

Diversidad fúngica (Micromicetes) en suelo de cultivos hortícolas bajo sistema familiar de producción en Florencio Varela, provincia de Buenos Aires

María Cristina Sandoval¹, Mónica Beatriz Barrios², Claudia Botti¹, María Victoria Fernández¹, María Sol Gilardino¹, Cecilia Piwowarczuck¹, Eliana Rafart¹, Cintia Ruiz¹, Adriana Salvarezza¹, Diana Tagliatela¹

¹Cátedra Fitopatología. ²Cátedras de Edafología, Manejo y Conservación de Suelos y Planificación del uso de la tierra. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ.

Resumen

Los hongos cumplen un rol clave para el mantenimiento de los ecosistemas, motivo por el cual son considerados en los procesos de evaluación y conservación de los sistemas agro-alimentarios y ambientes naturales. El suelo es un importante reservorio fúngico que comprende una gran variedad de micro hábitats que favorecen la diversidad de las comunidades de hongos, esta diversidad contribuye a la salud del suelo. En este contexto, se realizó un estudio con el objetivo de caracterizar, cuantitativamente y cualitativamente, la diversidad fúngica en suelos de parcelas de cultivos hortícolas. Los resultados de dicha caracterización se muestran en el presente trabajo.

Palabras clave: Fungi, Suelo, Diversidad, Hortícolas.

Introducción

Los hongos cumplen un rol clave para el mantenimiento de los ecosistemas, motivo por el cual son considerados en los procesos de evaluación y conservación de los sistemas agro-alimentarios y ambientes naturales (Jarvis *et al.*, 2007). El suelo es un importante reservorio fúngico que comprende una gran variedad de micro hábitats que favorecen la diversidad de las comunidades de hongos (Marín, 2018); esta diversidad contribuye a la salud del suelo (Frąc *et al.*, 2018). Este ecosistema contiene una parte considerable de la biodiversidad total de hongos.

Los hongos intervienen en los procesos de descomposición, mineralización y reciclado de los nutrientes de las plantas. Los saprófitos tienen una especificidad limitada por sustratos y en sistemas agrícolas adquieren relevancia los patógenos de plantas y sus antagonistas (Pfenning y Magalhães de Abreu, 2012). Entre los patógenos se pueden distinguir dos tipos: los habitantes del suelo, y los invasores. Los primeros se encuentran normalmente en muchos suelos y permanecen casi indefinidamente en ellos, mientras que los invasores llegan con restos de las plantas infectadas y persisten sólo unos pocos años como máximo en ese ambiente. A estos se suman, los hongos patógenos que atacan los órganos aéreos de la planta que pueden permanecer cierto tiempo en los restos de los cultivos enfermos pero no son habitantes normales (Gepp, 2013). Según Pfenning y Magalhães de Abreu (Op. Cit.), las prácticas agrícolas causan más alteraciones cuantitativas que cualitativas en las comunidades de microhongos.

Las poblaciones de hongos están fuertemente influenciadas por la diversidad y composición de la comunidad vegetal y, a su vez, afectan el crecimiento de los vegetales a través del mutualismo, la patogenicidad y su efecto sobre la disponibilidad de nutrientes (Frac *et al.*, 2018). Entre los taxones fúngicos, “la división Ascomycota comprende el grupo de hongos más grande, diverso y ecológicamente importante; representan el 60% de especies y el 72% de los géneros descritos”. Presentes en distintos hábitats como saprofitos, parásitos o simbioses (Avalos Lázaro *et al*, 2018). En tal sentido, Pfenning y Magalhães de Abreu (Op. Cit.) sostienen que los sordariomycetes anamorfos y sinamorfos constituyen, probablemente, el grupo más grande de hongos que se encuentran en el suelo.

Con estos antecedentes, el presente trabajo fue realizado con el objetivo de caracterizar, cuantitativamente y cualitativamente, la diversidad fúngica en suelos de parcelas de cultivos hortícolas. Los resultados que aquí se muestran corresponden a la primera etapa de sucesivos proyectos, iniciados en el año 2014, enfocados en la caracterización de la diversidad fúngica, el estudio de variaciones temporales y espaciales y, los efectos de las prácticas de manejo de enfermedades sobre la micobiota, entre otros aspectos.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en establecimientos hortícolas, bajo sistema de producción familiar en transición agroecológica, pertenecientes a la Cooperativa La 1610 ubicada en Florencio Varela, provincia de Buenos Aires. Las muestras correspondieron a suelo de parcelas donde se cultivaban especies hortícolas y florícolas (Figura 1 y Tabla 1), y fueron recolectadas durante los años 2014-2019, en los meses de marzo y octubre de cada año. Cada muestra consistió en 200 g de suelo y el total de muestras recolectadas fue igual a 65.

Aislamiento de hongos

Para el aislamiento e identificación de hongos se tomó 1 g de cada muestra de suelo. Cada muestra se procesó mediante la técnica de aislamiento por dilución de suelo en placa, para lo cual se obtuvieron sucesivas diluciones en agua destilada estéril. Se sembró una dilución 10^{-3} en placas de Petri que contenían agar papa dextrosa al 2%, se realizaron tres repeticiones para cada muestra y se incubaron durante 8 días a 22 ° C para el recuento posterior de colonias.

Recuento de colonias e identificación

Después de la incubación, se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) y los resultados se expresaron en UFC por gramo de suelo (UFC g⁻¹). Para la identificación taxonómica de los especímenes fúngicos se realizaron observaciones macroscópicas de las colonias así como observaciones microscópicas de las estructuras fúngicas. Las observaciones microscópicas requirieron preparaciones en portaobjetos y cubreobjetos utilizando suero fisiológico como solución de montaje. Se consultaron claves taxonómicas específicas (Marasas *et al.*, 1983; Barnett y Hunter, 1998; Domsch *et al.*, 2007) y una vez identificados los microorganismos se calculó su frecuencia relativa.

Análisis de datos

Los hongos identificados se caracterizaron por su grado de similitud mediante el análisis de conglomerados jerárquicos, utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2011). Los atributos utilizados en la caracterización fueron los siguientes: UFC g⁻¹ de suelo y frecuencia relativa para cada género por separado utilizando la siguiente fórmula: N° UFC g⁻¹ género / total de UFC g⁻¹ de suelo. Otros atributos utilizados fueron: carácter saprofito, antagonista y patógeno (habitantes de suelo, invasores y patógenos de partes aéreas); para estos atributos se consideró presencia (1) y ausencia (0). Se calculó también el Índice de Simpson (1-D) (Magurrán, 2013) utilizando la fórmula $D = \sum n(n-1) / N(N-1)$. Donde n = número total de UFC de un género particular y N = número total de UFC de géneros de hongos.



Figura 1. Cultivos asociados a las muestras de suelo analizadas. A: Haba (*Vicia faba*); B: Frutilla (*Fragaria x ananassa*); C: Zapallo (*Cucurbita máxima*); D: Kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*); E: Clavel (*Dianthus caryophyllus*); F: Tomate (*Solanum lycopersicum*); G: Alcaucil (*Cynara scolymus*); H: Lechuga (*Lactuca sativa*); I: Repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*); J: Reina Margarita (*Callistephus sinensis*); K: Poroto (*Phaseolus vulgaris*); L: Berenjena (*Solanum melongena*)

Resultados y Discusión

Se detectaron en total 22 géneros (Tabla 1 y Figura 2), 20 correspondieron a hongos y 2 a pseudo hongos (oomycetes). Entre los hongos identificados las especies de los géneros *Fusarium*, *Phytophthora* y *Trichoderma* mostraron los valores absolutos más altos en UFC g⁻¹ de suelo, 2,6 x 10⁵, 2,3 x 10⁵ y 1 x 10⁵, respectivamente. Mientras que, los valores más bajos correspondieron a especies de los géneros *Allomyces*, *Phomopsis* y *Verticillium* con 84, 71 y 53 UFC g⁻¹ suelo, respectivamente (Figura 3). En relación a las frecuencias relativas calculadas, las especies de los géneros *Fusarium* y *Phytophthora* representaron el 81,2% del total (Figura 3). *Fusarium* es un parásito facultativo que se encuentra ampliamente distribuido en el suelo, los resultados del presente estudio muestran su abundancia en el suelo de 12 de los 16 cultivos asociados, esta cifra representa el 72% de los hongos identificados (Tabla 1). Si bien la patogenicidad de distintos aislamientos de *Fusarium* fue demostrada en estudios previos realizados en los establecimientos (Gilardino *et al.*, 2018), la confirmación del carácter patógeno de los aislamientos identificados en el presente estudio requiere de la utilización de marcadores moleculares para determinar cuál de las especies encontradas están relacionadas directamente con la patogenicidad en la planta (Salazar González *et al.*, 2020). Idénticas consideraciones son válidas para el hongo *Phytophthora*, presente en muestras de suelo de cinco cultivos asociados (Seba *et al.*, 2016).

Tabla 1. Micobiota identificada según orden, género y cultivo asociado a las parcelas donde se recolectaron las muestras de suelo

Orden	Género	Cultivo asociado ¹															
		F	B	L	T	A	C	R	H	To	Pi	Z	K	Be	P	Ce	Re
Agaricales	<i>Sclerotium</i>										X						X
Amphisphaeriales	<i>Pestalotiopsis</i>	X															
Blastocladales	<i>Allomyces</i>				X	X					X			X			
Cantharellales	<i>Papulospora</i>	X															
	<i>Rhizoctonia</i>	X	X														
Capnodiales	<i>Cladosporium</i>								X	X	X	X					X
	<i>Septoria</i>																
Diaphortales	<i>Phomopsis</i>			X						X							
Eurotiales	<i>Penicillium</i>	X	X														
	<i>Aspergillus</i>	X						X		X	X	X		X		X	
Glomerellales	<i>Colletotrichum</i>	X								X	X						
	<i>Verticillium</i>																
Helothiales	<i>Sclerotinia</i>				X						X					X	X
	<i>Botrytis</i>								X								
Hypocreales	<i>Trichoderma</i>	X	X	X													
	<i>Fusarium</i>	X	X			X	X	X	X	X	X			X		X	X
Mucorales	<i>Rhizopus</i>	X					X	X									X
Peronosporales	<i>Phytophthora</i>	X	X					X								X	X
	<i>Pythium</i>										X						
	<i>Septoria</i>				X		X			X							
Pleosporales	<i>Alternaria</i>					X			X	X	X					X	X
	<i>Stemphylium</i>															X	X

¹ Cultivo asociado: F: Frutilla (*Fragaria x ananassa*), B: Batata (*Ipomoea batatas*), L: Lechuga (*Lactuca sativa*), T: Tabaco (*Nicotiana tabacum*), A: Alcaucil (*Cynara scolymus*), C: Clavel (*Dianthus caryophyllus*), R: Romero (*Rosmarinum officinalis*), H: Haba (*Vicia faba*), To: Tomate (*Solanum lycopersicum*), Pi: Pimiento (*Capsicum annum*), Z: Zapallo (*Cucurbita máxima*), K: Kale (*Brassica oleracea* var. sabellica), Be: Berenjena (*Solanum melongena*), P: Puerro (*Allium ampeloprasum* var. porrum), Ce: Cebolla de verdeo (*Allium fistulosum*), Re: Repollo (*Brassica oleracea* var. capitata), Rm: Reina Margarita (*Callistephus sinensis*)

En relación a la posición taxonómica de los hongos identificados, el 66% correspondió a hongos incluidos en la división Ascomycota, el 16% a hongos incluidos en la división Basidiomycota, y el 8,3% a hongos incluidos en Blastocladiomycota y Oomycota (pseudogungi) respectivamente (Tabla 1). El predominio de Ascomycota, coincide con lo indicado para esta división (Avalos Lázaro *et al.*, 2018). También en relación a la división Ascomycota, se observó el predominio de la presencia de sordariomycetes (57% del total observado) (Tabla 1); grupo que según Pfenning y Magalhães de Abreu (Op. Cit.) constituye el grupo de hongos más grande que pueden encontrarse en el suelo.

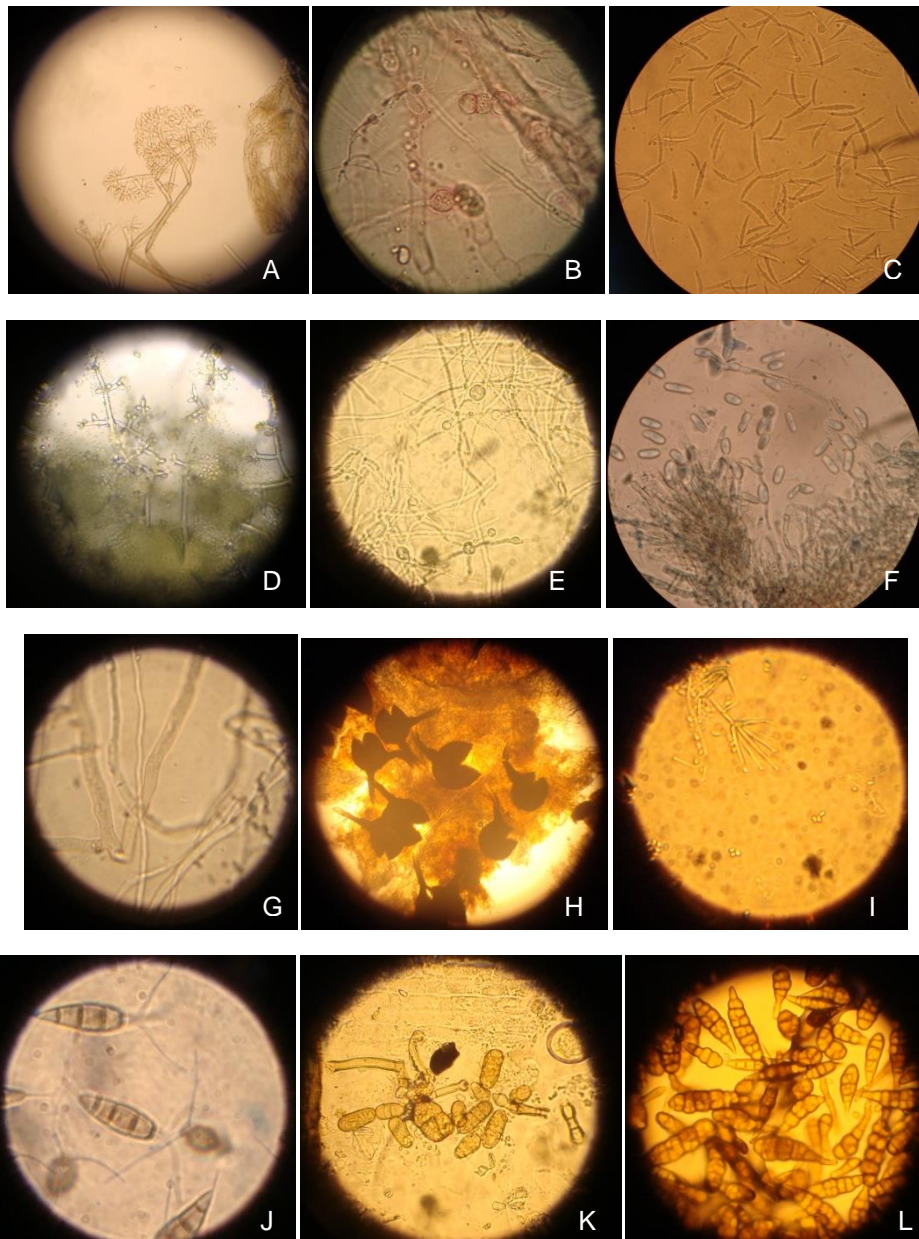


Figura 2. Hongos identificados en las muestras de suelo analizadas: A: *Botrytis*; B: *Pythium*; C: *Fusarium*; D: *Trichoderma*, E: *Pytophthora*; F: *Colletotrichum*; G: *Rhizoctonia*; H: *Phomopsis*; I: *Verticillium*; J: *Pestalotiopsis*; K: *Stemphylium*; L: *Alternaria*

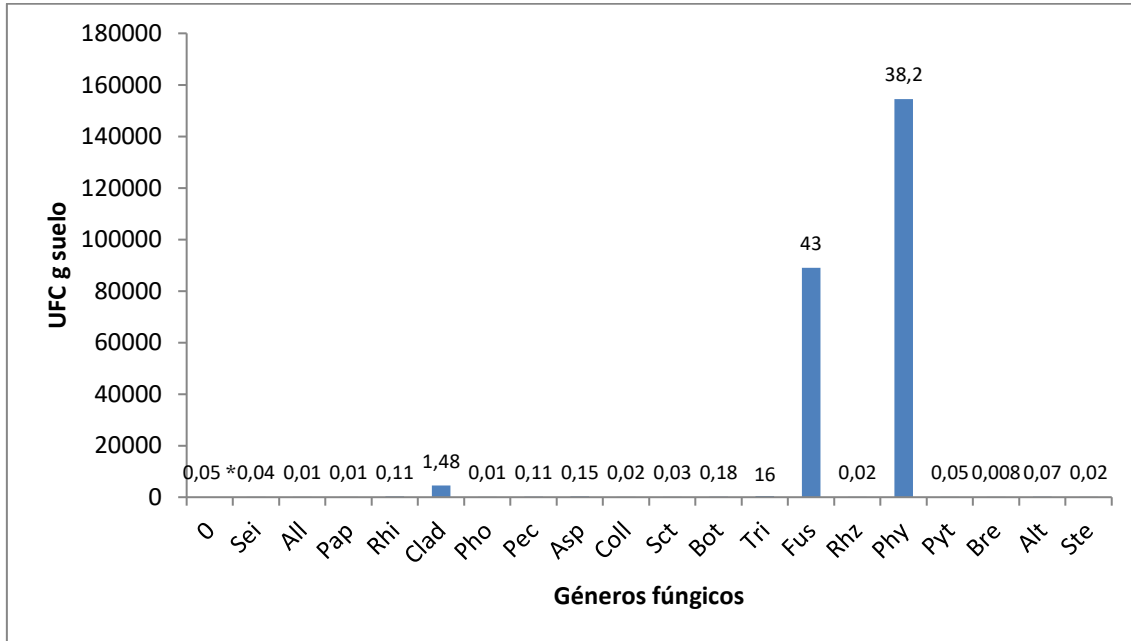


Figura 3. UFC por g⁻¹ suelo correspondientes a los géneros fúngicos identificados y frecuencia relativa (*) en %. Scl: *Sclerotium*, Sei: *Seiridium*, All: *Allomyces*, Pap: *Papulospora*, Rhi: *Rhizctonia*, Clad: *Cladosporium*, Pho: *Phomopsis*, Pec: *Penicillium*, Asp: *Aspergillus*, Coll: *Colletotrichum*, Sct: *Sclerotinia*, Bot: *Botrytis*, Tri: *Trichoderma*, Fus: *Fusarium*, Rhz: *Rhizoctonia*, Phy: *Phytophthora*, Bre: *Verticillium*, Alt: *Alternaria*, Ste: *Stemphylium*

Distintos estudios han mostrado el efecto de las prácticas de manejo sobre la composición de las comunidades de hongos en el suelo (Pfenning y Magalhães de Abreu; 2012); Franç *et al*, 2018). En tal sentido, a partir de los resultados alcanzados en el presente estudio pueden inferirse, entre otros, los siguientes efectos: i) la detección de *Allomyces* en cultivos de lechuga en suelos con alto contenido de humedad. *Allomyces* es un género incluido en la división Blastocladiomycota, una división de hongos de hábitat acuático o del suelo donde está activo cuando este hábitat se encuentra húmedo. En Argentina, Steciow y Eliades (2001) aislaron *A. neomoniliformis* “en un ambiente terrestre con restos de cosecha de trigo, soja y girasol y en muestras de agua y sedimento depositados en las márgenes de cuerpos de agua, provenientes de suelos aledaños”; ii) la detección de especies del género *Fusarium* en cultivos de batata, alcaucil, haba, y frutilla, entre otros (Tabla 1), en suelo donde se había incorporado previa siembra un abono a base de cama de pollo y cascarilla de girasol. La presencia de *Fusarium* se ha asociado con la utilización de enmiendas orgánicas “inmaduras” (Sandoval y Noelting, 1999); y, iii) la detección de *Pestalotiopsis* y *Phytophthora* en camellones de frutilla. Estudios de distribución espacial y temporal mostraron que *Phytophthora* fue introducido a través de plantines frigo infectados (Sandoval *et al.*, 2018).

En cuanto al potencial patógeno de los hongos identificados, puede indicarse según Geep (2013) que el 50% correspondió a hongos patógenos habitantes del suelo, el 48% a patógenos que atacan los órganos aéreos de la planta y persisten poco tiempo en suelo, y el 2% a hongos invasores del suelo. Estos datos son relevantes para la Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ. Vol. 7 (3) 2020: 19-27

elección de medidas de manejo tendientes a lograr la disminución de la población de hongos incluidos en la clasificación antes citada. Tanto como, la aplicación de medidas de manejo que favorezcan el incremento de especies de *Trichoderma*, el agente de control biológico más extensamente estudiado (Martínez *et al.*, 2013), detectado en este estudio con una frecuencia relativa del 16% (Figura 3).

Por otra parte, el análisis de agrupamiento realizado permitió determinar a una distancia euclídea de 6,66 la conformación de tres grupos (Figura 4). En la conformación de los mismos, tanto el número de UFC g⁻¹ de suelo (por ejemplo, *Fusarium* y *Phytophthora*) como el tipo y número de cultivos en el cual se detectaron (por ejemplo, *Allomyces*, *Sclerotinia* y *Cladosporium*) resultaron los principales criterios de agrupamiento.

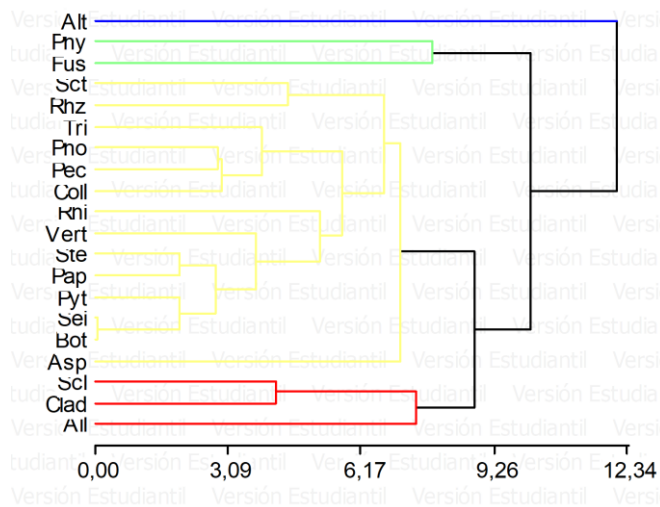


Figura 4. Análisis de agrupamiento de los géneros fúngicos detectados en muestras de suelo de cultivo hortícolas y florícolas. Encadenamiento completo. Distancia Euclídea, correlación cofenética 0,888

El índice de diversidad de Simpson (1-D) fue 0,81. Esto indica la presencia de una diversidad fúngica alfa relativamente alta en las muestras de suelo analizadas; dicha diversidad constituye uno de los criterios utilizados para indicar la salud del suelo (Frac *et al.*, 2018). Es adecuado considerar que índices como el de Simpson (1-D) son utilizados frecuentemente tanto para medir la estructura de comunidades como la comunidad fúngica, dado que incorporan simultáneamente la riqueza (número de especies) y la abundancia (número de individuos por cada especie) (Marín, 2018).

Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten enunciar las siguientes conclusiones:

Las especies de los géneros *Fusarium*, *Phytophthora* y *Trichoderma* mostraron los valores absolutos más altos en UFC g⁻¹ de suelo, y los valores más bajos correspondieron a especies de los géneros *Allomyces*, *Phomopsis* y *Verticillium*.

Las especies de los géneros *Fusarium* y *Phytophthora* mostraron también los mayores valores de frecuencia relativa. La confirmación del carácter patógeno de los aislamientos de ambos géneros, requiere de la realización de nuevos estudios

enfocados en la utilización de marcadores moleculares para determinar cuáles de las especies encontradas están relacionadas directamente con la patogenicidad en la planta.

La posición taxonómica de los hongos identificados mostró predominancia de hongos incluidos en la división Ascomycota y, en relación a esta división fúngica, el predominio de sordariomycetes.

En virtud de los resultados alcanzados, puede inferirse la existencia del efecto de las medidas de manejo sobre la composición de la micobiota del suelo en, al menos, las siguientes asociaciones: *Allomyces* en cultivo de lechuga en suelos con alto contenido de humedad; *Fusarium* en cultivos de batata, alcaucil, haba, y frutilla, entre otros, en suelo donde se había incorporado previa siembra un abono “inmaduro” a base de cama de pollo y cascarilla de girasol.

La detección de hongos de suelo potencialmente patógenos, y con alta predominancia, muestran la relevancia de la elección de medidas de manejo tendientes a lograr la disminución de estos hongos. Tanto como, la aplicación de medidas de manejo que favorezcan el incremento de las especies de *Trichoderma* identificadas.

El número de UFC g⁻¹ de suelo y el tipo y número de cultivos en el cual se detectaron los especímenes fúngicos fueron los criterios principales en el análisis de agrupamiento realizado.

La diversidad fúngica alfa, relativamente alta, encontrada a partir del estudio realizado mostraría una estabilidad de la comunidad fúngica. En tal sentido, puede considerarse a modo de hipótesis que las prácticas de las familias de La 1610 contribuyen a la diversidad fúngica observada.

Agradecimientos

Las autoras del trabajo agradecen a Luis Pérez, a Melanie Pérez Palacios, a Félix Manrique y a todos los integrantes de La 1610 por permitirnos compartir un espacio de construcción de saberes.

Bibliografía

Avalos Lázaro AA, Rosique Gil JE, Cappelo García S, Villarruel Ordaz JE. (2018) Ascomycetes (Fungi: Ascomycota) del Parque Estatal Agua Blanca, Macuspana, Tabasco, México. *Acta Botánica Mexicana* 122: 141-154

Barnett H L, Hunter BB. (1998). *Illustrated genera of Imperfecti Fungi*. St. Paul: APS Press.

Di Rienzo J A, Casanoves F, Balzarini M G, González L, Tablada M, Robledo CW. (2011). Universidad Nacional de Córdoba. Recuperado de: URL [http://www. infostat. com. ar](http://www.infostat.com.ar)

Domsch K H, Gams W, Anderson T. (2007). *Compendium of Soil Fungi*, 2nd edition, IHW Verlag: Eching.

Fraç M, Hannula SE, Belka M, Jędriczka M. (2018) Fungal Biodiversity and Their Role in soil Health. *Frontiers in Microbiology*. 9: 707

Geep V. (2013) Principales enfermedades de los cultivos hortícolas en Uruguay. Recuperado de: <http://www.pv.fagro.edu.uy/cursos/pvh/DocsPVH/Hortal2013.pdf>

Gilardino MS, Sandoval MC, Salvarezza A, Tagliatela D, Casacchia Sassone L, Fernández MV, Piwowarczuk CC, Rafart E, Ruiz C. (2018) Patógenos fúngicos de frutilla (*Fragaria x ananassa* Duchesne) cultivada bajo sistema de transición agroecológica. *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental*. 5(3): 3-12

Jarvis DI, Padoch C, Cooper HD (Eds.) (2007). *Manejo de la Biodiversidad en los Ecosistemas Agrícolas*. Roma: Bioersivity International.

Magurran A. (2013) *Measuring Biological Diversity*. Hoboken: John Wiley & Sons.

Marasas WFO, Nelson PE, Tousson TA. (eds.) (1983). *Fusarium species. An Illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania: University Park

Marín C. (2018) Conceptos fundamentales en ecología de hongos del suelo: una propuesta pedagógica y de divulgación. *Bol. Micol*. 33(1): 32-56

Martínez B, Infante D, Reyes W. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev. Protección Veg*. 28(1):1-11

Pfenning L, Magalhães de Abreu L (2012). Hongos de suelo saprófitos y patógenos de plantas. Cap. 8. En: Moreira FMS, Huisling EJ, Bignell DE (Eds.). *Manual de Biología de Suelos Tropicales*. México: Instituto Nacional de Ecología.

Salazar González C, Lagos Mora LE, Díaz Rodríguez V, Mora Chavez S, Betancourth García C. (2020). Caracterización de *Fusarium* spp. asociado con la pudrición basal de la cebolla de rama. *Revista U.D.C.A*. 23(1): DOI: 10.31910/rudca

Sandoval MC, Noelting MC. (1999). Diversidad microbiana en muestras comerciales de substratos orgánicos y bio-orgánicos empleados en cultivos intensivos. *Revista de Fitopatología ALF (Perú)* 34: 212.

Sandoval MC, Casacchia Sassone LR, Fernández MV, Gilardino MS, Piwowarczuk CE, Ruiz CS. (2018). Distribución espacial de *Phytophthora* de Bary en cultivo de frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Rev. Agron. Noroeste Argent. (Suplemento)*. 38 (1): 66

Seba N, Fernández MV, Gilardino MS, Mautone V, Piwowarczuk CE, Ruiz CS, Sandoval MC (2016). Enfermedades detectadas en cultivos hortícolas bajo sistema familiar de producción en Florencio Varela, provincia de Buenos Aires. *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental*. 3(2): 30-36