

3.3. EFECTO DE LA SECUENCIA DE CULTIVOS SOBRE LA DINÁMICA DE LOS PATÓGENOS DE TRIGO Y CEBADA DEPENDIENTES DEL RASTROJO Y COMUNIDADES BENÉFICAS EN AGRICULTURA DE SECANO EN SIEMBRA DIRECTA

Silvia Pereyra, Amalia Ríos, Stella Zerbino

Introducción

Las transformaciones ocurridas en la agricultura en el país en los últimos años hacia una creciente intensificación han estado acompañadas de la utilización generalizada de la siembra directa, una menor diversificación en la secuencias de los cultivos y cultivares sembrados y un incremento en el uso de agroquímicos. Estos factores han inducido cambios en la dinámica de las poblaciones de microorganismos benéficos y de patógenos y las problemáticas asociadas a estos últimos (Pérez et al., 2009).

En siembra directa, el rastrojo en superficie es sustrato y garantía de sobrevivencia para los hongos que dependen casi exclusivamente de su presencia como los agentes causales de las manchas foliares y la fusariosis de la espiga de trigo y cebada (Pereyra, 1996; Stewart et al., 2001). El rastrojo en superficie no sólo funciona como reservorio de esporas, sino además induce a hongos como *Drechslera tritici-repentis*, *D. teres*, *Fusarium graminearum* a reproducirse sexualmente produciendo pseudotecios/peritecios en los que se originan ascosporas, inóculo primario de las enfermedades respectivas. La intensidad de las manchas foliares y de fusariosis de la espiga son afectadas directamente por la cantidad de rastrojo en superficie (Stewart et al., 2001; Pereyra y Dill-Macky, 2008).

Trichoderma es un hongo cosmopolita presente habitualmente en suelo y rastrojo con gran capacidad antagónica frente a las especies de patógenos antes mencionadas. Este género posee respuesta a la secuencia de cultivos en especial en sistemas de siembra directa (Beare et al., 1993)

Las medidas más sustentables para lograr disminuir el riesgo de infección en un sistema de agricultura intensiva en donde más del 80% de los cultivos se siembran bajo la modalidad de cero laboreo son el uso de variedades resistentes y la rotación de cultivos. El menú de variedades de cultivos de invierno disponibles actualmente no asegura resistencia a todas las enfermedades asociadas al rastrojo. Por otra parte, la lista reducida de especies vegetales manejadas en el presente en los sistemas agrícolas compromete el beneficio de una rotación de al menos dos años sin cultivos susceptibles como es la recomendación en base a resultados obtenidos en los últimos 15 años (Pereyra, 2009; Pérez et al., 2011).

El objetivo de este trabajo fue conocer la dinámica de los patógenos de trigo y cebada dependientes del rastrojo como *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana* y *Drechslera* spp. y hongos benéficos del género *Trichoderma* en distintas secuencias de cultivos.

Materiales y métodos

Sitio experimental

Se realizaron muestreos de rastrojo en dos rotaciones de cultivos en un ensayo en siembra directa establecido en 2003 en INIA La Estanzuela. El diseño experimental fue de bloques al azar con tres repeticiones desfasadas en el tiempo. El tamaño de parcelas fue de 30 x 70m.

Los tratamientos consistieron en combinaciones de tipo de rastrojo (especie vegetal), edad del mismo y rotación. Las rotaciones estudiadas fueron: agricultura continua (AC) (soja/cebada-girasol/trigo) y rotación corta con pastura (CP) (maíz,/cebada-soja/pastura bianual). La pastura estuvo integrada por raigrás (*Lolium multiflorum* L.), trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.).

Muestreos y determinación de colonización de rastrojo por *Fusarium* spp., *F. graminearum*, *B. sorokiniana*, *Drechslera* spp. y *Trichoderma* spp.

Se muestrearon rastrojos cada tres a cuatro meses desde diciembre 2006 a octubre 2009 para estimar la cantidad de cada tipo de rastrojo en la superficie del suelo y la colonización de los mismos por *Fusarium* spp., *F. graminearum*, *B. sorokiniana*, *Drechslera* spp. y *Trichoderma* spp. Se colectaron todos los rastrojos visibles sobre la superficie del suelo proveniente de cinco cuadros (0.5 X 0.5 m) en cada parcela. Los rastrojos se secaron a 25-30 °C por 24 hrs, se separaron visualmente por especie vegetal y luego se pesaron individualmente. Para el análisis los tipos de rastrojos fueron categorizados por edad en: 1, rastrojo con 365 días o menos desde la cosecha o corte; 2, rastrojo con 366 días o más luego desde la cosecha o corte.

La determinación de la colonización del rastrojo por hongos patógenos y *Trichoderma* spp. se llevó a cabo en trozos de rastrojo de 1.5 a 2-cm de largo, incluyendo un nudo en el caso de las gramíneas. Los trozos se desinfectaron superficialmente en hipoclorito de sodio al 0.5% por 30 s, etanol al 70% por 15 s y enjuagados tres veces en agua deionizada estéril y secados en papel de filtro estéril. Luego se plaquearon en medios selectivos para cada género: PCNB (Nash-Snyder modificado) para *Fusarium* spp., Reis para *Bipolaris* spp. y *Drechslera* spp. y PDA modificado según Vargas et al. (2008) para *Trichoderma* spp. Se utilizó un máximo de 30 trozos de cada especie vegetal por muestra, 10 nudos por placa, tres placeas por muestra. En los casos en que se obtuvo un menor número de trozos, todos aquellos recuperados fueron analizados. Las placas se incubaron por 7 a 10 días a 20-22°C para *Fusarium* spp, *Bipolaris* spp. y *Drechslera* spp. según correspondiera, y 5 días a 25°C para *Trichoderma* spp., con ciclos de 12 hrs de luz y oscuridad provisto por una combinación 1:1 de luz blanca fría:negra fluorescente. Se determinó *F. graminearum* según se detalla por Pereyra y Dill-Macky (2008). Se cuantificaron las colonias de cada hongo en lupa estereoscópica según morfología llegando a géneros de *Fusarium* y *Trichoderma* y a especies en los casos de *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis*, *D. teres* y *D. nobleae*.

Análisis estadístico

Los datos de colonización del rastrojo se analizaron usando el modelo lineal generalizado, distribución binomial (SAS procedimiento GENMOD, Versión 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC). La prueba de significancia se basó en el estadístico de máxima verosimilitud (χ^2). El peso seco de cada rastrojo, expresado en proporción en base al total de rastrojo colectado en cada cuadro (%) se analizó usando el procedimiento GLM del SAS (Versión 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC). Cuando la relación F fue significativa ($P < 0.05$), las diferencias entre tratamientos se determinaron usando mínima diferencia significativa (MDS).

Resultados y Discusión

El porcentaje de peso seco de cada tratamiento da una idea de la importancia relativa del rastrojo/edad/rotación en cada muestra (Cuadro 1). Los rastrojos con mayor porcentaje de peso seco fueron los de un año o menos de trigo, maíz, cebada en ambas rotaciones y soja en la secuencia cultivo-pastura.

Cuadro 1. Peso seco relativo y colonización de distintos rastrojos de diferentes edades recuperados de dos rotaciones de cultivos en siembra directa por hongos patógenos y benéficos en muestras colectadas en el período diciembre 2006 a octubre 2009.

Tratamiento			Peso seco relativo (%)	Colonización (%)				
Tipo de rastrojo	Edad del rastrojo ¹	Rotación ²		<i>Fusarium</i> spp.	<i>F. gram.</i> ³	<i>B.sorok.</i> ⁴	<i>Drechslera</i> spp. ⁵	<i>Trichod. spp.</i> ⁶
Trigo	1	AC	80.6 a ⁷	31.7 d ⁸	15.6 a ⁸	3.5 bc ⁸	1.4 b ⁸	37.1 b ⁸
Trigo	2	AC	8.9 de	40.7 cd	6.2 b	4.7 bc	0.6 b	29.8 b
Cebada	1	AC	49.9 b	50.3 c	4.8 b	11.9 a	4.0 a	52.8 a
Cebada	1	CP	49.4 b	54.4 c	5.0 b	7.1 ab	3.8 a	35.6 b
Cebada	2	AC	2.1 e	41.4 cd	1.5 c	6.4 ab	2.6 ab	(84.0 abcd)
Cebada	2	CP	20.9 cd	74.6 ab	2.8 bc	4.8 bc	0.6 b	40.5 b
Soja	1	AC	12.9 de	71.4 ab	0.1 d	nd	nd	16.4 cd
Soja	1	CP	55.7 b	61.3 c	0.0 d	nd	nd	17.3 cd
Soja	2	AC	5.8 e	34.1 d	nd	nd	nd	(20.2 cd)
Soja	2	CP	22.6 cd	14.7 e	0.0 d	nd	nd	13.4 d
Maíz	1	CP	74.9 a	82.8 a	0.3 d	nd	nd	20.8 cd
Maíz	2	CP	23.5 c	73.2 b	0.3 d	nd	nd	15.8 d
Girasol	1	AC	48.2 b	52.3 c	0.0 d	nd	nd	20.4 cd
Girasol	2	AC	13.4 cde	13.0 e	0.0 d	nd	nd	18.2 cd
Raigrás	1	CP	48.4 b	36.8 d	0.9 d	2.4 c	1.1 b	26.4 bc
Raigrás	2	CP	17.8 cde	38.7 d	0.4 de	3.0 bc	0.9 b	45.4 bc
T. Blanco	1	CP	3.9 de	15.3 e	0.0 d	nd	nd	(25.0 abc)
T. Rojo	1	CP	30.2 d	32.0 d	0.0 d	nd	nd	21.0 cd
T. Rojo	2	CP	6.7 de	14.0 e	nd	nd	nd	26.0 bc
<i>P>F</i>			0.0001					
<i>P>χ²</i>				0.0001	0.0001	0.0008	0.0001	0.0001

¹ 1, 365 días o menos; 2, 366 días o más

² AC: agricultura continua, soja/cebada-girasol/trigo; CP: cultivo-pastura bianual, maíz/cebada-soja/ Raigrás+Trébol blanco+T. Rojo

³ *Fusarium graminearum*

⁴ *Bipolaris sorokiniana*

⁵ Especie aislada en trigo: *D. tritici-repentis*; en cebada: *D. teres*; en raigrás: *D. nobleae*.

⁶ *Trichoderma* spp.

⁷ Los valores son medias de cada tratamiento (rastrojo-edad-rotación) de 10 muestreos. Valores con letras diferentes en una misma columna son significativamente diferentes al $P=0.05$ según MDS.

⁸ Los valores son medias de cada tratamiento (rastrojo-edad-rotación) de 10 muestreos en el período diciembre 2006-octubre 2009. Valores con letras diferentes en una misma columna son significativamente diferentes al $P=0.05$ basado en estadístico de máxima verosimilitud.

nd: no determinado

() dato en base a un bajo número de muestras

Se aisló *Fusarium* spp. a partir de todos los rastrojos analizados (Cuadro 1). Existieron diferencias significativas entre tratamientos con los mayores niveles de colonización de *Fusarium* spp. registrados en maíz, independientemente de la edad del rastrojo, rastrojo de

soja de un año o menos y rastrojo de cebada de al menos un año de edad. Los menores niveles se registraron en restos de trébol blanco y rastrojos de trébol rojo y soja de al menos un año de edad, este último proveniente de la rotación cultivo-pastura y soja. En este género existen especies tanto patógenas como saprófitas y capaces de estar presentes tanto en suelo como rastrojo. Es probable que a pesar de la desinfección superficial realizada al rastrojo, algunas especies saprófitas puedan haberse recuperado en el medio de cultivo selectivo. Sin embargo, se ha demostrado la dominancia de las especies patógenas en el rastrojo de plantas huésped sustentada por la teoría de que estas especies ganan una ventaja competitiva como saprófito al establecerse antes en los tejidos del huésped (Bruehl y Lai, 1966; Pereyra y Dill-Macky, 2008).

Los rastrojos con mayores porcentajes de colonización por *Fusarium graminearum* se registraron en los rastrojos de trigo y cebada (Cuadro 1), coincidiendo con la información obtenida en trabajos previos realizados con rastrojos provenientes de años epidémicos de fusariosis de la espiga (FE) (Pereyra y Dill-Macky, 2008).

En este estudio se registró colonización de rastrojo de soja por *F. graminearum*, aunque a bajos niveles (Cuadro 1). Este cultivo ha sido ya citado como reservorio de este hongo en otros países (Fernandez y Fernandes, 1990; Baird *et al.*, 1997). El hecho de tener rotaciones soja-trigo en alta frecuencia podría influenciar epidemiológicamente en la FE favoreciendo una mayor carga de inóculo en los sistemas agrícolas en siembra directa. Esta información coincide además con la registrada en rastrojos de soja provenientes de muestreos de chacras con historia trigo-soja por al menos dos ciclos consecutivos en las zonas de San Pedro y La Horqueta, Colonia (data no presentada).

En este trabajo no se constató la presencia de *F. graminearum* en rastrojo de girasol (Cuadro 1) como ha sido reportado previamente (Pereyra y Dill-Macky, 2008), probablemente debido a los bajos niveles de infección..

Los rastrojos de trigo, cebada y raigrás huéspedes de enfermedades causadas por *Bipolaris sorokiniana* fueron plaqueados para cuantificar la colonización relativa en cada especie vegetal, según la edad del rastrojo y la rotación. El rastrojo de cebada en general presentó los mayores niveles de colonización de *B. sorokiniana*, agente causal de la mancha borrosa en este cultivo (Cuadro 1). La mancha borrosa es una de las principales enfermedades del cultivo de cebada en el país, mientras que la mancha marrón en trigo y la mancha a *Bipolaris* en raigrás son enfermedades secundarias. Aunque los rastrojos de trigo y raigrás presentaron menores porcentajes de colonización por *B. sorokiniana* en algunos casos no se registraron diferencias significativas con los valores observados en algunos tratamientos de cebada y podrían estar aportando a la sobrevivencia del hongo entre zafras de cebada. Por otra parte, la siembra de trigo sobre rastrojos altamente infectados de cebada podría representar un riesgo para el cultivo de trigo, en especial en el norte donde la mancha marrón de trigo se registra en forma más frecuente.

Los rastrojos de trigo, cebada y raigrás se analizaron por la presencia de especies de *Drechslera* patogénicas sobre estos cultivos por la posibilidad de tener infecciones con especies cruzadas en especial en secuencias reiteradas de estos cultivos (Mathre, 1997; Bockus *et al.*, 2010). En ningún caso se registro presencia de especies cruzadas en los rastrojos analizados (Cuadro 1).

Se recuperó *Trichoderma* spp. a partir de todos los restos de cultivos estudiados (Cuadro 1). Los rastrojos con mayores porcentajes de colonización fueron los de cebada, raigrás y trigo. En secuencias en siembra directa donde se ha analizado la población de *Trichoderma* en suelo indican los mayores valores registrados luego de la presencia del cultivo de cebada (Pérez *et al.*, 2011). Los rastrojos de leguminosas, girasol y maíz presentaron menores valores en promedio respecto a las gramíneas antes citadas. Analizando las dos

secuencias, la colonización de los rastrojos provenientes de agricultura continua fue significativamente ($P>0.0017$) mayor (32.2%) que la registrada en los rastrojos de la rotación cultivo-pastura (24.0%).

Este estudio permitió generar información de la dinámica de patógenos de trigo y cebada dependientes del rastrojo y hongos del género *Trichoderma*.

Bibliografía

- Baird, R. E., Mullinix, B. G., Peery, A. B. and Lang, M. L. 1997. Diversity and longevity of the soybean debris mycobiota in a no-tillage system. *Plant Dis.* 81:530-534.
- Beare, M.; Pohlad, B.; Wright, D.; Coleman, D. 1993. Residue placement and fungicide effects on fungal communities in conventional and non-tillage soils. *Soil. Sc. Soc. Am. J.* 57:392-399.
- Bockus, W. W.; Bowden, R. L.; Hunger, R. M.; Morrill, W. L.; Smiley, R. W. 2010. *Compendium of wheat diseases and pests*. 3rd ed. APS Press, St. Paul, MN. 171 p.
- Bruehl, G. W.; Lai, P. 1966. Prior-colonization as a factor in the saprophytic survival of several fungi in wheat straw. *Phytopathology* 56:766-768.
- Fernandez, M. R. and Fernandes, J. M. C. 1990. Survival of wheat pathogens in wheat and soybean crop residues in southern and central Brazil. *Can. J. Plant Pathol.* 12:289-294.
- Mathre, D. E. 1997. *Compendium of barley diseases*. Second edition. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN. 90 p.
- Pereyra, S. 1996. Enfermedades de cebada: identificación, epidemiología y estrategias de manejo. Pp. 105-123. IN: *Curso de actualización para el manejo de enfermedades en cereales de invierno y pasturas*. Serie Técnica N°74. INIA Uruguay.
- Pereyra, S.A.; Dill-Macky, R. 2008. Colonization of the Residues of Diverse Plant Species by *Gibberella zeae* and their Contribution to Fusarium Head Blight Inoculum. *Plant Disease* 92: 800-807.
- Pereyra, S.; Díaz de Ackermann, M. 2009. Enfermedades transmitidas por rastrojo en trigo y cebada. Pp. 25-34. IN: *Jornada Técnica de Cultivos de Invierno*. Serie Actividades de Difusión N°566. INIA Uruguay.
- Pérez, C. A.; Carameso, L.; Fros, D.; Cadenazzi, M.; Ernst, O. 2009. Manejo sanitario en sistemas sin laboreo: agrónomos o nutricionistas? Pp. 141-160. IN: *I Simposio Nacional de Agricultura*, E. Hoffmann; A. Ribeiro; O. Ernst; F. O. García eds. Universidad de la República. Paysandú.
- Pérez, C.; Hoffmann, E.; Viega, L.; Villar, A.; Ernst, O. 2011. Manejo de enfermedades en sistemas agrícolas: demitificando algunas realidades. Pp. 119-131. IN: *II Simposio Nacional de Agricultura*, E. Hoffmann; A. Ribeiro; O. Ernst; F. O. García eds. Editorial Hemisferio Sur. Montevideo.
- Pérez, C.; Villar, H. A. 2011. Control biológico en cultivos extensivos: cuando el enfoque condiciona el éxito. Pp. 49-62. IN: *Manejo de enfermedades en trigo y cebada*. S. Pereyra; M. Díaz de Ackermann; S. Germán; K. Cabrera eds. Serie Técnica 189. INIA Uruguay. Hemisferio Sur. Montevideo.
- Stewart, S., Pereyra, S. y Díaz, M. 2001. Manchas foliares de trigo y cebada en siembra directa. INIA Uruguay. Serie Técnica. IN: Documento on-line N°36. Página web de INIA: www.inia.org.uy
- Vargas Gil, S. Pastorb, G.; Marcha, J. 2009. Quantitative isolation of biocontrol agents *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp. and actinomycetes from soil with culture media. *Microbiological Research* 164:196—205