

HONGOS FITOPATOGENOS EN SUELOS DE LA REGION HORTICOLA PLATENSE: ESTUDIOS CUALITATIVOS Y DE PATOGENICIDAD

Gustavo M. Dal Bello

Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 119, (1900) La Plata

INTRODUCCION

Las enfermedades de origen micótico son la causa de importantes pérdidas en la producción hortícola. Entre los agentes fúngicos que las producen se destacan aquellos que lesionan directamente el sistema radical, invadiendo en algunos casos hasta el cuello de la planta, o actúan a distancia en forma indirecta segregando toxinas que alteran la permeabilidad de la membrana celular (Dimond, 1970; Rudolph, 1976).

El suelo también es el habitat temporal de formas resistentes de muchos hongos que parasitan el sector aéreo del vegetal. Por su presencia accidental en el medio edáfico a estas especies se las excluye del concepto de fitopatógenos, donde sí están involucradas las anteriores. Estos microorganismos pueden ser aislados para su estudio mediante técnicas apropiadas (Martinson y Baker, 1961; Mueller y Durrell, 1957; Singh y Nene, 1965; Warcup, 1950; Watson, 1960). Dentro de este espectro, el cultivo tal vez más sensible y por ende más afectado por ese grupo fungoso es el de las plantas hortícolas, que tiene en la zona rural de La Plata uno de los centros de explotación más importantes de la Argentina. Con el objeto de efectuar un relevamiento y determinación del grado de infectividad de la microflora causal de tan importantes enfermedades, se llevó a cabo el presente trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Origen del material

Los aislamientos se efectuaron a partir de 70 muestras de suelo extraídas desde la capa arable de distintas quintas ubicadas en I. Correa, Arana, Poblet, A. Et-

cheverry, Abasto, Gorina y Villa Elisa, pertenecientes a la zona hortícola platense. Las porciones de suelo fueron recolectadas con una cuchara flameada "in situ", transportándose luego en bolsas de polietileno estériles al laboratorio de Fitopatología donde se las procesó dentro de los 15 días.

Técnicas fitopatológicas

Efectuados los estudios comparativos entre los distintos métodos propuestos por la bibliografía consultada (Dal Bello, 1982) se adoptó la técnica de Waksman de dilución del suelo no lavado, modificando y utilizando los medios APG al 2% y Czapek-Dox, con el agregado de bilis de buey y estreptomycinina.

Las suspensiones de suelo se preparan por agitación: 10 g de suelo con 200 ml de agua destilada son mezclados durante 5 minutos en agitador magnético. Con un ml. de esta suspensión se obtiene una dilución de 1: 2.000. De esta suspensión se incorpora 1 ml. por caja de Petri estéril. Con cada muestra de suelo se efectuaron 5 repeticiones. Las cajas se incubaron en estufa a 25° C durante 7 días. Cotejados los resultados de las distintas dosis de suelo utilizadas, 10, 8, 5, 3, y 1 g, esta última fue la más apropiada para lograr un equilibrado número de colonias por caja. Se evaluó además el comportamiento de 9 medios de cultivo (APG; agar grass; APS; Richard; Czapek-Dox; Martin; Waksman modificado; agar malta y Coon's) en función de 4 parámetros:

- Recuperación de hongos patógenos o aparentemente no saprófitos.
- Dispersión de colonias fungosas en el medio de cultivo.
- Desarrollo de hongos saprófitos.
- Desarrollo de las colonias bacterianas.

Pruebas de patogenicidad

Las inoculaciones se efectuaron siguiendo 2 vías:

Inoculación de semillas.
Inoculación de raíces.

Inoculación de semillas: Las cepas se cultivaron en 2 sustratos diferentes: el medio de Bayles (1936) y en grano de maíz, ambos tinalizados a través de 3 pasajes sucesivos por autoclave a 100° C y 1 atm. durante 30 minutos con intervalos de 24 horas. Cuando la colonia ocupó toda la superficie del medio de cultivo, éste se incorporó a suelo previamente esterilizado con el mismo aparato, a 120° C y 1 atm por 20 minutos, contenido en potes de 20 cm de diámetro. Posteriormente se efectuó la siembra de distintas especies hortícolas mencionadas como sensibles.

Las macetas, regadas cada 2 días, permanecieron en cámara de cría (20° C y 12 hs de luz diarias) durante el lapso comprendido entre la germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas, observándose el efecto del parásito sobre la emergencia y tamaño alcanzado por las plantitas nacidas. Estos resultados fueron comparados con los respectivos testigos.

Para la inoculación en los estadios de pre y post emergencia, se emplearon semillas de hinojo (*Foeniculum vulgare* (Mill) v. *dulce* (Mill) Fiori); maíz dulce (*Zea mays* L. v. *saccharata* (Sturtev.) Bailey), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.); acelga (*Beta vulgaris* L. v. *cicla* Moq.); pimiento (*Capsicum annum* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.).

Inoculación de raíces: Esta técnica fue aplicada para probar la patogenicidad de las principales especies aisladas desde el suelo y susceptibles de producir enfermedades por vía radicular en plantas hortícolas de almácigo del tipo de las que son cultivadas en la región platense. En este ensayo se inocularon cebolla (*Allium cepa* L.); acelga; lechuga; pimiento y tomate.

La metodología empleada fue similar a la que se utilizó para la inoculación de semillas. En las macetas fueron transplantados plantines de almácigo de 40-50 días en grupos de 2 ó 3, manteniéndolos en cámara de cría con 12 hs de luz diarias y a 20° C durante 1 mes. En cada experiencia se emplearon 5 potes con plantas test.

RESULTADOS

Aislamientos

Fueron aisladas 72 cepas fúngicas que luego de ser identificadas por géneros y cuando fue posible especie, se dividieron en el grupo de los saprófitos, el más amplio, y en el de los patógenos. De estos últimos, que se enumeran en la Tabla 1, se efectuó el estudio de la morfología, hábitos de crecimiento y poder patogénico de aquellos hongos de mayor importancia fitopatológica por la gravedad de los daños que ocasionan en los cultivos hortícolas.

Tabla 1: Hongos patógenos aislados.

Aspergillus niger v. Tiegh.
Cephalosporium sp Corda
Fusarium oxysporum Schlecht. ex Fr.
F. equiseti (Corda) Sacc.
F. semitectum Berk. & Rav.
F. tricinatum (Corda) Saac.
F. solani (Mart.) Saac.
F. culmorum (W.G. Smith) Sacc.
F. graminearum Schwabo
F. moniliforme Sheldon
Gliocladium roseum (Link) Bain
Hyalodendron sp Diddens
Myrothecium roridum Tode ex. Fr.
Periconia sp Tode ex Schw.
Phytophthora sp de Bary
Pythium sp Pringsh
Rhizoctonia sp DC. ex Fr.
Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary.
Sclerotium rolfsii Saac.
Verticillium albo-atrum Reinke & Berth.

Pruebas de patogeneidad se indican en las tablas 2 y 3

DISCUSION

Sobre la base de los estudios realizados, especialmente las pruebas de patogenicidad, pudo establecerse el distinto grado de susceptibilidad a los hongos del suelo que se aislaron de las especies hortícolas utilizadas; Sobre maíz dulce *F. graminearum* resultó altamente patógeno; *F. oxysporum* y *F. moniliforme* se comportaron como patógenos débiles; *Cladosporium* sp. no fue patógeno.

Sobre hinojo, *Cladosporium* sp. *F. moliniforme* y *F. oxysporum* no demostraron patogenicidad alguna.

Sobre tomate resultaron altamente patógenos *Rhizoctonia* sp; *Sclerotium rolfsii*, *F. solani*; *F. tricin-*

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

TABLA 2: Efectos comparativos de las inoculaciones realizadas en semillas.

Hospedante	HINOJO	MAIZ	TOMATE	PIMIENTO	ACELGA	LECHUGA
TESTIGOS	-	-	-	-	-	-
<i>Sclerotium rolfsii</i>	NP	NP	Y (7) ZZ (25)	Y (7) ZZ (25)	Y (10) ZZ (20)	Y (10) ZZ (20)
<i>Phytophth. sp</i>	NP	NP	Y (7) W (25)	YY (7) ZZZ (25)	YY (10) ZZZ (20)	YY (10) ZZ (20)
<i>Sclerotinia Sclerotiorum</i>	NP	NP	YY (7) Z (20)	YY (10) Z (30)	Y (10) ZZZ(12)	YY (10) ZZ (20)
<i>Rhizoctonia sp</i>	NP	NP	YY (7) Z (20)	Y (10) Z (30)	YYY(10) ZZ (12)	YY (10) ZZ (20)
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	X Z (20)	NP	NP	NP	NP
<i>Fusarium moniliforme</i>	-	X Z(20)	NP	NP	NP	NP
<i>Fusarium graminearum</i>	NP	X ZZ(20)	NP	NP	NP	NP
<i>Cladosporium sp</i>	-	-	NP	NP	NP	NP

- : Germinación y crecimiento de las plántulas, normales.
X : Germinación normal; Retraso en el crecimiento de las plántulas.
NP: Virulencia no comprobada.
Y : Germinación retrasada; Menor Nº de semillas germinadas.
Z : Necrosis radical y del cuello de la plántula; Vuelco.
W : Retraso en el crecimiento de las plántulas; Sin vuelco.
() : Período en días en el cual se verificó el síntoma.

TABLA 3: Efectos comparativos de las inoculaciones realizadas en raíces.

Hospedante	CEBOLLA	ACELGA	LECHUGA	PIMIENTO	TOMATE
TESTIGOS	-	-	-	-	-
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Y (15)	Y (10)	YYY (10)	YYY (7)	YYY (7)
<i>Aspergillus niger</i>	X (20)	NP	NP	NP	NP
<i>Rhizoctonia sp</i>	NP	Y (20)	Y (10)	-	Y (20)
<i>Phytophth sp</i>	NP	NP	NP	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	NP	YYY (15)	YYY (10)	NP	NP
<i>Fusarium solani</i>	NP	NP	NP	Y (12)	YY (4)
<i>Fusarium tricinctum</i>	NP	NP	NP	Y (12)	YYY (4)

- : Desarrollo normal de las plántulas.
NP: Virulencia no comprobada.
X : Retraso en el crecimiento sin muerte de la planta.
Y : Marchitamiento de las hojas; Estrangulamiento del cuello; Necrosis radical y vuelco.
() : Período en días en el cual se verificó el síntoma por primera vez.

El símbolo repetido indica la mayor susceptibilidad del hospedante al patógeno.

ctum, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Phytophthora* sp. Esta última no produjo síntomas en las plantas, sólo afectó la germinación de las semillas.

Sobre pimiento fueron altamente patógenos, *Sclerotium rolfsii*; *Sclerotinia sclerotiorum*; *F. solani*; *F. oxysporum*; *F. tricinctum*; *Rhizoctonia* sp y *Phytophthora* sp. Las 2 últimas incidieron en la germinación de las semillas pero no causaron lesiones en las plantas.

Sobre cebolla, *Sclerotium rolfsii* resultó altamente patógeno, mientras que *Aspergillus niger* se comportó como un patógeno débil.

Sobre lechuga, *Rhizoctonia* sp; *Sclerotium rolfsii*; *Phytophthora* sp y *Sclerotinia sclerotiorum* demostraron ser muy virulentos. El alto grado de patogenicidad de estos hongos, incluyendo a *F. oxysporum*, también se manifestó sobre acelga.

Se observa que los alcances de la enfermedad dependen de cada asociación hospedante-parásito en particular, existiendo además una marcada relación entre la edad de las plantas y la intensidad de la infección ocasionada por el patógeno.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento a quien dirigiera y colaborara en la ejecución de este trabajo; Prof. Ing. Agr. Héctor E. Alippi.

REFERENCIAS

- Bayles, B. B., 1936. Influence of environment during maturation on the diseases reaction and yield of wheat and barley. Jour. Agric. Res. 53: 717-748.
- Dal Bello, G. M., 1982. Selección de dos medios de cultivo adaptados al aislamiento de hongos del suelo. Actas 2º Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Bs. As.: 42-52.
- Dimond, A. E., 1970. Biophysics and Biochemistry of the vascular wilt syndrome. Annual Review of Phytopathology 8: 301-322.
- Martinson, G. y R. Baker, 1962. Increasing relative frequency of specific fungus isolations with soil microbiological sampling tubes. Phytopathology 52: 619-621.
- Mueller, K. E. y L. W. Durrell, 1957. Sampling Tubes for soil fungi. Phytopathology 47: 243.
- Rudolph, K., 1976. Forces by which the pathogen attacks the host plant. Non-specific Toxins. En: Heitefuss y Williams (Ed.) Encyclopedia of Plant Physiology. New Series Vol. 4. Physiological Plant Pathology: 270-315. Springer-Verlag.
- Sing, R. y S. Nene, 1965. Some observations on malaquite green and Captan for determination of *Fusarium* population in soils. Plant Diseases Reporter 49: 114.
- Warcup, J. H., 1950. The soil plate method for isolation of fungi from the soil. Nature 166: 117.
- Watson, R. D., 1960. Soil washing improves the value of the soil dilution and the plate count method of estimating populations of soil fungi. Phytopathology 50: 792-794.

