle were isolated and classified with the aim of determining the influence of the above mentioned post-emergent herbicides on the evolution of such strains.

Samples from control soils were extracted on the 7th, 14th, 30th, 45th, 60th, and 90th day after the beginning of the treatment, from August to December in 1989, 1990 and 1991.

Depending on the isolation in the selective medium, the number of unit forming colonies (u.f.c.) per gram of soil, their frequency in the sown land during the three cultivation cycles in the 6 annual samplings were determined.

Averages corresponding to soils treated with Metsulfuron-metil and 2-4 D plus Picloram, showed important decrease as compared with the controls in the three cycles. The differences varied for the other herbicides depending on the year that the sampling was performed.

The cellulolytic species isolated from the control parcel were in general the same for the whole varied markedly in the treated soils. *Aspergillus niger*, *A. candidus*, *A. ochraceus*, *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Rhizopus oryzae* species were more frequent.

The estimation of the species population differs in the sampling of the control parcel for each period and in relation with other species, thus reflecting the mycota fluctuations in the following interrelations: soil-cultivation on the one hand, and soil-cultivation-herbicides on the other.

INTRODUCCION

En trabajos relacionados con la influencia de herbicidas de acción residual sobre poblaciones fúngicas de la micota total y celulolítica de suelos agrícolas, se ha observado una disminución importante del número de unidades formadoras de colonias de tales poblaciones, al sembrar muestras de esos suelos tratados con desmalezantes. Tal efecto depresivo se mantuvo, en general, durante todos los muestreos realizados, desde la semana de aplicación de los fitotóxicos hasta los 2 meses posteriores al tratamiento, como un dato indicador de los desbalances de la comunidad fúngica en presencia de los desmalezantes (2).

Un aspecto importante de la micota celulolítica de los suelos, está relacionado con el rol en los procesos de bioconversión de restos vegetales, en compuestos hidrocarbonados solubles requeridos para la síntesis de biopolímeros esenciales. Tal actividad degradativa de los materiales ricos en celulosa, ha sido estudiada a nivel de las condiciones físico-químicas del terreno, que la favorecen (1, 4, 10, 11, 13, 14, 19), como en la sucesión de los grupos fúngicos que intervienen (6, 12). En su aislamiento, se han utilizado diversas metodologías desde vegetales, como molienda o cortes de paja de trigo u otro cereal elaborados de la celulosa, tales como: papel de filtro, celofán y por último algunos derivados como la carboximetilcelulosa. Esto permite observar una variada capacidad de las cepas celulolíticas para utilizar tales materiales.

Los biocidas vegetales, en forma directa o indirecta, se contactan con los suelos y pueden actuar sobre la micota o sobre otros grupos microbianos, alterando las interacciones del ecosistema.

Filho, E.S. y Dhingra, O.D. (9) analizando la acción de los herbicidas: EPTC, Dinoseb, Alachlor, Fluorodifen y Fluometuron, sobre la viabilidad de un fitopatógeno del suelo, como *Macrophomina phaseolina*, comprueban que todos estos desmalezantes provocan una disminución del inóculo de esa cepa, que varía con el tipo de herbicida y con las características telúricas.

Nuestros objetivos principales fueron: determinar en muestreos de parcelas con trigo y tratadas con herbicidas, el número de unidades formadoras de colonias celulolíticas (u.f.c.), la frecuencia de las especies detectadas y su población relativa. Todo esto en un ciclo de cultivo del trigo durante tres años, con la finalidad de observar el comportamiento de tales especies en esas condiciones de labranza.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras de suelos, con las características indicadas en un informe anterior (2) corresponden a parcelas del Area Experimental del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Oliveros, provincia de Santa Fe, zona de llanura, de clima templado. En tales parcelas se aplicaron los siguientes herbicidas: 2-4 D más Dicamba (P1), 2-4 D más Picloram (P2), Metsulfurón-metil (P3), Fluroxypyr (P4), Metsulfurón-metil más Dicamba (P5), en las concentraciones habituales y con el trigo en pleno macollaje.

Los muestreos aleatorios, incluyendo los testigos, se practicaron a los 7, 14, 30, 45, 60 y 90 días del tratamiento, durante los años 1989, 1990, 1991, con 3 repeticiones cada uno, entre los meses de Agosto a Diciembre. La preparación del inóculo y el método de siembra responden a lo indicado en experiencias anteriores (2), sin embargo, como medio selectivo y acorde a un trabajo experimental previo, escogimos para las poblaciones celulolíticas, el medio indicado por Eggins (7) con carboximetilcelulosa (Grado B-50-ICI Ltd. Cheshire, U.K.).

Todas las siembras, por duplicado, se incubaron a 28°C durante una semana. Al cabo de ese tiempo, se realizó el recuento de u.f.c. celulolíticas y el aislamiento de las cepas con un mínimo del 5% de frecuencia, sobre el total de muestras sembradas. La tipificación se efectuó según características morfológicas y conidiogénicas, en medios de cultivos diferenciales y de acuerdo a claves de los siguientes autores: Booth (3), Ellis (8), Piontelli & Toro (15), Pitt (17), Raper & Fennell (18), Rifai (20).

La indicación de cada parcela (P) va seguida del número asignado a cada herbicida.

RESULTADOS Y DISCUSION

La distribución de las cepas en el tiempo y en los suelos experimentales, tanto testigos como tratados, con una frecuencia igual o mayor al 5% de las muestras sembradas, se aprecia en el Cuadro N°1.

La parcela testigo presenta un total de aislamiento de 42 especies pertenecientes a 16 géneros. Algunas especies mantuvieron su presencia durante los tres años, mostrándose como colonizantes de ese ecosistema edáfico, sin embargo, en general se apreciaron variaciones en la frecuencia en que fueron obtenidas. Por ejemplo en el segundo año con respecto al primero, existe una mayor diferencia mayor para las cepas de *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *Trichoderma koningii*, *Aureobasidium pullulans*, *Mucor*

Cuadro N° 1
Porcentaje de frecuencia de cepas celulolíticas, aisladas en cada año de los muestreos de suelo: 1989 (A), 1990 (B), 1991 (C) de parcelas sin tratamiento herbicida (Pt) y con aplicación de los agroquímicos: 2-4 D más Dicamba (P1), 2-4 D más Picloram (P2), Metsulfurón-metil (P3), Fluroxypir (P4), Metsulfurón metil más Dicamba (P5).

	Pt			P1			P2			P3			P4			P5		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
<i>Abidia corymbifera</i> (Cohn) Sacc		16,2	5,0				16,0		5,5						8,0	19,8		16,3
<i>Abidia</i> spp		8,2														8,6		
<i>Acremonium furcatum</i> v. Moreau ex Gams	22,1	10,0																5,8
<i>Aspergillus candidus</i> Link	27,3	33,0	41,4			16,0			8,8				27,3	69,0				
<i>A. clavatus</i> Doms	8,0					5,5						5,0	8,6					
<i>A. flavipes</i> Thom S. Church	16,5		10,0						5,4								5,2	10,3
<i>A. fumigatus</i> Fres.	44,2	25,1	36,0		33,0		38,5	22,2							16,3	19,4	16,0	22,5
<i>A. niveo-glucosus</i> Thom & Raper	16,8		16,1										30,6	25,0	58,3	8,5		
<i>A. nidulans</i> (Eidam) Wint	8,8	10,6				13,4	16,2		8,5	5,5	18,4			5,0				9,2
<i>A. niger</i> van Tieghem	91,0	66,8	75,2	16,0	41,3	69,2	38,1		100,0	41,0	27,3	88,2		66,4	52,0	47,1	75,0	55,3
<i>A. ochraceus</i> Wüthm	19,6	50,2	47,0			27,8				10,5				30,2	10,0			5,0
<i>A. parasiticus</i> Speare	22,4	16,0		27,5		49,2	13,6								41,0			16,5
<i>A. terreus</i> Thom	30,5		16,0		10,3		25,4		5,1				22,0	8,5	77,2	5,5	13,6	
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arnaud	27,0	5,5	5,0			19,8												8,6
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berk & Curt.	10,2		27,4															
<i>Cladosporium</i> spp	8,5	16,2				13,0												8,4
<i>Epicoccum nigrum</i> Link		10,5	8,3															
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe		22,6		10,2									8,0	10,0		5,3		19,7
<i>F. moniliforme</i> Sheldon	22,0		16,4				13,5	22,4			19,0				25,1	38,6		
<i>F. oxysporum</i> Schlecht	36,6	25,3	30,0	47,1					5,0					27,8	66,0		22,2	36,0
<i>F. solani</i> (Mart) Sacc	33,0	22,5	41,3			52,0	8,3		13,0			30,2	16,5	5,4	5,0	19,4	30,0	58,5
<i>Gliocladium roseum</i> Bain	25,2	27,0	16,8					22,2		8,1	5,0		10,6	22,0		5,3		10,0
<i>G. penicilloides</i> Corda	16,3	30,0		8,0	25,3						8,6						25,3	
<i>Gliomastix murorum</i> Corda	8,0						5,8							8,0	16,3			
<i>G. musicola</i> Speg	22,0	25,6	27,1			10,2								5,5	8,4			
<i>Mycelia sterilia</i> hialino	5,5		10,2											10,1			10,0	5,0
<i>Monocillium indicum</i> Saksonce	10,8	36,0				27,4			16,3								33,0	
<i>Mucor globosus</i> Lindner	27,6			10,0		20,4							25,8					
<i>M. racemosus</i> Fres.	13,4	44,0	22,5						19,6	25,0	8,4	19,0	30,2		19,8		47,0	30,5
<i>Rhizopus oryzae</i> Went & Prinsen	55,2	41,0	25,4				22,2	22,2	44,8	47,3	16,0	27,8						
<i>Rh. stolonifer</i> (Ehrenb. Fr.) Lind	33,0		50,4	30,6		41,5								27,0	41,3	25,1	30,8	
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	19,4		16,6											8,3		36,0		
<i>P. expansum</i> Link & Gray	47,8	36,3	55,0							30,4	36,2					19,8		38,3
<i>P. restrictum</i> Gilman & Abbott		22,4		8,0		41,5			41,0	52,6			58,5		80,3		36,0	
<i>P. variable</i> Sopp	25,0		33,4			25,0								55,1	63,0			27,4
<i>Penicillium</i> spp			10,5	10,0			16,2	8,8				10,3				8,4	13,2	
<i>Petriella setifera</i> (Schn.) Curzi	8,2		16,0													5,5		8,6
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	10,5	8,3	5,8			8,0								27,0	55,3	10,2		16,4
<i>T. harzianum</i> Rifai	41,4	52,0	38,6		63,0	25,3		5,8	55,0	5,2	8,0	64,3		44,0	60,5	10,0	33,6	44,0
<i>T. konigii</i> Audem	55,0	27,8	19,52	66,0	72,3	60,5	10,3	13,7			10,2		41,4			16,0	58,1	30,7
<i>T. viride</i> Pers. ex Gray	33,4		44,1															22,8
<i>Ventricillium catenulatum</i> W. Gams	16,6		22,5	10,3		58,0		5,6							27,3	5,5		13,4

racemosus; y entre el segundo y tercer año para *Penicillium expansum*, *Fusarium solani*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus oryzae*.

Comparando estas poblaciones celulolíticas de la parcela testigo con las correspondientes a los sectores que recibieron tratamiento herbicida, es notoria la forma esporádica con que algunas de esas especies han sido aisladas, sobre todo en aquellas parcelas con 2-4 D más Dicamba, 2-4 D más Picloram y Metsulfurón-metil.

Relacionando las especies correspondientes a las parcelas tratadas, en todas ellas se aislaron: *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *Trichoderma harzianum*, *T. koningii* y especies de *Rhizopus*. Su frecuencia varía con cada parcela y para cada uno de los ciclos del muestreo, registrándose ya sea en todos, en dos o uno de ellos. *A. niger*, no fue aislado en la P2 en todos los muestreos del segundo año, ni en el primero de la P4 y tiene su mayor frecuencia en la P5. *Trichoderma harzianum*, no se desarrolló en el primer año de los muestreos correspondientes a las parcelas P1, P2 y P4, alcanzando una mayor frecuencia en esta última.

El efecto del fungicida o fungistático se traduce en primera instancia en una acción biocida o de desequilibrio provocado por el tratamiento desmalezante y logran por cometabolismo de los herbicidas y por aumento de nutrientes a partir de la lisis de otras poblaciones, mantener y estimular en algunos casos, su colonización.

Las cepas que alcanzaron el mayor porcentaje en cuanto a su población relativa, son las que tuvieron una frecuencia alta a moderada, para los tres ciclos del muestreo en las seis parcelas. En la testigo y la tratada con Fluroxypyr, el dato más alto en cada tiempo del muestreo corresponde a especies distintas, no así para los demás sectores y sobre todo con 2-4 D más Picloram y Metsulfurón-metil en que *Aspergillus niger* supera a los 30, 45 y 60 días a los demás desarrollos, en cuanto a u.f.c.

Estudios sobre la comunidad fúngica de los suelos (21) demuestran que, tanto las formas vegetativas como de reproducción, contribuyen al dato de la frecuencia y abundancia de las especies, sobre todo en la producción de esporas y conidios, pero es la frecuencia de las especies en el habitat, lo más indicativo en la estructuración de una comunidad.

CONCLUSIONES

De acuerdo a la metodología utilizada, observamos en suelos sembrados de trigo una diversidad de especies celulolíticas con una frecuencia que varía en los tres ciclos de cultivo, situación también descrita

en la literatura (6).

Comparando las frecuencias de las especies en la parcela testigo y las tratadas con distintos herbicidas, se observaron variaciones particulares tanto a nivel de diversidad y distribución de esas poblaciones. No se aislaron *Fusarium moniliforme*, *Penicillium expansum*, *Absidia corymbifera*, en ninguno de los muestreos de suelos con 2-4 D más Dicamba, como tampoco *Fusarium oxysporum* con Metsulfurón-metil, *Trichoderma viride* y *Rhizopus oryzae* con 2-4 D más Dicamba y Fluroxypyr.

Aspergillus niger, *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, aparecen en general, como las especies de mayor frecuencia.

Solo las parcelas P2 y P3 presentan una disminución en el número y diversidad de especies al compararlas con las restantes con herbicida.

La diversidad de especies celulolíticas es más alta en los terrenos no intervenidos que en los cultivados; en los primeros la ausencia de una vegetación marcadamente dominante, permite la coexistencia de muchos taxas, mientras que en los segundos, se favorece a un menor número de competidores (21), debido a una determinada cobertura vegetal.

Los datos que registran las cepas de mayor población, indican la influencia de esas especies en la estructura y competitividad de las poblaciones celulolíticas, en el ciclo de cultivo del trigo y la dominancia de algunos fitopatógenos potenciales como *Fusarium solani*, en la primera etapa del desarrollo del cereal, especialmente en la parcela con Metsulfurón-metil más Dicamba. Estas situaciones crean el interés por conocer las condiciones bioquímicas que favorecen tal dominancia en los suelos.

REFERENCIAS

- 1.- Alexander, M. (1977). Introduction to soil Microbiology. John Wiley and Sons. London.
- 2.- Alvarez, D.P.; Luque, G.A.; Papa, J.C. (1993). Efecto de herbicidas para el control de malezas en cultivo de trigo, sobre la micota total del suelo. Enviado para su publicación a la Revista de Investigación Agropecuaria. Bs.As., Rep. Argentina.
- 3.- Booth, C. (1975). The genus *Fusarium*. C. M. I. Kew, Surrey, England.
- 4.- Bravery, A.F. (1968). Microbiological breakdown of cellulose in the presence of alternative carbon source. Journal of the Cience of Food and Agricultures, 19 : 133-135.
- 5.- Caretta, G. Del Frate, G. ; Della Franca, P.; Guglielminetti, M.; Mangiarotti, A.M.; Savino, E. (1986). Studies on the occurrence of fungi in a wheat-field. Boletín Micológico 3: 55-70.
- 6.- Domsch, K.H.; Gams, W.; Anderson, T.H. (1980). Compendium of soil fungi. Vol. I. Academic Press. London.
- 7.- Eggins, H.O.W. & Pugh, G.F. (1962). Isolation of cellulosic decomposing fungi from soil. Nature, 193 : 94-95.
- 8.- Ellis, M. B. (1971). Dematiaceous Hyphomycetes. C.M.I., Kew, Surrey, England.
- 9.- Filho, E.S. & Dhingra, O.D. (1980). Effect of herbicide on survival of *Macrophomina phaseolina* in soil. Trans. Br. Mycol. 74: 61-64.
- 10.- Flaigl, W.; Bentelspaecher, H. & Riets, E. (1975). Chemical composition and physical properties of humic substances. In Soil Components, Vol. I: Organic components. Edited by J. E. Gieseberg.
- 11.- Griffin, D. M. (1972). Ecology of soil fungi. Chapman and Hall. London.
- 12.- Hudson, H.J. (1968). The ecology of fungi remains above the soil. New Phytol. 67 : 837-874.
- 13.- Mandels, M. & Nystrom, J. (1974). Enzymatic hydrolysis of waste cellulose. Biotechnology and Bioengineering 16: 1471-1493.
- 14.- Parr, J.F. & Papendick, R.J. (1978). Factors affecting the decomposition of crop residues by microorganisms. In: W. R. Oschwald (ed) Crop Residue Management Systems, pp. 101-129.
- 15.- Piontelli, L., E.; Toro, S.M., M.A. (1989). Introducción al estudio de los microhongos. Parte I. Cátedra de Micología. Facultad de Medicina. Universidad de Valparaíso. Chile.
- 16.- Piontelli, L., E.; Toro, S.M., M.A (1990). Introducción al estudio de los microhongos. Parte II. Cátedra de Micología. Facultad de Medicina. Universidad de Valparaíso, Chile.
- 17.- Pitt, J.I. (1979). The genus *Penicillium* and its teleomorphic states, *Eupenicillium* and *Talaromyces*. London, Academic Press.
- 18.- Raper, K.B. & Fennel, D.I. (1965). The genus *Aspergillus*. Williams & Wilkins Co. Baltimore.
- 19.- Reinerst, S. A.; Elliott, L. F.; Cochran, V. L.; Campbell, G. S. (1984). Role of available carbon and nitrogen in determining the rate of wheat straw decomposition. Soil Biol. Biochem. 16 : 459-464.
- 20.- Rifai, M. A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Papers. 116 : 1-56.
- 21.- States, J.S. (1981). Useful criteria in the description of fungal communities. D.T. Wicklow and G.C. Carrol (eds.). The Fungal Community. Vol. 1. Marcel Dekker Inc. New York; pp. 185-199.