

3.2. EFECTO DE LA BIODIVERSIDAD VEGETAL SOBRE LA DINÁMICA POBLACIONAL DE PATÓGENOS DE SUELO EN SISTEMAS HORTÍCOLAS

Carolina Leoni, Maria de Vries, Juan Carlos Gilsanz, Ariena van Bruggen, Walter Rossing

Introducción

La rotación de cultivos es una de las prácticas más antiguas de la agricultura, mediante la cual se realiza el manejo de la nutrición, de las malezas, de los insectos plaga y de las enfermedades, principalmente las de suelo. Es una estrategia de manejo de largo plazo, y en el diseño de las mismas se recomienda incluir abonos verdes, leguminosas y plantas con sistemas radiculares profundos (IFOAM, 2006).

Un agroecosistema saludable es un pre-requisito para su sustentabilidad, y está fuertemente vinculada a la biodiversidad vegetal. En este sentido las rotaciones de cultivos son una valiosa herramienta pues proporcionan diversidad espacial y temporal, tanto a nivel predial como de paisaje. Cuanto mayor es el número de cultivos en la rotación, más pequeña es el área asignada a cada cultivo, y como consecuencia la agro-biodiversidad se incrementa. El tamaño y la distribución de los mosaicos de cultivos y las áreas adyacentes en el espacio y tiempo afectan significativamente la sanidad de los cultivos. La selección adecuada de los cultivos de una rotación es el balance entre la ideal según criterios ecológicos y la práctica que asegure beneficios económicos en el corto y mediano plazo.

La efectividad de la rotación de cultivos en el manejo de las enfermedades de suelo depende de la frecuencia de los hospederos y de la habilidad de sobrevivencia del patógeno. En la Figura 1 se puede apreciar que es relativamente más sencillo el manejo de los patógenos que tienen un estrecho rango de hospederos y baja sobrevivencia que aquellos que poseen un rango de hospederos más amplio y/o alta capacidad de sobrevivencia. En el manejo de estos últimos, además de una cuidadosa selección de los especies vegetales integrantes de la rotación, se deberán considerar otras medidas de manejo como resistencia / tolerancia genética, control biológico y/o control cultural.

Para diseñar rotaciones adecuadas a nuestras situaciones productivas, es necesario incrementar el conocimiento del efecto de la frecuencia de cultivos y las actividades inter-cultivo como (abonos verdes, barbecho) sobre la sobrevivencia y multiplicación de los patógenos. Con este objetivo, fueron definidos una serie de experimentos, que consideraron dos patógenos con alta capacidad de sobrevivencia en el suelo, uno de ellos patógeno de pocos huéspedes (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en Aliaceas) y el otro en más de 500 especies (*Sclerotium rolfsii*).

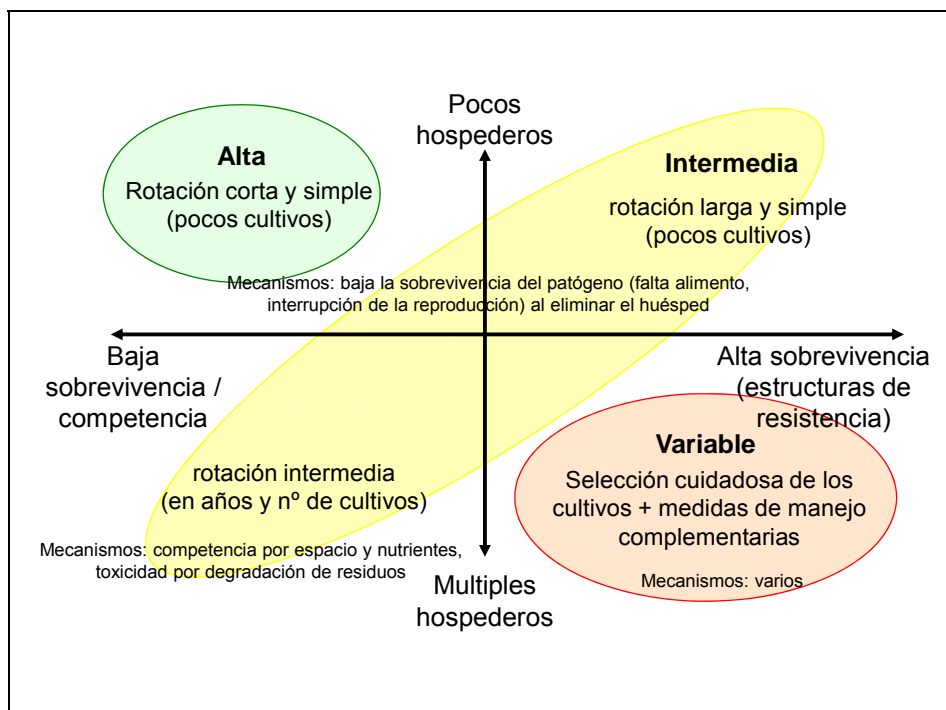


Figura 1. Efectividad de la rotación de cultivos en el manejo de patógenos de suelo

Materiales y métodos

Efecto de las diferentes especies vegetales en la supervivencia de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* (Foc).

Fusarium oxysporum f.sp. *cepae* (Foc) es el patógeno causante de la podredumbre basal y radicular de la cebolla (*Allium cepae*), ajo (*Allium sativum*) y puerro (*Allium porrum*). Sobrevive varios años en el suelo mediante estructuras de resistencia (clamidosporas) y en restos de cultivo como micelio y conidios, y además puede infectar *Oxalis* spp. sin causar enfermedad (Brayford, 1996). En otras regiones se reportan como estrategias de manejo las rotaciones y el uso enmiendas orgánicas (Brayford, 1996, Özer et al, 2002). El objetivo de este experimento fue determinar si *Foc* sobrevive y/o se multiplica en otras especies “no alliáceas”, lo que permite conocer mejor la dinámica del patógeno en el suelo y seleccionar aquellas especies vegetales más adecuadas para el manejo de la enfermedad mediante la rotación de cultivos.

A fines de febrero de 2010 se instaló un experimento en el invernáculo donde 14 especies vegetales fueron sembradas en una mezcla de suelo-arena inoculada o sin inocular con *Foc*-benomyl resistente. Luego de 3 a 4 meses, las plantas se desenterraron, se lavó el sistema radicular sobre una serie de tamices y fueron colectadas todas las raíces, las cuales fueron divididas en dos grupos. Uno de ellos fue utilizado para estimar la densidad radicular mediante escaneo y análisis de imágenes (software APS ASSESS) y con el otro mediante plaqueo de una suspensión de raíces en medio selectivo se estimó el número de colonias de *Foc* presentes (Dhingra y Coelho Netto, 2001). El diseño experimental fue de bloques completos al azar con 4 repeticiones. La respuesta de las diferentes especies frente a *Foc* se analizó mediante ANOVA y análisis de cluster.

Efecto del agregado de abonos verdes al suelo en la sobrevivencia de esclerotos de *Sclerotium rolfsii*

Sclerotium rolfsii es patógeno de varios cultivos, especialmente de aquellos de ciclo primavero-estival. Ocasiona podredumbres blandas con formación de esclerotos sobre los tejidos vegetales cercanos al suelo. Los esclerotos son la forma de resistencia del hongo, y pueden sobrevivir varios años dependiendo de las condiciones ambientales. El objetivo de este experimento fue evaluar la supervivencia de esclerotos de *S. rolfsii* en suelo con el agregado de diferentes abonos verdes, para seleccionar cultivos que contribuyan al manejo de enfermedades causadas por *S. rolfsii*.

El experimento se realizó durante los años 2009 y 2010. En parcelas de crecimiento de distintos abonos verdes (AV), se colectó el suelo superficial (10 cm superiores), el cual se tamizó y mezcló con arena estéril (2/3 suelo + 1/3 arena). Para simular el efecto de los AV, se cosechó la parte aérea de los mismos, que se picó e incorporó a la mezcla de suelo+arena en cantidades equivalentes a las normalmente empleadas a campo. Con cada mezcla de suelo y AV se llenaron macetas de 1,5 litros. Como control se utilizó la mezcla de suelo y arena sin el agregado de AV. En bolsas de malla, se colocaron 100 gr de mezcla de suelo+arena+AV más 25 esclerotos de *S. rolfsii*. Las bolsas fueron enterradas en las macetas a una profundidad de 10 cm. Las macetas se colocaron en el invernáculo, se regaron regularmente. A los 0, 30, 60 y 90 días fueron retiradas 4 macetas+bolsas por AV. El contenido de cada bolsa se secó a temperatura ambiente y se determinó el porcentaje de esclerotos viables mediante la técnica de inmersión en metanol 1% e incubación a 25 °C (Rodríguez-Kabana et al, 1980). El diseño experimental fue de bloques completos al azar con 4 repeticiones. El efecto de los diferentes cultivos se analizó mediante el porcentaje de sobrevivencia de los esclerotos a los 90 días respecto al día “cero” y por ANOVA del n° esclerotos/100 g suelo seco.

Resultados

Efecto de las diferentes especies en la sobrevivencia de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* (*Foc*).

Las especies vegetales evaluadas tuvieron diferente habilidad en multiplicar *Foc*. De acuerdo al análisis de clúster, se registraron tres grupos, con medias de 42.704, 10.266 y 421 *Foc* c.f.u / g de raíz seca. (Figura 2). El Grupo 3, constituido por moha, caupi, girasol y trigo fue similar a las plantas control (sin inocular). En todas ellas, la multiplicación del patógeno fue menor que en cebolla. Por el contrario el poroto negro fue la especie en la que se registró la mayor multiplicación.

El análisis de clúster de la densidad radicular de las especies, también detecta tres grupos con medias de 3.502, 2.617 and 0.840 cm/cm³, para los grupos 1 (avena negra, tomate, sudangras, maíz dulce), 2 (avena, trigo, maíz)) y 3 (cebolla, lupino blanco, lupino azul, moha, girasol. caupi, poroto negro) respectivamente.

La combinación de los datos de *Foc* por gramo de raíz con la densidad radicular de cada especie, permite estimar la contribución de la misma al aumento de inóculo en el suelo. Por ejemplo, tomate, poroto negro, avena y maíz dulce tendrán una contribución similar por planta al incremento de *Foc* en el suelo, si bien están en grupos diferentes tanto en multiplicación de *Foc* como en densidad radicular.

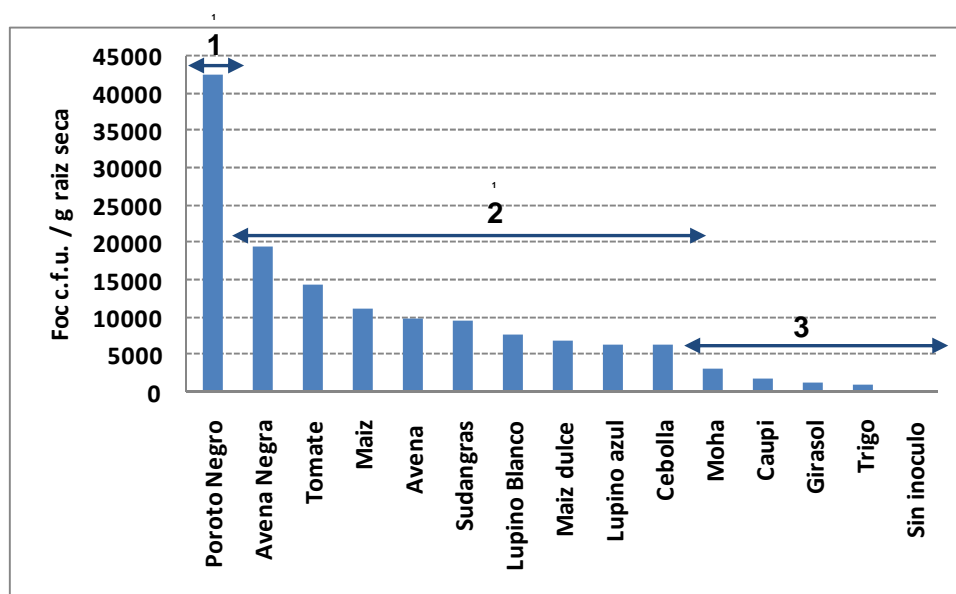


Figura 2. Número medio final de unidades formadoras de colonias (c.f.u) de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* (Foc) por gramo de raíz seca. Los grupos 1, 2 y 3 se determinaron mediante análisis de clúster.

Efecto del agregado de abonos verdes al suelo en la sobrevivencia de esclerotos de *Sclerotium rolfsii*

En los dos años evaluados, el agregado de los abonos verdes al suelo mostró diferentes efectos en la capacidad de sobrevivencia de los esclerotos de *S. rolfsii*, cuando se los contrastó con el del suelo sin abono verde (Figura 3).

Los análisis de varianza para el número de esclerotos viables/100 g de suelo seco fueron significativos en las cuatro situaciones evaluadas: Abonos verdes de invierno (AVI) 2009 ($P > F = 0,003$), AVI 2010 ($P > F = 0,066$), Abonos verdes de verano (AVV) 2009 ($P > F = 0,038$) y AVV2010 ($P > F = 2,647 \times 10^{-05}$). Los responsables de estos efectos son los compuestos que liberan los tejidos vegetales durante su descomposición, los cuales difieren entre las especies evaluadas.

De los abonos verdes de verano, las leguminosas poroto negro y caupi aumentaron la sobrevivencia de esclerotos viables de *S. rolfsii* a los 90 días. En el primer caso el incremento fue de 399% en 2009 y 226% en 2010, en el segundo de 228% en 2009 y 105% en 2010. En el caso del agregado de *Crotolaria* los valores registrados fueron de 51% y 71% en 2009 y 2010 respectivamente, semejantes a la incorporación de gramíneas como AVV. Sudangrass y moha presentaron los mayores efectos en la reducción de la sobrevivencia de esclerotos.

Casi todos los abonos verdes de invierno mostraron una reducción en la sobrevivencia de *S. rolfsii*, con excepción del lupino blanco en 2009 (114%). Al comparar la sobrevivencia con suelo sin agregado de abonos verdes, trigo en 2009 y los lupinos y trébol rojo en 2010, fueron las especies que afectaron de forma más negativa la sobrevivencia de los esclerotos.

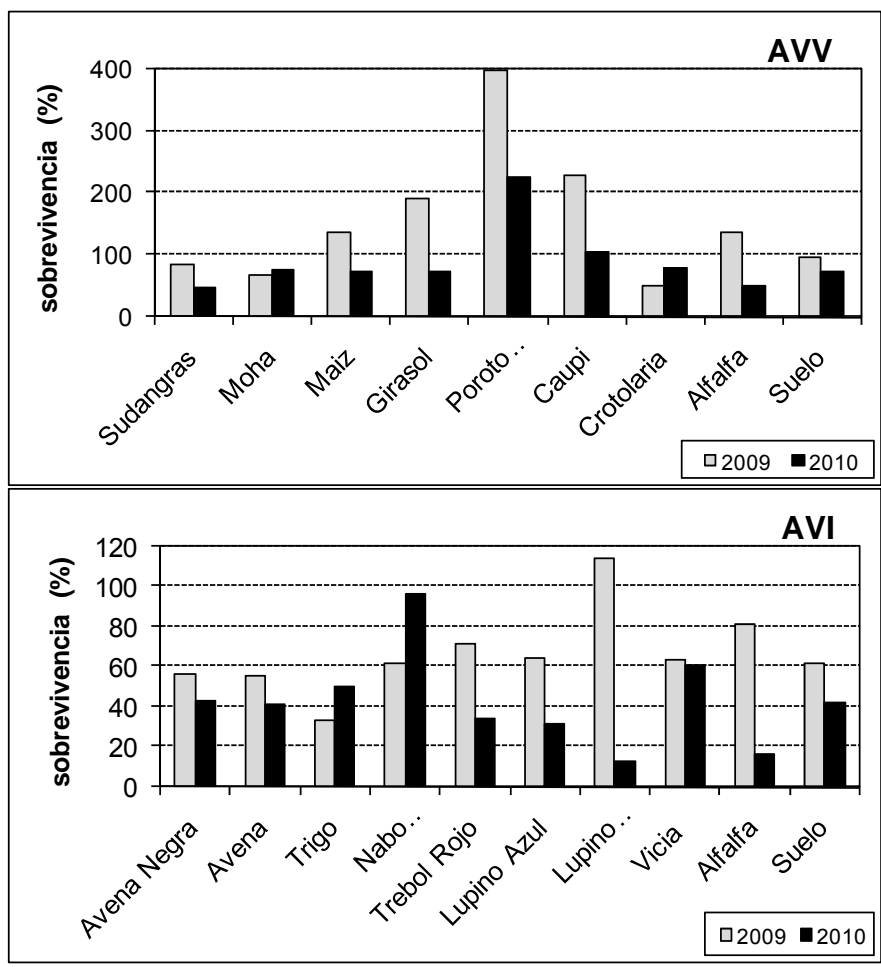


Figura 3. Porcentaje de sobrevivencia a los 90 días respecto al día “cero”, de esclerotos de *Sclerotium rolfsii* en suelo con agregado de abonos verdes, bajo condiciones de invernáculo. AVI: Abonos verdes de verano, AVI: abonos verdes de invierno. (Nota: 100% sobrevivencia significa que el número de esclerotos viables el día 90 es igual al número de esclerotos viables el día 0).

Discusión

Las comunidades microbianas componentes de la biota del suelo están determinadas por el clima, el tipo de suelo y las comunidades vegetales presentes (Garbeva, et al., 2004, Hartman et al., 2009). Para un determinado suelo, la rotación de cultivos es la principal fuerza seleccionadora de los grupos funcionales presentes, y las diferencias en cantidad y calidad de los exudados radiculares y la degradación del material vegetal de sucesivas especies vegetales determina la composición de las diferentes comunidades en el suelo.

En el caso de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* (*Foc*), se observa que es capaz de sobrevivir y de multiplicarse en diferentes especies sin causar enfermedad (sobrevive como saprófito y/o endófito). Esta capacidad de *Foc* es semejante a la reportada para otras *formae specialis* de *Fusarium oxysporum*, como *F.o. f.sp. phaseoli* (Dhingra y Cohelo-Neto, 2001) y *F.o. f. sp. elaeidis* (Oritsejafor y Adeniji, 1990).

El trigo fue una de las especies en la que se registró menor multiplicación de *Foc*. Es una de las especies que ha sido estudiada por su capacidad de sostener altas poblaciones de

F.oxysporum no patogénicas, las cuales son competidoras por nutrientes y sitios de colonización con las formas patogénicas (Edel et al., 1997). Esto hace que sea mejor que la avena para incluir en las rotaciones con cebolla, la cual es utilizada actualmente como abono verde de invierno.

Al analizar la sobrevivencia de *Sclerotium rolfsii*, vemos diferencias entre las enmiendas con diferentes abonos verdes. En general, las enmiendas de invierno redujeron la sobrevivencia de *S. rolfsii* en mayor medida que las enmiendas de verano. Esto en parte se explica porque los AVI se entierran al inicio del verano y se descomponen bajo temperaturas de suelo entre 20°C y 29°C, favorables para los procesos de descomposición de los tejidos vegetales y volatilización de los compuestos tóxicos liberados, ya sean cianoglucósidos e isotiocianatos o saponinas y flavonoides, provenientes de brásicas y poaceas respectivamente (Bahraminejad et al., 2008, Matthiessen and Kirkegaard, 2006, Stapleton et al., 2010). Además de la liberación de compuestos tóxicos, la incorporación de AV genera cambios en las propiedades físico-químicas y biológicas (comunidades microbianas benéficas) del suelo, las cuales afectan no solo la sobrevivencia de los esclerotos, sino que contribuyen a la supresividad del desarrollo de enfermedades ocasionadas por *S. rolfsii* (Bulluck y Ristaino, 2002, Liu et al., 2007).

Conclusiones

En general las recomendaciones de rotaciones de cultivos y en particular la inclusión de abonos verdes se han centrado en aspectos de manejo agronómico y conservación de suelos, y poca atención se ha prestado a la dinámica de patógenos y enfermedades. Y cuando se consideran recomendaciones para el manejo de enfermedades se restringen a sugerir “rotar familias”. Esa visión no es suficiente al momento de diseñar sistemas de producción sostenibles y la inclusión de los efectos en las comunidades patógenas y benéficas (no consideradas en el presente trabajo) deberán ser considerados.

Bibliografía

- Bahraminejad, S., Asenstorfer, R.E., Riley, I.T., Schultz, C.J. 2008. Analysis of the antimicrobial activity of flavonoids and saponins isolated from the shoots of oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Phytopathology* 156, 1–7.
- Brayford, D. 1996. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria No. 1263. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Mycopathologia* 133: 39-40.
- Bulluck, L. R., III, Ristaino, J. B. 2002. Effect of synthetic and organic soil fertility amendments on southern blight, soil microbial communities, and yield of processing tomatoes. *Phytopathology* 92:181-189.
- Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Alabouvette, C. 1997. Populations of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* associated with roots of four plant species compared to soilborne populations. *Phytopathology* 87: 693-697.
- Garbeva, P., van Veen, J.A., van Elsas, J.D. 2004. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology* 42:243–70
- Gilsanz JC, Arboleya J, Maeso D, Paullier J, Behayout E, Lavandera C, Sanders DC, Hoyt GD. 2004. Evaluation of limited tillage and cover crop systems to reduce N use and disease population in small acreage vegetable farms mirror image projects in Uruguay and North Carolina, USA. In: Bertschinger L, Anderson JD (eds) *Proceedings of XXVI IHC, sustainability of horticultural systems*, Acta Hort 638:163–169

- Hartmann, A., Schmid, M., van Tuinen, D., and Berg, G. 2009. Plant –driven selection of microbes. *Plant and Soil* 321 : 235 – 257.
- IFOAM. 2006. The IFOAM norms for organic production and processing. Version 2005. Corrected version January 2009. Accessed on July, 30th 2009 at http://www.ifoam.org/about_ifoam/standards/norms/norm_documents_library/Norms_ENG_V4_20090113.pdf
- Liu, B., Gumpertz, M.L., Hua, S., Ristaino, J.B. 2007. Long-term effects of organic and synthetic soil fertility amendments on soil microbial communities and the development of southern blight. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 2302–2316
- Matthiessen, J.N. and Kirkegaard, J.A. 2006. Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soilborne pest and disease management. *Critical Review in Plant Science* ,25: 235 – 265.
- Mazzola M.2004. Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression. *Annu Rev Phytopathol* 42:35–59
- Oritsejafor, J. J. y Adeniji, M.O. 1990. Influence of host and non-host rhizospheres and organic amendments on survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaedis*. *Mycological Research*. 94: 57-63
- Özer, N., Köycü,N.D., Mirik,M., Soran, H., Boyraz, D. 2002 Effect of some organic amendments on onion bulb rot. *Phytoparasitica* 30(4):1-5.
- Rodriguez-Kabana, R., Beute, M.K. and Backman, P.A. 1980. A method for estimating numbers of viable sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil. *Phytopathology* 70: 917 – 919.

Palabras clave: rotaciones, abonos verdes, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, *Sclerotium rolfsii*

Parte de estos resultados han sido/ serán presentados en eventos científicos:

Leoni, C., ter Braak. C.J.F., Gilsanz, J.C., van Bruggen, A.H.C., Rossing, W.A.H. 2010. Dynamics of *sclerotium rolfsii* survival in green manure amended soil. 1^{er} Congreso Latinoamericano y Europeo en Co-innovación de sistemas sostenibles de sustento rural. 28 al 30 de Abril 2010. Minas – Uruguay. (Presentación oral)

Leoni, C., ter Braak. C.J.F., Gilsanz, J.C., van Bruggen, A.H.C., Rossing, W.A.H. 2010. Dinámica de la sobrevivencia de esclerotos de *Sclerotium rolfsii* en el suelo con diferentes enmiendas de abonos verdes. Taller SUCS-ISTRO 2010, Colonia, Uruguay. (Poster)

Leoni, C., de Vries, M., Gilsanz, J.C., van Bruggen, A.H.C., Rossing, W.A.H. 2012. Screening crops for their ability to host *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. 2012. 19th ISTRO Conference. 24 al 28 Setiembre. Montevideo, Uruguay. (Poster)