

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO



FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUIMICAS Y FARMACEUTICAS

Centro de Referencia de Micología. CEREMIC.

T 546.882.8.
L 966
R 5522
F 5.11.99

**DINAMICA DE LA MICOTA CELULOLITICA Y QUERATINOLITICA DE
SUELOS AGRICOLAS CON EL AGREGADO DE FERTILIZANTES Y
RESIDUOS DE COSECHA.**

Bioquímica Alicia Graciela Luque.

Director de Tesis: Dra. Delia P. Alvarez.

1999

AL

AGRADECIMIENTOS:

Al CEREMIC (Centro de Referencia de Micología) de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, por permitirme realizar mi trabajo de Tesis en sus dependencias.

Al Instituto de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Oliveros, provincia de Santa Fe.

A la Ing. Agrónoma Rosanna Pioli, de la cátedra de Fitopatología, y a las cátedras de Manejo de Tierras y Climatología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario (Zavalla provincia de Santa Fe).

A mis compañeros del CEREMIC, especialmente a las señoras Liliana Giraudo y Mónica De Luca por su asistencia técnica.

A mi familia por su respaldo y comprensión.

Alicia Graciela Luque



TRABAJOS COMUNICADOS:

Parte de los resultados de esta tesis fueron presentados en reuniones científicas según se detalla a continuación:

- "Efecto de rotaciones de cultivos y aplicación de urea sobre la micota de los suelos" Luque, A.G.; Bodrero, M.; Botai, H.M.; Alvarez, D.P.. Presentado en el VII Congreso y XVII Jornadas Argentinas de Micología. Rosario, 1995.

- "Efecto del manejo de suelos de cultivo sobre la frecuencia de hongos celulolíticos y fitopatógenos en rastrojo de trigo". A.Luque; R.N.Pioli; R.Sianca; B.Bonel; D.P.Alvarez. Presentado en el VIII Congreso y XVIII Jornadas Argentinas de Micología. San Miguel de Tucumán, 1998.

- "Primer informe de hongos saprófitos asociados al rastrojo de trigo en tres sistemas de labranza en Argentina". Luque, A. G.; Pioli, R.; Toresani, S.; Gomez, E.; Borghi, A. Presentado en el III Congreso Rosarino y XVIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario. Rosario 17 y 18 de noviembre de 1998.

AL

INDICE:

I-INTRODUCCION.....1

I-1-EL SUELO COMO HABITAT DE LOS MICROORGANISMOS.....1

 I-1-1-Definición y origen.....1

 I-1-2-Perfil del suelo.....3

 I-1-3-Propiedades de los suelos.....4

 I-1-4-Los microorganismos del suelo.....9

 I-1-5-Hongos del suelo.....10

 I-1-6-Actividad microbiana en el suelo.....12

I-2-FERTILIDAD EDAFICA.....17

 I-2-1-Definición.....17

 I-2-2-La fertilidad y su relación con el manejo.....18

I-3-HONGOS CELULOLITICOS.....28

 I-3-1-Celulosa.....28

 I-3-2-Hidrólisis enzimática de la celulosa.....29

 I-3-3-Características del complejo celulasa.....30

 I-3-4-Celulolisis en la naturaleza.....33

 I-3-5-Factores que influyen en la celulolisis.....35

 I-3-6-Microorganismos celulolíticos.....35

I-4-HONGOS QUERATINOLITICOS.....38

 I-4-1-Queratinas.....38

 I-4-2-Degradación de las queratinas.....39

 I-4-3-Especies de hongos queratinolíticos.....41

I-5-OBJETIVOS.....43

 Abreviaturas y símbolos.....45

AL

II-MATERIALES Y METODOS.....47

**II-1-EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTE SOBRE LA MICOTA DE
LOS SUELOS:.....47**

II-1-1-Suelo, diseño experimental y muestreo.....47

II-1-2-Estudio de hongos del suelo.....48

II-1-3-Determinaciones químicas.....49

II-1-4-Análisis estadístico.....50

**II-2-DINAMICA DE LA MICOTA CELULOLITICA Y QUERATINOLITICA EN
RESIDUOS DE COSECHA Y SUELO BAJO TRES SISTEMAS DE LABRANZA:.....51**

II-2-1-Suelo, diseño experimental.....51

II-2-2-Muestreo.....52

II-2-3-Procesamiento de muestras de suelo.....52

II-2-4- Procesamiento de muestras de rastrojo.....53

II-2-5-Clasificación de cepas celulolíticas y queratinolíticas.....55

II-2-6-Medición temperatura y humedad edáficas y variables ambientales.....56

II-2-7-Determinación de materia orgánica y pH.....57

II-2-8-Rendimiento.....59

II-2-9-Análisis estadístico.....59

II-3-CAPACIDAD CELULOLITICA DE LOS HONGOS AISLADOS:.....63

II-3-1-Determinación del poder celulolítico de hongos filamentosos con el uso del colorante
Rojo Congo.....63

II-3-2-Estudio de la capacidad celulolítica de cepas fúngicas en sobrenadantes de cultivo.....65

III-RESULTADOS.....70

**III-1- -EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTE SOBRE LA MICOTA
DE LOS SUELOS:.....70**

III-1-1-Recuento de la micota total y micota celulolíticas.....70

III-1-2-Aislamientos de hongos celulolíticos.....72

III-1-3-Aislamientos de hongos queratinolíticos.....74

III-1-4-Características químicas de los suelos.....75

AL

III-2-DINAMICA DE LA MICOTA CELULOLITICA Y QUERATINOLITICA EN RESIDUOS DE COSECHA Y SUELO BAJO TRES SISTEMAS DE LABRANZA:	76
III-2-1-Distribución del rastrojo en el suelo	76
III-2-2-Recuento de la micota celulolítica en suelo	81
III-2-3-Recuento de la micota celulolítica asociada a residuos de cosecha	83
III-2-4-Aislamientos de hongos queratinolíticos en suelo	89
III-2-5-Aislamientos de hongos celulolíticos en suelo y residuos de cosecha por la técnica de dilución en placas	90
III-2-6-Aislamientos de hongos celulolíticos en residuos de cosecha por la técnica de lavado	99
III-2-7-Análisis multivariado de distribución de especies fúngicas	100
III-2-8-Temperatura y humedad edáficas y variables ambientales	107
III-2-9-Materia orgánica y pH	114
III-2-10-Rendimiento	119
III-3-CAPACIDAD CELULOLITICA DE LOS HONGOS AISLADOS:	120
II-3-1-Poder celulolítico de hongos filamentosos con el uso del colorante Rojo Congo	120
II-3-2-Capacidad celulolítica de cepas fúngicas en sobrenadantes de cultivo	132
IV-DISCUSION:	137
IV-1- -EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTE SOBRE LA MICOTA DE LOS SUELOS:	137
IV-2-DINAMICA DE LA MICOTA CELULOLITICA EN RESIDUOS DE COSECHA Y SUELO BAJO TRES SISTEMAS DE LABRANZA:	140
IV-2-1-Distribución del rastrojo en el suelo	140
IV-2-2-Recuento de la micota celulolítica en suelo y asociada a residuos de cosecha	141
IV-2-3-Aislamientos de hongos queratinolíticos en suelo	145
IV-2-4-Aislamientos de hongos celulolíticos en suelo y residuos de cosecha	146
IV-2-5-Temperatura y humedad edáficas y variables ambientales	150
IV-2-6-Materia orgánica y pH	151
IV-2-7-Rendimiento	153
II-3-CAPACIDAD CELULOLITICA DE LOS HONGOS AISLADOS:	154
II-3-1-Poder celulolítico de hongos filamentosos con el uso del colorante Rojo Congo	154

AL

II-3-2-Capacidad celulolítica de cepas fúngicas en sobrenadantesde cultivo.....	155
IV-4-ASPECTOS ECOLOGICOS DE LAS COMUNIDADES FUNGICAS:.....	157
V-CONCLUSIONES:.....	163
VI-RESUMEN:.....	166
APENDICE I: MEDIOS DE CULTIVO:.....	170
VII-BIBLIOGRAFIA:.....	174

AL

I-INTRODUCCION:

I-1-EL SUELO COMO HABITAT DE LOS MICROORGANISMOS:

I-1-1-DEFINICION Y ORIGEN:

El suelo es un sistema natural proveniente de distintos procesos físicos, químicos y biológicos, llevados a cabo sobre el material originario o madre de la superficie de la tierra, que le imprime rasgos característicos. Es el resultado de la interacción de los factores edafogenéticos como son: el material originario, el clima, el relieve, el factor biótico y el tiempo. Dado que el hombre interviene alterando, directa o indirectamente, la intensidad de los factores mencionados, perturbando los procesos naturales, construyendo y destruyendo suelos, actualmente se lo incluye como el sexto factor edafogenético (1).

El suelo es un medio dinámico, ya que adquiere progresivamente sus propiedades por la acción combinada de los factores antes mencionados. El factor biótico está integrado por los vegetales, animales y otros organismos que habitan un lugar determinado. La vegetación es uno de los factores bióticos más importantes, si bien no es una variable independiente, ya que está condicionado en gran parte por el clima y los factores formadores. Las propiedades del mismo más afectadas por las plantas son: el contenido de carbono orgánico y nitrógeno total, el pH y la densidad aparente (1).

En ausencia de vida vegetal lo que más se aproximaría a un suelo, sería la masa de partículas resultantes de la meteorización y desgaste de las rocas que se acumula en las depresiones. Esa masa constituye un sistema en el que no hay mecanismos y

organismos que permitan la acumulación de nutrientes útiles para las plantas. Esto último ocurre cuando el viento transporta fragmentos de líquenes (asociaciones simbióticas de algas y hongos). Los hongos son capaces de extraer los nutrientes minerales de la masa, no solo los que están en forma soluble, sino que agreden a los minerales contribuyendo a su alteración; de este modo abastecen a la asociación. Las algas cumplen la función de fotosíntesis y producen los compuestos orgánicos necesarios para formar sus cuerpos y los de los hongos permitiendo su crecimiento. Ahora se ha conformado un sistema que puede almacenar energía y nutrientes. La energía almacenada en forma de materia orgánica puede ser utilizada por los insectos y microorganismos que se alimentan de líquenes muertos. Cuando los tejidos mueren sus restos se mezclan con los productos de desintegración de las rocas, posibilitando que los musgos reemplacen a los líquenes, y el espesor del suelo, así formado continúa aumentando. Los musgos tienen aptitud para agredir y penetrar las rocas y contribuyen a la formación de fisuras.

Se alcanza así un estado en el que el suelo permite sostener pastos y estos reemplazan a los musgos. Los microorganismos (bacterias, hongos, algas) ya existían sobre la roca desnuda, pero no proliferaban, la presencia de residuos orgánicos que ellos descomponen, permite que se multipliquen. Con la introducción de los pastos, la fauna se activa y comienza la formación de agregados, con ello mejora aún más el hábitat para los insectos y otros animales pequeños que se multiplican y contribuyen a mejorar la condición física del suelo (2).

Las condiciones son más propicias para formas de vida vegetal más elevada y aparecen las plantas superiores como arbustos y árboles que con sus raíces intervienen en la fragmentación de rocas y en el reciclado de nutrientes.

AL

A su vez la fauna y los microorganismos del suelo participan en la formación del humus y favorecen la unión de éste con las partículas minerales, formando complejos organominerales. Estos complejos contribuyen a entamar a todas las partículas en una estructura porosa que facilita la penetración de las raíces, permite la circulación del agua y del aire, y le da capacidad para almacenar agua utilizable por las plantas. Estos complejos organominerales, dotados de propiedades físicas, químicas y biológicas bien definidas confieren al suelo su individualidad propia (1).

I-1-2-PERFIL DEL SUELO:

El perfil del suelo es la sección que se extiende desde la superficie hacia abajo, hasta los materiales originarios subyacentes, a través de sus diversas capas constitutivas. Estas capas se denominan horizontes y para su caracterización, se tienen en cuenta: espesor, textura, estructura, color, propiedades físicas y químicas, etc. Los horizontes se denominan con las letras A, B y C (2).

El horizonte A es el más superficial, tiene la característica de ser la zona de máximo lavado del perfil. Es un horizonte mineral, con acumulación de materia orgánica. En esta capa pueden diferenciarse subhorizontes que se designan partiendo siempre del más superficial, como A₁, A₂, etc. Si sobre la superficie del suelo se halla una capa de residuos vegetales parcialmente descompuestos, se denomina A₀.

El horizonte B es la zona de máxima acumulación de materiales como los óxidos de hierro y aluminio, los carbonatos y sulfatos de calcio, y las arcillas. Los subhorizontes que pueden diferenciarse se designan B₁, B₂, etc.

Los horizontes A y B constituyen la porción del perfil afectado por los factores de formación del suelo.

AL

El horizonte C o capa mineral está poco afectado por los procesos edafogenéticos. Está formado por los materiales que dieron origen a los horizontes superiores. Generalmente no se diferencian subhorizontes dentro de esta capa de suelo.

No en todos los perfiles se muestra esta sucesión completa de horizontes, en algunos casos por tratarse de suelos inmaduros, en otros por estar erosionados, en otros por acción de las labranzas, que mezclan o invierten los horizontes superficiales, en algunos por accidentes topográficos, etc.

Se designa como Ap al horizonte superficial con acumulación de materia orgánica humificada perturbado por acción mecánica (arado) (1).

I-1-3-PROPIEDADES DE LOS SUELOS:

El suelo está constituido por partículas minerales de varios tamaños, formas y características químicas; junto con las raíces de las plantas, la población de organismos y un componente de materia orgánica en distintos estados de descomposición. Los gases, el agua y los minerales disueltos completan este hábitat. Debido a esa constitución del suelo, en todo estudio relacionado al mismo deben tenerse en cuenta las siguientes características:

Estructura:

Para comprender la estructura del suelo, es necesario conocer la disposición espacial de sus componentes, esto se relaciona con su tamaño y su forma. Las dimensiones de los componentes de la matriz del suelo van desde 2 mm o más para los macroagregados a fracciones de micras para las bacterias y partículas coloidales.

En la mayoría de los suelos las características estructurales dominantes son la formación de complejos arcilla-materia orgánica y la estabilización de partículas de arcilla, arena y limo en agregados. Las partículas de arcilla son básicas para la

formación de agregados, tienen menos de 2 micras de diámetro y se consideran coloides.

La mayoría de las arcillas, como los microorganismos a pH neutro y los constituyentes de la materia orgánica tienen cargas negativas. El acoplamiento entre unidades cargadas negativamente es posible por enlaces iónicos vía cationes multivalentes. Uno de los enlaces se une a un microorganismo y el otro a la arcilla.

El estado de agregación del suelo es uno de los factores más importantes que controla la actividad microbiana y el movimiento de la materia orgánica. La materia orgánica en los agregados no puede ser mineralizada si está físicamente separada de los microorganismos y sus enzimas. La mayoría de los organismos residen en el exterior de los agregados y en los pequeños espacios de poros entre ellos; relativamente pocos se encuentran en el interior de los agregados.

Las observaciones realizadas indican que los microorganismos ocupan menos del 1 % del espacio total de poros disponible. La accesibilidad de los organismos depende de su tamaño. Los hongos invaden algo los poros de mayor tamaño. Los microagregados (50-250 μ) son subunidades de macroagregados (mayores a 2 mm), cuyos intersticios forman macroporos (4).

Atmósfera:

En suelos bien aireados el contenido de oxígeno es del 18 al 20 % y el de dióxido de carbono del 1 %. Sin embargo, dada una textura arcillosa, con alto contenido de humedad y mucha actividad microbiana el contenido de dióxido de carbono puede aumentar hasta el 10 %.

Así pues, la respiración del suelo, característica de su actividad biológica, determina la concentración en dióxido de carbono de una atmósfera. El fenómeno de

difusión tiende a unificar la composición de esta atmósfera con la de la atmósfera terrestre (3).

Agua:

El agua del suelo no solo afecta la humedad disponible a los organismos sino también el estado de aireación del suelo, la naturaleza y cantidad de materiales solubles, la presión osmótica y el pH de la solución del suelo. El exceso de agua restringe a los microorganismos y sus actividades por impedir el movimiento de oxígeno a través del suelo en la magnitud en que los microorganismos lo demandan.

Comúnmente se considera que el agua del suelo existe en tres formas: gravitatoria, capilar e higroscópica. El agua gravitatoria drena a través del suelo por fuerzas gravitatorias. Esto puede ocurrir después de irrigación o fuertes lluvias. Inmediatamente después de que el agua gravitatoria fue drenada, el agua del suelo está a capacidad de campo. Los microporos o capilares, sin embargo, aún están ocupados por el agua que está disponible para el crecimiento de las plantas y los microorganismos. Se define como capacidad de campo (CC), a la cantidad de agua que permanece en el suelo una vez que el flujo gravitacional a cesado.

Si el agua se pierde a partir del suelo ya sea por evaporación o transpiración, las plantas no son capaces de obtener bastante para seguir siendo turgentes noche y día, y se marchitarán. La cantidad de agua que un suelo contiene después que las plantas se han marchitado se denomina punto de marchitez permanente (PMP).

El agua que está efectivamente disponible para las plantas es la que se encuentra entre las dos constantes hídricas CC y PMP, y se define como agua útil o disponible.

El agua higroscópica se define como el agua absorbida por un suelo seco a partir de una atmósfera de alta humedad relativa, como la que permanece en el suelo después



del secado del aire, o como la que retiene el suelo cuando está en equilibrio con una humedad relativa (HR) y una temperatura especificadas, usualmente 98% HR y 25°C.

El agua influye tanto en los microorganismos como en las plantas superiores, a través de efectos de difusión, flujos de masa y concentración de nutrientes. A estrés de agua altos pero no limitantes, la difusión de nutrientes puede ser suficientemente lenta como para hacerse limitante (4).

PH:

Muchos de los suelos del mundo están afectados por un exceso de acidez, un problema exacerbado por la fertilización con ciertos nutrientes y por la lluvia ácida.

La medición del pH es un criterio importante para predecir la capacidad del suelo para permitir las reacciones microbianas y la posibilidad de desarrollo de determinados cultivos.

Temperatura:

La temperatura no solo afecta la velocidad de las reacciones fisiológicas de las células, sino también las características fisicoquímicas del ambiente, como por ejemplo: volumen del suelo, presión, potencial de oxidorreducción, difusión, movimiento browniano, viscosidad y tensión superficial.

Por lo tanto no sorprende que cambios en la temperatura del suelo tengan un marcado efecto sobre la actividad microbiana.

Muy pocos suelos mantienen la temperatura uniforme en las capas superiores. Las variaciones pueden ser estacionales o diurnas (4).

Materia orgánica:

La materia orgánica (MO) está compuesta por residuos en descomposición, los productos formados por los microorganismos responsables de dicho proceso, por los mismos microorganismos y por los humatos más resistentes (4).

La principal fracción del carbono orgánico total que penetra al suelo, es provista por los residuos vegetales. Los constituyentes orgánicos de las plantas se dividen comúnmente en seis categorías:

1. El compuesto químico más abundante, la celulosa, varía desde 15 a 60 % de peso seco.
2. Hemicelulosas constituyen del 10 al 30 % del peso.
3. Lignina, la cual forma del 5 al 30 % de la planta.
4. La fracción soluble en agua, en la cual se incluyen: azúcares simples, aminoácidos y ácidos alifáticos, que contribuyen con 5 a 30 % del peso del tejido.
5. La fracción soluble en éter y alcohol contiene aceites, resinas, grasas, ceras y pigmentos.
6. Proteínas que tienen en su estructura la mayor parte del nitrógeno y el azufre de la planta, constituyen del 2 al 15 % de la misma.

Con la edad de la planta, disminuye el contenido de constituyentes solubles en agua, proteínas y minerales, en tanto que el porcentaje de celulosa, hemicelulosas y lignina aumenta (5).

La MO tiene efectos sobre las propiedades físicas del suelo:

- Favorece la formación de agregados estables que condiciona la estructura, el drenaje y la aireación.
- Aumenta la infiltración y la capacidad de retención del agua de lluvia en el suelo.
- Mejora la friabilidad del suelo.
- Disminuye las pérdidas del suelo por erosión.

Además la MO es el depósito de nutrientes principales, tales como nitrógeno, azufre y fósforo, y de muchos micronutrientes. También da el color al suelo y lo provee de capacidad de absorción de cationes. Por lo tanto no es sorprendente que la productividad de suelos cultivados y no cultivados esté influenciada por la cantidad y profundidad de la MO en el perfil.

La cantidad de MO depende del balance entre productividad primaria y velocidad de descomposición. La presencia de limo y arcilla generalmente aumenta la MO, para un conjunto de condiciones ambientales determinadas (4).

El contenido de MO de los suelos es muy variable, desde casi el 100 % en la turba a menos del 1 % en suelos poco provistos. Valores entre 2 y 8 % deberían ser los típicos en la mayoría de los suelos útiles para la agricultura (6).

I-1-4-LOS MICROORGANISMOS DEL SUELO:

Mientras el número y eficiencia de los microorganismos del suelo son muy altos, usualmente ocupan menos del 1 % del volumen del mismo (7).

La microbiota del suelo está compuesta por distintos grupos de organismos como: bacterias, hongos, algas y protozoarios. Una de las funciones más importantes de los mismos es la degradación de material vegetal y animal.

La capacidad de crecer en un hábitat, está determinada por la habilidad de un organismo para utilizar los nutrientes que lo rodean. Al mismo tiempo se encuentra en un ambiente muy complejo, y sus características nutricionales y fisiológicas determinarán en gran medida su habilidad de convivir con sus vecinos (5).

La mayoría de los miembros de la microbiota son organotróficos, por lo tanto el número y los patrones de distribución de los microorganismos del suelo están determinados principalmente por la disponibilidad de carbono orgánico, por eso los

encontramos colonizando la materia orgánica. Ellos convierten el carbono de los materiales orgánicos en CO_2 , y por lo tanto completan el ciclo biológico del carbono iniciado durante la fotosíntesis.

El recuento microbiano decrece rápidamente con la profundidad del suelo, debido al empobrecimiento del sustrato.

El número y la actividad de los microorganismos del suelo dependen de: 1- crecimiento vegetal (composición de especies, cubierta del suelo, penetración de las raíces, mantillo, residuos, etc.), 2-tipo de suelo, 3-tratamiento del suelo, 4-cultivo del suelo, 5-macro y microclima de cada lugar y 6-presencia de la microbiota acompañante.

La rizosfera es de especial interés, ya que las condiciones ecológicas en el suelo también son influenciadas por los exudados de las raíces.

I-1-5-HONGOS DEL SUELO:

En la mayoría de los suelos cultivados, bien aireados los hongos constituyen una gran parte del protoplasma microbiano total. Aunque los procedimientos de recuento empleados tienden a sugerir que otros grupos microbianos son más abundantes que los hongos, a ellos les corresponde una parte muy significativa de la biomasa por el gran diámetro y extensión de sus filamentos. Los hongos son dominantes especialmente en las capas orgánicas de bosques, pero en los ambientes ácidos en general son los principales agentes de descomposición.

Las influencias externas más importantes sobre la comunidad fúngica incluyen: la materia orgánica, concentración de iones hidrógeno, fertilizantes orgánicos e inorgánicos, régimen de humedad, aireación, temperatura, posición en el perfil, estación del año y composición de la vegetación.

AL

En general el número de hongos filamentosos en el suelo se relaciona directamente con el contenido de MO utilizable, pero este grupo microbiano también está presente en áreas con bajo contenido de MO. La disponibilidad de nutrientes dada por la incorporación de residuos de cosecha, abonos verdes, u otros materiales carbonáceos en el suelo tiene el efecto de aumentar el tamaño de la comunidad fúngica y a la vez produce una alteración en la composición de la micota. La estimulación de la acción fúngica por el suplemento de MO es mayor durante el período de descomposición inicial. Ciertas especies son abundantes inmediatamente después de la adición de la fuente carbonada, pero su número declina rápidamente luego del aumento inicial. Otras especies, sin embargo, mantienen altos niveles de población por períodos relativamente largos después de la incorporación de los residuos. La respuesta varía con la composición química del sustrato y con ciertas características ambientales, los hongos usualmente son dominantes luego de la adición del material carbonado en ambientes ácidos con adecuada suplementación de nitrógeno.

Los hongos filamentosos son aerobios estrictos. Esta dependencia del oxígeno, probablemente explica la gran concentración de hongos en las capas más superficiales del perfil.

La mayoría de las especies son mesofílicas en su relación con la temperatura, y el crecimiento termofílico es poco común. Aunque en verano la temperatura de la superficie, puede hacerse lo suficientemente alta como para favorecer el desarrollo de especies termófilas.

En los suelos cultivados, los hongos son más numerosos en las capas superficiales. A su vez hay una mayor diversidad de especies en la superficie que en la profundidad del perfil. La concentración de organismos en las capas superiores, depende en gran medida de la abundancia de MO disponible.



La dominancia de los distintos grupos fúngicos está relacionada frecuentemente al tipo de cobertura vegetal. Ciertos microorganismos están asociados con determinadas comunidades de plantas, mientras que otros no parecen estar afectados por la vegetación. La acción selectiva de la planta puede ser el resultado de una respuesta microbiana, ya sea a las excreciones de las raíces o a los constituyentes químicos de los tejidos disponibles a la descomposición (5).

I-1-6-ACTIVIDAD MICROBIANA EN EL SUELO:

Enzimas del suelo:

Los microorganismos como las bacterias y los hongos no pueden absorber sustratos de elevado peso molecular, por lo que necesitan degradar su alimento en el ambiente extracelular. Para ello producen enzimas que son liberados al medio. Por todo esto los enzimas del suelo son principalmente de origen bacteriano y fúngico, sólo una pequeña fracción es excretada por plantas y animales.

La riqueza enzimática del suelo es una de sus características, por eso se habla del potencial enzimático del suelo, como expresión de la actividad de los microorganismos. Cuanto mayor es ese potencial tanto más fácil es la nutrición vegetal porque así se solubilizan muchas sustancias, que también la planta puede aprovechar directamente antes de que el microorganismo las absorba.

A menudo en el suelo se encuentra actividad de: deshidrogenasa, catalasa, fosfatasa, amilasa, celulasa, xilanas, pectinasa, proteasa y ureasa, cada uno de ellos difiere por su especificidad de sustrato y pH óptimo (7). En la práctica, las técnicas enzimáticas son empleadas en tres escalas de resolución. A gran escala, los ensayos para determinar enzimas ubicuas tales como fosfatasa, esterasa y deshidrogenasa se usan como una medida general de actividad microbiana. A una escala intermedia, la

especificidad enzimática es empleada para el monitoreo de actividades relacionadas a aspectos específicos del ciclado de macronutrientes. A menor escala se estudian los mecanismos enzimáticos por los cuales los microorganismos interactúan con su ambiente (8).

Existe un equilibrio delicado entre los enzimas y la fase coloidal del suelo (coloides minerales, arcillas y coloides orgánicos: humus). El coloide puede adsorber el enzima activándolo o inactivándolo a través de los iones presentes en su superficie (9).

Por lo tanto la descomposición y el ciclado de nutrientes son consecuencias emergentes de las actividades de enzimas extracelulares, que son reguladas directamente por factores tales como temperatura, humedad y disponibilidad de nutrientes, y en forma secundaria por la química de los residuos a través de procesos de adsorción, inhibición y estabilización (8).

Descomposición de la materia orgánica:

Las dos principales poblaciones microbianas en los sistemas descomponedores son las bacterias y los microhongos. Las bacterias juegan un papel secundario después de los hongos dado su elevado número, y tienen una función particular en la mineralización de compuestos nitrogenados (10).

La MO fresca, con estructura todavía organizada es transformada paulatinamente, formando compuestos minerales solubles o gaseosos (mineralización) y compuestos de naturaleza húmica (humificación) (3).

A su vez la mineralización afecta tanto a los materiales orgánicos aportados al suelo (mineralización primaria), como al humus (mineralización secundaria), pero las velocidades de descomposición son diferentes. Mientras que para los primeros la tasa de mineralización puede llegar al 75% en un año, en el mismo período se mineraliza de 1 al 4% de humus.

La humificación conduce a la formación de sustancias policondensadas, de naturaleza aromática. Las sustancias húmicas constituyen más del 50% de la MO de los suelos minerales (3).

La descomposición de la materia orgánica tiene dos funciones para los microorganismos: provee de energía para el crecimiento y aporta carbono para la formación de nuevo material celular.

Los hongos generalmente liberan menos CO_2 por cada unidad de carbono transformada aerobicamente, con respecto a otros grupos microbianos, porque son más eficientes en su metabolismo.

Durante la descomposición por los hongos, cerca del 30 al 40 % del carbono metabolizado se usa para formar nuevo micelio.

Las condiciones ambientales gobiernan la eficiencia de la síntesis celular, y pueden variar en rangos considerables. Bajo un conjunto de circunstancias, los organismos pueden liberar un producto final que no es producido en otra situación. Con los bajos niveles de nutrientes generalmente disponibles en el suelo, se podría esperar que un microorganismo sea eficiente si es un buen competidor, particularmente si presenta crecimiento lento. Entre las especies de crecimiento rápido, la ineficiencia puede no ser un serio obstáculo para su desarrollo.

El número y diversidad de sustancias disponibles para la descomposición por los microorganismos son enormes. Cualquier compuesto sintetizado biológicamente está sujeto a destrucción por los habitantes del suelo, de lo contrario esos compuestos estarían acumulados en grandes cantidades en la superficie de la tierra. Además de los productos biológicos, muchos de los compuestos sintetizados por los químicos orgánicos son fácilmente descompuestos en el suelo.

La mineralización de la MO es afectada por una serie de factores como: temperatura, O_2 , humedad, pH, nutrientes inorgánicos, la relación C:N del residuo vegetal, la edad de la planta, su contenido en lignina y el grado de desintegración del sustrato. Por lo tanto la rapidez con la cual un sustrato dado es oxidado dependerá de su composición química y de las condiciones físicas y químicas del ambiente que lo rodea.

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes, que determina la velocidad con que los materiales naturales son metabolizados. Un cambio en la temperatura alterará la composición de especies de la microbiota activa y al mismo tiempo tiene una influencia directa sobre cada organismo dentro de la comunidad.

Cada especie individual y las capacidades bioquímicas de la comunidad como un todo tiene temperaturas óptimas, que varían de una localidad a otra. En el rango cercano a la temperatura óptima, entre los 30 y 40°C, las fluctuaciones de esta variable tienen pocos efectos sobre la descomposición. En un rango anterior a la temperatura óptima, de 5 a 30°C el aumento de temperatura acelera la destrucción de los residuos de plantas. Por encima de los 40°C, en general la velocidad de descomposición declina.

La disponibilidad de aire igualmente es muy importante, como consecuencia del rol del O_2 en el metabolismo microbiano. La humedad, también debe ser adecuada para que la descomposición transcurra. Otro factor que determina la velocidad de movimiento del carbono es el pH. Cada bacteria, hongo y actinomicetal tienen un pH óptimo para crecer. Así mismo los enzimas elaborados por los microorganismos son afectados por el pH.

El nitrógeno es un nutriente clave para el crecimiento microbiano y por lo tanto en la descomposición de la MO. Los tejidos vegetales y animales contienen nitrógeno, pero su disponibilidad y cantidad son muy variables. Si el contenido de nitrógeno del

sustrato es alto, la microflora satisface sus necesidades, pero si el sustrato es pobre en dicho elemento, la descomposición es lenta, y la mineralización del carbono es estimulada por el agregado de nitrógeno. Los materiales ricos en nitrógeno como los tejidos de legumbres, son metabolizados muy rápidamente, y la microbiota responde poco a la suplementación con nitrógeno, mientras que la adición de amonio o nitrato a la paja u otro sustrato deficiente en nitrógeno, produce un notable incremento en la descomposición. Así, un bajo contenido en nitrógeno con una alta relación C:N del sustrato está asociado con una descomposición lenta.

Los materiales naturales ricos en sustancias complejas como la lignina son utilizados más lentamente. Los tejidos jóvenes son metabolizados más rápidamente que los residuos de plantas maduras. Probablemente una gran parte de la resistencia asociada a la edad sea una consecuencia de la abundancia de lignina. La tasa de descomposición también está gobernada por el tamaño de las partículas orgánicas sujetas a ataque. Las partículas pequeñas son degradadas más rápidamente que las grandes.

La cantidad, tipo y disponibilidad de MO determinará el tamaño y composición de la comunidad heterotrófica que contiene un suelo. La naturaleza de la población microbiana presente variará con la composición química del sustrato agregado, ciertos grupos microbianos predominan por unos pocos días, otros mantienen altos niveles poblacionales por largos períodos de tiempo (5).

adL

I-2-FERTILIDAD EDAFICA:

I-2-1-DEFINICION:

Fertilidad edáfica es la capacidad que tiene el suelo de proporcionar al vegetal los nutrientes necesarios para su desarrollo en forma equilibrada. Para ello el suelo debe tener condiciones satisfactorias de retención hídrica, aireación y temperatura, estar libre de sustancias fitotóxicas y no tener limitaciones mecánicas que impidan el desarrollo de las raíces. Cuando se consideran en conjunto los factores edáficos y extraedáficos, se tiene el concepto de productividad de un suelo que es de mayor alcance que el término fertilidad, incluyendo factores tan importantes como abastecimiento de agua, radiación efectiva, etc. (11).

Hay dos parámetros básicos que constituyen la fertilidad edáfica: la condición de dotación de nutrientes y la condición de abastecimiento de nutrientes.

La dotación representa la cantidad de nutrientes disponibles que presenta el suelo para el vegetal, ya sea en forma inmediata o en un futuro próximo.

En tanto que el parámetro abastecimiento se refiere al conjunto de factores que permite que los nutrientes teóricamente disponibles puedan ser tomados efectivamente por las raíces del vegetal.

En función del uso que ha hecho el hombre de los suelos, se clasifica la fertilidad edáfica en “fertilidad natural” y “fertilidad adquirida”. Un suelo virgen que se incorpora al aprovechamiento del hombre mediante el uso agrícola o ganadero, presenta un determinado nivel de fertilidad natural. Después de varios años de utilización llega a un nuevo nivel que constituye la fertilidad adquirida de ese suelo.

Otra forma de clasificar la fertilidad edáfica es distinguiendo las denominadas “fertilidad actual” y “fertilidad potencial”. La fertilidad actual se refiere a la capacidad

que posee el suelo de proporcionar nutrientes en un momento dado, mientras que la fertilidad potencial, se define por la capacidad de proporcionar nutrientes en el futuro. La fertilidad actual se expresa fundamentalmente por las medidas de intensidad de nutrientes, a diferencia de la fertilidad potencial que lo hace a través de la medida de capacidad de nutrientes.

En los últimos años hay un gran interés en investigar acerca de los procesos de descomposición y ciclado de nutrientes, en el contexto de la productividad de los agroecosistemas. En este sentido los trabajos se desarrollan en la interfase entre ecosistemas influenciados por el hombre y otros más naturales, por ello ha aumentado la necesidad de obtener información más cuantitativa sobre conceptos cualitativos como “calidad del suelo” (10).

La calidad del suelo ha sido definida como el grado en el cual el suelo puede: promover la actividad biológica (plantas, animales y microorganismos); ser mediador del flujo de agua a través del ambiente y mantener la calidad ambiental actuando como un tampón que asimila los residuos orgánicos y atenúa los efectos de los contaminantes.

En los últimos años se han hecho algunos intentos para usar bioindicadores con el fin de evaluar la calidad del suelo. Se han estudiado desde organismos individuales hasta comunidades biológicas y procesos tales como descomposición y movimiento de nutrientes.

I-2-2-LA FERTILIDAD Y SU RELACION CON EL MANEJO:

Cuando a los factores formadores naturales del suelo, se suma la acción del hombre, que actúa sobre el sistema tratando de sacar un provecho del mismo, hablamos de manejo. Si las prácticas de manejo no están adaptadas al funcionalismo del sistema, pueden producir el deterioro de alguna o todas las propiedades del sistema suelo. A su

vez si el hombre conoce el funcionalismo del sistema, puede implementar prácticas de manejo adecuadas que le permitan conservar y aún mejorar esas propiedades, extrayendo al mismo tiempo la máxima utilidad posible. Esto implica la explotación o uso racional del recurso (11).

Cualquier práctica de manejo que cambie las propiedades del suelo o de la cobertura de plantas afectará la biota del suelo, como así también el contenido de agua del suelo, la temperatura, la aireación, el pH y los niveles de carbono orgánico y nitrógeno (4). Entre esas prácticas cabe destacar las siguientes:

A. LABRANZAS:

La labranza se ha definido como el disturbio del suelo mediante el uso de maquinaria, con el objetivo de implantar un cultivo.

Hay tres procedimientos de labranza comúnmente utilizados:

1. Labranza convencional: emplea arado de rejas y vertedera, seguido generalmente por disco.
2. Labranza reducida, mínima o de rastrojo en superficie o semiincorporado: causa sólo una ligera incorporación de los residuos de superficie y poco disturbio del suelo, involucra el control de las malezas por maquinaria (discos, cincel).
3. Práctica de siembra directa: el único disturbio que se realiza está asociado a la colocación de las semillas y el control de las malezas se realiza por el uso de herbicidas (4).

Las labranzas convencionales producen una modificación drástica en el ambiente edáfico. Desde el punto de vista físico, aumentan el espacio aéreo total de la capa removida, estableciendo un límite entre ésta y la que se encuentra inmediatamente

de

más abajo, no perturbada por la labor. En la medida que las labores se repitan se irá manifestando un marcado deterioro de la estructura del suelo y una progresiva acidificación (11).

Se ha comprobado que la estabilidad de los agregados es significativamente mayor en parcelas bajo labranza reducida y rotación de cultivos, que en sistemas con labranza convencional (12).

Beare y col. encontraron que en suelos bajo siembra directa los macroagregados proveen un importante mecanismo de protección de la materia orgánica del suelo, que es mineralizada en forma diferente bajo prácticas de labranza convencionales, por la frecuente ruptura de los agregados (10).

Estudiando los efectos sobre el carbono y nitrógeno total en el perfil del suelo, de tres sistemas de labranza (siembra directa, labranza mínima y labranza convencional), Grant y col. hallaron que de 0-5 cm de profundidad el carbono y el nitrógeno fueron mayores en los sistemas de labranza reducida que en labranza convencional, pero a profundidades de 5-15 cm no se encontraron diferencias significativas (13).

Desde el punto de vista biológico, en la labranza convencional, el aumento en el espacio aéreo total, provoca un marcado incremento en la población y en la actividad microbiana aeróbica. Como consecuencia de ello, se activa la descomposición de la materia orgánica, por lo cual ésta última disminuiría, y también se vería afectada la reserva potencial de los nutrientes biológicos. Varios estudios han permitido comprobar que en sistemas de labranza con poco grado de perturbación del suelo, como siembra directa, el contenido de MO del suelo es superior al que se encuentra en labranza convencional, fundamentalmente de 0 a 5 cm de profundidad (14) (15).



La labranza convencional al invertir y fragmentar los residuos superficiales, favorece una zona de intensa actividad microbiana a la profundidad en que el pan de tierra se invierte. En contraste la labranza reducida y la siembra directa favorecen la actividad microbiana en la zona superficial del suelo (4). En un estudio en EEUU, se compararon recuentos microbianos a dos profundidades para suelo bajo siembra directa y arado. Para la profundidad de 0 a 7,5 cm, los recuentos para aerobios totales, anaerobios facultativos y hongos fueron mayores en siembra directa que en suelo arado. Para la profundidad de 7,5 a 15 cm todos los recuentos fueron significativamente menores en siembra directa (16). En nuestro país, en la provincia de Córdoba, Constantini y col. estudiaron la influencia de varios sistemas de labranza sobre propiedades biológicas del suelo; observando que tanto el carbono orgánico total como la biomasa microbiana fueron mayores en siembra directa comparados con labranza convencional, a una profundidad de 0-5 cm, después de 6 años de cultivo de maíz continuo (17).

B. ROTACIONES:

Una rotación es una alternancia regular y ordenada de diferentes usos del suelo en una secuencia temporal. En contraposición la monocultura es la repetición de un mismo tipo de uso del suelo, durante un período determinado (18).

Algunas de las ventajas que poseen las rotaciones son:

- Recuperación y conservación de propiedades edáficas
- Disminución de riesgos de erosión hídrica y eólica.
- Optimización del control de malezas, insectos y enfermedades.
- Aprovechamiento de la oferta hídrica climática.
- Mejora del balance de la materia orgánica y de los otros nutrientes.

AL

Las rotaciones se clasifican según el tipo de actividad que representan, así se pueden encontrar: rotaciones agrícolas, rotaciones mixtas agrícolas-ganaderas, rotaciones hortícolas, rotaciones frutícolas, etc.

Dado el rol fundamental que poseen las rotaciones dentro de los sistemas de producción, por su influencia sobre las otras prácticas agronómicas de manejo, es posible considerarla como un subsistema que imprime rasgos distintivos en los recursos naturales, tecnológicos y socioeconómicos.

En el caso de rotaciones agrícolas, las técnicas acompañantes como labranzas, fertilización y manejo de rastrojos, adquieren gran relevancia. En este sentido, son dos las prácticas agronómicas que principalmente se conjugan: rotación y sistema de labranza. Ambos sistemas interactuando modifican las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo (18).

El cultivo de los suelos, además de afectar la química y estructura del suelo, reduce la actividad biológica debido a la reducción de los macroagregados que proveen un importante microhábitat para la actividad microbiana. Hay evidencia indirecta que sugiere que las enmiendas tales como los abonos animales y verdes, y la diversidad de plantas (rotaciones de cultivos) pueden ser más importantes en el mantenimiento de la actividad y diversidad microbiana que las labranzas conservacionistas en sistemas monoculturales. Ha aumentado la evidencia de que las rotaciones de cultivos promueven la productividad de los cultivos por supresión de microorganismos deletéreos que proliferan bajo monocultivos (19).

C. RESIDUOS DE COSECHA:

Una vez realizada la cosecha de un cultivo agrícola, quedan sobre la superficie del terreno los restos (tallos, hojas, partes de los frutos) que no han sido exportados durante la operación.

Por muchos años se ha realizado la práctica de quemar los rastrojos, esto sumado a un excesivo laboreo, ha producido, en diversas regiones del mundo, una pérdida importante de la materia orgánica del suelo. La retención de los residuos de cosecha y las labranzas reducidas pueden revertir esa tendencia (20). Estos restos suman generalmente cifras importantes de nutrientes que deberán ser reciclados en el suelo. Asimismo la posición de los rastrojos afecta, en diferente magnitud, la dinámica del agua y la temperatura de los suelos, y consecuentemente, puede afectar la implantación de los cultivos (21). Por lo tanto, es necesario conocer las tasas de descomposición de los residuos para evaluar el impacto de los mismos sobre el suelo.

Un adecuado manejo de los residuos de cosecha es fundamental para reducir la erosión producida por las lluvias. Los rastrojos o residuos en superficie reciben directamente el impacto de la gota de lluvia y proveen resistencia mecánica al flujo de agua, reduciendo así la erosión de las precipitaciones. Con respecto a este tema Brown y col. comprobaron a través de experiencias realizadas a campo, que para reducir la erosión es necesario mantener por lo menos una cobertura del 30 % de la superficie, y que la cantidad de cobertura con rastrojo varía con el tipo de suelo, contenido de humedad, cultivo empleado y profundidad de la labranza. Por lo tanto es importante la evaluación de todos esos factores para proponer programar el manejo de residuos (22).

El efecto de los residuos tiene dos componentes, uno inmediato y otro a largo plazo. Inmediatamente después de la incorporación, el efecto mecánico del residuo de cosecha tiene su valor máximo. A partir de este punto comienza el proceso de

descomposición, que depende fundamentalmente de las condiciones de temperatura y humedad del suelo. Después de un período de descomposición, el material aún puede ofrecer alguna resistencia mecánica, pero los efectos benéficos de este proceso pueden producir un aumento de la agregación del suelo como resultado de la actividad biológica (23).

La profundidad de incorporación de los rastrojos es un aspecto fundamental, particularmente por su marcada relación con la actividad biológica. Si los restos vegetales no toman contacto con el suelo no podrán ser descompuestos. En diversas experiencias se ha demostrado que los residuos superficiales se descomponen más lentamente que los incorporados al suelo (21) (24). Este efecto podría deberse al mayor desecamiento y al menor contacto con el suelo de los residuos superficiales. La incorporación del rastrojo a menos de 10 cm de profundidad coloca a los restos vegetales en un medio parcialmente aerobio. En este medio se ve favorecida la actividad de bacterias y hongos celulolíticos, tendiendo a formarse importantes cantidades relativas de ácidos urónicos, polisacáridos, poliurónidos y quinonas (la condensación y polimerización de éstas últimas conduce a la formación de estructuras húmicas estables). Por lo tanto, un semienterrado parcial facilitará el intercambio gaseoso, infiltración del agua y la descomposición de los restos por la actividad microbiana. La colocación de los residuos a mayor profundidad implica su descomposición en un medio más pobre en microorganismos y oxígeno, por lo que el movimiento de la MO es más lento (25).

En general, puede afirmarse que la aerobiosis, junto a una humedad adecuada y a temperaturas no extremas, favorecen tanto la mineralización como la humificación. Una elevada aireación y condiciones térmicas y de humedad moderadamente altas

predisponen a la oxidación y a la actividad bacteriana aerobia, muy eficaz en la mineralización.

Es también conocido que el picado de rastrojos, al aumentar la superficie de contacto, permite acelerar los procesos de descomposición.

El reciclado de los nutrientes contenidos en los restos es fundamental para la disponibilidad de los llamados elementos biológicos como nitrógeno y azufre. Para que estos restos puedan ser fácilmente descompuestos deben tener una relación C/N cercana a la de los microorganismos (11).

D. ENMIENDAS ORGANICAS:

Dentro de esta práctica se incluyen por ejemplo, la aplicación de residuos vegetales (aserrines y cortezas de plantas leñosas, mantillo de bosques, hojarascas), derivados agroindustriales, estiércol, compostes (de residuos domiciliarios, de barros cloacales) y la incorporación de abonos verdes.

Desde hace años, en muchos países, los residuos orgánicos acumulados en áreas urbanas se aplican a suelos agrícolas, con el objetivo de aumentar la materia orgánica de los mismos. La aplicación de aguas residuales introduce un gran número de microorganismos. Sin embargo, la población natural del suelo permanece estable; así los microorganismos extraños introducidos al suelo mueren rápidamente. La muerte de los mismos aumenta el nivel de materia orgánica así como el contenido enzimático. Numerosos trabajos corroboran el importante rol de los microorganismos y sus enzimas o productos metabólicos en la síntesis del humus (26).

La práctica de incorporación de abono verde produce, desde el punto de vista físico, un notable beneficio por el aumento de la porosidad del suelo, disminución de los riesgos de erosión e incremento del ingreso y retención de agua. La prolongación de

estos efectos en el tiempo, sin embargo, dependerá de sí se consigue o no un aumento en el contenido de materia orgánica. Una combinación de gramínea-leguminosa sería lo más apropiado para ser utilizado como abono verde, ya que permitiría mejorar simultáneamente las condiciones físicas y químicas del suelo.

Luego del agregado de abonos verdes se verifica un incremento en la población microbiana, coincidente con cambios en el nitrógeno mineral, que alcanza el máximo una o dos semanas luego de la incorporación. Se han empleado varios parámetros como índices de la actividad biológica del suelo, según Frioni (27) los que mejor ponen en evidencia la respuesta de la microbiota ante los distintos tratamientos orgánicos, fueron los que reflejaron actividades globales como actividad deshidrogenasa y desprendimiento de CO_2 .

E. FERTILIZACION:

La aplicación de un fertilizante químico tiene por finalidad corregir el déficit de uno o más nutrientes en el suelo, a los fines de asegurar una adecuada nutrición a las plantas.

Casi cualquier fertilizante puede causar inhibición local de la actividad microbiana por estrés osmótico. Inyecciones de amonio anhidro o acuoso producen concentraciones biocidas de amonio en el centro de la zona de inyección. La aplicación de urea también puede producir concentraciones de amonio que son biocidas para los organismos del suelo (16). Arnebrant y col. comprobaron una disminución en la actividad y biomasa microbianas en bosques de coníferas ante la aplicación de fertilizantes nitrogenados (28).

A largo plazo la adición de fertilizantes inorgánicos puede aumentar la actividad biológica del suelo, a causa de un incremento de la producción de biomasa de la planta,

cuya incorporación estimula la actividad biológica del suelo. A la inversa, se sugiere que repetidas aplicaciones de fertilizantes inorgánicos, en lapsos cortos pueden suprimir la producción de ciertos enzimas del suelo que están involucrados en el ciclado de un nutriente dado (11).

F. BIOCIDAS:

Los herbicidas e insecticidas foliares aplicados a campo que alcanzan en el suelo una concentración suficiente, causan una injuria directa a los organismos del suelo.

El mayor disturbio a la biota del suelo es producido por los fungicidas, fumigantes y otros tipos de químicos para erradicar organismos determinados. Posterior a su aplicación hay comúnmente una depresión en la tasa de respiración del suelo por una o varias semanas (16).

Se ha estudiado la población fúngica de suelos cultivados orgánicamente (definidos como sistemas de producción en los cuales se evita el uso de fertilizantes, pesticidas y otros aditivos químicos) comparándola con la micota de sistemas de cultivo convencionales. El resultado de esos estudios indica la presencia de más propágulos fúngicos en suelos cultivados orgánicamente que en los sistemas convencionales. Los resultados también sugieren que los suelos cultivados orgánicamente tienen mayor diversidad fúngica y mayor potencial para la descomposición de la materia orgánica, como la celulosa (29) (30) (31).

I-3-HONGOS CELULOLITICOS:

I-3-1-CELULOSA:

La celulosa comprende cerca del 40-50 % de la pared celular de las plantas maduras y es así el polisacárido simple más importante, disponible a los hongos en un amplio rango de ambientes. Como la mayor parte de la vegetación agregada al suelo es celulosa, la descomposición de este carbohidrato tiene un significado especial en el ciclo biológico del carbono. El contenido de celulosa de las plantas superiores es variado, y su concentración cambia con la edad y tipo de planta. Este carbohidrato es especialmente abundante en sustancias leñosas, paja, rastrojo y hojarasca.

La celulosa es un polímero lineal compuesto de hasta 14000 unidades de anhidroglucosa en la configuración silla, interconectadas por enlaces glucosídicos β -1,4. Ya que las moléculas de glucosa adyacentes se alternan por 180° en su orientación, la unidad repetitiva básica es la celobiosa. Los enlaces de H soportan cada unión glucosídica, manteniendo la rigidez de la molécula de celulosa. Si se rompen los enlaces glucosídicos, los enlaces de H pueden mantener la configuración espacial lo suficiente, como para que el enlace glucosídico se restablezca (32).

La estructura de la celulosa nativa es compleja, ya que regiones altamente cristalinas están conectadas por regiones amorfas menos organizadas. Las fibrillas se unen entre sí para formar microfibrillas con dimensiones transversales de 5-30 nm, que constituyen la celulosa cristalina. Las cadenas se mantienen juntas por enlaces de H y fuerzas de Van der Waals, las cuales tienen el efecto de excluir el acceso de los enzimas celulasas a las regiones centrales de las cadenas de celulosa (33). En general se acepta que alrededor del 85% de la celulosa está dispuesta en estructuras cristalinas y el 15% restante en configuraciones más amorfas. Las microfibrillas están embebidas en

una matriz de otros polisacáridos y lignina, constituyendo así la rígida e inerte pared celular de las plantas (32).

I-3-2-HIDROLISIS ENZIMATICA DE LA CELULOSA:

La hidrólisis enzimática de la celulosa es un proceso complejo que requiere la participación de diversas proteínas enzimáticas secretadas por microorganismos.

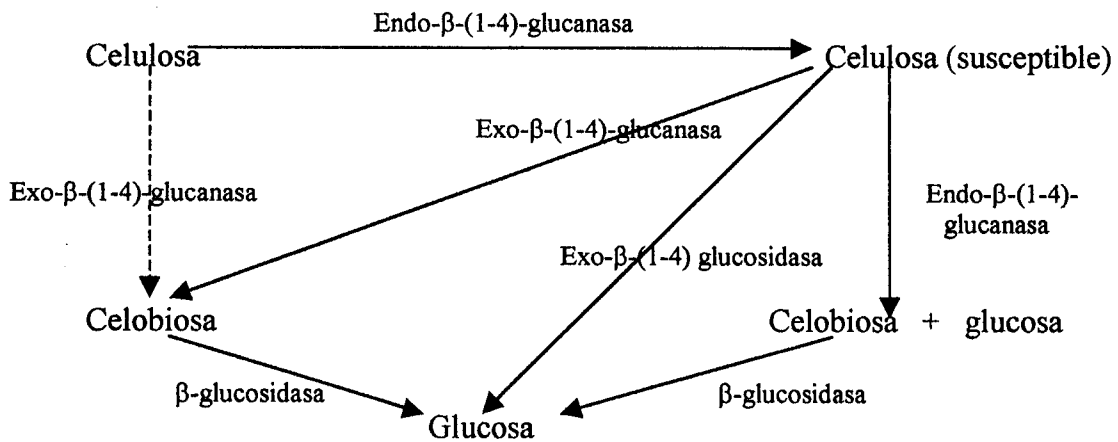
Hay tres grupos principales de enzimas celulolíticos producidos por los hongos:

1)-Endoglucanasas (1,4- β -Dglucan 4-glucanohidrolasas), que actúan al azar sobre la cadena celulósica y producen una disminución del grado de polimerización. Actúan principalmente sobre la celulosa amorfa.

2)-Exoglucanasas, representadas por dos grupos: 1,4- β -D-glucan celobiohidrolasas y 1,4- β -D-glucan glucohidrolasas, que liberan respectivamente celobiosa y glucosa, algunas clases de exoglucanasas a partir de extremos no reductores y otras a partir de extremos reductores (34). Actúan sobre las regiones tanto amorfa como cristalina de la celulosa (35).

3)-Celobiasas (β -D-glucósido glucohidrolasas), pertenecientes al grupo más amplio de las beta-glucosidasas, que clivan al dímero celobiosa en dos moléculas de glucosas.

En la figura N°1 se presenta una representación esquemática del modo de acción de celulasas fúngicas sobre celulosa propuesta por Sharrock (33).



En conjunto estos enzimas se denominan “celulasa” o más precisamente “complejo celulasa”.

Las exoglucanasas se presentan en forma más restringida, porque varios hongos pueden producir endoenzimas y celobiasas, pero muchos menos pueden producir exoenzimas y degradar las formas altamente cristalinas de la celulosa; entre estos hongos se incluye por ejemplo: *Trichoderma spp* y *Chaetomium spp*. (36).

Como vemos un polímero simple como la celulosa, que consiste de un solo tipo de unidades, con un solo tipo de enlace, requiere la acción de un complejo enzimático para su completa degradación y utilización por los hongos.

I-3-3-CARACTERISTICAS DEL COMPLEJO CELULASA:

Los enzimas del complejo celulasa presentan ciertas características importantes:

1. Todas las celulasas fúngicas estudiadas pueden existir en una multiplicidad de isoenzimas (37) (38). El número real de componentes varía con la cepa y la forma en que ésta ha sido cultivada (37) (39). Las celulasas son glicoproteínas; las glucan celobiohidrolasas presentan la misma fracción polipeptídica y difieren solo en su porción carbohidrato (sus pesos moleculares

varían entre 50000 y 65000). En contraste las endoglucanasas difieren tanto en la porción polipeptídica como en la de carbohidrato de la molécula (sus pesos moleculares varían entre 11000 y 65000) (33). Al presentar los isoenzimas distintos pesos moleculares, esto puede variar su movilidad en la pared celular de la planta.

2. Celulasas son enzimas inducibles más que constitutivos. Se forman solamente en la presencia de su sustrato. Ahora bien, cómo un material insoluble como la celulosa puede actuar como un inductor cuando no puede entrar a la célula. Se considera que pequeñas cantidades de celulasas (particularmente celobiohidrolasas) son producidas constitutivamente, y cuando esos enzimas actúan sobre celulosa ellos liberan moléculas pequeñas como celobiosa que actúan como inductores. En el sistema celulasa de *Trichoderma reesei*, Kubicek y col. estudiaron el mecanismo de inicio de la síntesis del complejo enzimático. Presentaron evidencia de la presencia de una β -diglucósido permeasa con muy alta afinidad por la celobiosa y que por lo tanto puede competir exitosamente con una β -glucosidasa constitutiva extracelular. Debido a la baja actividad de la permeasa, la situación se revierte a altas concentraciones de celobiosa. Por lo tanto la entrada de celobiosa a la célula es preferida a la hidrólisis cuando su concentración es muy baja (40).

3. La síntesis de celulasa es reprimida por altos niveles de glucosa, u otros azúcares fácilmente metabolizables. Este fenómeno se denomina represión por catabolito. Por lo tanto las celulasas son producidas solo cuando las células necesitan utilizar celulosa porque otros sustratos fácilmente utilizables están exhaustos.

4. Celobiosa actúa como inhibidor competitivo de endo y exoglucanasas por unión al sitio activo del enzima.

AL

5. Frecuentemente se ha informado acerca del sinergismo entre los enzimas involucrados en la hidrólisis de la celulosa nativa (41) (42) (43). El sinergismo es un efecto cooperativo, que hace que una reacción catalizada por una combinación de enzimas, transcurra a una velocidad que excede la suma de las velocidades individuales de las reacciones catalizadas por los enzimas actuando aislados. El sinergismo de celulasas se puede clasificar en dos grandes grupos: sinergismo entre endocelulasas y exocelulasas (44) (45), y sinergismo entre diferentes exocelulasas (46). La hipótesis más ampliamente aceptada con respecto al sinergismo endo-exo, es que las endoglucanasas inician el ataque por clivaje de las cadenas de celulosa al azar, creando extremos de cadenas expuestos, a partir de los cuales las exocelobiohidrolasas remueven sucesivas unidades de celobiosa (47). Con respecto al sinergismo exo-exo, Barr y col. consideran que es causado por dos diferentes clases de exocelulasas, que exponen nuevos sitios de hidrólisis para el otro enzima, con un enzima atacando los extremos reductores y el otro actuando sobre los extremos no reductores (34). También se ha demostrado sinergismo cruzado entre celulasas de diferentes microorganismos (42) (47) (48). Esto sugiere que son necesarias varias actividades distintas para degradar la celulosa eficientemente, y que diferentes organismos producen celulasas que tienen algunas o todas esas actividades (34) (49).

6. La mayoría de los organismos celulolíticos contienen varios genes de celulasas, por lo cual es difícil aislar mutaciones en ellos. Muchos genes diferentes de celulasas han sido clonados a partir de varias especies de bacterias y hongos. Más de 70 genes de celulasas se han secuenciado, y una comparación de esas secuencias muestra que las regiones que codifican para los dominios catalíticos se pueden agrupar en 7 familias, dentro de cada una de ellas todos sus miembros

AL

muestran similitudes. A su vez se ha comprobado que las estructuras tridimensionales de todos los miembros de una familia de celulasas son bastante similares en su patrón global de plegamiento polipeptídico, aunque hay significativas diferencias en lo que se refiere a las propiedades específicas de cada enzima. A su vez las estructuras de enzimas de distintas familias muestran pocas similitudes. Una propiedad que parece ser constante entre los miembros de una dada familia es la estereoquímica del clivaje. Algunas celulasas invierten la conformación de la unión glucosídica durante el clivaje, mientras otras mantienen la conformación β en el producto (50).

7. Interesa conocer el rol del sitio de unión a la celulosa en la función celulasa. Esos dominios están presentes en muchas celulasas bacterianas y fúngicas, y pueden encontrarse ya sea en el extremo N-terminal o C-terminal del dominio catalítico. Parece ser que el dominio de unión de una celulasa no solo une el enzima a la celulosa, sino que también ayuda a romper interacciones entre moléculas de celulosa, que la hacen resistente a la digestión (44). Esto probablemente explica por qué las celulasas que no tienen dominio de unión, tienen poca actividad sobre celulosa cristalina (51).

I-3-4-CELULOLISIS EN LA NATURALEZA:

Hay otros factores que influyen en la celulolisis producida en la naturaleza.

En la mineralización de la celulosa existe una serie de dificultades, por ser un material no soluble, es necesario considerar ciertos requerimientos previos a su degradación. Se ha sugerido que las regiones cristalinas de la celulosa son menos susceptibles a la hidrólisis que las regiones amorfas (52), incluso varios autores reportaron una correlación lineal entre el grado de cristalinidad de la celulosa y la

AL

degradación enzimática de varios sustratos pretratados. Sin embargo, otros autores sugieren que el carácter amorfo de la celulosa no es en sí la causa de su mayor digestibilidad, y que el aumento de la superficie de la celulosa disponible a las moléculas enzimáticas puede ser de mayor importancia (53). El curso de la solubilización enzimática de material celulósico depende por lo tanto, de la superficie de poros accesible a los enzimas en el sustrato. Además, solo pocos componentes de celulasas tienen bajo peso molecular, como para difundir dentro de los pequeños poros inaccesibles al complejo entero de enzimas, la velocidad de solubilización está disminuida a causa de la reducción del movimiento molecular y de la acción sinérgica. Sin embargo cuando la velocidad de solubilización es alta por el aumento de los grandes poros accesibles, la probabilidad de acción catalítica enzimática aumenta, y la influencia de la difusión en los pequeños poros es insignificante (54).

Con celulosa nativa ha de tenerse en cuenta la dificultad degradativa surgida de la existencia de polímeros asociados (lignina, hemicelulosa y peptina) (55) (56). Por lo tanto los organismos necesitan adoptar las siguientes estrategias:

- Capacidad para producir, además de celulasas, peptinasas, hemicelulasas y fenolasas.
- Acceder a las barreras físicas impuestas por los constituyentes de la pared vegetal.
- Capacidad para resistir a la acción fungicida ejercida por los componentes fenólicos durante la degradación de la lignina.
- Capacidad para cooperar dentro de una comunidad de microorganismos actuando de forma sinérgica, es decir mediante los llamados “esfuerzos combinados”.

Algunos hongos pueden producir el sistema celulolítico completo, pero muchas bacterias son incapaces de degradar celulosas nativas, aunque sí sean activas frente a celulosas solubles o pretratadas.

Hay especies que producen β -glucosidasas y no secretan exo o endoglucanasas, por lo que no pueden considerarse como “celulolíticos” aunque sean proliferantes sobre productos de celulolisis.

I-3-5-FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CELULOLISIS:

La velocidad a la cual la celulosa es metabolizada está influenciada por una serie de factores ambientales, y las variaciones de las características físicas y químicas del suelo producirán diferentes capacidades celulolíticas. Los principales factores ambientales que afectan la transformación de la celulosa son el nivel de nitrógeno disponible, temperatura, aireación, humedad, pH y la presencia de otros carbohidratos. Las modificaciones en las características físicas y químicas del hábitat pueden alterar ya sea la composición de la microflora o la actividad de los organismos individuales (5).

I-3-6-MICROORGANISMOS CELULOLITICOS:

Entre las especies que utilizan celulosa hay bacterias, microhongos filamentosos, basidiomicetos y actinomicetos.

Rhee y col. (57) estimaron la contribución relativa realizada por bacterias y hongos a la actividad celulasa del suelo. Ellos midieron la actividad carboximetil-celulasa total y encontraron que la proporción entre este enzima de origen fúngico y bacteriano fue 6/1 en suelo de bosques de hojas caducas.

Los hongos son los principales responsables de la descomposición de materiales vegetales sobre suelo de bosques (10).

Un grupo diverso de hongos utiliza celulosa como fuente de carbono y energía. Tratando el suelo con celulosa hay un aumento significativo en el número de hongos. Las especies fuertemente celulolíticas pertenecen a los géneros: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma* y *Verticillium*. Se ha propuesto que los hongos son los principales agentes en la degradación de la celulosa en suelos húmedos, mientras que las bacterias tienen gran importancia en suelos semiáridos. Efectivamente muchos hongos son capaces de descomponer la celulosa, en contraste con las bacterias, un grupo en el cual la presencia de los enzimas necesarios es relativamente rara (5).

Un factor que determina la composición de la microbiota aeróbica y mesofílica que descompone la celulosa es el pH del ambiente. En hábitats ácidos los hongos son activos, mientras que a pH superior a 6,0 los hongos y las bacterias son los organismos responsables de la reacción. En consecuencia, la adición del polisacárido puro o de residuos de cosecha celulósicos a suelos con pH mayor que 6,0 da como resultado un marcado incremento en la abundancia de hongos y bacterias. En suelos aireados con altas concentraciones de iones hidrógeno, sólo los hongos filamentosos responden a tales tratamientos.

Los restos vegetales como la paja, con un alto contenido en celulosa, son descompuestos en el suelo por una mezcla de poblaciones microbianas, donde pueden ocurrir muchas interacciones, que influyen en la velocidad de descomposición y la estructura de la comunidad de las poblaciones involucradas (58). Las comunidades celulolíticas incluyen miembros no celulolíticos, los cuales son capaces de interceptar los productos de las celulasas. Es necesario obtener más información para clarificar el

AL

rol de todos los microorganismos involucrados en la descomposición de la paja, bajo condiciones normales en el suelo.

En trabajos relacionados al tema (59) (60), nos interesó conocer la dinámica de estas poblaciones fúngicas celulolíticas, en suelos cultivables tratados con diversos herbicidas, pre y post emergentes a través del ciclo de cultivo de trigo. Para varios de esos biocidas, se observó un efecto depresivo sobre la capacidad colonizante de la micota total y celulolítica. Este efecto está considerado como crítico o de alto riesgo para la recuperación de la estructura y diversidad de las comunidades fúngicas edáficas.

Además encontramos que las especies celulolíticas aisladas varían marcadamente durante todo el tiempo de las experiencias en los suelos tratados con respecto a los testigos (61).

Estos cambios son índices también de modificaciones bioquímicas en las poblaciones celulolíticas, de acuerdo a la capacidad enzimática que puede desarrollar el complejo celulasa, comprobándose en algunas especies estudiadas una disminución de la celulolisis de las cepas aisladas de suelos tratados (62). Esto podría interpretarse como un efecto selectivo o mutagénico del herbicida, con alteración del metabolismo celulolítico, lo que reviste especial importancia, dado el rol de la micota celulolítica en el ciclo biológico del carbono.

Otro aspecto de interés agrícola es la incorporación de enmiendas orgánicas y/o fertilizantes a los suelos. En este sentido hemos realizado una experiencia donde se combinaron, la introducción de abonos verdes con fertilizantes, para observar el efecto sobre la comunidad fúngica. Se comprobó que algunos de dichos tratamientos fueron estimulantes de la micota total y celulolítica (63), lo que plantea el interés por el conocimiento de la capacidad celulolítica de los hongos aislados a partir de estos suelos.

I-4-HONGOS QUERATINOLITICOS:

En la biodegradación del material queratinoso integrado a los suelos, participan una variedad de microorganismos, principalmente hongos y bacterias. La queratina es degradable por algunas especies de hongos saprófitos y parásitos, actinomicetos y algunas cepas de *Bacillus*. Las especies fúngicas capaces de degradar las queratinas son conocidas como queratinolíticas. Este es un grupo funcional que no ha sido estudiado con detenimiento, si tenemos en cuenta la importancia que poseen en el reciclado de fuentes nitrogenadas a partir de sustratos muy difícilmente degradables.

I-4-1-QUERATINAS:

Las queratinas son proteínas insolubles de los animales, derivadas de las células del ectodermo (piel). Están incluidas en ellas elementos proteicos estructurales de la piel (el cuero es casi queratina pura), así como los derivados biológicos del ectodermo, tales como el pelo, las escamas, las plumas, las pezuñas, las uñas y los cueros.

Hay dos clases de queratinas, las α y las β queratinas. Las α queratinas, que son relativamente ricas en restos de cistina, contienen por lo tanto, muchos puentes transversales disulfuro; además poseen la mayor parte de los aminoácidos corrientes. Entre las α queratinas se encuentran las proteínas duras y quebradizas de los cueros y de las uñas, que poseen un alto contenido de cistina (hasta un 22%) y las queratinas más blandas y flexibles de la piel, el pelo y la lana que poseen alrededor del 10 al 14% de cistina (64)

AL

I-4-2-DEGRADACION DE LAS QUERATINAS:

Los microorganismos queratinolíticos ejercen su acción específica sobre las queratinas a través de proteasas llamadas queratinasas, se sabe que algunas de ellas son extracelulares (65) (66) y otras están ligadas a la célula (67). Estas enzimas tienen la capacidad de actuar sobre un sustrato compacto, como las queratinas, mejor que otros enzimas proteolíticos, esto distingue a las queratinasas de otras proteasas y peptidasas (68).

Aún no se conoce con exactitud el mecanismo de acción de las queratinasas, pero hay evidencia sobre la probable existencia de los siguientes procesos:

1. Queratinolisis mecánica:

Este mecanismo se aplica sólo a los hongos y otros microorganismos que producen micelio. La queratinolisis mecánica se interpreta como la degradación de las queratinas como resultado de la presión micelial y/o penetración del sustrato queratinoso. El micelio fúngico crece y genera elongaciones que presionan el sustrato compacto.

Se presume que la queratinolisis mecánica precede a la hidrólisis enzimática. También se puede sugerir una acción simultánea entre hidrólisis mecánica y enzimática después del proceso inicial (68).

2. Sulfitólisis:

Hay evidencias de que se reducen los enlaces disulfuro por sulfitos liberados por los microorganismos al medio (69) (70), en medio neutro y alcalino el sulfito rompe los enlaces disulfuro de cistina liberando cisteína y S-sulfocisteína:



La reacción también tiene lugar con residuos cistina en péptidos y proteínas.

Como los hongos queratinolíticos son capaces de producir sulfito cuando crecen sobre

AL

queratina, los enlaces disulfuro del sustrato pueden ser clivados por esta vía. La queratina desnaturalizada por sulfitólisis es fácilmente digerible por el hongo (71) (72).

Se puede así determinar en el medio de desarrollo, la presencia de sulfitos, cisteína, S-sulfocisteína y sulfatos libres o conjugados a proteínas, como producto de la oxidación de esos compuestos (73) (74).

3. Proteólisis:

Posteriormente se produce la acción proteolítica de las queratinasas. Es probable que la proteólisis y la sulfitólisis se estimulen mutuamente.

Se ha comprobado que esos hongos queratinolíticos pueden usar las queratinas como única fuente de carbono, nitrógeno (75) y azufre (76).

Se considera que queratinasa es un enzima inducible por la presencia de queratinas. Meevootisom y Niederpruem encontraron que glucosa (0,5%) fue represiva para la formación de proteasa por *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum* y *Trichophyton rubrum* cultivados dos semanas en caldo sales-queratinas (77). Trabajando con *Trichophyton simii*, Singh (78) encontró que azúcares exógenos suprimieron la producción de queratinasa en el siguiente orden decreciente: glucosa > manosa > maltosa > arabinosa > fructosa. Malviya y col. observaron además que la actividad queratinasa no fue reprimida en un medio con queratina y suplementado con glucosa, amonio o sulfato (76).

Siesenop y col. encontraron que diferentes variedades de *Trichophyton mentagrophytes* pueden producir distintas queratinasas (79).

AL

I-4-3-ESPECIES DE HONGOS QUERATINOLITICOS:

Los hongos que degradan las queratinas son bastante ubicuos en la naturaleza, aunque preferencialmente (obligatoria o facultativamente) se encuentran en sustratos queratinosos.

Algunos de estos hongos son potencialmente patógenos para el hombre y los animales, siendo capaces de parasitar precisamente tejidos queratinizados o sus apéndices.

Existen numerosos trabajos de aislamiento de hongos queratinolíticos en todo el mundo, probablemente debido a su proliferación en una amplia variedad de suelos, y especialmente desde que Vanbreuseghem diera a conocer sus estudios en 1952, relacionados a aislamientos de este grupo fúngico, mediante el empleo del método del anzuelo queratinoso (80).

Las especies de hongos queratinolíticos geofílicos más frecuentemente aisladas son: *Microsporum gypseum*, *M. fulvum*, *M. nanum*, *M. cookei*, *Trichophyton terrestre* y *T. ajelloi* (81) (82). También se hallaron especies pertenecientes a los géneros: *Chrysosporium*, *Myceliophthora* y *Arthroderma* (83) (84), y otras especies de *Trichophyton* como *T. mentagrophytes*, *T. equinum* y *T. soudanense* (85). En espacios abiertos de la ciudad de Rosario se aislaron las siguientes especies: *M. gypseum*, *M. canis*, *M. cookei*, *Arthroderma uncinatum*, *T. ajelloi*, *Chrysosporium keratinophilum*, *C. parvum* y *Chrysosporium spp* (86).

En lo que hace a la distribución geográfica: *M. gypseum* se ha encontrado en todos los continentes, su crecimiento es óptimo en suelos subtropicales y tropicales. *T. ajelloi* también se ha hallado en todos los continentes, pero en regiones más templadas donde su porcentaje es mayor que el anterior. *T. terrestre* no ha aparecido en Africa, por ejemplo, y prospera mejor en suelos subtropicales y templados. Por su parte *M.*

AL

cookei, si bien se ha aislado en todos los continentes, parece tener mayor prevalencia en Europa y América del Norte (81).

Durante varios años hemos realizado investigaciones sobre distintos aspectos ecológicos y fisiológicos de hongos queratinolíticos geofílicos. Como por ejemplo el efecto sobre este grupo fúngico de las características fisicoquímicas del suelo (87) y del aporte de distintos sustratos queratinosos (88). Comprobándose que la materia orgánica, el pH y el tipo de sustrato tienen gran importancia en el aislamiento de los hongos queratinolíticos.

Trabajando con suelos agrícolas se encontró la dominancia de *T. ajelloi* en un alto porcentaje de muestras, siguiendo en orden de frecuencia los aislamientos de *M. gypseum* y *Chrysosporium spp.* (63) (59).

Además se estudió el efecto de diversos herbicidas sobre éstas cepas en experiencias realizadas a campo e in vitro. Observamos los siguientes resultados:

1. Efecto depresivo sobre la viabilidad de determinadas especies (89).
2. Selección de cepas con alteraciones metabólicas como la capacidad de utilización de sustancias hidrocarbonadas y nitrogenadas (89), y de la actividad queratinolítica (90).
3. Alteración significativa de los procesos de germinación y crecimiento por los herbicidas in vitro (91).
4. Aparición de cepas queratinolíticas resistentes a la acción de ciertos herbicidas (92).
5. Alteración de la patogenicidad (93).

A su vez las variaciones observadas en el comportamiento bioquímico y fisiológico de estas cepas frente a los herbicidas, remarcen una vez más las implicancias que el uso intensivo de los biocidas vegetales tiene sobre el equilibrio de

AL

la micota geofílica queratinolítica, al producir alteraciones en la disponibilidad de los nutrientes, y por lo tanto, importantes cambios en la interrelación con la microbiota acompañante.

I-5-OBJETIVOS:

Por la importancia que tienen los hongos del suelo en los procesos de reciclado de nutrientes, y el impacto que dicha función posee sobre la fertilidad edáfica, es de interés conocer las modificaciones que se producen sobre los grupos funcionales fúngicos y su actividad biológica ante el agregado de fertilizantes y residuos de cosecha, y cómo dichas variaciones influyen en la productividad de los suelos. Por todo ello en el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

1. Examinar la influencia de la aplicación de fertilizantes sobre la micota total, celulolítica y queratinolítica de parcelas de suelo cultivable.
2. Evaluar los efectos de distintas prácticas de manejo de suelos agrícolas, con retención de residuos de cosecha, sobre la dinámica de esas poblaciones fúngicas.
3. Relacionar las características fisicoquímicas de los suelos con la micota celulolítica aislada de los mismos.
4. Estudiar in vitro la capacidad enzimática celulolítica de las cepas más frecuentemente aisladas, relacionándola con los tratamientos realizados.
5. Relacionar la actividad de estos grupos funcionales fúngicos con la productividad del suelo.
6. Evaluar la posibilidad de utilizar los resultados obtenidos en programas de conservación de suelos agrícolas.



Con el fin de cumplir con los objetivos enunciados se emplearon dos ensayos:

1. Para estudiar el efecto de la aplicación de fertilizante en un sistema de labranza convencional, sobre los hongos celulolíticos y queratinolíticos del suelo.

2. Para estudiar el efecto de los sistemas de labranza en la incorporación de los residuos de cosecha y la dinámica de las poblaciones fúngicas celulolíticas asociadas a los mismos, como así también los hongos celulolíticos y queratinolíticos de suelo.

AL

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS:

ANOVA	análisis de la variancia.
AEM	Agar Extracto de Malta.
AGS	Agar Sabouraud Glucosa.
APD	Agar Papa Dextrosa.
APS	Agar Papa Sacarosa.
B	bloque.
CC	capacidad de campo.
CF	con fertilizante.
CMC	carboximetilcelulosa.
CYA	Agar Czapek extracto de levadura.
D	densidad relativa.
DCA	Análisis de correspondencia detendenciado.
F	frecuencia.
FD	frente de desarrollo.
FH	frente de hidrólisis.
G25N	Agar Nitrato Glicerol.
HR	humedad relativa.
HSC	habilidad saprofítica competitiva.
LC	sistema de labranza combinada.
LV	labranza vertical.
LSD	least significant difference.
MC	micota celulolítica.

AL

MEA Agar Extracto de Malta (empleado en la identificación de especies de *Penicillium*).

MO	materia orgánica.
MT	micota total.
M-T/S	maíz-trigo/soja.
M-T/S-S	maíz-trigo/soja-soja.
NMS	non-metric Multidimensional Scaling.
PMP	punto de marchitez permanente.
PR	peso del rastrojo.
PST	peso total de suelo con rastrojo.
R	rastrojo.
Rot.	Rotación.
SD	siembra directa.
SF	sin fertilizante.
T/S	trigo/soja.
UFC/gr.	unidades formadoras de colonias por gramo.

II-MATERIALES Y METODOS:

II-1-EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTE SOBRE LA MICOTA DE LOS SUELOS:

II-1-1-SUELO, DISEÑO EXPERIMENTAL Y MUESTREO:

Se emplearon parcelas correspondientes a la Estación Experimental del Instituto de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Oliveros, provincia de Santa Fe. Se trata de un suelo Argiudol Acuíco serie Maciel (22.5% de arcilla, 74% de limo y 3.2% de arena).

Se empleó un sistema de labranza convencional, utilizando arado de rejas y vertedera.

La aplicación del fertilizante se efectuó con 50 kg de nitrógeno como urea (46%), en el momento de la siembra de trigo y maíz. Las parcelas fueron sometidas a dichos tratamientos durante un período de 12 años.

El diseño estadístico es el de bloques completos aleatorizados con tres repeticiones y dos factores en estudio:

1. Las rotaciones de cultivo a dos niveles: rotación maíz (*Zea mays* L.)-trigo (*Triticum aestivum* L.)/soja (*Glycine max* L.) (M-T/S) y rotación trigo/soja (T/S).
2. El tratamiento con fertilizante a dos niveles: con y sin aplicación de urea.

Las muestras de suelo fueron tomadas con un horador hasta 15 cm de profundidad en el mes de setiembre de 1992. Cada muestra compuesta de 20 submuestras de cada subparcela.

AL

Se determinó peso seco del suelo por calentamiento a 100°C hasta peso constante.

II-1-2-ESTUDIO DE HONGOS DEL SUELO:

Con cada muestra de suelo, previo tamizado por malla de 2 mm, se procedió a realizar, por duplicado, las siguientes determinaciones:

a) Recuento total de colonias fúngicas:

Se empleó la técnica de dilución en placa. A partir de una suspensión al 10% de la muestra homogeneizada en agitador a 120 r.p.m. durante 10 minutos, se realizaron diluciones hasta 10^{-4} , con las que se obtuvo un número representativo de colonias por caja de cultivo (entre 30 y 100 colonias). Un ml de esas diluciones se sembró por duplicado en 10 ml de Agar Papa Dextrosa (APD Apéndice I pag. 170), adicionado de 0,1 ml de colorante Rosa de Bengala (Leipzig Germany) 1:150 (como agente bacteriostático y con capacidad para reducir el diámetro de las colonias fúngicas) (94) y 0,1 ml de cloranfenicol (Merck) 50 µg/ml (como agente bactericida). Las placas se incubaron durante 5 días a 28°C. El recuento de las colonias se expresó como número de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco (UFC/gr.).

b) Recuento de colonias celulolíticas:

Tal determinación se realizó empleando el medio de cultivo propuesto por Eggins (95) modificado (63). Un ml de las diluciones realizadas para el recuento de colonias de la micota total se sembró en 10 ml del medio agar-sales-celulosa (Apéndice I pag 170), adicionando 0,1 ml de colorante Rosa de Bengala 1:150 y 0,1 ml de cloranfenicol 50 µg/ml. Las cepas celulolíticas desarrolladas se aislaron en APD.

c) Aislamiento de cepas queratinolíticas:

AL

Se aplicó la técnica de cultivo en placas de Petri sobre anzuelo queratinoso (80). El suelo se distribuyó en las placas formando una capa de aproximadamente 5 mm de espesor; sobre la superficie libre se repartieron fragmentos de pelos de crines de caballo, esterilizados en autoclave a una atmósfera durante una hora. Las siembras se incubaron a temperatura ambiente y fueron humectadas con agua estéril. Durante 30 días, se controló el desarrollo de las colonias queratinolíticas, que se repicaron en medio Agar Sabouraud Glucosa (Apéndice I pag 170) para su posterior identificación.

d) Clasificación de las cepas celulolíticas y queratinolíticas:

La identificación taxonómica de los hongos aislados se basó en la observación de las características macro y micromorfológicas, de acuerdo a los siguientes autores: Domsch (96) para hongos del suelo en general y Raper y Fennell (97), Booth (98) y Rifai (99) para los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Trichoderma* respectivamente. Para la clasificación de los hongos queratinolíticos se emplearon las claves de Van Orschot (100) y Hoog y Guarro (101).

Una vez identificados los hongos aislados se calcularon la densidad relativa y la frecuencia de aparición de los mismos (102):

$$\text{Densidad relativa} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de propágulos del hongo estudiado}}{\text{N}^\circ \text{ total de propágulos}} \times 100$$

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de muestras en que aparece el hongo}}{\text{N}^\circ \text{ de total de muestras analizadas}}$$

II-1-3-DETERMINACIONES QUIMICAS:

Se determinaron: nitrógeno total orgánico por el método de Kjeldahl-Nessler, materia orgánica por el método de digestión húmeda de Black y pH con potenciómetro (1:2,5). Todas estas determinaciones fueron realizadas por el laboratorio de química del INTA de Oliveros.

ALP

II-1-4-ANALISIS ESTADISTICO:

Las variables estudiadas fueron: número de UFC de la micota total por gr. de suelo y número de U.F.C. de la micota celulolítica por gr. de suelo. Se empleó en ambos casos variable transformada $y=\sqrt{x}$ (103). Se realizó análisis de la variancia (ANOVA) con dos factores en estudio: rotación de cultivo y fertilización a dos niveles cada uno. Además se efectuaron pruebas de comparaciones múltiples (Scheffe o LSD) utilizando un nivel de significación del 5 %.

Para estudiar la distribución de las especies y géneros fúngicos, con relación a los tratamientos empleados, se aplicó el análisis de componentes principales (PCA) usando matriz de variancia-covariancia y clasificando de acuerdo a la técnica de variancia mínima por el método de Ward, empleando la distancia euclidia como medida de disparidad, con el programa PC-ORD¹. El mismo análisis se empleó para estudiar la relación entre las muestras sobre la base de las características químicas de los suelos.

La diversidad para cada tratamiento se estimó con el índice de Shannon-Weaver (104). Las diferencias entre los mismos se comparó usando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

1. McCune, B.; Mefford, M. J. (1995) PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data, Version 2.0. MjM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, USA.

AL

II-2-DINAMICA DE LA MICOTA CELULOLITICA Y QUERATINOLITICA EN RESIDUOS DE COSECHA Y SUELO BAJO TRES SISTEMAS DE LABRANZA:

II-2-1-SUELO Y DISEÑO EXPERIMENTAL:

Se utilizó una parcela destinada a manejo de tierras ubicada en el campo experimental José Villarino de la Facultad de Ciencias Agrarias, en la localidad de Zavalla, 33° latitud sur (Provincia de Santa Fe, Argentina) de clima templado húmedo, sobre un suelo serie Roldán que ha sido clasificado como un Argiudol Vértico, familia fina, illítica, térmica según el "Soil Taxonomy". Las principales características del suelo en el horizonte A₁₁ (de 0 a 15 cm de profundidad) son: arcilla: 23,7 %; limo: 74,1 %; arena: 2,2 %; materia orgánica: 3,27 %; carbono orgánico: 1,90 %; nitrógeno total: 0,223 %; relación C/N: 9 y pH en agua (1:2,5): 5,9.

La serie Roldán es un suelo con buena aptitud para la labranza, fértil, adecuada capacidad de intercambio catiónico, y aunque algo insuficientemente provisto de MO (debido al intenso laboreo a que ha sido sometido), es apto para la producción de numerosos cultivos anuales y pasturas polifíticas

Los cultivos se iniciaron en julio de 1993, sobre parcelas que fueron cultivadas previamente durante seis años bajo un sistema de labranza convencional. El diseño estadístico es de bloques completos aleatorizados y tres repeticiones (cada subparcela mide 5 m × 10 m). En él se incluyen tres tratamientos: 1) labranza vertical (LV) labor primaria con cincel; 2) siembra directa (SD) y 3) sistema de labranza combinada (LC) siembra directa de cultivos estivales, labor primaria de cultivos invernales con arado de rejas y vertedera. Las parcelas bajo labranza vertical fueron aradas con cincel dos veces a una profundidad de 25 cm antes de la siembra que se realizó con un cultivador a una profundidad de 10 cm. En la labranza combinada, antes de la siembra de trigo los

residuos de cosecha se incorporaron al suelo por arado de rejas y vertedera a una profundidad de 18 cm y luego las parcelas se trataron con disco. Posteriormente a cada cosecha el rastrojo en pie fue trozado con una desmalezadora rotativa.

A su vez se realizaron dos secuencias de cultivo: una rotación de cultivos maíz, trigo-soja, soja (M-T/S-S secuencia de cuatro cultivos en tres años: 1-maíz, 2-trigo y soja sobre trigo, 3-soja) y otra rotación trigo-soja (T/S dos cultivos en el año).

II-2-2-MUESTREO:

Las muestras compuestas de tres submuestras se tomaron al azar de las parcelas tratadas correspondientes a la rotación de cultivos maíz, trigo-soja, soja, a dos profundidades: de 0 a 5 cm y de 5 a 10 cm, en diciembre de 1993, 1994, 1995 y 1996, posterior a la cosecha de trigo. De las parcelas sometidas a rotación trigo-soja se tomaron muestras a dos profundidades (0 a 5 cm y 5 a 10 cm) sólo en diciembre del año 1996. Para recoger las muestras se empleó un calador de 5 cm de diámetro interno y 5 cm de altura. Los residuos de cosecha se separaron del suelo con un tamiz de 2 mm de malla.

El suelo y los rastrojos de cada muestra fueron pesados por separado, para conocer la distribución de dichos restos en los tres sistemas de labranza estudiados.

Se determinó peso seco del suelo por calentamiento a 100°C y peso seco del rastrojo por calentamiento a 70°C hasta peso constante en ambos casos.

II-2-3-PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SUELO:

El suelo obtenido de la rotación M-T/S-S en los años 1993 y 1996 se procesó de la siguiente manera:

a) Técnica del anzuelo queratinoso:

Se aplicó la técnica del anzuelo queratinoso para el aislamiento de la micota queratinolítica, empleando pelos de crines de caballo. Las siembras se incubaron a temperatura ambiente y fueron humectadas con agua estéril. Durante 30 días, se controló el desarrollo de las colonias queratinolíticas, que se repicaron en medio Agar Sabouraud Glucosa (Apéndice I pag 170) para su posterior identificación.

b) Técnica de dilución en placas:

Recuento de la micota total:

A partir de una suspensión al 10% de la muestra homogeneizada en agitador a 120 r.p.m. durante 10 minutos, se realizaron diluciones hasta 10^{-4} , con las que se obtuvo un número representativo de colonias por caja de cultivo (entre 30 y 100 colonias). Un ml de esas diluciones se sembró por duplicado en 10 ml de Agar Papa Dextrosa (Apéndice I pag 170), adicionado de 0,1 ml de colorante Rosa de Bengala 1:150 y 0,1 ml de cloranfenicol 50 $\mu\text{g/ml}$. Las placas se incubaron durante 5 días a 28°C. El recuento de las colonias se expresó como número de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco (UFC/gr.).

Recuento de micota celulolítica:

Tal determinación se realizó empleando el medio de cultivo propuesto por Eggins modificado (Apéndice I pag 170). Un ml de las diluciones realizadas para el recuento de colonias de la micota total se sembró en 10 ml del medio agar-sales-celulosa, adicionando 0,1 ml de colorante Rosa de Bengala 1:150 y 0,1 ml de cloranfenicol 50 $\mu\text{g/ml}$. Las cepas celulolíticas desarrolladas se aislaron en APD.

II-2-4-PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE RASTROJO:

a) Aislamiento de la micota total y celulolítica por la técnica de dilución en placas:

Las muestras de rastrojo provenientes de la rotación M-T/S-S de los años 1993, 1994, 1995 y 1996, y de la rotación T/S del año 1996, se diluyeron en agua al 10%, con la adición de tween 80 y se homogeneizaron en agitador a 120 revoluciones por minuto, durante 30 minutos.

Alícuotas de 1 ml, obtenidas a partir de las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} , fueron sembradas por duplicado en 10 ml de APD y en 10 ml medio agar sales celulosa modificado. En ambos casos se adicionaron 0,1 ml de solución de Rosa de Bengala y 0,1 ml de cloranfenicol. Las placas se incubaron durante 5 días a 28°C, posteriormente se realizó el recuento en las cajas que tenían de 30 a 100 colonias fúngicas (105) (106) (107), los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de rastrojo seco.

Cuando los hongos aislados fueron identificados se calcularon la densidad relativa y la frecuencia de aparición de los mismos.

b) Aislamiento de la micota celulolítica por el método de lavado:

Este método se aplicó a muestras de residuos provenientes de ambas rotaciones del año 1996.

Fundamento:

Esta técnica facilita el aislamiento de hongos presentes en estado vegetativo en diversos micro-hábitats del suelo. El lavado seriado tiene fundamentalmente el propósito de remover la mayoría de los conidios y esporas fúngicas, reduciendo así la competencia con especies fuertemente esporulantes. Los hongos aislados serán los ecológicamente activos (108) (109).

Aparato:

Se empleó un aparato que funciona en forma semiautomática, similar al de Hering (109), esterilizado previamente con agua e hipoclorito de sodio.

Procedimiento:

1. En el filtro superior del aparato se colocan 1 g de muestra.
2. Se realizan 30 lavados de dos minutos cada uno.
3. Se toman los filtros y se retiran las partículas atrapadas en las mallas con cepillo estéril. Las partículas se colocan en cajas de Petri sobre papel de filtro estéril, donde se dejan secar durante 24 hs.
4. Se siembran con aguja 50 partículas de cada muestra en medio agar sales celulosa. Se colocan 5 partículas por caja.
5. Se incuban las placas a 25°C durante 5 días.
6. Las colonias desarrolladas se repican en APD para su posterior identificación.
7. Los resultados se expresan como frecuencia de aislamiento del hongo en cada muestra de acuerdo a la siguiente fórmula (110):

$$\% \text{ de frecuencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de partículas en que aparece el hongo} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de partículas}}$$

En el N° total de partículas no se incluyen:

- Las partículas contaminadas con el aire.
- Las partículas en las que creció más de un hongo.
- Las partículas en las que no creció nada.

II-2-5-CLASIFICACION DE CEPAS CELULOLITICAS Y QUERATINOLITICAS:

Para su identificación, los hongos aislados se sembraron en los medios indicados por las correspondientes claves taxonómicas, obteniéndose las colonias adultas para describir sus características macromorfológicas, en tanto que para la observación de la micromorfología se realizaron microcultivos de adhesión.

Para hongos del suelo en general se empleó la clave de Domsch (96).

La identificación del género *Aspergillus* se basó en el criterio morfológico dado por Raper y Fennell (97), sembrando estos hongos en medio de Czapek-Dox (Apéndice I pag 171).

Para el género *Fusarium*, de acuerdo a Booth (98), se utilizó APS (Apéndice I pag 171) como medio de cultivo incubado a 25 °C durante cuatro días.

La taxonomía del género *Trichoderma* se basó en Rifai (99) y Bisset (111) (112) (113) (114), empleando medio de AEM (Apéndice I pag 171) para su descripción morfológica.

Según Pitt (115) para el género *Penicillium* se utilizaron los siguientes medios de cultivo: CYA, MEA y G25N (Apéndice I pag 172).

Para los hongos dematiáceos se utilizó la clave de Ellis (116).

Los hongos queratinolíticos se identificaron en medio ASG (Apéndice I pag 170) en base a las claves de Van Orschot (100), Hoog y Guarro (101) y Domsch (96).

II-2-6-MEDICION DE TEMPERATURA Y HUMEDAD EDAFICAS Y VARIABLES AMBIENTALES:

Se evaluó la temperatura del suelo con geotermómetros a 5 y 10 cm de profundidad, y humedad por gravimetría de 0 a 5 cm y de 5 a 10 cm. Se realizaron tres determinaciones por cada subparcela de ambas variables, entre diciembre de 1993 y agosto de 1996, en las parcelas correspondientes a la rotación M-T/S-S. Los valores de temperatura y humedad obtenidos para los tres sistemas de labranza fueron comparados por ANOVA.

Las variables climáticas ambientales registradas fueron: las medias de temperatura ambiente (medida con termómetro de bulbo seco de mercurio), humedad

AL

relativa ambiente (a partir de las temperaturas de los termómetros de bulbo seco y de bulbo húmedo ubicados dentro del abrigo meteorológico, par psicrométrico) y precipitaciones acumuladas en los intervalos de muestreo (medidas con pluviómetro tipo B: boca receptora de 16 cm de diámetro).

II-2-7-DETERMINACION DE MATERIA ORGANICA Y PH:

Se efectuaron en suelo sin rastrojo proveniente de la rotación M-T/S-S, y en muestras enteras (suelo con residuos) de ambas rotaciones, del año 1996.

Materia orgánica, método de Walkley y Black (117):

Fundamento:

Se realiza una determinación del carbono orgánico fácilmente oxidable, por medio del ácido crómico empleándose el calor de disolución del ácido sulfúrico.

Reactivos:

1. Solución de bicromato de potasio (Cicarelli) 1N.
2. Acido sulfúrico concentrado densidad 1,84 p/v (Cicarelli).
3. Acido fosfórico 85% p/v (Cicarelli).
4. Sulfato ferroso amónico (Baker Analyzed Reagent) 0,5N.
5. Difenilamina sulfonato de bario (Fulka AG, Buchs SG) 0,16%.

Procedimiento:

- 1) Pesar 1 gr de suelo seco a 105°C y colocarlo en un Erlenmeyer de 250 ml.
- 2) Agregar 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ 1N y agitar.
- 3) Añadir lentamente 20 ml de ácido H_2SO_4 concentrado.
- 4) Agitar bien y dejar en reposo 20 minutos apoyado sobre una tela de amianto para evitar pérdidas de calor. Dejar enfriar.

AL

- 5) Añadir 160 ml de agua destilada.
- 6) Agregar 10 ml de ácido H_3PO_4 85% p/v para mejorar la observación del cambio de color.
- 7) Incorporar 10 gotas de difenilamina sulfonato de bario como indicador.
- 8) Tomar una alícuota de 20 ml con pipeta de doble aforo y titular con una solución 0,5N de sulfato ferroso amónico hasta que vire al verde claro brillante pasando por verde oscuro y azul.
- 9) Realizar paralelamente un blanco con todos los reactivos simultáneos.

$$\%C = (V_b - V_m) \times N \times 0,003 \times 100/S \times 200/a$$

$\%C$ = % de C fácilmente oxidable.

V_b = volumen de solución de sulfato ferroso amoniacal usado para titular el blanco.

V_m = volumen de solución de sulfato ferroso amoniacal usado para titular la alícuota de la muestra.

N = normalidad de la solución de sulfato ferroso amoniacal.

0,003 = peso de un miliequivalente de C expresado en gr.

S = cantidad de muestra empleada en gr.

a = volumen en ml de alícuota tomada para titular.

Como sólo el 77% del carbono se oxida:

$$C \text{ total} = \%C \times 1,398.$$

Como sólo el 58% de la MO contiene C:

$$MO = C \text{ total} \times 1,724.$$

AL

Determinación de pH:

Fundamento (7):

La acidez potencial corresponde a la suma de los protones en la solución del suelo, los cuales se pueden liberar con una solución de 0,01 M de CaCl_2 .

Reactivos:

- Solución de CaCl_2 (Anedra) 0,01M.

Procedimiento:

Se mezcla una parte de suelo previamente tamizado, con 2,5 partes de solución de CaCl_2 en un vaso de precipitado, y se incuba por lo menos durante 2 hs a temperatura ambiente.

Se agita antes de la medición. Se realiza lectura potenciométrica con un pehachímetro digital (Orion research digital ionalizer 501), previo calibrado del mismo con solución tampón de $\text{pH} = 7$.

II-2-8-RENDIMIENTO:

Se determinó rendimiento del cultivo de trigo. Se cosecharon a mano las espigas correspondientes a una superficie de 1 m^2 , en las parcelas sometidas a los tres sistemas de labranza y las dos rotaciones de cultivo, con tres repeticiones.

Luego las espigas se trillaron y se pesaron los granos, el rendimiento se expresó en gr./m^2 .

II-2-9-ANALISIS ESTADISTICO:

a) Para estudiar la distribución del rastrojo en los tres sistemas de labranza a las dos profundidades, se realizó ANOVA multifactorial para cada año,

AL

comparándose también los cuatro años entre sí y las dos rotaciones de cultivo en el año 1996. Para ello se empleó la siguiente variable:

$$\% R = (PR \times 100) / PST$$

% R: porcentaje de rastrojo en el suelo.

PR: peso del rastrojo en cada situación.

PST: peso total de suelo con rastrojo en cada situación.

La variable empleada representa el porcentaje de peso del suelo total que corresponde al rastrojo. Se utilizó variable transformada $y = \sqrt{x}$, al analizar los datos correspondientes al año 1996, debido a que la variable sin transformar no cumplía con los supuestos del ANOVA.

b) Para analizar las variaciones de las poblaciones fúngicas se utilizaron las siguientes variables:

- Número de UFC de la micota total por gr. de suelo seco.
- Número de UFC de la micota celulolítica por gr. de suelo seco.
- Número de UFC de la micota total por gr. de rastrojo seco (A).
- Número de UFC de la micota celulolítica por gr. de rastrojo seco (B).
- $\frac{A \times \text{Peso total del rastrojo de la muestra correspondiente.}}{\text{Peso total de suelo y rastrojo}}$
- $\frac{B \times \text{Peso total del rastrojo de la muestra correspondiente.}}{\text{Peso total de suelo y rastrojo}}$

Las últimas dos variables se analizaron para considerar la distribución del rastrojo en cada muestra, representan el número de UFC de hongos de la MT (A) y de la MC (B) presentes en el rastrojo contenido en 1 gr de suelo entero.

Se empleó en todos los casos variable transformada $y = \sqrt{x}$ (103). Se realizó ANOVA para cada año considerado, con tres factores:

AL

1. Profundidad a dos niveles: de 0 a 5 cm y de 5 a 10 cm.
2. Labranzas a tres niveles: labranza vertical (LV), siembra directa (SD) y labranza combinada (LC)
3. Bloques a tres niveles: 1, 2 y 3.

Sólo se analizaron las interacciones entre la profundidad y los sistemas de labranza.

Además se compararon por el método de Kruskal-Wallis los valores de micota total y celulolítica de los suelos para los años 1993 y 1996.

Se compararon por ANOVA los valores de micota celulolítica de rastrojo para los años.1993 y 1996.

Para el año 1996 se analizaron los valores de población celulolítica para ambas rotaciones de cultivo.

c) Se realizó ANOVA para comparar los valores de MO y pH del suelo con residuos, considerando tres factores en estudio:

1. Profundidad a dos niveles: de 0 a 5 cm y de 5 a 10 cm.
2. Labranzas a tres niveles: LV, SD y LC.
3. Rotaciones de cultivo a dos niveles: rotación M-T/S-S y rotación T/S.

A su vez se efectuó ANOVA con los valores de MO y pH del suelo sin residuos de la rotación M-T/S-S estudiando los factores labranzas y profundidad, y se compararon los resultados obtenidos entre el suelo con rastrojo y el suelo sin rastrojo.

En todos los casos, previo a la realización de cada ANOVA se comprobaron los supuestos de igualdad de variancias y normalidad de los residuos, aplicándose pruebas no paramétricas cuando dichos supuestos no se cumplieron. Además se efectuaron pruebas de comparaciones múltiples (Scheffe o LSD) utilizando un nivel de significación del 5 %.

d) Para estudiar la distribución de las especies y géneros fúngicos aislados, se realizó Análisis Multivariado (programa PC-ORD¹):

- La distribución de los hongos celulolíticos con respecto a los factores estudiados y el origen de las muestras (aisladas de suelo o rastrojo) en los años 1993 y 1996 Rot. M-T/S-S, se analizó por el método de promedios recíprocos (RA).
- La distribución de los hongos celulolíticos de las muestras de rastrojo de los años 1993, 1994, 1995, 1996 (Rot. M-T/S-S) y 1996 (Rot. T/S), se analizó por NMS (non-metric Multidimensional Scaling) y se clasificó por la técnica de variancia mínima por el método de Ward, empleando la distancia euclidia como medida de diferencia.
- La distribución de las especies fúngicas aisladas por el método de lavado, se analizó por DCA (Análisis de correspondencia detendenciado), clasificándose por la técnica de variancia mínima con el método de Ward y la distancia euclidia.

La diversidad para cada factor (labranzas, profundidad, años, rotaciones y métodos de aislamiento) se estimó con el índice de Shannon-Weaver (104). Las diferencias entre los mismos se comparó usando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

1. McCune, B.; Mefford, M. J. (1995) PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data, Version 2.0. MjM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, USA.

II-3-CAPACIDAD CELULOLITICA DE LOS HONGOS AISLADOS:

II-3-1-DETERMINACION DEL PODER CELULOLITICO DE HONGOS FILAMENTOSOS CON EL USO DEL COLORANTE ROJO CONGO:

A los hongos aislados por el método de dilución en placas y de lavado, a partir de rastros, en los años 1994, 1995 y 1996, se les midió su poder celulolítico empleando el colorante Rojo Congo para evaluar la actividad de los enzimas celulolíticos a través de la descomposición del sustrato.

Fundamento:

El colorante aniónico Rojo Congo se une con polisacáridos que contienen cinco o más uniones continuas β -(1,4)-D-glucopiranosidos, dando la base para un ensayo muy sensible para detectar actividad celulolítica (32).

Reactivos:

1. Solución acuosa de Rojo Congo (Mallinckrodt Chemical Works) 0,1%.
2. Solución de cloruro de sodio (E. Merck AG-Darmstadt) 1M.
3. Acido acético (Cicarelli) 5%.

Procedimiento (118):

1. Las cepas fúngicas aisladas se sembraron en el medio de cultivo con carboximetilcelulosa (Apéndice I pag 173) como única fuente hidrocarbonada durante 7 días a 25°C.
2. A partir de dichos cultivos se realizaron inoculaciones en superficie, de tubos de ensayo de 26 mm de diámetro llenos con 30 ml aproximadamente del medio con CMC solidificado en posición vertical. Se incubaron 7 días a 25°C.

3. Se tomó con un sacabocados metálico, de 5 mm de diámetro, un cilindro de los cultivos en toda la profundidad del medio. Esta determinación se realizó por triplicado.
4. Las muestras cilíndricas se sumergieron en solución de Rojo Congo durante 1,5 minutos.
5. Se lavaron dos veces con solución de cloruro de sodio.
6. Los cilindros se sumergieron 30 segundos en ácido acético, produciendo viraje del color para un mayor contraste.
7. Con regla se midió la distancia desde el inóculo al frente de crecimiento y al frente de hidrólisis de la celulosa. Para medir el frente de desarrollo se realizaron cortes longitudinales de los cilindros de agar, y se observaron al microscopio óptico.
8. Se calculó el cociente entre el frente de hidrólisis (FH) y el frente de desarrollo (FD).

Estudios estadísticos:

Se analizó por ANOVA la variación del cociente FH/FD para cada una de las cepas fúngicas estudiadas, por muestreo considerado, y se compararon los valores promedio de la variable considerada, entre los aislamientos por el método de comparaciones múltiples de Scheffe

Por otro lado se efectuó ANOVA multifactorial de la variable FH/FD con dos factores en estudio: la profundidad y las labranzas.

Se analizó la variación de FH/FD entre los géneros de hongos más frecuentes y entre las especies pertenecientes al género *Fusarium*.

También se comparó el poder celulolítico de los hongos aislados en los distintos muestreos.



Se probaron los supuestos del ANOVA, cuando los mismos no se cumplieron se aplicó una prueba no paramétrica como Kruskal-Wallis.

II-3-2-: ESTUDIO DE LA CAPACIDAD CELULOLITICA DE CEPAS FUNGICAS EN SOBRENADANTES DE CULTIVO:

Se seleccionaron ocho cepas celulolíticas aisladas en los diversos muestreos: *Fusarium oxysporum* y *F. semitectum* (año 1994, rot. M-T/S-S, dilución en placas), *Rhizopus spp* y *Myrothecium verrucaria* (año 1995, rot. M-T/S-S, dilución en placas), *Fusarium verticilloides* (año 1996, rot. M-T/S-S, dilución en placas), *Rhizopus spp* (año 1996, rot. T/S, dilución en placas), *Fusarium oxysporum* (año 1996, rot. M-T/S-S, método de lavado) y *Trichoderma aureoviride* (año 1996, rot. T/S, método de lavado). La mayoría de estas especies presentaron alta frecuencia de aislamiento en los respectivos muestreos.

Las cepas celulolíticas seleccionadas se sembraron en medio de Agar Papa Dextrosa, incubándose durante siete días a 28°C. Al finalizar dicho período se prepararon suspensiones de conidios u esporas en agua destilada estéril. Por recuento en cámara de Neubauer se obtuvieron suspensiones con concentraciones promedio entre 1×10^4 y 1×10^5 elementos por ml.

El desarrollo de las cepas y la inducción del complejo celulasa, se realizó por siembra de 1 ml de ese inóculo por duplicado en 50 ml del medio base de Theodorou y col. (Apéndice I pag 173) (119) con un pH final de 5,5, reemplazando la carboximetilcelulosa por 500 mg de paja de trigo triturada para las primeras cuatro cepas mencionadas, y 500 mg de celulosa microcristalina (Avicel, Merk) para las restantes cepas, en el volumen de medio indicado, que se distribuyó en frascos

Erlenmeyer de 125ml de capacidad, esterilizándose en autoclave a 121°C durante dos periodos de 30 minutos cada uno.

Los frascos Erlenmeyer se incubaron a 28°C en agitador mecánico a 120 r.p.m., durante 12 días. Cada 48 hs se procedió a la centrifugación de los cultivos a 3000 r.p.m, almacenando los sobrenadantes a -20 °C.

Se determinó peso seco, proteínas solubles del filtrado, actividad enzimática sobre celulosa cristalina y sobre carboximetilcelulosa en medio sólido.

Determinación de peso seco:

El peso seco representa el peso del micelio mas la celulosa residual, previamente secados a 70°C hasta peso constante.

Dosaje de proteínas solubles de los sobrenadantes de cultivo:

Las proteínas solubles fueron dosadas por el método de Bradford (120), empleando una solución de albúmina bovina de 1 mg/ml como patrón.

Fundamento:

Se basa en que el colorante Azul Brillante de Coomassie G-250 existe en dos diferentes formas de color, rojo y azul. La forma roja es convertida a la azul por la unión del colorante a proteínas.

La unión del colorante a la proteína es un proceso rápido (aproximadamente 2 minutos), y el complejo proteína-colorante permanece en solución aproximadamente 1 hora. Es un método muy sensible en la medición de proteína.

Reactivos:

- Solución que contiene las siguientes concentraciones finales: 0,01% (p/v) de Azul Brillante de Coomassie G-250 (Bio Rad), 4,7% (p/v) de etanol (Absoluto ACS, ISO Merck) y 8,5% (p/v) de ácido fosfórico (Cicarelli).

Procedimiento:

AL

Se empleó el ensayo para microproteínas, por la baja concentración proteica presente en los sobrenadantes de cultivo.

Se pipetea 0,1 ml de la solución de proteínas y se agregan 1 ml del reactivo, se mezcla y luego se mide la absorbancia a 595 nm, después de los 2 minutos y antes de 1 hora, contra blanco de reactivos, preparado con 0,1 ml de solución tampón adecuada y 1 ml del reactivo.

Capacidad enzimática en sobrenadantes de cultivo:

Actividad enzimática sobre celulosa cristalina.

Fundamento:

La hidrólisis de la celulosa cristalina es una estimación de la actividad del complejo celulasas completo, ya que se miden las actividades combinadas de todos los enzimas celulolíticos (32).

Reactivos:

1. Solución tampón citrato (Acido Cítrico anhidro Biopack) 0,1 M pH 4,8.
2. Celulosa cristalina (Avicel, Merk).

Procedimiento:

1. A 2 ml de cada filtrado agregar 2 ml del tampón citrato y 20 mg de celulosa cristalina.
2. Se probó incubar durante 60 minutos a 50°C y también a 37°C.
3. Centrifugar.
4. Medir azúcares reductores por el método Somogyi y Nelson en el sobrenadante.

Determinación de azúcares reductores:

Método de Somogyi y Nelson (121) (122), se utilizó una solución de glucosa 1 g/l como patrón.

Fundamento:

Los azúcares reductores transforman Cu^{2+} en Cu^{1+} , en medio alcalino y en caliente. El Cu^{1+} reacciona con el reactivo arsenomolibdico dando ácidos inferiores de molibdeno de color azul. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de glúcido presente en la muestra. La sensibilidad es de 0,06-0,5 $\mu\text{moles/ml}$.

Reactivos:

1. Reactivo de Somogyi: por litro contiene 28 g de fosfato monoácido de sodio (Cicarelli), 40 g de tartrato de sodio y potasio (J. D. Riedel E. De Haen A. G.), 100ml de hidróxido de sodio (Cicarelli) 1N, 8 g de sulfato cúprico monohidratado (Cicarelli) y 180 g de sulfato de sodio anhidro (Anedra).
2. Reactivo de Nelson: por litro contiene 50 g de molibdato de sodio anhidro (Cicarelli), 42 ml de ácido sulfúrico anhidro, 6 g de ortoarseniato disódico heptahidratado (Baker).

Procedimiento:

1. Agregar 0,75 ml del reactivo de Somogyi a 1 ml de la muestra.
2. Calentar a 10°C durante 10 minutos.
3. Enfriar.
4. Agregar 0,75 ml de reactivo de Nelson.
5. Agregar 2,5 ml de agua.
6. Leer absorbancia a 540 nm.

Capacidad enzimática sobre carboximetilcelulosa en medio sólido con el colorante Rojo Congo (118):

Fundamento:

Es le mismo indicado en el método de Rojo Congo en tubos.

Reactivos:

1. Agar-agua 2,7 %.
2. Agar-CMC (bacto agar, 1,5 %; CMC sódica, 0,5 %).
3. Solución acuosa de Rojo Congo 0,1%.
4. Solución de cloruro de sodio 1M.
5. Acido acético 5%.

Procedimiento:

1. En placas de Petri de 90 mm de diámetro se colocó una capa de 15 ml de agar-agua, una vez solidificado se volcaron 20 ml de medio agar-CMC, y se dejó solidificar.
2. Se realizaron pocillos con sacabocado de 3 mm de diámetro, cuidando de no pasar la capa base.
3. Se colocaron 35 μ l de los sobrenadantes en los pocillos.
4. La placa se incubó a 50 °C durante 5 horas.
5. El revelado se efectuó con Rojo Congo de 10 a 15 minutos, luego se lavó con NaCl 1 M y posteriormente se viró la coloración con ácido acético al 5 %.
6. Bajo lupa con ocular graduado se midieron los halos de degradación.
7. Las determinaciones se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron como el área de la zona de hidrólisis en mm^2 .

AL

III-RESULTADOS:

III-1- EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTE SOBRE LA MICOTA DE LOS SUELOS:

III-1-1-RECuento DE MICOTA TOTAL (MT) Y MICOTA CELULOLITICA (MC):

Tabla N° 1: Valores de UFC/gr. de suelo seco $\times 10^4$ de MT y MC (son el promedio de dos repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas) en los tres bloques (B I, B II, B III) las dos rotaciones de cultivo, con (CF) y sin fertilizante (SF).

MUESTRAS	MT	MC
B I- Rot. T/S- CF	9,00 (0,00)	6,65 (0,85)
B I- Rot. T/S- SF	9,00 (1,00)	4,50 (0,50)
B I- Rot. M-T/S- CF	18,50 (2,50)	6,15 (0,85)
B I- Rot. M-T/S- SF	12,00 (0,00)	3,80 (0,70)
B II- Rot. T/S- CF	38,00 (6,00)	5,05 (0,25)
B II- Rot. T/S- SF	21,50 (2,50)	3,95 (0,35)
B II- Rot. M-T/S- CF	23,00 (3,00)	4,70 (0,30)
B II- Rot. M-T/S- SF	26,00 (2,00)	6,50 (0,30)
B III- Rot. T/S- CF	18,50 (1,50)	5,65 (0,75)
B III- Rot. T/S- SF	9,00 (0,00)	3,50 (0,50)
B III- Rot. M-T/S- CF	25,00 (4,00)	4,60 (0,40)
B III- Rot. M-T/S- SF	32,50 (4,50)	5,55 (0,55)

Como resultado del ANOVA, para la MT no se observó efecto de la aplicación de fertilizante, pero sí hubo efecto de las rotaciones de cultivo, con mayor población

fúngica en la rotación M-T/S ($p < 0,05$). En tanto que para la MC con la rotación M-T/S no hubo efecto fertilizante, pero con la rotación T/S los valores de UFC/gr de suelo son significativamente mayores en las parcelas donde se aplicó urea ($p < 0,05$).

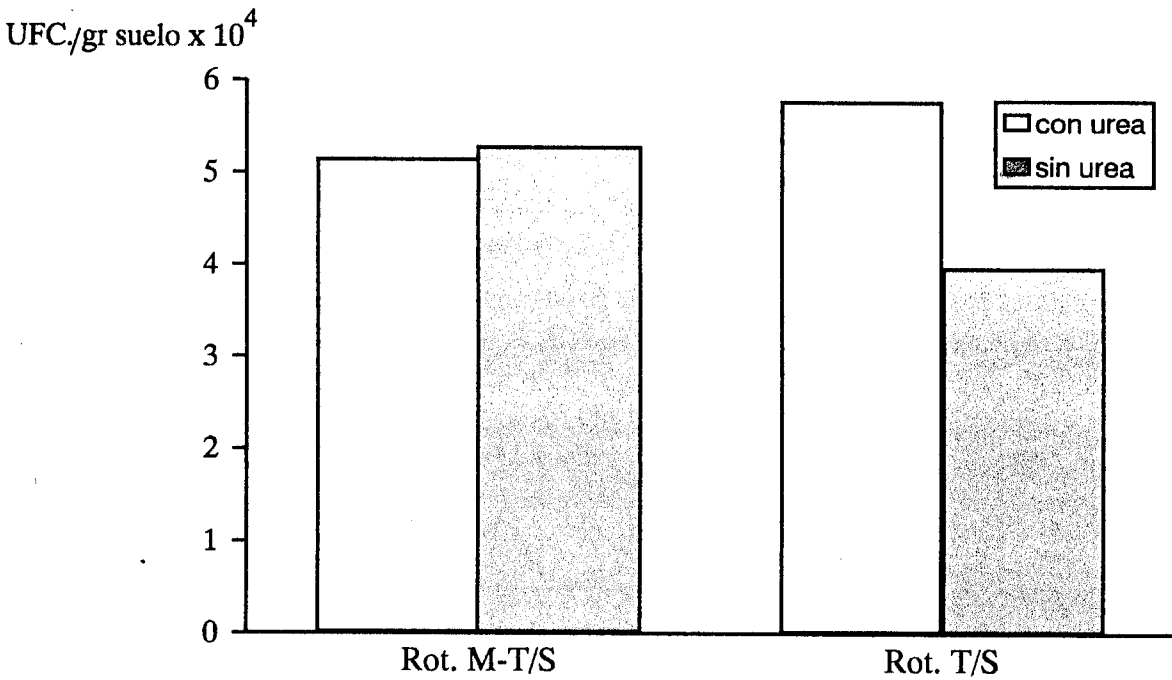


Figura N° 2: Número promedio de UFC de hongos celulolíticos para cada rotación y tratamiento aplicado.

AL

III-1-2-AISLAMIENTOS DE HONGOS CELULOLITICOS:

En las dos tablas siguientes se presentan los hongos celulolíticos aislados.

Tabla N° 2: Especies de hongos celulolíticos, con las respectivas frecuencias (F) y densidades relativas (D).

AISLAMIENTOS	ROT.M-T/S		ROT.M-T/S		ROT.T/S.		ROT.T/S.	
	CF		SF		CF		SF	
	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Aspergillus flavus.</i> Link ex Gray	0,58	9,5	—	—	0,58	13,8	0,67	14,6
<i>A. fumigatus.</i> Fres.	0,25	4,7	—	—	—	—	0,33	20,6
<i>A. niger.</i> Van Tieghem	0,58	24,3	0,60	33,7	0,33	13,9	0,50	22,1
<i>A. terreus.</i> Thom	—	—	0,20	7,4	—	—	—	—
<i>Fusarium solani.</i> (Mart.) Sacc.	0,33	20,9	—	—	0,58	35,0	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	0,33	21,6	—	—	0,33	19,6	—	—
<i>Penicillium spp</i>	—	—	0,30	9,4	—	—	0,08	5,9
<i>Rhizopus spp</i>	0,25	2,0	—	—	0,25	4,7	0,08	5,9
<i>Trichoderma hamatum.</i> (Bonord.)Bain	—	—	0,40	20	0,25	8,3	—	—
<i>T. harzianum.</i> Rifai	0,58	16,9	0,60	8,4	0,33	4,7	0,75	30,9
<i>Verticillium spp</i>	—	—	0,30	21,1	—	—	—	—

Independientemente del tratamiento a que se sometieron las parcelas, en todas ellas se aislaron: *Trichoderma harzianum* y *Aspergillus niger*. Solamente en los sectores fertilizados se encontró mayoritariamente *Fusarium solani* y en los que no recibieron urea se aislaron especies de *Penicillium*.

AL

Tabla N° 3: Densidad relativa de géneros de hongos celulolíticos aislados.

AISLAMIENTOS	ROT.M-T/S CF	ROT.M-T/S SF	ROT.T/S. CF	ROT.T/S. SF
<i>Aspergillus</i>	38,5	41,1	27,7	57,3
<i>Fusarium</i>	20,9	—	35,0	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	21,6	—	19,6	—
<i>Penicillium</i>	—	9,4	—	5,9
<i>Rhizopus</i>	2,0	—	4,7	5,9
<i>Trichoderma</i>	16,9	28,4	13	30,9
<i>Verticillium</i>	—	21,1	—	—

Cuando las muestras son clasificadas empleando análisis multivariado, se forman dos grupos principales: uno corresponde a las muestras obtenidas de las parcelas fertilizadas y el segundo a las no fertilizadas (Fig. N° 3).

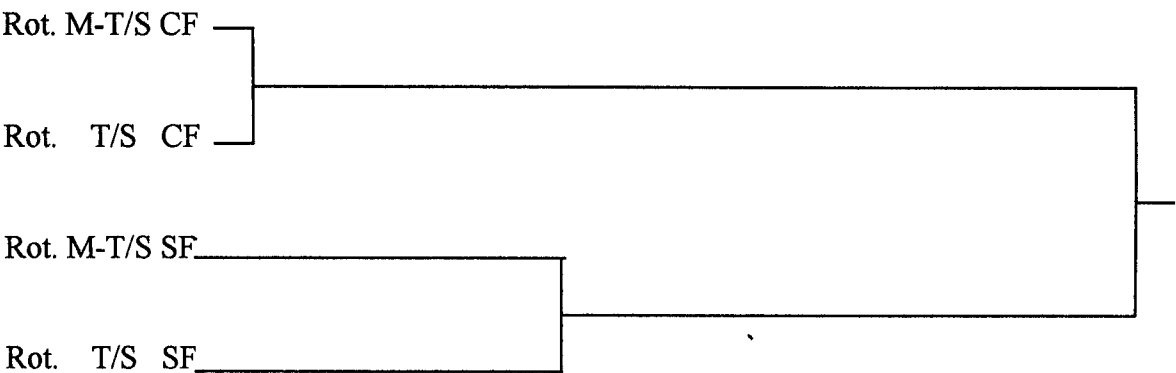


Fig. N° 3: Dendrograma de los grupos de muestras de suelo obtenido por la técnica de variancia mínima.

No se halló diferencia significativa en la diversidad fúngica, entre las dos rotaciones ni entre las muestras tratadas con y sin fertilizante.

AL

III-1-3-AISLAMIENTOS DE HONGOS QUERATINOLITICOS:

En la tabla N° 4 se presentan los hongos queratinolíticos aislados

Tabla N° 4: Frecuencias de hongos queratinolíticos:

AISLAMIENTOS	ROT.M-T/S CF	ROT.M-T/S SF	ROT.T/S. CF	ROT.T/S. SF
<i>Arthroderma uncinatum</i> Dawson & Gentles	0,33	—	—	0,17
<i>Chrysosporium spp</i>	1	0,50	0,50	0,33
<i>Trichophyton ajelloi</i> (Vanbreuseghem) Ajello	1	0,67	0,17	1

Con respecto a la micota queratinolítica, se han aislado *Trichophyton ajelloi* y *Chrysosporium spp* prácticamente en todas las muestras, sin observarse diferencias ante los distintos tratamientos.

III-1-4-CARACTERISTICAS QUIMICAS DE LOS SUELOS:

En la tabla siguiente se presentan los resultados de las determinaciones de N, C y pH.

Tabla N° 5: Resultados del análisis químico del suelo (son el promedio de dos repeticiones).

MUESTRAS	N total (%)	C total (%)	MO (%)	C/N	PH
B I- Rot. T/S- CF	0,148	1,76	3,04	11,89	5,75
B I- Rot. T/S- SF	0,149	1,81	3,12	12,15	5,50
B I- Rot. M-T/S- CF	0,143	1,76	3,04	12,31	5,60
B I- Rot. M-T/S- SF	0,141	1,67	2,88	11,84	5,75
B II- Rot. T/S- CF	0,144	1,80	3,11	12,50	5,85
B II- Rot. T/S- SF	0,146	1,73	2,98	11,85	5,80
B II- Rot. M-T/S- CF	0,160	1,73	2,98	10,81	5,55
B II- Rot. M-T/S- SF	0,141	1,84	3,18	13,05	5,65
B III- Rot. T/S- CF	0,141	1,69	2,91	11,99	5,45
B III- Rot. T/S- SF	0,151	1,73	2,98	11,46	5,50
B III- Rot. M-T/S- CF	0,135	1,87	3,23	13,85	5,55
B III- Rot. M-T/S- SF	0,142	1,77	3,05	12,46	5,45

No se observan diferencias de las características químicas del suelo, ante los tratamientos aplicados. En general se puede afirmar que los suelos son moderadamente ácidos, con contenido de nitrógeno total medio y con respecto al porcentaje de MO pueden considerarse bien provistos.

Por análisis multivariado no se observa agrupamiento entre las muestras de acuerdo a su composición química.

III-2-DINAMICA DE LA MICOTA CELULOLITICA Y QUERATINOLITICA EN RESIDUOS DE COSECHA Y SUELO BAJO TRES SISTEMAS DE LABRANZA:

III-2-1-DISTRIBUCION DEL RASTROJO EN EL SUELO:

La siguiente tabla muestra la distribución del rastrojo en las parcelas sometidas a las distintas prácticas de manejo, para cada año de muestreo.

Tabla N° 6: Valores de $\% R = (PR \times 100) / PST$, a dos profundidades bajo tres sistemas de labranza.

MUESTRAS	ROT.M-T/S-S 1993	ROT.M-T/S-S 1994	ROT.M-T/S-S 1995	ROT.M-T/S-S 1996	ROT.T/S 1996
B I-SD-(0-5cm)	0,33%	2,10%	0,96%	3,04%	2,58%
B I-SD-(5-10cm)	0,35%	0,15%	0,14%	1,27%	0,64%
B I-LV-(0-5cm)	0,43%	0,83%	0,75%	3,52%	2,87%
B I-LV-(5-10cm)	0,26%	0,04%	0,74%	0,33%	0,90%
B I-LC-(0-5cm)	0,46%	0,49%	0,65%	5,64%	3,83%
B I-LC-(5-10cm)	0,87%	0,09%	0,14%	2,88%	0,37%
B II-SD-(0-5cm)	0,96%	0,59%	0,69%	6,40%	6,34%
B II-SD-(5-10cm)	0,20%	0,18%	0,08%	1,05%	0,50%
B II-LV-(0-5cm)	0,34%	0,44%	0,43%	3,77%	3,52%
B II-LV-(5-10cm)	0,24%	0,33%	0,10%	0,55%	0,30%
B II-LC-(0-5cm)	0,84%	0,19%	0,89%	5,76%	6,17%
B II-LC-(5-10cm)	0,29%	0,07%	0,20%	0,83%	0,01%
B III-SD-(0-5cm)	0,44%	1,68%	1,43%	11,23%	1,79%
B III-SD-(5-10cm)	0,14%	0,31%	0,23%	0,97%	0,11%
B III-LV-(0-5cm)	0,24%	0,34%	1,08%	1,47%	2,09%
B III-LV-(5-10cm)	0,14%	0,17%	0,66%	0,66%	0,31%
B III-LC-(0-5cm)	0,31%	0,39%	0,78%	3,46%	3,88%
B III-LC-(5-10cm)	0,22%	0,30%	0,28%	0,34%	0,34%

Cuando por ANOVA analizamos la distribución del rastrojo en cada año de muestreo, encontramos que en 1993 no hay ningún efecto de los factores en estudio (labranzas y profundidad), en tanto que sí lo hay cuando se considera el factor profundidad en los años siguientes: 1994 y 1995 con $p < 0,05$, y en 1996 con $p < 0,001$, para la rotación M-T/S-S. En la rotación T/S (1996) también hay diferencia significativa entre las dos profundidades ($p < 0,001$). En todos los casos hay mayor porcentaje de residuos hasta los 5 cm de profundidad por pruebas de comparaciones múltiples (Scheffe y LSD).

Al comparar el efecto de los años sobre el porcentaje de rastrojo en suelo, no hay diferencia entre los años 1993, 1994 y 1995, sin embargo en 1996 la cantidad de residuo es significativamente mayor ($p < 0,001$), por comparaciones múltiples de Scheffe.

Cotejando las dos rotaciones de cultivos en 1996, los valores de % R son superiores en la rotación M-T/S-S ($p < 0,05$).

En la figura N° 4 se representan los promedios de % de R para los años de muestreo y las dos rotaciones de cultivo en 1996.

AL

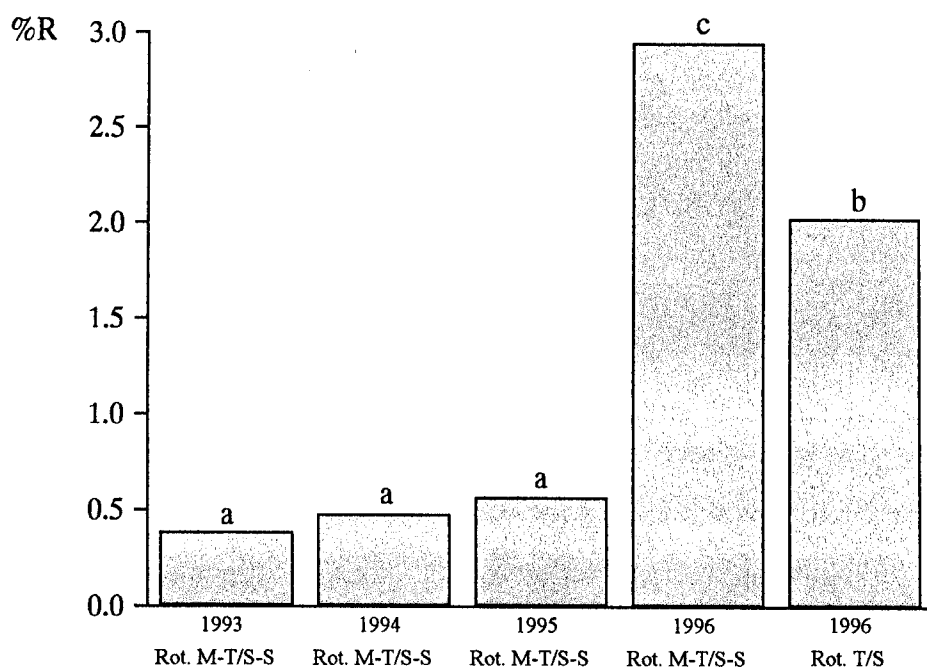


Figura N° 4: Variación del % R en función de los años de muestreo y las rotaciones de cultivos (letras diferentes indican promedios significativamente diferentes).

Como se encontró interacción entre los años y las profundidades con respecto al % R, se analizó cada una de ellas por separado. A las dos profundidades hay diferencia entre los años, con mayor contenido de residuos en 1996, aunque esa diferencia es mayor de 0 a 5 cm (figura N° 5).

AL

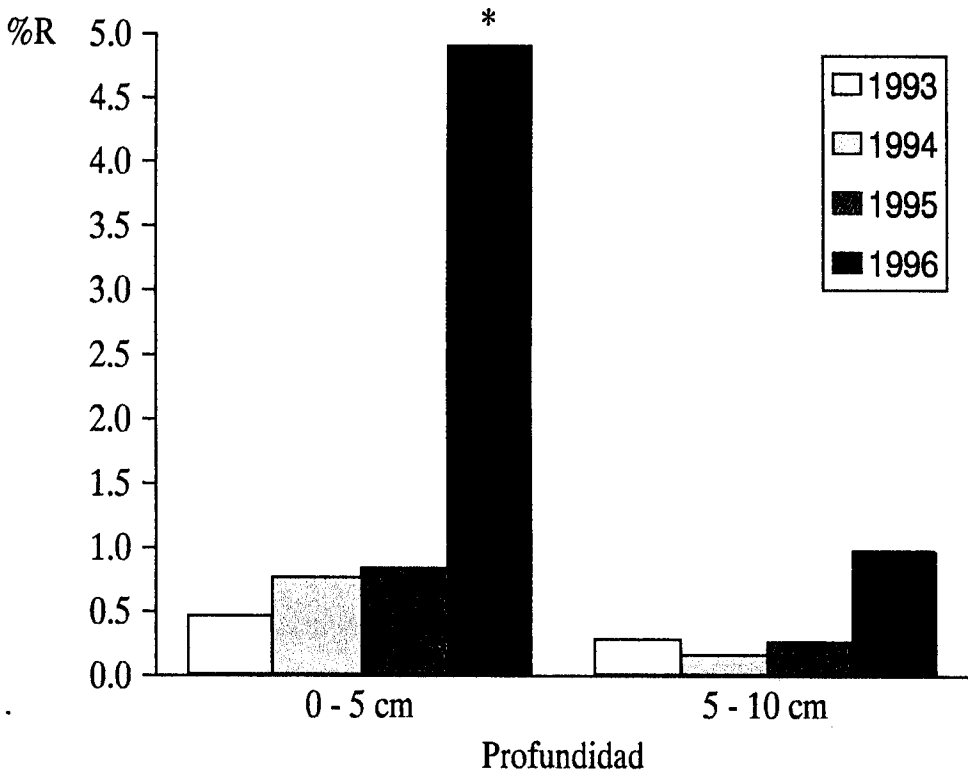


Figura N° 5: Variación del % R en función de los años y la profundidad, rotación M-T/S-S (* indica diferencia significativa de años a $p < 0,001$)

Cuando se analizan los cuatro años de muestreo simultáneamente para la rotación M-T/S-S, se presenta efecto de los sistemas de labranza sólo de 0 a 5 cm de profundidad, por comparaciones múltiples LSD a un grado de significación del 5 %, estos resultados se muestran en la tabla N° 7.

AL

Tabla N° 7: Método intervalos LSD (letras diferentes indican diferencia significativa entre promedios).

Sistemas de labranza	Promedios	Grupos homogéneos
LV	1,14	a
LC	1,65	a b
SD	2,49	b

La diferencia en la distribución de los residuos entre las dos profundidades es mayor en LC y SD para las dos rotaciones. En la rotación M-T/S-S a su vez esa diferencia es más marcada aún en SD (figura N° 6).

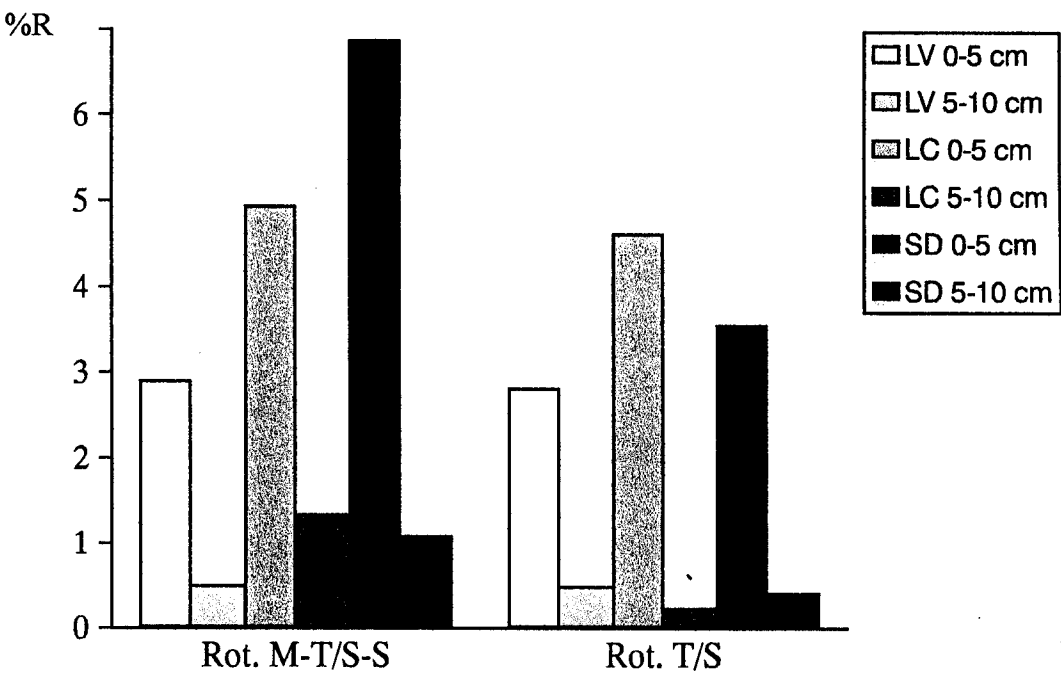


Figura N° 6: Efecto de los sistemas de labranza y la profundidad en la distribución del rastrojo, para las dos rotaciones, año 1996.

AL

III-2-2-RECUESTO DE LA MICOTA CELULOLITICA EN SUELO:

En la tabla N° 8 se presentan los resultados obtenidos de los recuentos de la población celulolítica en suelo libre de residuos, para las prácticas de manejo realizadas.

Tabla N° 8: Valores de UFC/gr. de suelo seco $\times 10^4$ de MC, bajo tres sistemas de labranza y a dos profundidades para los años 1993 y 1996, rotación M-T/S-S (son el promedio de dos repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas).

MUESTRAS	1993	1996
B I-SD-(0-5cm)	0,35 (0,05)	16,13 (0,52)
B I-SD-(5-10cm)	0,30 (0,03)	4,07 (0,61)
B I-LV-(0-5cm)	0,30 (0,04)	4,06 (0,58)
B I-LV-(5-10cm)	0,28 (0,04)	0,33 (0,32)
B I-LC-(0-5cm)	0,15 (0,04)	39,78 (2,09)
B I-LC-(5-10cm)	0,21 (0,00)	3,02 (0,42)
B II-SD-(0-5cm)	0,13 (0,02)	4,13 (0,89)
B II-SD-(5-10cm)	0,05 (0,01)	6,53 (0,57)
B II-LV-(0-5cm)	0,54 (0,04)	29,82 (1,57)
B II-LV-(5-10cm)	0,29 (0,01)	2,45 (0,57)
B II-LC-(0-5cm)	0,07 (0,00)	22,39 (1,56)
B II-LC-(5-10cm)	0,18 (0,01)	6,74 (0,68)
B III-SD-(0-5cm)	0,53 (0,04)	23,56 (3,66)
B III-SD-(5-10cm)	0,31 (0,06)	0,20 (0,01)
B III-LV-(0-5cm)	0,16 (0,01)	19,71 (1,09)
B III-LV-(5-10cm)	0,25 (0,00)	3,27 (0,03)
B III-LC-(0-5cm)	0,39 (0,05)	6,82 (1,57)
B III-LC-(5-10cm)	0,19 (0,01)	0,47 (0,00)

En las muestras de suelo obtenidas en 1993, los recuentos de MT y MC no presentan por ANOVA ningún efecto de los factores estudiados. En tanto que para el

AL

año 1996 se observa que las UFC/gr de suelo de MT y MC son superiores de 0 a 5 cm de profundidad con $p < 0,001$, por método de comparaciones múltiples de Scheffe.

Comparando los dos años entre sí por el método de Kruskal-Wallis, los recuentos son significativamente mayores en 1996 ($p < 0,001$), este efecto se observa a las dos profundidades consideradas (figura N° 7).

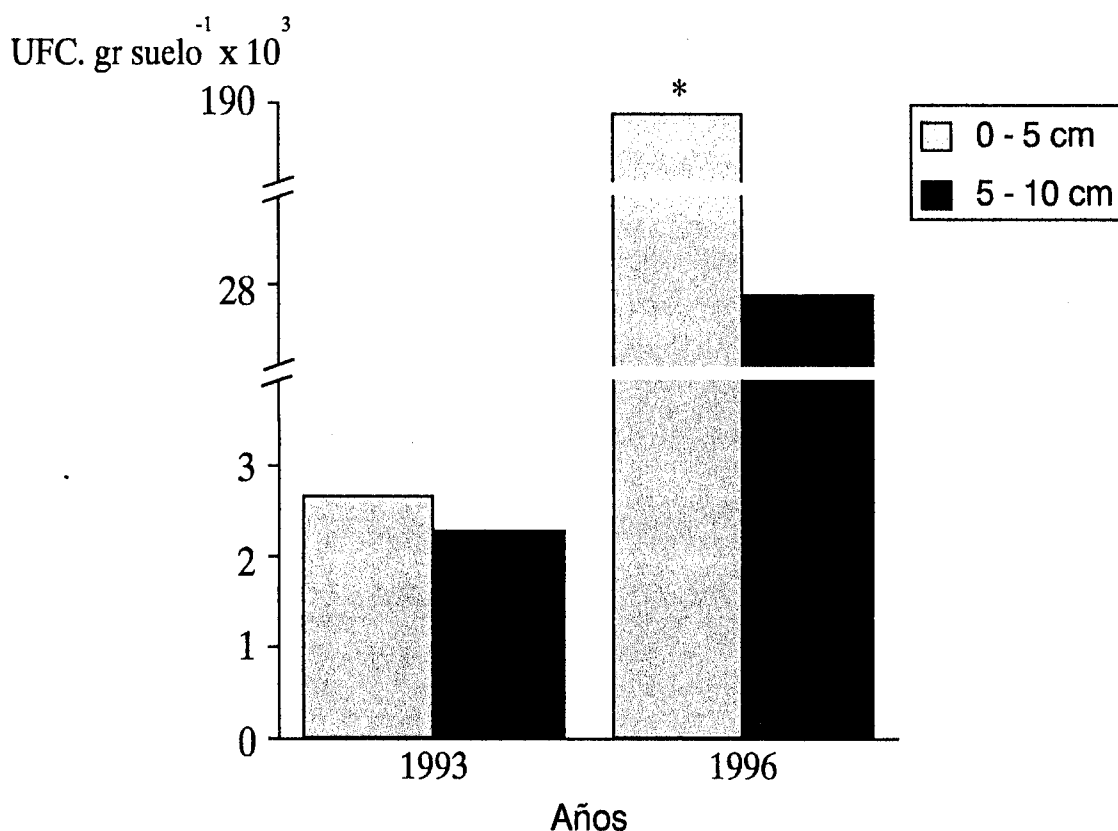


Figura N° 7: Variación de la MC del suelo sin residuos, en función de la profundidad y los años de muestreo (* indica diferencia significativa de profundidad a $p < 0,001$).

AL

III-2-3-RECuento DE LA MICOTA CELULOLITICA ASOCIADA A RESIDUOS DE COSECHA:

En la tabla N° 9 se presentan los resultados obtenidos de los recuentos de la población celulolítica por gr de peso seco de residuos, para los tratamientos estudiados.

Tabla N° 9: Valores de UFC/gr. de rastrojo seco $\times 10^4$ de MC, a dos profundidades, bajo tres sistemas de labranza para cada año de muestreo, y para las dos rotaciones de cultivo en 1996 (son el promedio de dos repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas).

MUESTRAS	ROT.M-T/S-S 1993	ROT.M-T/S-S 1994	ROT.M-T/S-S 1995	ROT.M-T/S-S 1996	ROT.T/S 1996
B I-SD-(0-5cm)	2,94 (0,19)	17,12 (0,00)	41,34 (1,06)	51,50 (0,00)	67,85 (5,75)
B I-SD-(5-10cm)	3,78 (1,86)	2,43 (0,00)	25,00 (3,00)	29,89 (0,00)	13,38 (1,60)
B I-LV-(0-5cm)	1,07 (0,21)	48,8 (2,40)	79,05 (8,67)	19,30 (6,06)	44,55 (0,55)
B I-LV-(5-10cm)	4,93 (0,47)	3,83 (0,97)	14,42 (1,03)	40,18 (1,65)	19,98 (4,86)
B I-LC-(0-5cm)	2,29 (0,72)	49,35 (7,35)	40,95 (7,35)	35,09 (1,67)	34,50 (1,15)
B I-LC-(5-10cm)	9,45 (1,45)	36,25 (2,50)	16,64 (2,08)	17,27 (2,77)	14,04 (0,00)
B II-SD-(0-5cm)	4,78 (0,20)	2,26 (0,36)	59,230 (9,90)	43,88 (2,09)	42,75 (0,57)
B II-SD-(5-10cm)	5,69 (0,79)	0,72 (0,00)	84,10 (0,58)	37,00 (0,00)	46,07 (3,88)
B II-LV-(0-5cm)	3,70 (0,07)	20,48 (0,53)	23,18 (0,51)	31,96 (1,68)	12,32 (1,12)
B II-LV-(5-10cm)	3,50 (0,62)	5,92 (0,58)	66,05 (10,20)	40,41 (1,12)	13,50 (0,54)
B II-LC-(0-5cm)	4,19 (0,13)	27,09 (0,00)	24,44 (1,56)	38,41 (5,01)	107,35 (5,65)
B II-LC-(5-10cm)	4,86 (0,26)	5,40 (0,30)	27,30 (1,54)	32,86 (1,09)	17,85 (4,20)
B III-SD-(0-5cm)	36,71 (0,83)	3,22 (0,00)	39,90 (7,35)	24,44 (0,00)	110,50 (6,50)
B III-SD-(5-10cm)	2,10 (0,14)	9,45 (2,85)	18,87 (4,88)	65,78 (6,08)	49,05 (11,99)
B III-LV-(0-5cm)	4,15 (0,12)	2,12 (0,22)	20,48 (2,62)	19,80 (3,30)	16,10 (1,66)
B III-LV-(5-10cm)	4,97 (0,28)	7,01 (1,72)	18,02 (0,00)	15,46 (0,00)	26,78 (3,67)
B III-LC-(0-5cm)	7,02 (0,13)	4,83 (0,05)	56,71 (1,59)	44,36 (0,00)	81,36 (0,00)
B III-LC-(5-10cm)	2,58 (0,00)	9,29 (0,43)	98,88 (12,36)	8,34 (0,22)	26,66 (0,62)

UFC/gr. de rastrojo seco:

En los años 1993 y 1995 no se produce ningún efecto de los factores estudiados (labranzas y profundidad) sobre la MT y MC.

En 1994 hubo efecto profundidad (de 0 a 5 cm los recuentos son superiores $p < 0,05$) y labranza (en LC hay valores de poblaciones fúngicas mayores que en LV y SD $p < 0,05$) tanto para la MT como para la MC.

Para la rotación M-T/S-S en 1996, la MC presenta diferencia entre las labranzas como lo muestra la tabla N° 10.

Tabla N° 10: Método intervalos LSD a un grado de significación del 5 % (letras diferentes indican diferencia significativa entre promedios).

Sistemas de labranza	Promedios	Grupos homogéneos
LC	$27,52 \times 10^4$	a
LV	$27,99 \times 10^4$	a
SD	$42,10 \times 10^4$	b

Además hay interacción labranza-profundidad, ya que en LC la MC es mayor hasta los 5 cm, en tanto que en LV y SD no existe tal diferencia.

Con respecto a la MT sólo se observa efecto profundidad (valores mayores en la capa más superficial del perfil) a una $p < 0,001$.

Para la rotación T/S en 1996, la MC presenta diferencia entre las labranzas como lo muestra la tabla N° 11.

AL

Tabla N° 11: Método: Scheffe a un grado de significación del 5 % (letras diferentes indican diferencia significativa entre promedios).

Sistemas de labranza	Promedios	Grupos homogéneos
LV	$22,21 \times 10^4$	a
LC	$46,96 \times 10^4$	b
SD	$54,93 \times 10^4$	b

Como se ha demostrado en la Rot. M-T/S-S, para la Rot. T/S también se observa interacción labranza-profundidad, en LC y SD la MC es mayor hasta los 5 cm, en tanto que en LV no existe tal diferencia.

Al comparar por ANOVA los promedios de UFC/gr. de rastrojo seco de MC (rotación M-T/S-S), se observa que los valores correspondientes a los años 1995 y 1996 son significativamente mayores que en el primer año de muestreo ($p < 0,001$). No se halló ninguna diferencia entre las dos rotaciones en 1996.

En la siguiente figura se ilustra la variación de los promedios de MC en función de los años y las rotaciones de cultivo.

AL

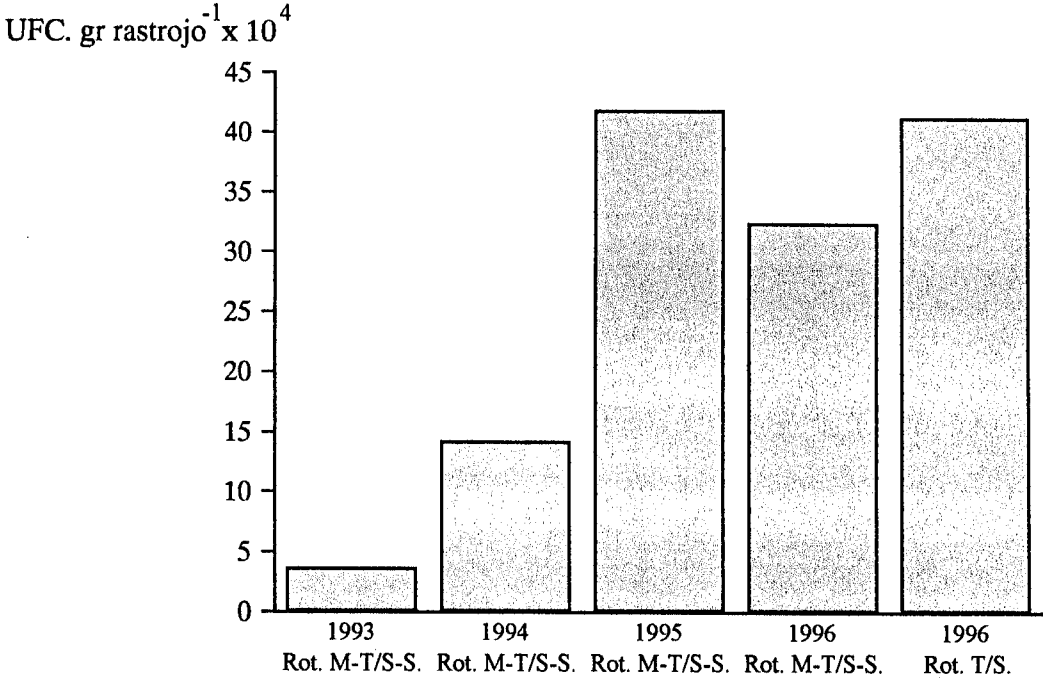


Figura N° 8: Variación de la MC asociada a los residuos de cosecha, en función de los años y las rotaciones.

UFC de hongos presentes en el rastrajo contenido en 1 gr de suelo:

En 1993 no hay efecto profundidad ni efecto labranza, tanto para la MT como para la MC.

En 1994 sólo hay diferencia en cuanto a la profundidad ($p < 0,001$) para MT y MC, con recuentos superiores hasta los 5 cm.

Aunque en 1995 para los tres sistemas de labranza la MC es superior en la capa superficial ($p < 0,001$), esa diferencia con la profundidad es más marcada en SD, con el 87 % de la población de hongos celulolíticos asociados al rastrajo, presentes en los primeros 5 cm del perfil; en tanto que en LV y LC los porcentajes de MC en superficie son de 76% y 72 % respectivamente. Con respecto a la MT se observa el mismo efecto de la profundidad pero no existe la diferencia entre las labranzas que se observa para la MC.

AL

Para la rotación M-T/S-S en el año 1996 la MC, además de la diferencia con la profundidad ($p < 0,001$), presenta efecto de las labranzas ($p < 0,001$) como se muestra en la tabla N° 12.

Tabla N° 12: Método Scheffe a un grado de significación del 5 % (letras diferentes indican diferencia significativa entre promedios).

Sistemas de labranza	Promedios	Grupos homogéneos
LV	4376	a
LC	8696	b
SD	13547	b

Asimismo hay interacción labranza-profundidad, de modo tal que la diferencia entre las labranzas sólo se produce de 0 a 5 cm.

Para la MT se obtuvieron resultados similares, salvo que los mayores valores de población fúngica correspondieron a LC.

Para la rotación T/S en 1996, la MC presenta efecto profundidad ($p < 0,001$) con valores superiores hasta los 5 cm, hay diferencia entre las labranzas como lo muestra la tabla N° 13.

Tabla N° 13: Método: Scheffe a un grado de significación del 5 % (letras diferentes indican diferencia significativa entre promedios).

Sistemas de labranza	Promedios	Grupos homogéneos
LV	4170	a
SD	11347	b
LC	18888	b

Hay interacción labranza-profundidad en forma similar a la rotación M-T/S-S.

No se halló ninguna diferencia entre las dos rotaciones de cultivos en 1996.

Cuando se comparan los resultados obtenidos en el primer año de muestreo (1993) con los del último año (1996) encontramos que hay diferencia significativa con

los años ($p < 0,001$), interacción año-profundidad e interacción año-labranza. La diferencia entre los años es mucho mayor de 0 a 5 cm de profundidad. La diferencia entre las labranzas se manifiesta sólo en 1996.

En la figura N° 9 se ilustra la variación de los promedios de MC en función de los años, las labranzas y la profundidad.

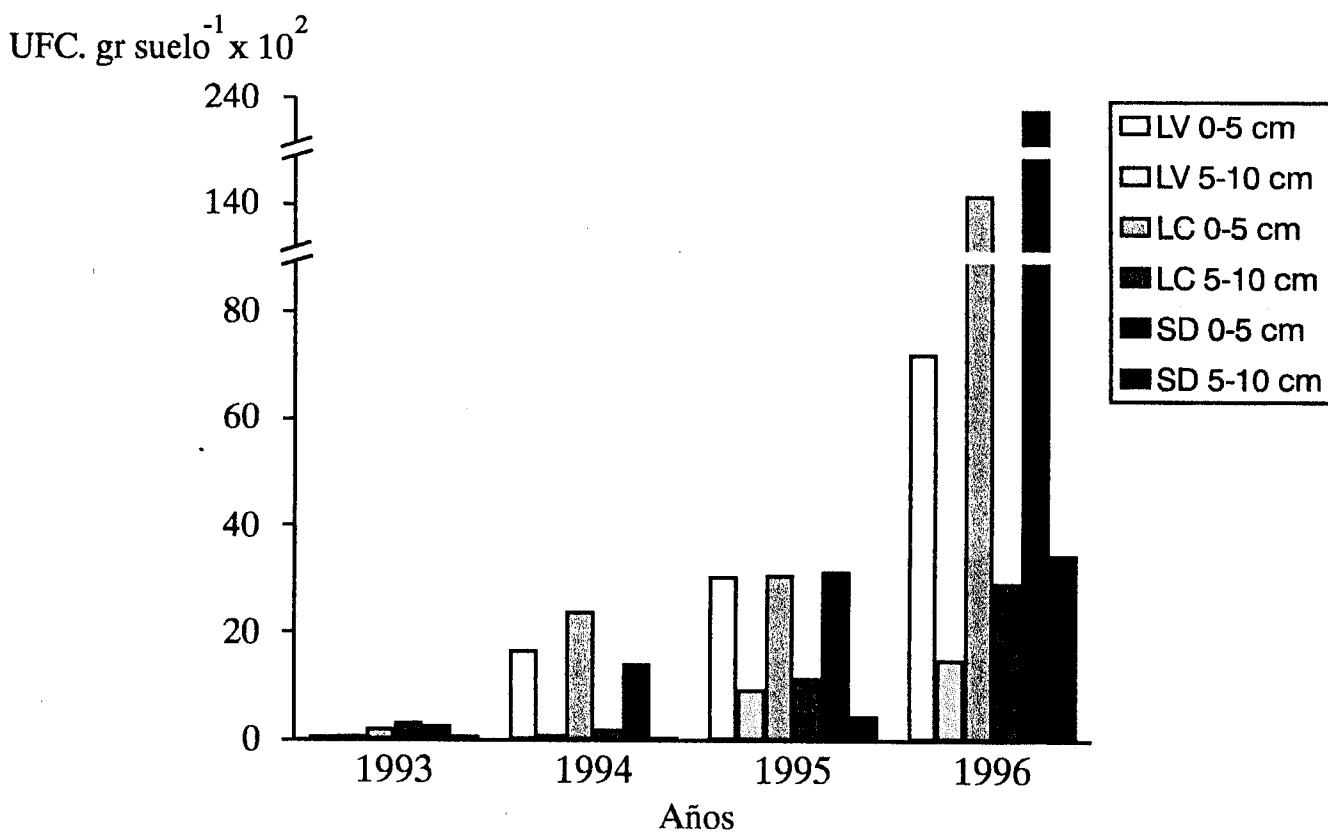


Figura N° 9: Variación de UFC de hongos celulolíticos asociados al rastrojo por gramo de suelo, en función de los años de muestreo, la profundidad y los sistemas de labranza, en la rotación M-T/S-S.

AL

III-2-4-AISLAMIENTOS DE HONGOS QUERATINOLITICOS EN SUELO:

En las tablas N° 14 y 15 se presentan los hongos queratinolíticos aislados de suelo en 1993 y 1996.

Tabla N° 14: Frecuencias de microorganismos queratinolíticos aislados de suelo, año 1993.

AISLAMIENTOS	SD		LV		LC	
	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10
<i>Artroderma uncinatum</i>	—	—	—	—	0,17	—
<i>Chrysosporium spp</i>	0,17	—	—	—	0,67	0,17
<i>Trichophyton ajelloi</i>	0,67	0,33	—	0,33	0,83	0,33
<i>Streptomyces spp</i>	0,33	—	0,67	0,67	—	—
<i>Trichophyton terrestre</i> Durie & Frey	—	—	—	—	0,17	—

Tabla N° 15: Frecuencias de microorganismos queratinolíticos aislados de suelo, año 1996.

AISLAMIENTOS	SD		LV		LC	
	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10
<i>Artroderma uncinatum</i>	—	0,33	—	0,33	0,33	—
<i>Chrysosporium spp</i>	—	0,33	—	—	0,50	0,33
<i>Trichophyton ajelloi</i>	0,83	1	0,83	1	0,83	1

No se observa ninguna distribución en particular de los hongos queratinolíticos con respecto a las labranzas, prácticamente en todas las muestras se aisló *Trichophyton ajelloi* presentándose casi siempre con altas frecuencias de aislamiento. Si comparamos

AL

los dos años entre sí se destaca la presencia de *Streptomyces spp*, una bacteria queratinolítica, en el muestreo correspondiente a 1993.

III-2-5-AISLAMIENTOS DE HONGOS CELULOLITICOS EN SUELO Y RESIDUOS DE COSECHA POR LA TECNICA DE DILUCION EN PLACAS:

En las tablas siguientes se presentan los hongos celulolíticos aislados, por la técnica de dilución en placas, con sus correspondientes frecuencias y densidades relativas, en suelo (años 1993 y 1996) y residuos de cosecha (años 1993, 1994, 1995 y 1996) para las prácticas de manejo consideradas.

Tabla N° 16: Frecuencia y densidad de aislamientos en suelo y rastrojo a dos profundidades en siembra directa, rotación M-T/S-S, año 1993.

AISLAMIENTOS	SUELO				RASTROJOS			
	0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm	
	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>A. fumigatus</i>	1	25,0	1	35,7	0,33	4,0	—	—
<i>A. nidulans.</i> (Eidam) Wint	1	35,9	0,67	39,7	0,33	2,6	0,67	19,6
<i>A. niger</i>	1	39,1	0,33	21,4	0,33	4,0	—	—
<i>Fusarium oxysporum.</i> Schlecht. emend Snyd & Hans	—	—	—	—	0,67	89,4	—	—
<i>Fusarium spp</i>	—	—	—	—	—	—	0,50	43,0
<i>Scopulariopsis spp</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	28,0
<i>Trichoderma harzianum</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	9,4
<i>T. koningii.</i> Oudem.	—	—	0,33	3,2	—	—	—	—

Tabla N° 17: Frecuencia y densidad de aislamientos en suelo y rastrojo a dos profundidades en labranza vertical, rotación M-T/S-S, año 1993.

AISLAMIENTOS	SUELO				RASTROJOS			
	0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm	
	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Aspergillus flavus</i>	0,50	35,5	—	—	—	—	0,67	64,3
<i>Aspergillus flavipes</i> (Bain.& Start)Thom &Church	—	—	—	—	—	—	0,33	35,7
<i>A. fumigatus</i>	0,33	10,8	0,67	34,2	—	—	—	—
<i>A. nidulans</i>	0,67	21,3	1	41,1	0,67	40,0	—	—
<i>A. niger</i>	0,33	10,8	0,33	9,5	—	—	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	—	—	—	—	1	60,0	—	—
<i>Gliocladium roseum</i> . Bain.	—	—	0,33	9,5	—	—	—	—
<i>Streptomyces spp</i>	0,33	10,8	—	—	—	—	—	—
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,33	10,8	—	—	—	—	—	—
<i>Trichoderma spp</i>	—	—	0,33	5,7	—	—	—	—

Tabla N° 18: Frecuencia y densidad de aislamientos en suelo y rastrojo a dos profundidades en labranza combinada, rotación M-T/S-S, año 1993.

AISLAMIENTOS	SUELO				RASTROJOS			
	0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm	
	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Ascomycete</i>	—	—	—	—	0,33	15,0	—	—
<i>A. flavipes</i>	—	—	—	—	0,33	15,0	—	—
<i>A. fumigatus</i>	0,33	12,3	0,67	25,8	0,33	14,5	0,33	29,0
<i>A. nidulans</i>	1	49,1	0,67	32,3	0,33	15,0	0,67	39,6
<i>A. niger</i>	0,67	21,7	0,33	12,9	0,33	15,0	—	—
<i>A. terreus</i>	—	—	0,33	12,9	—	—	—	—
<i>F. oxysporum</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	31,3
<i>Fusarium spp</i>	—	—	—	—	0,33	19,7	—	—
<i>Gliocladium roseum</i>	0,33	9,4	—	—	—	—	—	—
<i>Penicillium spp</i>	—	—	0,33	16,1	—	—	—	—
<i>Trichoderma harzianum</i>	—	—	—	—	0,33	5,8	—	—
<i>T. longibrachiatum</i> Rifai	0,33	7,5	—	—	—	—	—	—

AL

Tabla N° 19: Densidad relativa de los géneros de hongos en siembra directa, 1993.

AISLAMIENTOS	SUELO		RASTROJOS	
	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm
<i>Aspergillus</i>	100	96,8	10,5	19,6
<i>Fusarium</i>	—	—	89,5	43
<i>Scopulariopsis</i>	—	—	—	28
<i>Trichoderma</i>	—	3,2	—	9,4

Tabla N° 20: Densidad relativa de los géneros de hongos en labranza vertical, 1993.

AISLAMIENTOS	SUELO		RASTROJOS	
	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm
<i>Aspergillus</i>	78,4	84,8	40	100
<i>Fusarium</i>	—	—	60	—
<i>Gliocladium</i>	—	9,5	—	—
<i>Streptomyces</i>	10,8	—	—	—
<i>Trichoderma</i>	10,8	5,7	—	—

Tabla N° 21: Densidad relativa de los géneros de hongos en labranza combinada, 1993.

AISLAMIENTOS	SUELO		RASTROJOS	
	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm
<i>Ascomycete</i>	—	—	15,0	—
<i>Aspergillus</i>	83	83,9	59,5	68,7
<i>Fusarium</i>	—	—	19,7	31,3
<i>Gliocladium</i>	9,4	—	—	—
<i>Penicillium</i>	—	16,1	—	—
<i>Trichoderma</i>	7,6	—	5,8	—

ALP

Tabla N° 22: Frecuencia y densidad relativa de hongos celulolíticos de rastrojo a dos profundidades bajo tres sistemas de labranza, rotación M-T/S-S, año 1994.

AISLAMIENTOS	SD				LV				LC			
	0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm	
	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Acremonium spp</i>	—	—	0,17	3,0	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Aspergillus fumigatus</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	20,0	0,33	10,7	0,33	6,0
<i>A. niger</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,33	7,5
<i>Curvularia lunata.</i> (Wakker) Boedijn	0,33	7,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Fusarium proliferatum.</i> (Sacc.) Nirenberg	0,33	14,4	—	—	—	—	0,33	50,0	—	—	0,33	22,4
<i>F. oxysporum</i>	0,33	34,0	0,33	12,7	0,33	21,1	0,33	20,9	0,33	15,1	0,33	52,2
<i>F. semitectum</i> Berk. & Rav.	—	—	—	—	0,33	15,6	—	—	—	—	—	—
<i>F. solani</i>	—	—	—	—	0,33	18,8	—	—	—	—	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	6,4	—	—	0,33	7,5
<i>Myrothecium roridum.</i> Tode ex Steudel	0,33	16,7	—	—	—	—	—	—	0,33	69,6	—	—
<i>Penicillium citrinum.</i> Thom	0,17	15,9	—	—	0,33	17,8	—	—	—	—	—	—
<i>P. griseoroseum.</i> Dierckx	—	—	—	—	0,33	17,8	—	—	—	—	—	—
<i>Rhizopus spp</i>	—	—	—	—	0,33	8,9	—	—	—	—	—	—
<i>Scopulariopsis spp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	0,33	4,6	—	—
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,33	6,4	0,33	72,1	—	—	0,33	2,7	—	—	—	—
<i>T. koningii</i>	—	—	0,33	7,3	—	—	—	—	—	—	0,33	4,4
<i>Trichoderma spp</i>	0,33	4,7	0,33	4,9	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabla N° 23: Densidad relativa de los géneros de hongos celulolíticos en rastrojos, 1994.

AISLAMIENTOS	SD		LV		LC	
	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm
<i>Acremonium</i>	—	3,0	—	—	—	—
<i>Aspergillus</i>	—	—	—	20,0	10,7	13,5
<i>Curvularia</i>	7,9	—	—	—	—	—
<i>Fusarium</i>	48,3	12,7	55,6	70,9	15,1	74,6
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	—	—	6,4	—	7,5
<i>Myrothecium</i>	16,7	—	—	—	69,6	—
<i>Penicillium</i>	15,9	—	35,6	—	—	—
<i>Rhizopus</i>	—	—	8,8	—	—	—
<i>Scopulariopsis</i>	—	—	—	—	4,6	—
<i>Trichoderma</i>	11,2	84,3	—	2,7	—	4,4

AL

Tabla N° 24: Frecuencia y densidad relativa de hongos celulolíticos de rastrojo a dos profundidades bajo tres sistemas de labranza, rotación M-T/S-S, año 1995.

AISLAMIENTOS	SD				LV				LC			
	0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm	
	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Absidia corymbifera</i> . (Cohn) Sacc. & Trotter	0,33	9,1	0,33	8,6	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Ascomycete</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	13,5	—	—	—	—
<i>Aspergillus flavipes</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,33	14,4
<i>A. fumigatus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	0,33	43,5	—	—
<i>A. nidulans</i>	0,33	20,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>A. niger</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	50,0	—	—	—	—
<i>A. terreus</i>	0,33	5,5	0,33	20,5	—	—	—	—	—	—	0,33	23,8
<i>Curvularia lunata</i>	—	—	0,33	2,2	—	—	—	—	0,33	2,6	—	—
<i>Dreschlera spicifera</i> . (Bain.) v. Arx	0,33	7,8	—	—	0,33	7,1	0,33	2,5	0,33	8,2	—	—
<i>Gliocladium roseum</i>	—	—	0,33	13,7	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Fusarium proliferatum</i>	—	—	—	—	0,33	13,8	0,33	17,0	—	—	—	—
<i>F. oxysporum</i>	—	—	0,33	8,0	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>F. solani</i>	0,33	15,7	—	—	—	—	0,33	9,5	—	—	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	—	—	—	0,33	58,2	—	—	—	—	—	—
<i>Myrothecium verrucaria</i> . (Alb. & Schw) Ditm. ex Steudel	0,33	12,7	—	—	—	—	0,33	7,5	0,33	8,6	0,33	11,6
<i>Penicillium citrinum</i>	0,67	20,0	0,33	18,3	—	—	—	—	—	—	0,33	31,0
<i>P. simplicissimum</i> . (Oudem.) Thom	—	—	—	—	—	—	—	—	0,33	16,8	—	—
<i>Rhizopus spp</i>	—	—	0,33	14,3	0,5	20,9	—	—	0,33	20,3	0,33	19,1
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex Gray	—	—	0,33	14,3	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Trichoderma spp</i>	0,33	9,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

AL

Tabla N° 25: Densidad relativa de los géneros de hongos celulolíticos en rastrojos, 1995.

AISLAMIENTOS	SD		LV		LC	
	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm
<i>Absidia</i>	9,1	8,6	—	—	—	—
<i>Ascomycete</i>	—	—	—	13,5	—	—
<i>Aspergillus</i>	25,6	20,5	—	50,0	43,5	38,2
<i>Curvularia</i>	—	2,2	—	—	2,6	—
<i>Dreschlera</i>	7,8	—	7,1	2,5	8,2	—
<i>Fusarium</i>	15,7	8,0	13,8	26,5	—	—
<i>Gliocladium</i>	—	13,7	—	—	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	—	58,2	—	—	—
<i>Myrothecium</i>	12,7	—	—	7,5	8,6	11,6
<i>Penicillium</i>	20,0	18,3	—	—	16,8	31,0
<i>Rhizopus</i>	—	14,3	20,9	—	20,3	19,1
<i>Trichoderma</i>	9,1	14,3	—	—	—	—

Tabla N° 26: F y D de hongos celulolíticos en suelo y rastrojos en SD, rot. M-T/S-S, año 1996.

AISLAMIENTOS	SUELO				RASTROJOS			
	0-5		5-10		0-5		5-10	
	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Acremonium spp</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	5,7
<i>A. niger</i>	—	—	0,67	9,3	—	—	—	—
<i>Fusarium verticillioides.</i> (Sacc.) Nirenberg	—	—	—	—	0,67	53,3	—	—
<i>F. sachari</i> var. <i>subglutinans.</i> (Wollenw. & Reink) Nirenb.	—	—	—	—	—	—	0,33	11,1
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	—	0,33	7,7	0,33	4,2	0,33	5,6
<i>Monocillium spp</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	6,0
<i>P. griseofulvum.</i> Dierckx	—	—	0,33	4,6	—	—	—	—
<i>P. minioluteum.</i> Dierckx	0,33	33,3	—	—	—	—	—	—
<i>P. purpurogenum.</i> Stoll	—	—	0,33	54,2	0,33	12,8	0,33	8,6
<i>Rhizopus spp</i>	0,17	44,3	0,33	7,7	0,67	13,8	0,67	12,3
<i>Sporothrix spp</i>	—	—	0,33	7,7	—	—	—	—
<i>T. harzianum</i>	0,67	22,3	—	—	0,33	15,9	0,67	50,7
<i>T. koningii</i>	—	—	0,67	8,8	—	—	—	—

ALP

Tabla N° 27: F y D de hongos celulolíticos en suelo y rastrojos en LV, rot. M-T/S-S, año 1996.

AISLAMIENTOS	SUELO				RASTROJOS			
	0-5		5-10		0-5		5-10	
	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Alternaria alternata.</i> (Fr.) Keissl	—	—	—	—	0,33	6,0	—	—
<i>Ascomycete</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	11,2
<i>Dreschlera spicifera</i>	—	—	—	—	0,33	12,0	0,33	3,0
<i>Gliocladium penicilloides.</i> Corda	—	—	0,33	3,8	—	—	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	0,33	3,9	—	—	—	—	0,33	5,9
<i>Monocillium spp</i>	0,33	23,7	0,33	14,9	0,33	6,0	—	—
<i>Penicillium aculeatum.</i> Raper & Fennell	—	—	—	—	—	—	0,33	11,2
<i>P. purpurogenum.</i>	—	—	0,33	6,2	—	—	0,33	6,7
<i>Rhizopus spp</i>	0,67	11,2	0,67	15,6	1	54,0	0,67	44,8
<i>Trichoderma atroviride</i> Bissett	—	—	0,33	14,9	—	—	0,33	6,0
<i>T. aureoviride</i> Rifai	0,17	61,2	0,33	1,3	0,33	22,0	0,33	11,2
<i>Trichoderma spp</i>	—	—	0,33	43,2	—	—	—	—

Tabla N° 28: Frecuencia y densidad relativa de hongos celulolíticos en suelo y rastrojos en LC, rotación M-T/S-S, a dos profundidades, año 1996.

AISLAMIENTOS	SUELO				RASTROJOS			
	0-5		5-10		0-5		5-10	
	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Aspergillus clavatus.</i> Desm	0,67	25,6	0,17	3,7	—	—	—	—
<i>Fusarium verticillioides.</i> (Sacc.) Nirenberg	—	—	—	—	—	—	0,33	7,5
<i>Gliocladium roseum</i>	—	—	—	—	0,33	25,1	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	4,7
<i>Monocillium spp</i>	—	—	—	—	0,33	2,3	—	—
<i>P. griseofulvum.</i>	0,33	23,3	—	—	0,33	3,5	—	—
<i>P. purpurogenum.</i> Stoll	—	—	0,17	3,6	0,33	47,6	—	—
<i>Rhizopus spp</i>	0,17	42,1	0,67	59,5	0,67	11,0	0,33	14,2
<i>Trichoderma aureoviride</i>	—	—	—	—	0,33	7,5	0,67	44,3
<i>T. koningii</i>	0,33	9,0	0,67	33,2	0,33	3,0	0,33	29,2

AL

Tabla N° 29: Densidad relativa de los géneros de hongos celulolíticos en suelo y rastrojos, rotación M-T/S-S, año 1996.

AISLAMIENTOS	SUELO						RASTROJOS					
	SD		LV		LC		SD		LV		LC	
	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10
<i>Acremonium</i>	—	—	—	—	—	—	—	5,7	—	—	—	—
<i>Alternaria</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	6,0	—	—	—
<i>Ascomycete</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11,2	—	—
<i>Aspergillus</i>	—	9,3	—	—	25,6	3,7	—	—	—	—	—	—
<i>Dreschlera</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	12,0	3,0	—	—
<i>Fusarium</i>	—	—	—	—	—	—	53,3	11,1	—	—	—	7,5
<i>Gliocladium</i>	—	—	—	3,8	—	—	—	—	—	—	25,1	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	7,7	3,9	—	—	—	4,2	5,6	—	5,9	—	4,7
<i>Monocillium</i>	—	—	23,7	14,9	—	—	—	—	6,0	—	2,3	—
<i>Penicillium</i>	33,3	58,8	—	6,2	23,3	3,6	12,8	8,6	—	17,9	51,1	—
<i>Rhizopus</i>	44,3	7,7	11,2	15,6	42,1	59,5	13,8	12,3	54,0	44,8	11,0	14,2
<i>Sporothrix</i>	—	7,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Trichoderma</i>	22,3	8,8	61,2	59,4	9,0	33,2	15,9	56,7	22,0	17,2	10,5	73,5

AL

Tabla N° 30: Frecuencia y densidad relativa de hongos celulolíticos de rastrojos a dos profundidades, bajo tres sistemas de labranza, rotación T/S, año 1996.

AISLAMIENTOS	SD				LV				LC			
	0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm		0-5cm		5-10cm	
	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D
<i>Aspergillus clavatus</i>	0,33	16,0	—	—	—	—	—	—	0,67	78,0	0,33	10,4
<i>A. fumigatus</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	23,3	—	—	—	—
<i>Gliocladium spp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,33	10,4
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	—	0,33	6,7	—	—	—	—	—	—	0,33	14,3
<i>Penicillium citrinum</i>	—	—	0,17	1,0	—	—	—	—	0,33	8,7	—	—
<i>P. janthinellum.</i> Biourge	0,33	47,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P. restrictum.</i> Gilman & Abbott	0,33	9,6	—	—	—	—	0,33	22,5	—	—	—	—
<i>P. simplicissimum</i>	—	—	—	—	0,33	25,6	—	—	0,33	10,1	1	36,2
<i>P. purpurogenum</i>	0,33	10,6	0,67	92,3	—	—	—	—	—	—	0,33	26,0
<i>Rhizopus spp</i>	1	16,0	—	—	1	19,1	—	—	0,33	1,4	—	—
<i>Trichoderma aureoviride</i>	—	—	—	—	1	55,3	0,33	23,3	0,17	1,7	—	—
<i>Trichoderma spp</i>	—	—	—	—	—	—	0,33	30,8	—	—	0,17	2,7

Tabla N° 31: Densidad relativa de los géneros de hongos en rastrojos, rotación T/S, año 1996.

AISLAMIENTOS	SD		LV		LC	
	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm	0-5cm	5-10cm
<i>Aspergillus</i>	16,0	—	—	23,3	78,0	10,4
<i>Gliocladium</i>	—	—	—	—	—	10,4
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	6,7	—	—	—	14,3
<i>Penicillium</i>	68,0	93,3	25,6	22,5	18,8	62,2
<i>Rhizopus</i>	16,0	—	19,1	—	1,4	—
<i>Trichoderma</i>	—	—	55,3	54,1	1,7	2,7

AL

III-2-6-AISLAMIENTO DE HONGOS CELULOLITICOS EN RESIDUOS DE COSECHA POR LA TECNICA DE LAVADO:

Tabla N° 32: Frecuencia de hongos celulolíticos aislados por el método de lavado.

AISLAMIENTOS	ROTACION M-T/S-S						ROTACION T/S					
	SD		LV		LC		SD		LV		LC	
	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10
<i>Acremonium spp</i>	—	—	—	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Alternaria spp</i>	—	—	—	2,3	—	—	—	—	—	2,3	—	—
<i>Aspergillus clavatus</i>	—	—	—	—	—	—	—	23,1	—	—	2,3	—
<i>A. nidulans</i>	—	11,6	—	—	—	2,5	3,1	—	4,0	9,3	—	7,0
<i>A. niger</i>	2,2	2,3	—	—	2,9	—	—	—	—	—	—	—
<i>Colletotrichum dematium</i> (Pers. Fr.) Grove	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,3	—	—
<i>Dreschlera spicifera</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,3	2,3	—
<i>Fusarium equiseti.</i> (Corda) Sacc sensu Gordon	6,7	14,0	—	4,7	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>F. graminearum.</i> Schwabe	—	—	—	—	—	—	68,8	3,8	—	2,3	—	2,4
<i>F. oxysporum</i>	13,3	16,3	—	9,3	2,9	5,0	—	50,0	24,0	14,0	61,4	2,4
<i>F. sachari var. subglutinans.</i>	—	2,3	5,4	9,3	8,8	2,5	—	—	—	—	—	—
<i>F. semitectum.</i> Berk. & Rav.	—	2,3	—	—	—	2,5	—	—	—	—	—	—
<i>F. solani</i>	22,2	13,9	8,1	11,6	5,9	17,5	—	—	—	14,0	6,8	—
<i>F. verticilloides.</i>	4,4	7,0	—	2,3	—	2,5	—	—	—	—	—	—
<i>Fusarium spp</i>	—	2,3	8,1	—	—	7,5	—	—	—	—	—	31,0
<i>Gliocladium catenulatum.</i> Glim & Abbott	—	—	—	—	—	—	3,1	—	—	4,6	2,3	21,4
<i>G. roseum</i>	—	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—	2,3	—
<i>Gliocladium spp</i>	4,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	2,3	—	2,3	—	2,5	—	—	—	16,3	—	4,8
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	—	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Penicillium janthinellum.</i>	—	—	—	—	—	—	—	7,7	—	—	—	—
<i>Penicillium spp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,3	—
<i>Rhizopus spp</i>	46,7	9,4	67,6	30,2	70,6	50,0	15,6	3,8	28,0	7,0	9,1	—
<i>Trichoderma aureoviride</i>	—	11,6	10,8	—	8,8	7,5	9,4	11,5	44,0	11,6	6,8	31,0
<i>T. koningii</i>	—	—	—	25,6	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Trichoderma spp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14,0	4,4	—

AL

Tabla N° 33: Frecuencia de géneros hongos celulolíticos aislados por el método de lavado.

AISLAMIENTOS	ROTACION M-T/S-S						ROTACION T/S					
	SD		LV		LC		SD		LV		LC	
	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10
<i>Acremonium</i>	—	—	—	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Alternaria</i>	—	—	—	2,3	—	—	—	—	—	2,3	—	—
<i>Aspergillus</i>	2,2	13,9	—	—	2,9	2,5	3,1	23,1	4,0	9,3	2,3	7,0
<i>Colletotrichum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,3	—	—
<i>Dreschlera</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,3	2,3	—
<i>Fusarium</i>	46,6	58,1	21,6	37,2	17,6	37,5	68,8	53,8	24,0	30,3	68,2	35,8
<i>Gliocladium</i>	4,4	2,3	—	—	—	—	3,1	—	—	4,6	4,6	21,4
<i>Mycelia Sterilia</i>	—	2,3	—	2,3	—	2,5	—	—	—	16,3	—	4,8
<i>Mucor</i>	—	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Penicillium</i>	—	—	—	—	—	—	—	7,7	—	—	2,3	—
<i>Rhizopus</i>	46,7	9,4	67,6	30,2	70,6	50,0	15,6	3,8	28,0	7,0	9,1	—
<i>Trichoderma</i>	—	11,6	10,8	25,6	8,8	7,5	9,4	11,5	44,0	25,6	11,2	31,0

III-2-7-ANALISIS MULTIVARIADO DE DISTRIBUCION DE ESPECIES FUNGICAS:

Análisis multivariado de muestras de suelo y rastrojo (1993 y 1996 Rot. M-T/S-

S, dilución en placas):

En el gráfico de ordenamiento (Fig. N° 10) se observa un grupo homogéneo en el lado negativo del eje I, formado por todas las muestras correspondientes al año 1996, sin diferenciarse entre sí por los sistemas de labranza, la profundidad ni por el origen de las muestras (suelo o rastrojo). Por otro lado en la zona positiva del eje I, algo más dispersas se encuentran las muestras de 1993, dentro de las cuales se observa un grupo más pequeño formado por 5 muestras de suelo de 1993 (el 83 % del total de las muestras de dicho año).

AL



Fig. N° 10: Diagrama de distribución con los dos primeros ejes, obtenido por RA, de muestras de suelo (S) y rastrojo (R) de 1993 y 1996. (una muestra de rastrojo del año 1993 se excluyó del gráfico por presentar un valor extremo)

Si con el mismo ordenamiento analizamos ahora la distribución de los géneros y especies de hongos celulolíticos con respecto a las muestras, se pueden realizar las siguientes observaciones:

- El género *Aspergillus* en general está más asociado a las muestras de 1993, fundamentalmente en suelo.
- *Fusarium* no fue aislado nunca a partir de las muestras de suelo, por lo cual está presente sólo en los residuos de cosecha.
- *Penicillium* es mucho más abundante en 1996 tanto en rastrojo como en suelo.

AL

- *Rhizopus* se aisló en 1996 y no estuvo presente en 1993.
- *Trichoderma* está presente en ambos años, pero es más abundante en 1996 especialmente en rastrojo.

No se encontró diferencia en la diversidad fúngica, cuando se tienen en cuenta los factores estudiados (profundidad, labranzas y tipo de muestra: suelo o rastrojo).

Análisis multivariado de muestras de rastrojo (1993,1994, 1995, 1996 Rot. M-T/S-S y 1996 Rot. T/S):

El ordenamiento con respecto a las especies fúngicas, realizado por NMS no muestra ninguna distribución en particular, salvo una tendencia a agruparse juntas de las muestras correspondientes a los primeros años por un lado, y por otro las muestras de los últimos años. En la clasificación con respecto a los géneros fúngicos, pueden observarse dos grupos: el primero contiene la totalidad de las muestras de 1993 y la mayoría de 1994, en tanto que el segundo grupo posee la mayor parte de las muestras de 1995 y 1996 (Fig. N° 11).

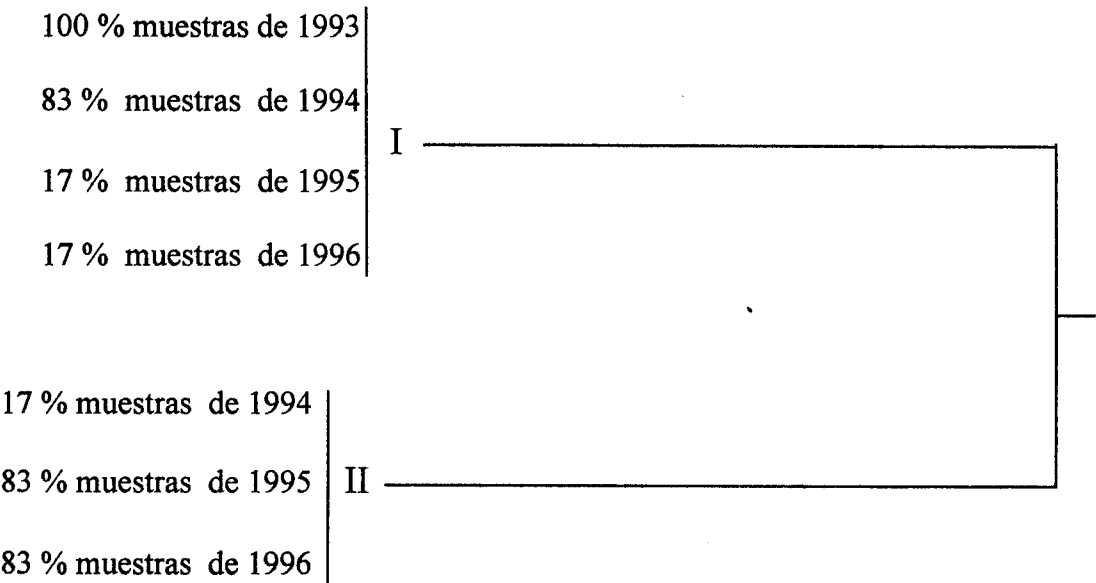


Fig. N° 11: Dendrograma de los grupos de muestras de rastrojo con respecto a los años de muestreo, obtenido por la técnica de variancia mínima.

AL

Al considerar la distribución de los hongos celulolíticos con respecto a la procedencia de las muestras, observamos:

- El género *Trichoderma* está presente todos los años, aunque entre los muestreos hay diferencias en las especies aisladas. *T. harzianum* fue disminuyendo su densidad al pasar los años y en 1996 aparece *T. aureoviride* presente prácticamente en todas las muestras.
- *Penicillium* se aisló en 1994, 1995 y 1996. En 1994 y 1995 predomina *P. citrinum*, en tanto que en 1996 aparece *P. purpurogenum* siendo la especie más frecuente en ambas rotaciones.
- Dentro del género *Fusarium*, *F. oxysporum* se aisló en 1993 y 1994, *F. proliferatum* y *F. solani* en 1994 y 1995, en tanto que *F. verticilloides* sólo se encontró en 1996 (Rot. M-T/S-S).
- En el año 1996 las cepas de *Aspergillus* se aislaron únicamente de la rotación T/S, *Rhizopus* se encontró en ambas rotaciones, *Monocillium* se aisló solamente de la rotación M-T/S-S.

Al comparar la diversidad fúngica de las muestras de rastrojo procesadas por la técnica de dilución en placas, para todos los años de muestreo, no se encuentra diferencia con la profundidad y las labranzas. En tanto que cuando se comparan el primer y el último año de muestreo entre sí, en la rotación M-T/S-S, se halló mayor diversidad en 1996 ($p < 0,10$).

Análisis multivariado de muestras de rastrojo (método de lavado, año 1996, Rot. M-T/S-S y Rot. T/S):

El ordenamiento por DCA revela un grupo homogéneo formado por todas las muestras de la Rot. M-T/S-S, en tanto que las correspondientes a la Rot. T/S se hallan más dispersas.

La clasificación también muestra dos grupos: el primero contiene la mayoría de las muestras de la Rot. M-T/S-S, y el segundo la totalidad de las muestras de la otra rotación (Fig. N° 12).

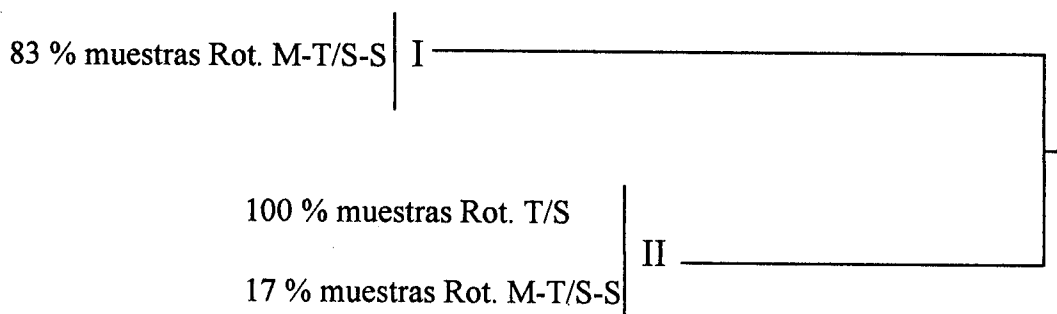


Fig. N° 12: Dendrograma de los grupos de muestras de rastreo con respecto a las rotaciones de cultivos, obtenido por la técnica de variancia mínima.

Si comparamos las muestras de 1996, para las dos rotaciones y los dos métodos de aislamiento empleados (dilución en placas y lavado), el ordenamiento por DCA muestra tres grupos: uno en la zona inferior del segundo eje que contiene todas las muestras de lavado y tres de dilución rotación M-T/S-S, otro grupo próximo al eje II formado por dos muestras de dilución rotación M-T/S-S, y el último grupo formado por seis muestras de dilución se encuentra en la zona superior del eje II (Fig. N° 13).

AL

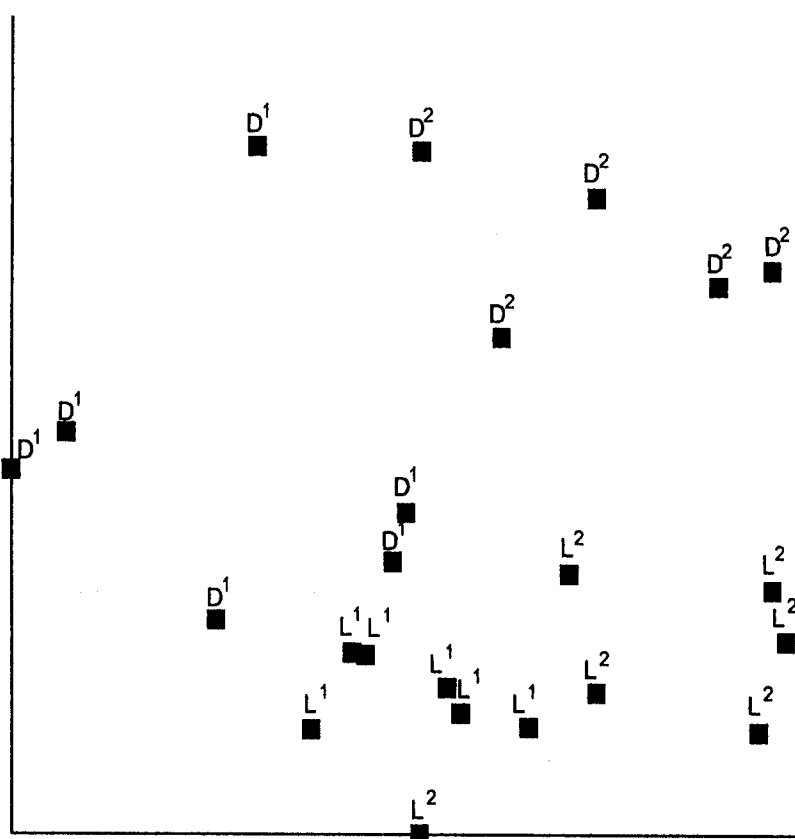


Fig. N° 13: Diagrama de distribución con los dos primeros ejes, obtenido por DCA, de muestras de rastreo provenientes de: L¹ (lavado Rot. M-T/S-S), L² (lavado Rot. T/S), D¹ (dilución Rot. M-T/S-S), D² (dilución Rot. T/S) (una muestra de rastreo D² se excluyó del gráfico por presentar un valor extremo).

Con respecto a la disposición de las especies y géneros fúngicos en las diversas muestras de 1996, se puede observar lo siguiente:

- Los géneros *Rhizopus* y *Trichoderma* se encuentran ampliamente distribuidos en todas las muestras, independientemente del método de aislamiento utilizado.

AL

- *Penicillium* se ha aislado con mucha mayor frecuencia por la técnica de dilución.
- Las especies de *Aspergillus* se aislaron por la técnica de lavado para ambas rotaciones, y por la técnica de dilución sólo en la rotación T/S.
- Hay especies de *Fusarium* encontradas únicamente por lavado, ellas son: *F. oxysporum* (ambas rotaciones), *F. solani* (ambas rotaciones), *F. graminearum* (Rot. T/S), *F. semitectum* y *F. equiseti* (Rot. M-T/S-S).

En tanto que *F. sachari* y *F. verticilloides* se aislaron por ambos métodos en la rotación M-T/S-S.

Las diversidades fúngicas de las muestras procesadas por el método de lavado, no presentan diferencias significativas con respecto a los sistemas de labranza y las rotaciones de cultivo.

Al comparar la diversidad de las muestras correspondientes al año 1996, procesadas por ambos métodos de aislamiento, se encontró mayor diversidad fúngica cuando se empleó la técnica de lavado ($p < 0,10$).

AL

III-2-8-TEMPERATURA Y HUMEDAD EDAFICAS Y VARIABLES
AMBIENTALES:

En los siguientes gráficos se presentan los resultados de las determinaciones de temperatura y humedad del suelo a las dos profundidades.

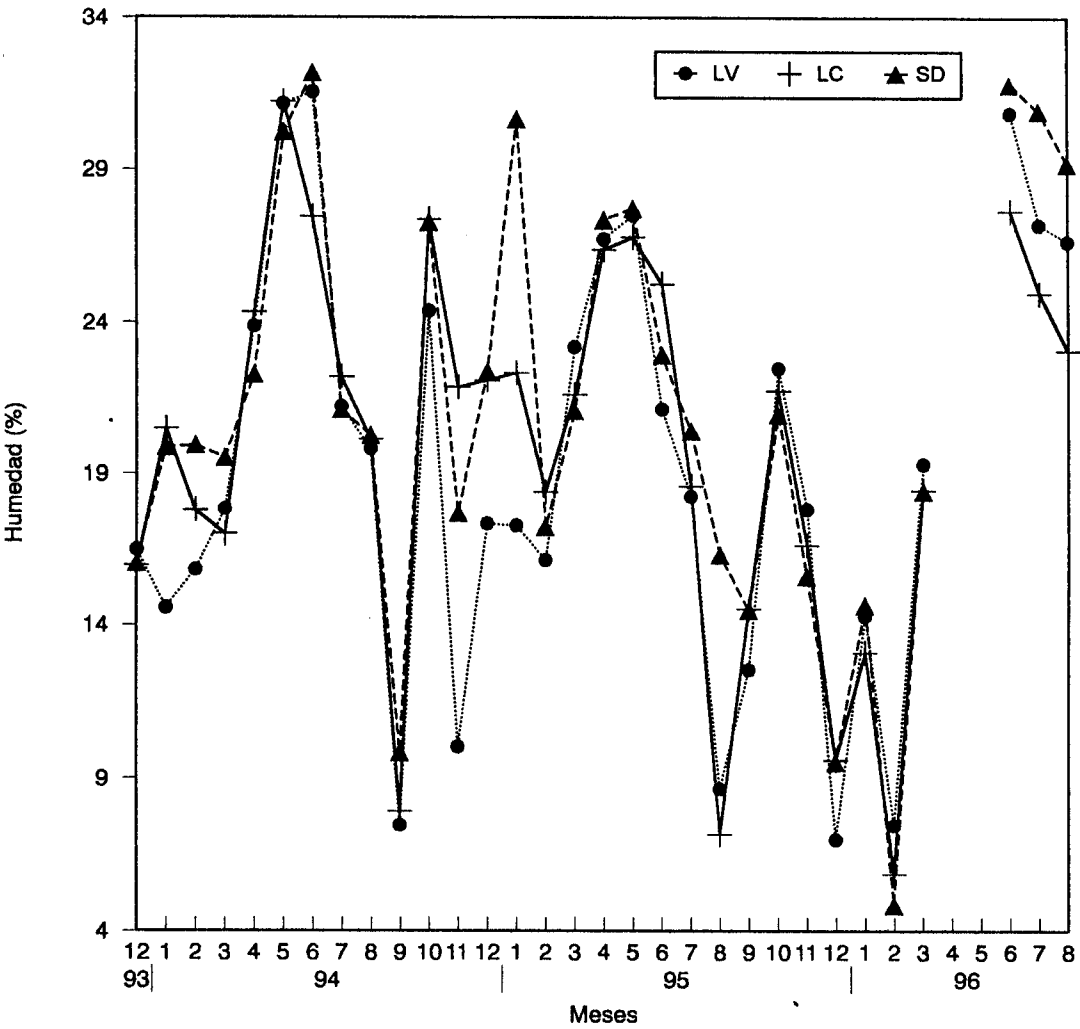


Figura N° 14: Humedad (%) del suelo de 0 a 5 cm, en los tres sistemas de labranza.

De 0 a 5 cm de profundidad, en los meses de enero y febrero de 1994, y en noviembre, diciembre y enero de 1995 la humedad edáfica fue significativamente menor en LV, con respecto a los otros tratamientos ($p < 0,01$). En agosto de 1995 la humedad

AL

fue superior en SD. En junio, julio y agosto de 1996 los menores valores se obtuvieron en LC ($p < 0,05$).

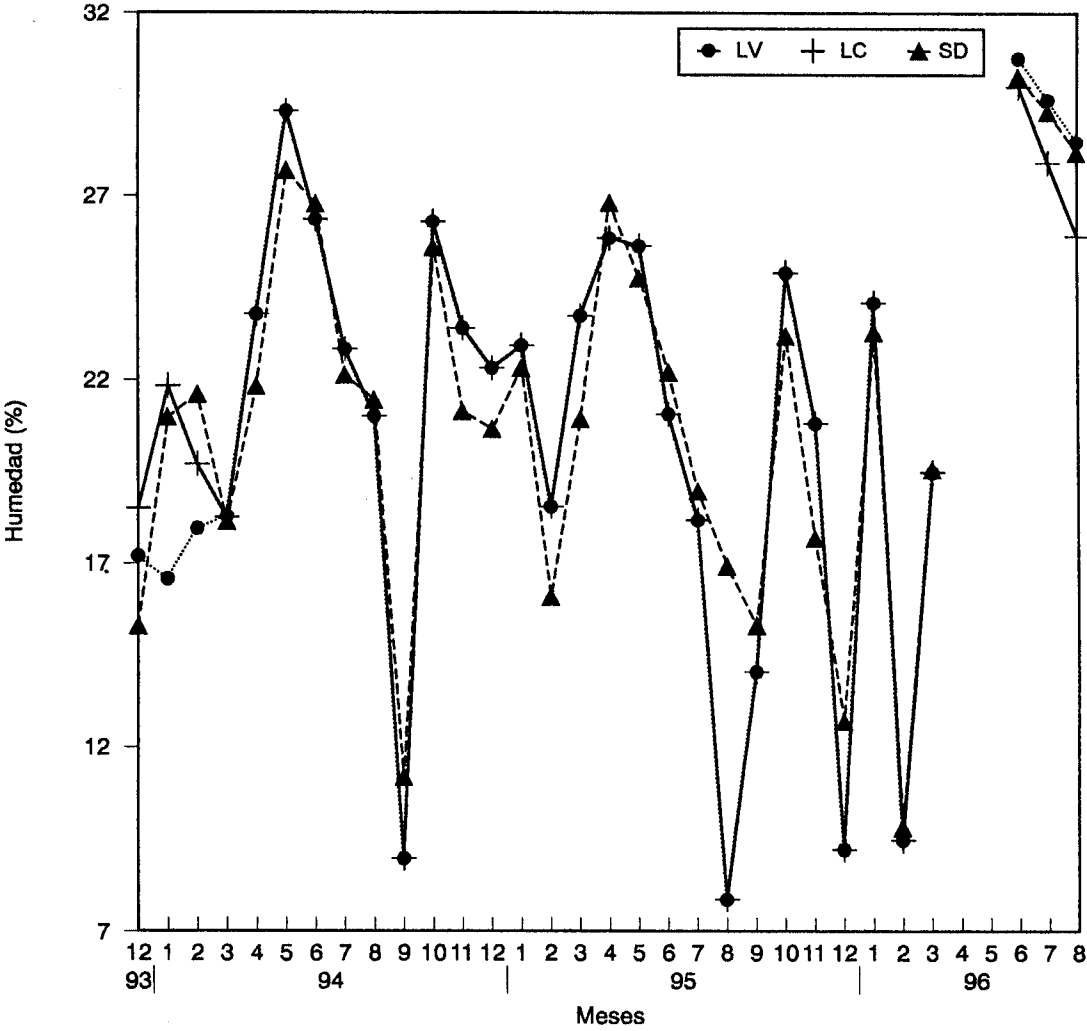


Figura N° 15: Humedad (%) del suelo de 5 a 10 cm, en los tres sistemas de labranza.

De 5 a 10 cm de profundidad, en los meses de enero y febrero de 1994, la LV presentó el menor % de humedad ($p < 0,01$). En agosto de 1995 la humedad fue superior en SD ($p < 0,01$).

AL

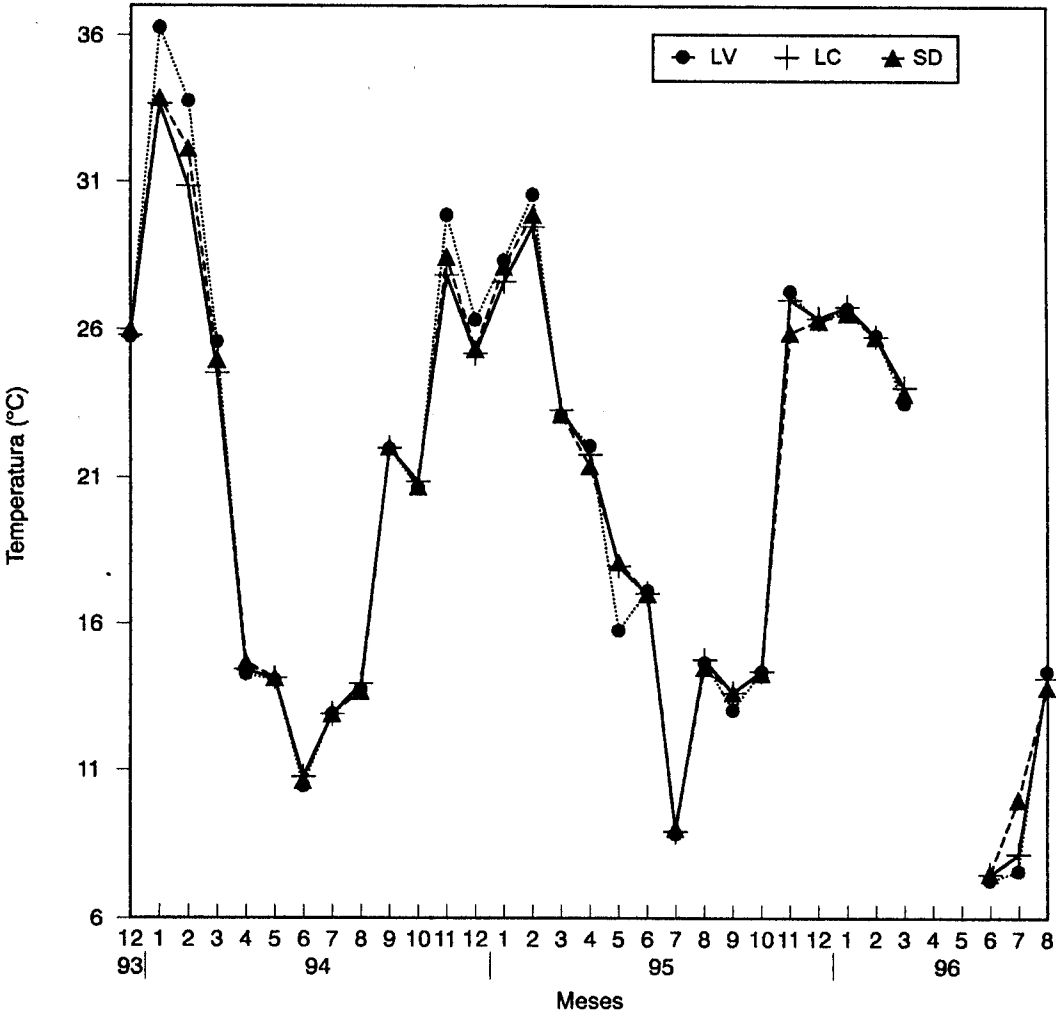


Figura N° 16: Temperatura (°C) del suelo de 0 a 5 cm, en los tres sistemas de labranza.

AL

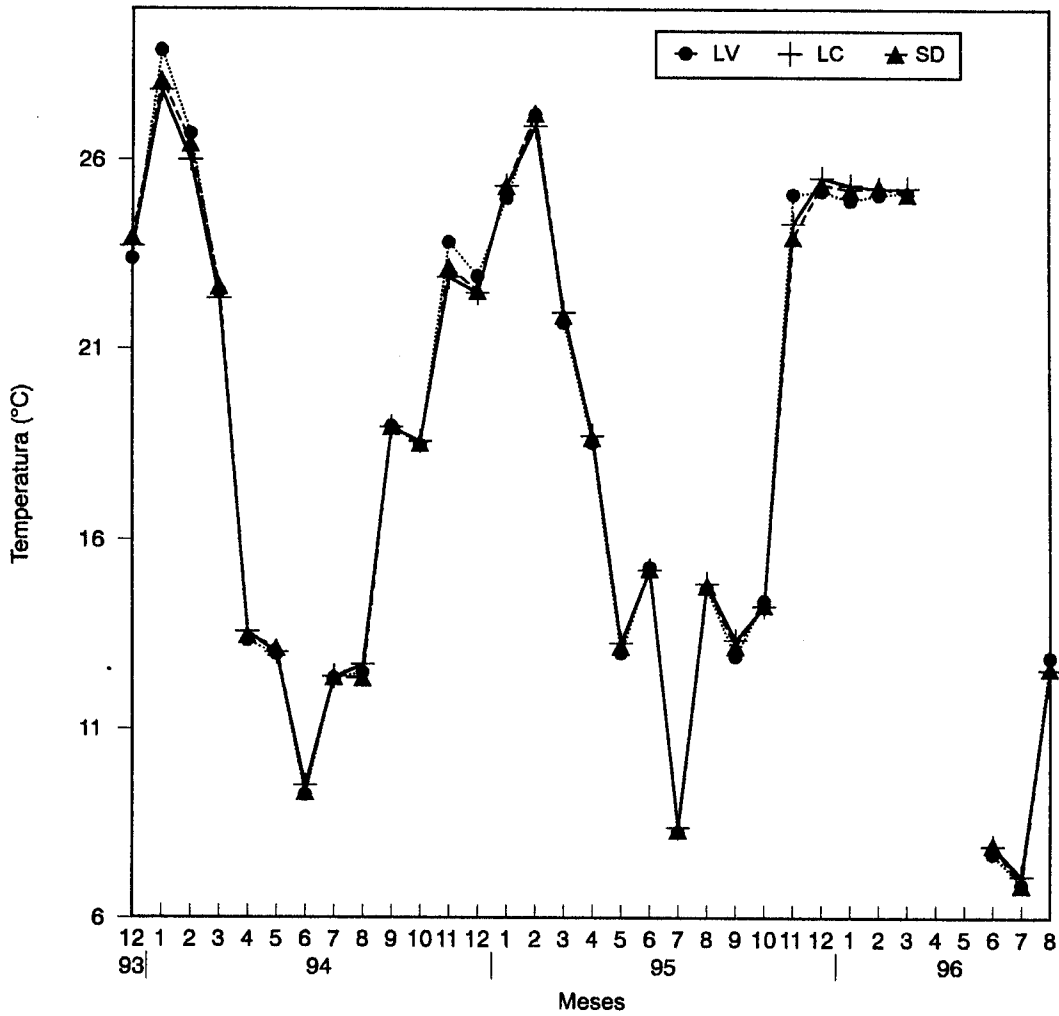


Figura N° 17: Temperatura (°C) del suelo de 5 a 10 cm, en los tres sistemas de labranza.

No se encontró diferencia significativa de la temperatura edáfica entre los tres sistemas de labranza estudiados, tanto de 0 a 5 cm como de 5 a 10 cm de profundidad.

AL

En las figuras N° 18,19 y 20 se presentan los resultados de las mediciones de las siguientes variables climáticas ambientales: temperatura media, precipitaciones y humedad relativa media.

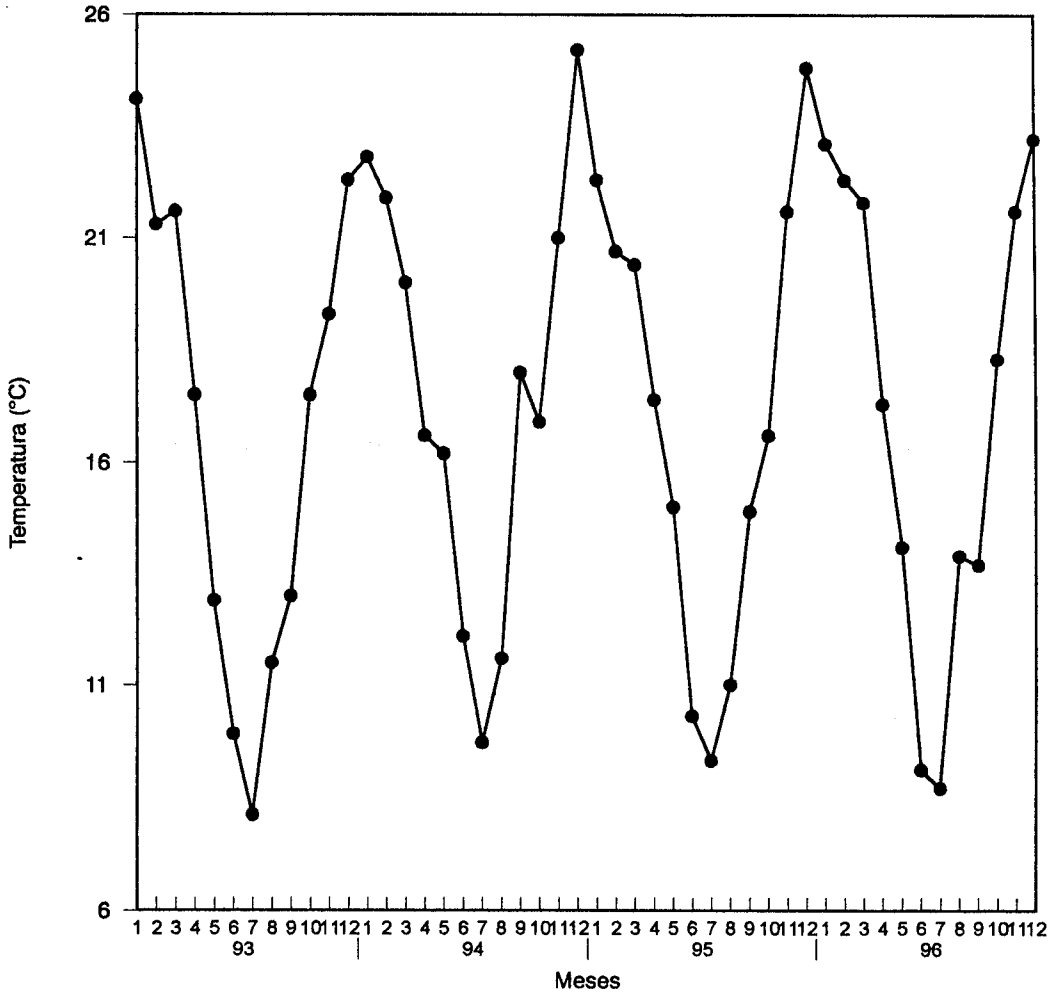


Figura N° 18: Variación de la temperatura media durante los cuatro años del ensayo.

AdL

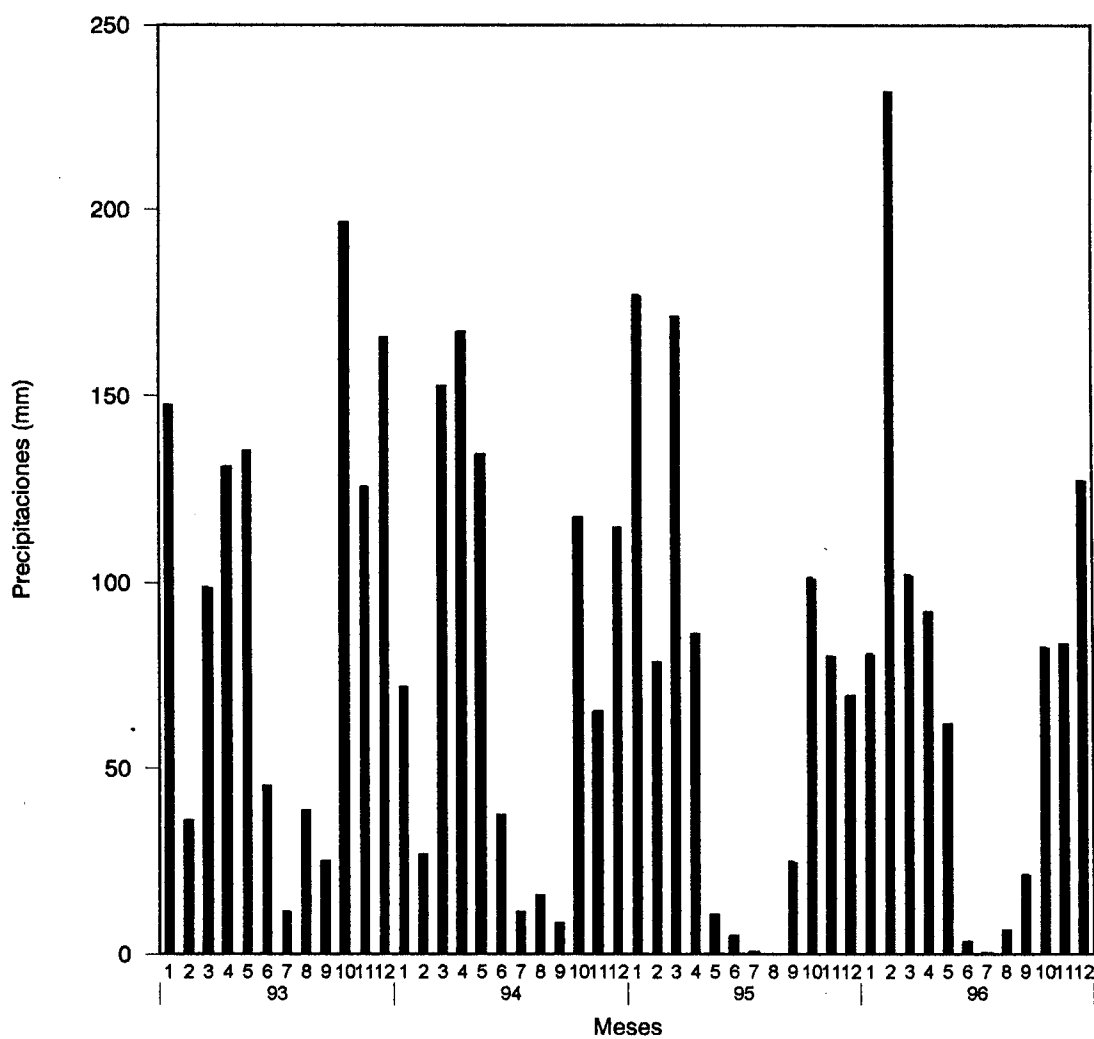


Figura N° 19: Variación de las precipitaciones durante los cuatro años del ensayo.

AL

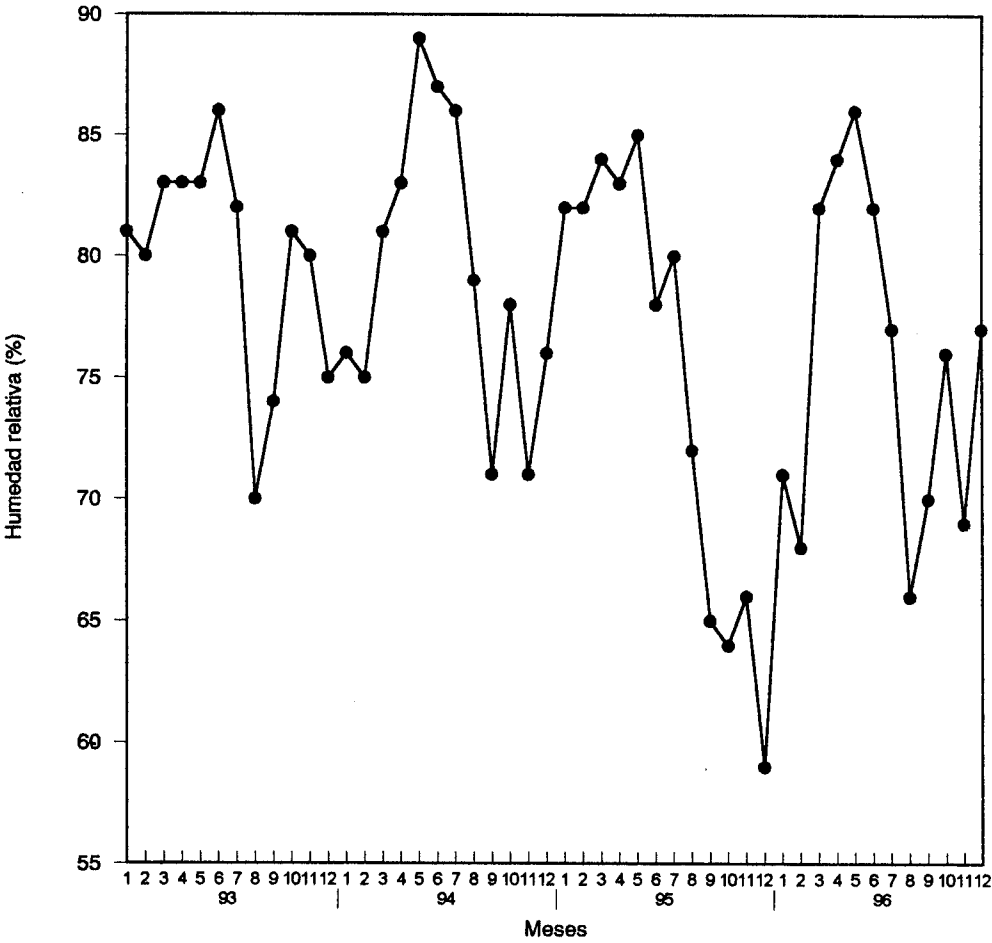


Figura N° 20: Variación de la humedad relativa media durante los cuatro años del ensayo.

En las variables ambientales presentadas se observan variaciones estacionales, y también diferencias entre los distintos años considerados.

Las modificaciones de estas variables influyen sobre las poblaciones fúngicas y la actividad de las mismas en el suelo.

AL

III-2-9-MATERIA ORGANICA Y PH:

En las tablas N° 34 y N° 35 se presentan los resultados de las determinaciones de MO y pH, tanto en las muestras de suelo con residuos como en el suelo sin residuos.

Tabla N° 34: Valores de % de carbono, % de MO y pH de las muestras de suelo entero año 1996 (promedio de dos repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas).

MUESTRAS	Ctotal(%)	MO(%)	PH
SD (0-5) Rot.M-T/S-S	3,98	6,87 (0,51)	6,11 (0,00)
SD (5-10) Rot.M-T/S-S	3,40	5,87 (0,17)	5,88 (0,10)
LV (0-5) Rot.M-T/S-S	3,02	5,20 (0,17)	5,54 (0,00)
LV (5-10) Rot.M-T/S-S	2,52	4,35 (0,34)	5,47 (0,11)
LC (0-5) Rot.M-T/S-S	3,31	5,70 (0,67)	5,47 (0,10)
LC (5-10) Rot.M-T/S-S	2,72	4,69 (0,00)	5,35 (0,09)
SD (0-5) Rot.T/S	2,92	5,03 (0,34)	5,60 (0,00)
SD (5-10) Rot.T/S	1,94	3,35 (0,00)	5,14 (0,08)
LV (0-5) Rot.T/S	1,94	3,35 (0,00)	5,32 (0,10)
LV (5-10) Rot.T/S	1,94	3,35 (0,00)	5,15 (0,00)
LC (0-5) Rot.T/S	3,95	4,86 (0,17)	5,24 (0,00)
LC (5-10) Rot.T/S	2,43	4,19 (0,17)	5,15 (0,06)

AL

Tabla N° 35: Valores de % de carbono, % de MO y pH de las muestras de suelo sin rastrojo, rotación M-T/S-S año 1996 (promedio de dos repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas).

MUESTRAS	Ctotal(%)	MO(%)	PH
BI-SD (0-5)	2,73	4,69 (0,00)	5,88 (0,10)
BI-SD (5-10)	2,54	4,36 (0,13)	5,87 (0,07)
BI-LV (0-5)	2,34	4,02 (0,21)	5,40 (0,09)
BI-LV (5-10)	2,15	3,69 (0,10)	5,31 (0,00)
BI-LC (0-5)	2,54	4,36 (0,00)	6,63 (0,11)
BI-LC (5-10)	2,93	5,03 (0,00)	5,56 (0,08)
BII-SD (0-5)	2,54	4,36 (0,10)	6,16 (0,10)
BII-SD (5-10)	1,95	3,35 (0,25)	5,78 (0,00)
BII-LV (0-5)	2,15	3,69 (0,05)	5,67 (0,05)
BII-LV (5-10)	2,15	3,70 (0,00)	5,50 (0,08)
BII-LC (0-5)	2,34	4,02 (0,09)	5,50 (0,11)
BII-LC (5-10)	2,15	3,69 (0,10)	5,93 (0,00)
BIII-SD (0-5)	3,12	5,37 (0,00)	6,21 (0,06)
BIII-SD (5-10)	2,34	4,02 (0,22)	6,02 (0,10)
BIII-LV (0-5)	2,34	4,02 (0,20)	5,48 (0,00)
BIII-LV (5-10)	1,95	3,35 (0,15)	5,38 (0,00)
BIII-LC (0-5)	1,95	3,35 (0,10)	5,24 (0,07)
BIII-LC (5-10)	2,15	3,69 (0,00)	5,25 (0,06)

AL

Materia orgánica:

El análisis estadístico indica que en las muestras de suelo con rastrojo, el contenido de MO es significativamente mayor en la rotación M-T/S-S que en la rotación T/S ($p < 0,001$). También se observa efecto profundidad, con valores de MO superiores de 0 a 5 cm ($p < 0,05$), por método de comparaciones múltiples de Scheffe.

Con respecto a las labranzas, hay diferencias entre ellas pero tales diferencias varían de acuerdo a la rotación de cultivos considerada. En las tablas N° 36 y N° 37 se muestran los resultados para cada rotación por la prueba de comparaciones múltiples de Scheffe a un grado de significación del 5 %.

Tabla N° 36: Rotación M-T/S-S, comparación de % MO entre las labranzas, método de Scheffe (letras diferentes indican diferencia significativa entre promedios).

Sistemas de labranza	Promedios	Grupos homogéneos
LV	4,78	a
LC	5,19	a b
SD	6,37	b

Tabla N° 37: Rotación T/S, comparación de % MO entre las labranzas, método de Scheffe (letras diferentes indican diferencia significativa entre promedios).

Sistemas de labranza	Promedios	Grupos homogéneos
LV	3,35	a
SD	4,19	b
LC	4,53	b

AL

En la figura N° 21 se muestra la variación de la MO ante los distintos factores estudiados.

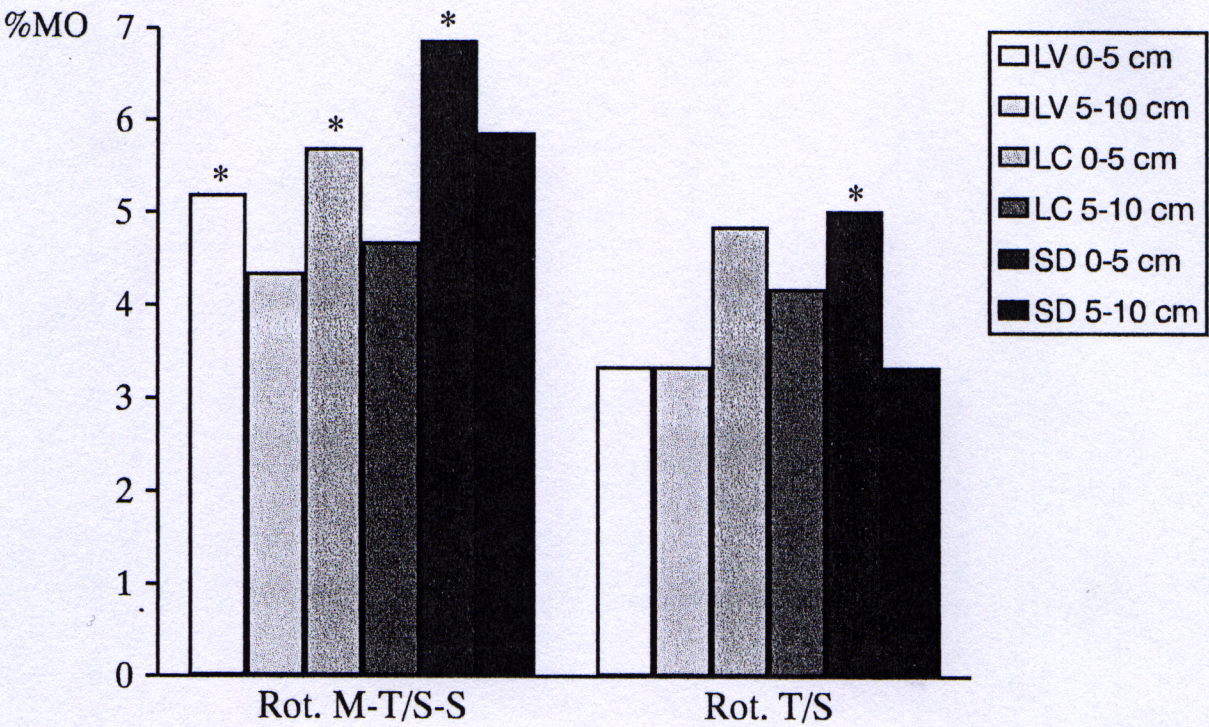


Figura N° 21: % de MO de suelo en función de los sistemas de labranza, las profundidades y las rotaciones de cultivo, año 1996 (* indica diferencia significativa de profundidad $P < 0,05$).

Es de destacar que en las muestras de suelo sin rastrojo correspondientes a la rotación M-T/S-S, no se observa ningún efecto de los factores estudiados sobre el contenido de MO.

Cuando se compara % de MO de suelo con o sin residuos, encontramos que el primero presenta en promedio mayor contenido de MO ($p < 0,05$).

AL

PH:

Las muestras de suelo con rastrojo, presentan pH significativamente más alto en la rotación M-T/S-S que en la rotación T/S ($p < 0,05$), por método de comparaciones múltiples de Scheffe.

Igualmente se observa efecto de las labranzas, en la tabla N° 38 se muestra el resultado por la prueba de comparaciones múltiples de Scheffe a un grado de significación del 5 %.

Tabla N° 38: Comparación de los valores de pH entre las labranzas, método de Scheffe (letras diferentes indican diferencia significativa entre promedios).

Sistemas de labranza	Promedios	Grupos homogéneos
LC	5,30	a
LV	5,37	a b
SD	5,68	b

En las muestras de suelo sin rastrojo correspondientes a la rotación M-T/S-S, no se observa ningún efecto de los factores estudiados con respecto al pH.

Al cotejar el pH de suelo con o sin residuos no se ha encontrado ninguna diferencia significativa entre ambos. Aunque en dicho análisis sí se ve que el pH es más ácido de 5 a 10 cm de profundidad ($p < 0,05$).

AL

III-2-10-RENDIMIENTO:

En la tabla siguiente se presentan los resultados de rendimiento del cultivo de trigo, para los tres sistemas de labranza y las dos rotaciones de cultivo.

Tabla N° 39: Valores de rendimientos, expresados en gr/m^2 (promedios de tres repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas).

Sistemas de labranza	Rot. M-T/S-S	Rot. T/S
SD	208,98 (16,63)	181,80 (3,15)
LV	154,82 (12,86)	127,60 (17,81)
LC	155,34 (18,78)	148,66 (12,47)

Por ANOVA se encontró diferencia significativa en los rendimientos, con respecto a los sistemas de labranza, siendo superiores en SD ($p < 0,05$).

A pesar de que en la rotación M-T/S-M el rendimiento fue más elevado que en la rotación T/S, las diferencias no son estadísticamente significativas.

AL

II-3-CAPACIDAD CELULOLITICA DE LOS HONGOS AISLADOS:

II-3-1- PODER CELULOLITICO DE HONGOS FILAMENTOSOS CON EL USO DEL COLORANTE ROJO CONGO:

En las siguientes tablas se presentan los datos de FH/FD obtenidos a partir de las cepas fúngicas asociadas a los residuos de cosecha, indicándose además la labranza y profundidad correspondientes.

Aislamientos obtenidos por la técnica de dilución en placas:

Tabla N° 40: Valor de FH/FD (promedio de tres repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas) de cepas celulolíticas aisladas de rastrojo, rotación M-T/S-S, año 1994.

AISLAMIENTOS	PROFUNDIDAD	LABRANZA	FH/FD
1-Acremonium spp	5-10 cm	SD	3,60 (0,10)
2-Aspergillus fumigatus	5-10 cm	LV	4,13 (0,11)
3-Fusarium proliferatum	0-5 cm	SD	6,00 (0,10)
4-F. proliferatum	5-10 cm	LV	1,01 (0,01)
5-F. proliferatum	5-10 cm	LC	3,07 (0,07)
6-F. oxysporum	0-5 cm	SD	6,25 (0,00)
7-F. oxysporum	5-10 cm	SD	3,54 (0,04)
8-F. oxysporum	5-10 cm	LC	1,09 (0,09)
9-F. oxysporum	0-5 cm	LC	1,03 (0,03)
10-F. oxysporum	0-5 cm	LV	9,33 (0,01)
11-F. oxysporum	5-10 cm	LV	2,87 (0,18)
12-F. semitectum	0-5 cm	LV	1,07 (0,07)
13-F. solani	0-5 cm	LV	3,39 (0,06)
14-Myrothecium roridum	0-5 cm	SD	3,43 (0,14)
15-Penicillium citrinum	0-5 cm	SD	1,00 (0,00)
16-P. citrinum	0-5 cm	LV	1,02 (0,02)
17-P. griseoroseum	0-5 cm	LV	2,42 (0,08)
18-Rhizopus spp	0-5 cm	LV	5,33 (0,19)
19-Trichoderma harzianum	0-5 cm	SD	1,00 (0,00)
20-T. harzianum	5-10 cm	SD	1,03 (0,03)

AL

En la figura siguiente se ilustra la comparación entre los valores promedio de FH/FD de las cepas aisladas, por el método de comparaciones múltiples de Scheffe.

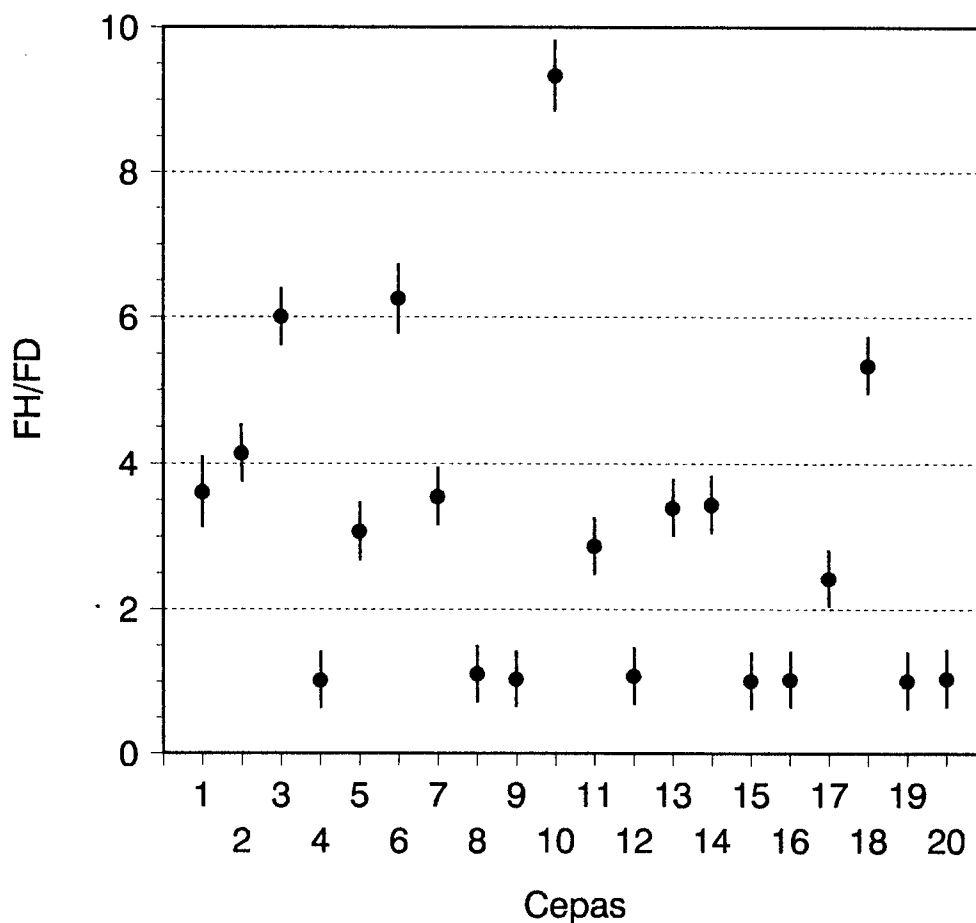


Figura N° 22: Intervalos correspondientes a los promedios de FH/FD para cada cepa fúngica aislada, obtenidos por el método de Scheffe a un grado de significación del 5 % (rotación M-T/S-S, año 1994, técnica de dilución).

La cepa que presentó mayor poder celulolítico ($p < 0,001$) fue la n° 10 (*F. oxysporum*), luego le siguen: n° 6 (*F. oxysporum*), 3 (*F. proliferatum*) y 18 (*Rhizopus spp*).

Tabla N° 41: Valor de FH/FD (promedio de tres repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas) de las cepas de hongos celulolíticos aisladas de rastrojo, rotación M-T/S-S, año 1995.

AISLAMIENTOS	PROFUNDIDAD	LABRANZA	FH/FD
1- <i>Ascomicete</i>	5-10 cm	LV	1,51 (0,09)
2- <i>Aspergillus flavipes</i>	5-10 cm	LC	6,28 (0,07)
3- <i>A. fumigatus</i>	0-5 cm	LC	2,56 (0,06)
4- <i>A. nidulans</i>	0-5 cm	SD	7,13 (0,17)
5- <i>A. niger</i>	5-10 cm	LV	1,02 (0,02)
6- <i>A. terreus</i>	0-5 cm	SD	7,94 (0,07)
7- <i>Dreschlera spicifera</i> .	0-5 cm	SD	4,96 (0,15)
8- <i>D. spicifera</i> .	5-10 cm	LV	2,02 (0,13)
9- <i>D. spicifera</i> .	0-5 cm	LC	1,83 (0,01)
10- <i>D. spicifera</i> .	0-5 cm	LV	1,02 (0,02)
11- <i>Gliocladium roseum</i>	5-10 cm	SD	7,94 (0,06)
12- <i>Fusarium proliferatum</i>	0-5 cm	LV	9,89 (0,11)
13- <i>F. proliferatum</i>	5-10 cm	LV	2,91 (0,05)
14- <i>F. solani</i>	5-10 cm	LV	3,05 (0,08)
15- <i>F. solani</i>	0-5 cm	SD	1,61 (0,07)
16- <i>Mycelia Sterilia</i>	0-5 cm	LV	1,49 (0,09)
17- <i>Myrothecium verrucaria</i>	0-5 cm	SD	2,07 (0,09)
18- <i>M. verrucaria</i>	0-5 cm	LC	11,63 (0,12)
19- <i>M. verrucaria</i>	5-10 cm	LC	10,20 (0,20)
20- <i>M. verrucaria</i>	5-10 cm	LV	4,29 (0,00)
21- <i>Penicillium citrinum</i>	0-5 cm	SD	1,04 (0,04)
22- <i>P. citrinum</i>	5-10 cm	LC	2,50 (0,06)
23- <i>P. citrinum</i>	5-10 cm	SD	1,03 (0,03)
24- <i>P. simplicissimum</i>	0-5 cm	LC	1,47 (0,11)
25- <i>Rhizopus spp</i>	5-10 cm	SD	17,67 (0,08)
26- <i>Rhizopus spp</i>	0-5 cm	LV	7,95 (0,13)
27- <i>Rhizopus spp</i>	0-5 cm	LC	7,99 (0,12)
28- <i>Rhizopus spp</i>	0-5 cm	LV	1,57 (0,02)
29- <i>Trichoderma viride</i>	5-10 cm	SD	1,00 (0,00)
30- <i>Trichoderma spp</i>	0-5 cm	SD	1,26 (0,01)
31- <i>Trichoderma spp</i>	0-5 cm	SD	2,63 (0,09)

AL

En la figura siguiente se ilustra la comparación entre los valores promedio de FH/FD de las cepas aisladas, por el método de comparaciones múltiples de Scheffe.

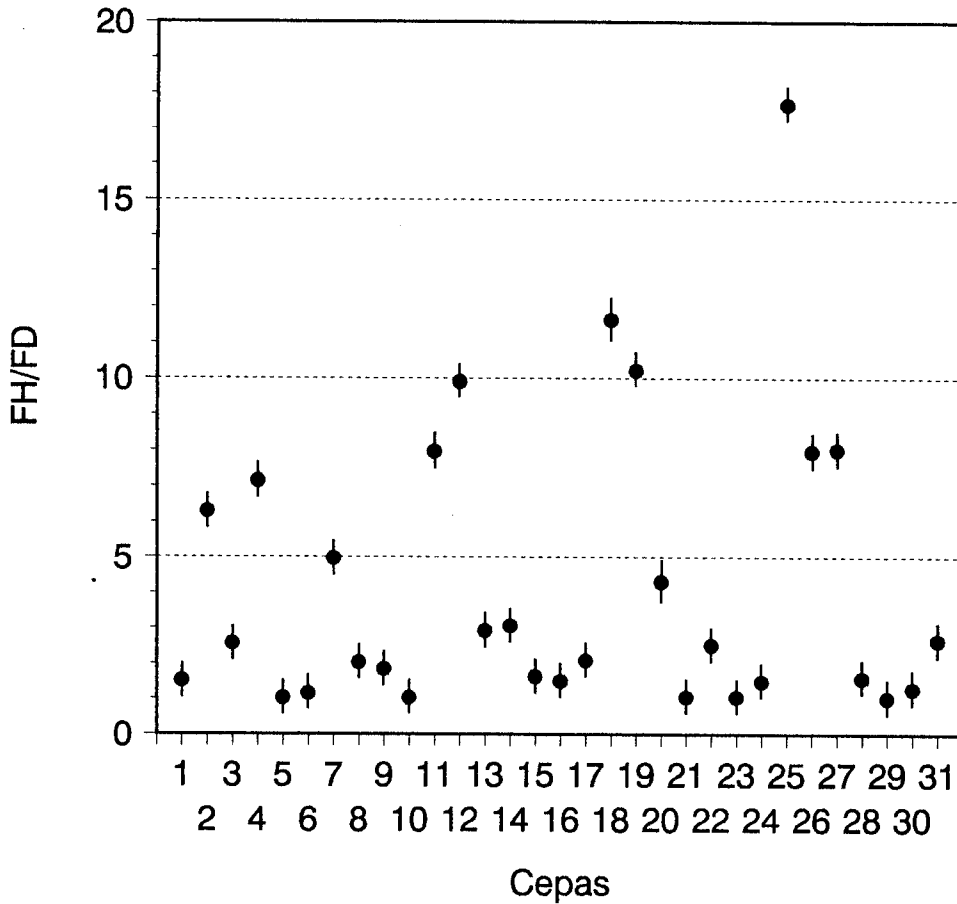


Figura N° 23: Intervalos correspondientes a los promedios de FH/FD para cada cepa fúngica aislada, obtenidos por el método de Scheffe a un grado de significación del 5 % (rotación M-T/S-S, año 1995, técnica de dilución).

La cepa n° 25 (*Rhizopus spp*) presentó el valor más elevado de FH/FD ($p < 0,001$), le siguen en importancia las cepas n° 18 (*M. verrucaria*), 19 (*M. verrucaria*), 12 (*F. proliferatum*), 27 (*Rhizopus spp*), 26 (*Rhizopus spp*), 11 (*Gliocladium roseum*), 4 (*A. nidulans*) y 2 (*Aspergillus flavipes*).

AL

Tabla N° 42: Valor de FH/FD (promedio de tres repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas) de las cepas de hongos celulolíticos aisladas de rastrojo, rotación M-T/S-S, año 1996.

AISLAMIENTOS	PROFUNDIDAD	LABRANZA	FH/FD
1- <i>Acremonium spp</i>	5-10 cm	SD	2,03 (0,03)
2- <i>Alternaria alternata</i>	0-5 cm	LV	1,02 (0,02)
3- <i>Ascomicete</i>	5-10 cm	LV	7,72 (0,15)
4- <i>Dreschlera spicifera</i>	0-5 cm	LV	1,37 (0,05)
5- <i>Fusarium verticillioides</i>	5-10 cm	LC	9,92 (0,11)
6- <i>F. verticilloides</i>	0-5 cm	SD	10,73 (0,09)
7- <i>F. verticilloides</i>	0-5 cm	SD	13,40 (0,20)
8- <i>F. sachari</i>	5-10 cm	SD	3,18 (0,14)
9- <i>Gliocladium roseum</i>	0-5 cm	LC	6,15 (0,14)
10- <i>Mycelia Sterilia</i>	0-5 cm	SD	2,49 (0,08)
11- <i>Mycelia Sterilia</i>	5-10 cm	SD	2,53 (0,06)
12- <i>Mycelia Sterilia</i>	5-10 cm	LV	9,67 (0,12)
13- <i>Mycelia Sterilia</i>	5-10 cm	LC	3,17 (0,09)
14- <i>Monocillium spp</i>	0-5 cm	LV	1,09 (0,02)
15- <i>Monocillium spp</i>	0-5 cm	LC	1,03 (0,03)
16- <i>Monocillium spp</i>	5-10 cm	LV	1,00 (0,00)
17- <i>Penicillium aculeatum</i>	5-10 cm	LV	2,83 (0,09)
18- <i>P. griseofulvum</i>	0-5 cm	LC	1,88 (0,12)
19- <i>P. purpurogenum</i>	0-5 cm	LC	4,58 (0,13)
20- <i>P. purpurogenum</i>	5-10 cm	LV	16,00 (0,06)
21- <i>P. purpurogenum</i>	5-10 cm	SD	1,86 (0,03)
22- <i>P. purpurogenum</i>	0-5 cm	SD	1,00 (0,00)
23- <i>Rhizopus spp</i>	0-5 cm	LV	11,66 (0,09)
24- <i>Rhizopus spp</i>	0-5 cm	SD	2,26 (0,03)
25- <i>Rhizopus spp</i>	0-5 cm	LV	1,01 (0,01)
26- <i>Rhizopus spp</i>	0-5 cm	LC	6,88 (0,12)
27- <i>Rhizopus spp</i>	5-10 cm	SD	17,75 (0,14)
28- <i>Trichoderma atroviride</i>	5-10 cm	LV	1,01 (0,01)
29- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	LV	1,99 (0,10)
30- <i>T. aureoviride</i>	5-10 cm	LC	2,53 (0,02)
31- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	LC	2,57 (0,07)
32- <i>T. aureoviride</i>	5-10 cm	LV	1,21 (0,04)
33- <i>T. aureoviride</i>	5-10 cm	LC	1,78 (0,11)
34- <i>T. harzianum</i>	5-10 cm	SD	2,67 (0,13)
35- <i>T. harzianum</i>	5-10 cm	SD	2,03 (0,03)
36- <i>T. harzianum</i>	0-5 cm	SD	1,75 (0,16)
37- <i>T. koningii</i>	5-10 cm	LC	3,33 (0,02)
38- <i>T. koningii</i>	0-5 cm	LC	2,49 (0,12)

AL

En la figura siguiente se ilustra la comparación entre los valores promedio de FH/FD de las cepas aisladas, por el método de comparaciones múltiples de Scheffe.

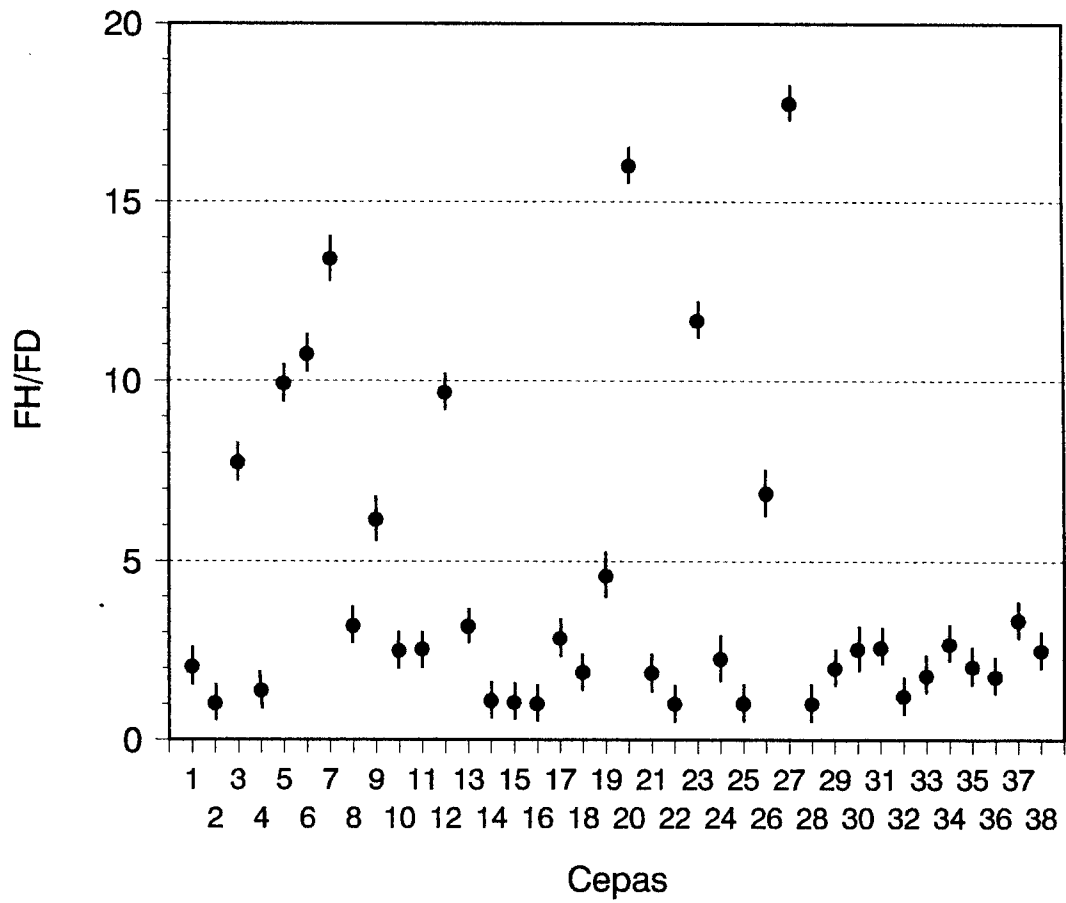


Figura N° 24: Intervalos correspondientes a los promedios de FH/FD para cada cepa fúngica aislada, obtenidos por el método de Scheffe a un grado de significación del 5 % (rotación M-T/S-S, año 1996, técnica de dilución).

La cepa n° 27 (*Rhizopus spp*) y 20 (*P. purpurogenum*) tuvieron el mayor poder celulolítico ($p < 0,001$), les siguen en importancia las cepas n° 7 (*F. verticilloides*), 23 (*Rhizopus spp*), 6 (*F. verticilloides*), 5 (*F. verticilloides*) y 12 (*Mycelia Sterilia*).

AL

Tabla N° 43: Valor de FH/FD (promedio de tres repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas) de las cepas de hongos celulolíticos aisladas de rastrojo, rotación T/S año 1996.

AISLAMIENTOS	PROFUNDIDAD	LABRANZAS	FH/FD
1- <i>Aspergillus clavatus</i>	0-5 cm	SD	1,50 (0,00)
2- <i>A. clavatus</i>	0-5 cm	LC	1,93 (0,03)
3- <i>A. fumigatus</i>	5-10 cm	LV	3,15 (0,02)
4- <i>Gliocladium spp</i>	0-5 cm	LC	7,72 (0,14)
5- <i>Mycelia Sterilia</i>	5-10 cm	LC	1,29 (0,04)
6- <i>Penicillium citrinum</i>	0-5 cm	SD	2,83 (0,07)
7- <i>P. citrinum</i>	5-10 cm	SD	2,86 (0,15)
8- <i>P. janthinellum</i>	0-5 cm	SD	1,67 (0,03)
9- <i>P. restrictum</i>	5-10 cm	LV	1,00 (0,00)
10- <i>P. restrictum</i>	0-5 cm	SD	1,42 (0,04)
11- <i>P. simplicissimum</i>	5-10 cm	LC	5,42 (0,08)
12- <i>P. simplicissimum</i>	5-10 cm	LC	7,34 (0,33)
13- <i>P. simplicissimum</i>	0-5 cm	LC	2,14 (0,08)
14- <i>P. simplicissimum</i>	0-5 cm	LV	2,62 (0,05)
15- <i>P. purpurogenum</i>	5-10 cm	LC	2,25 (0,00)
16- <i>P. purpurogenum</i>	0-5 cm	SD	1,04 (0,03)
17- <i>P. purpurogenum</i>	5-10 cm	SD	3,17 (0,04)
18- <i>Rhizopus spp</i>	0-5 cm	LC	31,75 (0,25)
19- <i>Trichoderma aureoviride</i>	5-10 cm	LV	1,03 (0,03)
20- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	LV	2,07 (0,03)
21- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	LV	3,94 (0,26)
22- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	LV	4,40 (0,33)
23- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	LC	3,89 (0,06)
24- <i>Trichoderma spp</i>	5-10 cm	LC	1,02 (0,01)
25- <i>Trichoderma spp</i>	5-10 cm	LV	2,27 (0,03)

En la figura siguiente se ilustra la comparación entre los valores promedio de FH/FD de las cepas aisladas, por el método de comparaciones múltiples de Scheffe.

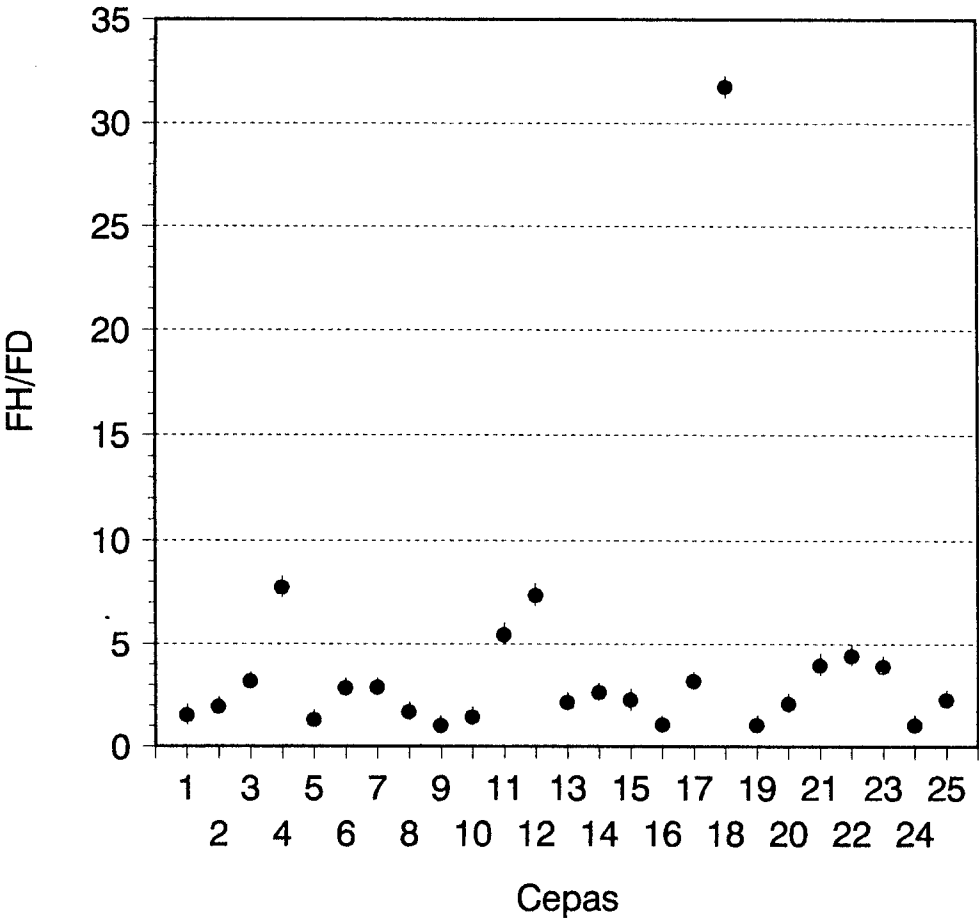


Figura N° 25: Intervalos correspondientes a los promedios de FH/FD para cada cepa fúngica aislada, obtenidos por el método de Scheffe a un grado de significación del 5 % (rotación T/S, año 1996, técnica de dilución).

La cepa n° 18 (*Rhizopus spp*) tiene el mayor valor de FH/FD = 31,75 ($p < 0,001$), en tanto que el resto de las cepas presentan valores por debajo de 8, dentro de este grupo se destacan las cepas n° 4 (*Gliocladium spp*) y 12 (*P. simplicissimum*).

AdL

Aislamientos obtenidos por la técnica de lavado:

Tabla N° 44: Valor de FH/FD (promedio de tres repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas) de las cepas de hongos celulolíticos aisladas de residuos, rotación M-T/S-S, año 1996.

AISLAMIENTOS	PROFUNDIDAD	LABRANZA	FH/FD
1- <i>Acremonium spp</i>	5-10 cm	LV	31,00 (0,29)
2- <i>Fusarium equiseti</i>	5-10 cm	LV	8,73 (0,13)
3- <i>F. equiseti</i>	5-10 cm	SD	4,63 (0,19)
4- <i>F. equiseti</i>	5-10 cm	LV	6,07 (0,17)
5- <i>F. oxysporum</i>	5-10 cm	LV	27,75 (0,25)
6- <i>F. semitectum</i>	5-10 cm	SD	12,40 (0,00)
7- <i>F. semitectum</i>	5-10 cm	LV	9,94 (0,28)
8- <i>Mucor hiemalis</i>	5-10 cm	SD	22,00 (0,19)
9- <i>Trichoderma aureoviride</i>	5-10 cm	LV	3,42 (0,20)
10- <i>T. aureoviride</i>	5-10 cm	SD	1,01 (0,01)
11- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	SD	3,02 (0,15)
12- <i>T. aureoviride</i>	5-10 cm	LC	5,50 (0,29)
13- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	LC	9,34 (0,16)
14- <i>T. aureoviride</i>	5-10 cm	LC	1,00 (0,00)
15- <i>T. koningii</i>	5-10 cm	LV	1,01 (0,01)
16- <i>T. koningii</i>	5-10 cm	LV	1,00 (0,00)

En la figura siguiente se ilustra la comparación entre los valores promedio de FH/FD de las cepas aisladas, por el método de comparaciones múltiples de Scheffe.

AL

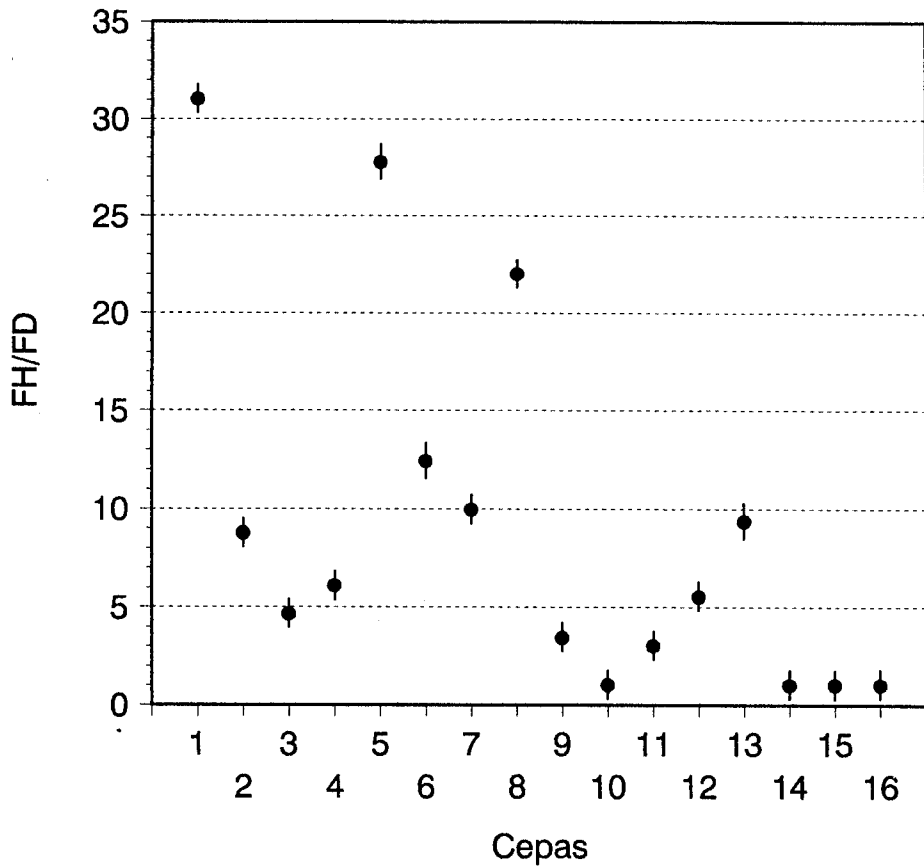


Figura N° 26: Intervalos correspondientes a los promedios de FH/FD para cada cepa fúngica aislada, obtenidos por el método de Scheffe a un grado de significación del 5 % (rotación M-T/S-S, año 1996, técnica de lavado).

El promedio de FH/FD más alto se observa en la cepa n° 1 (*Acremonium spp*), le siguen las cepas 5 (*F. oxysporum*), 8 (*Mucor hiemalis*) y 6 (*F. semitectum*).

AL

Tabla N° 45: Valor de FH/FD (promedio de tres repeticiones, entre paréntesis se indica el error estándar de las mismas) de las cepas de hongos celulolíticos aisladas de residuos, rotación T/S, año 1996.

AISLAMIENTOS	PROFUNDIDAD	LABRANZA	FH/FD
1- <i>Aspergillus nidulans</i>	0-5 cm	LC	4,56 (0,11)
2- <i>Colletotrichum dematium</i>	5-10 cm	LV	9,88 (0,12)
3- <i>Dreschlera spicifera</i>	0-5 cm	LC	1,59 (0,12)
4- <i>Fusarium graminearum</i>	0-5 cm	SD	29,67 (0,33)
5- <i>F. oxysporum</i>	0-5 cm	LV	16,63 (0,12)
6- <i>F. oxysporum</i>	5-10 cm	SD	16,50 (0,14)
7- <i>F. oxysporum</i>	5-10 cm	LV	11,72 (0,05)
8- <i>F. oxysporum</i>	0-5 cm	LC	2,80 (0,07)
9- <i>F. oxysporum</i>	0-5 cm	LC	30,67 (0,44)
10- <i>F. oxysporum</i>	5-10 cm	LC	12,17 (0,16)
11- <i>F. oxysporum</i>	5-10 cm	LV	2,87 (0,07)
12- <i>F. solani</i>	0-5 cm	LV	9,64 (0,35)
13- <i>F. solani</i>	0-5 cm	LC	7,52 (0,24)
14- <i>Gliocladium catenulatum</i>	5-10 cm	LC	1,38 (0,00)
15- <i>G. catenulatum</i>	0-5 cm	SD	1,75 (0,02)
16- <i>G. catenulatum</i>	0-5 cm	SD	1,01 (0,01)
17- <i>Penicillium janthinellum</i>	5-10 cm	SD	4,50 (0,00)
18- <i>Trichoderma aureoviride</i>	5-10 cm	LV	9,87 (0,18)
19- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	LV	3,03 (0,23)
20- <i>T. aureoviride</i>	0-5 cm	SD	5,08 (0,08)

En la figura siguiente se ilustra la comparación entre los valores promedio de FH/FD de las cepas aisladas, por el método de comparaciones múltiples de Scheffe.

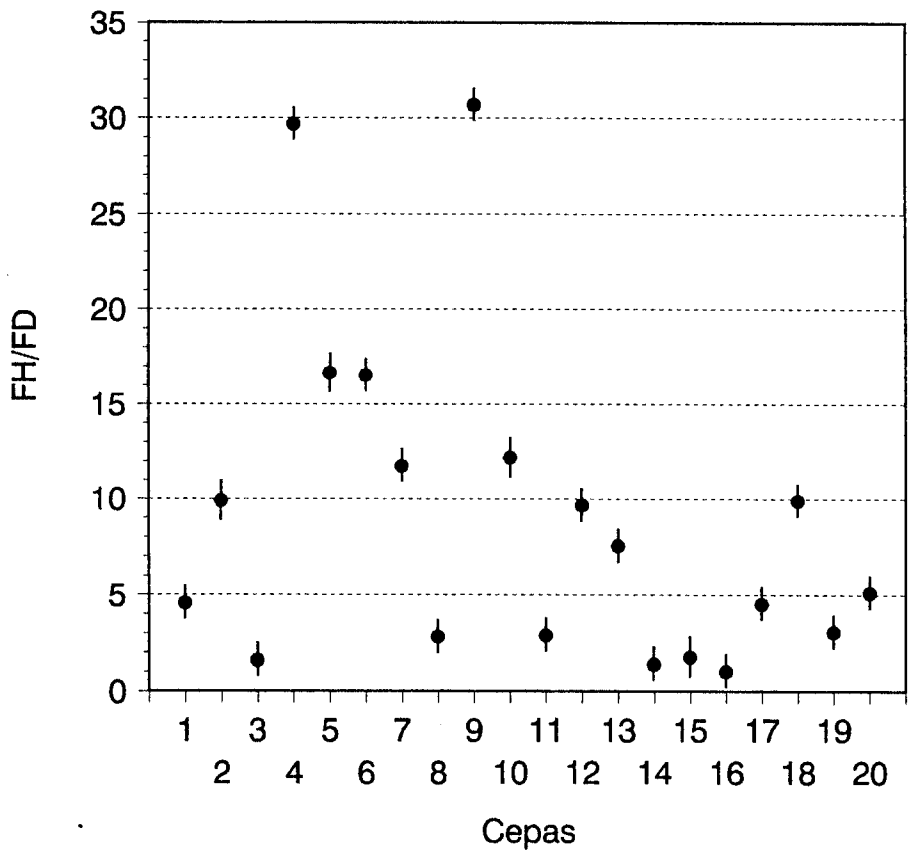


Figura N° 27: Intervalos correspondientes a los promedios de FH/FD para cada cepa fúngica aislada, obtenidos por el método de Scheffe a un grado de significación del 5 % (rotación T/S, año 1996, técnica de lavado).

En este conjunto de aislamientos las cepas n° 9 (*F. oxysporum*) y 4 (*Fusarium graminearum*) tienen los mayores promedios de FH/FD ($p < 0,001$), en segundo término encontramos las cepas 5, 6, 10 y 7 todas ellas correspondientes a aislamientos de *F. oxysporum*.

En ninguno de los muestreos se observó efecto labranza ni efecto profundidad sobre la variable FH/FD de las cepas aisladas.

AL

Dentro de los géneros más frecuentemente aislados: *Rhizopus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Myrothecium*, *Gliocladium* y *Aspergillus*, los dos primeros presentaron en promedio mayor poder celulolítico ($p < 0,001$).

Dentro del género *Fusarium* los aislamientos con mayores valores de FH/FD fueron: *F. verticillioides*, *F. semitectum* y *F. oxysporum*.

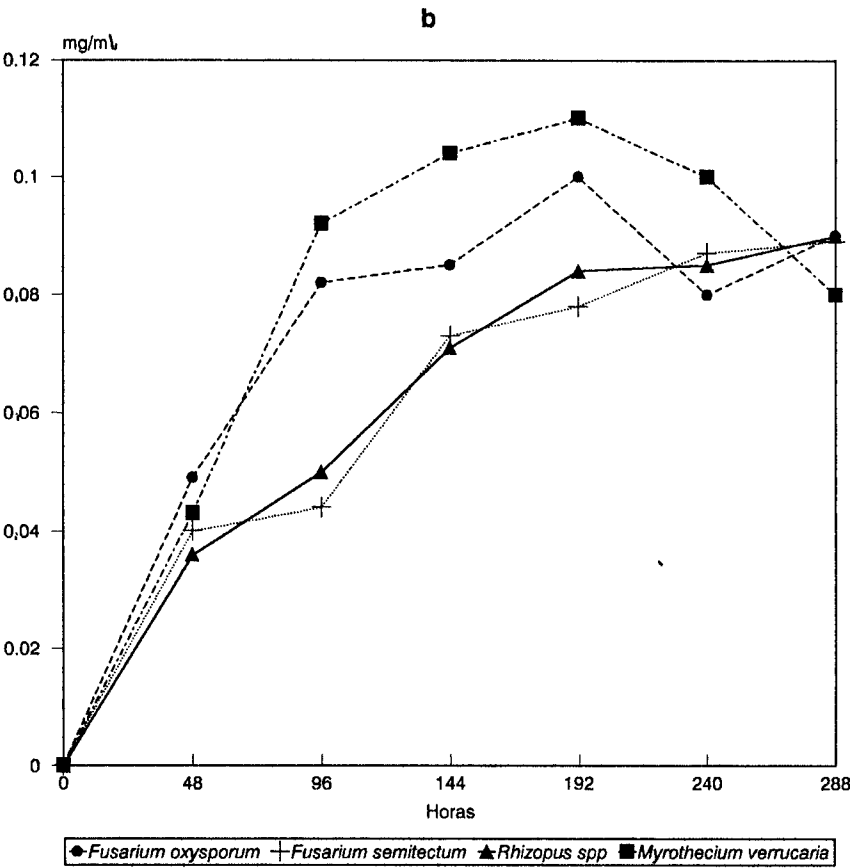
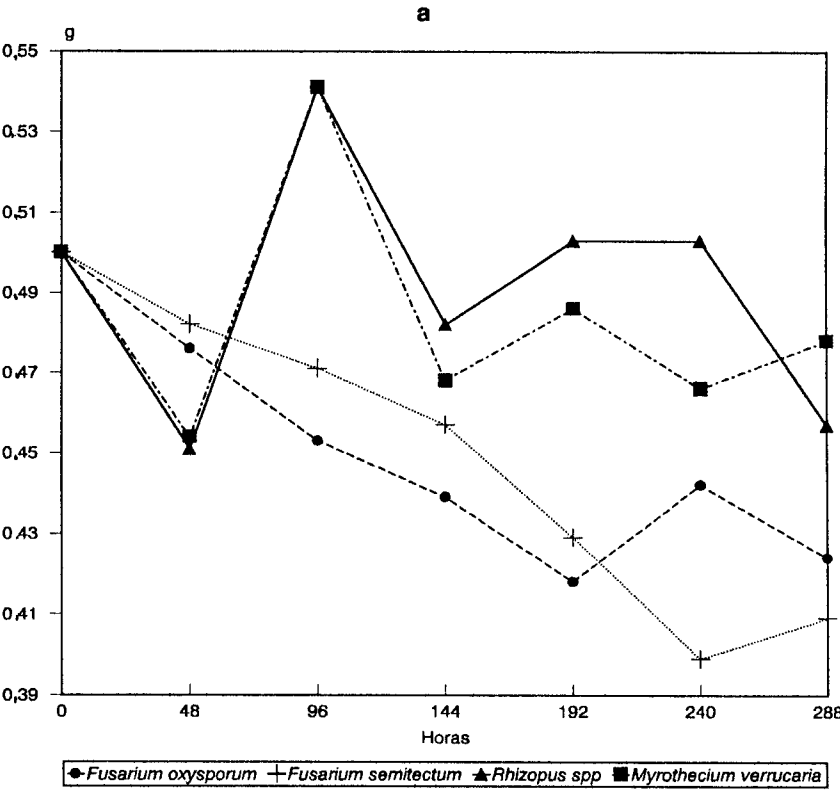
Las cepas fúngicas aisladas por el método de lavado presentaron en promedio valores superiores de FH/FD que las cepas aisladas por el método de dilución en placas.

II-3-2-: CAPACIDAD CELULOLITICA DE CEPAS FUNGICAS EN SOBRENADANTES DE CULTIVO:

No fue posible detectar actividad celulasa cuando se empleó celulosa cristalina como sustrato, y se intentó medir actividad por aparición de azúcares reductores con el método de Somogyi y Nelson. Se pudo determinar la capacidad enzimática en los sobrenadantes de cultivo en medio sólido, con carboximetilcelulosa como sustrato y con el uso del colorante Rojo Congo.

En las figuras N° 28 y 29 se presentan, para cada una de las cepas seleccionadas, (a) las variaciones del peso seco en g (peso del micelio más la paja de trigo o la celulosa residual), (b) proteínas solubles en mg/ml y (c) capacidad enzimática en medio sólido de los sobrenadantes de cultivo como área de hidrólisis en mm^2 , a los distintos tiempos del ensayo.

AL



AL

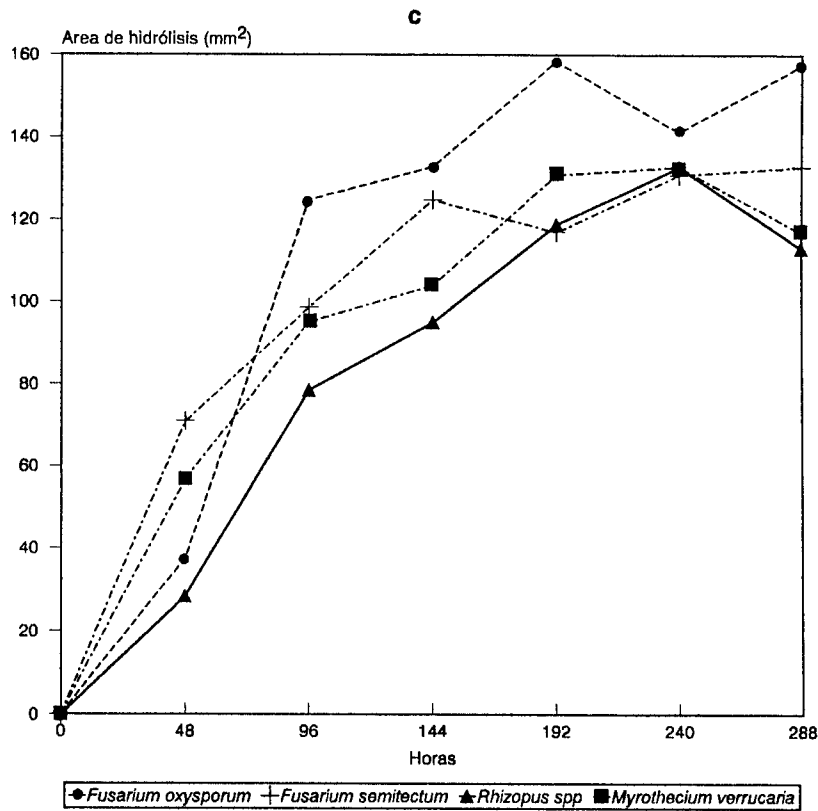
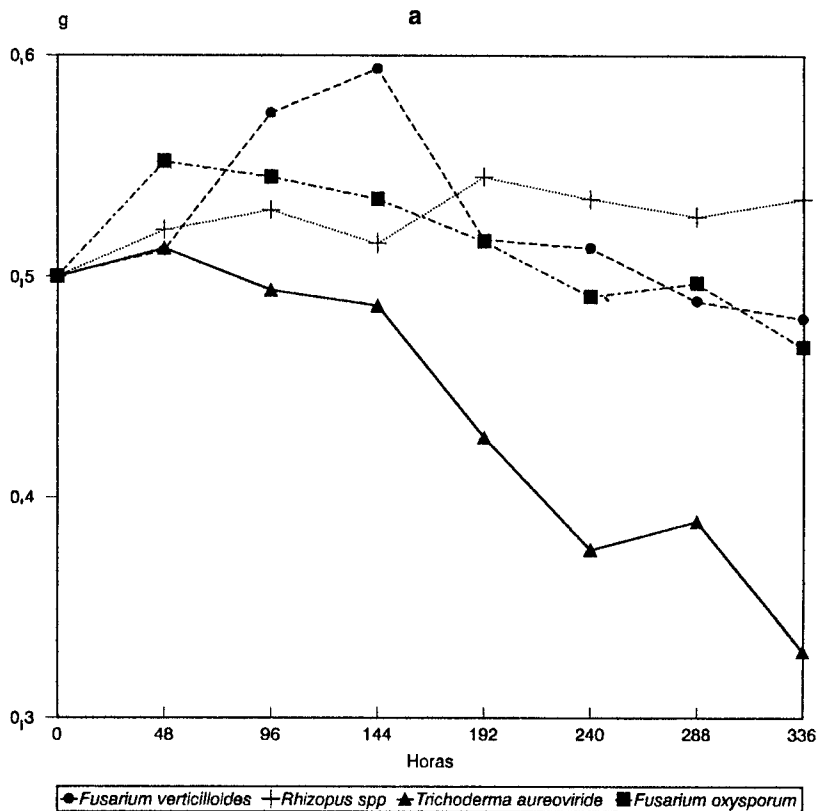


Figura N° 28: *Fusarium oxysporum* (año 1994, rot. M-T/S-S, dilución en placas), *Fusarium semitectum* (año 1994, rot. M-T/S-S, dilución en placas), *Rhizopus spp* (año 1995, rot. M-T/S-S, dilución en placas), *Myrothecium verrucaria* (año 1995, rot. M-T/S-S, dilución en placas).



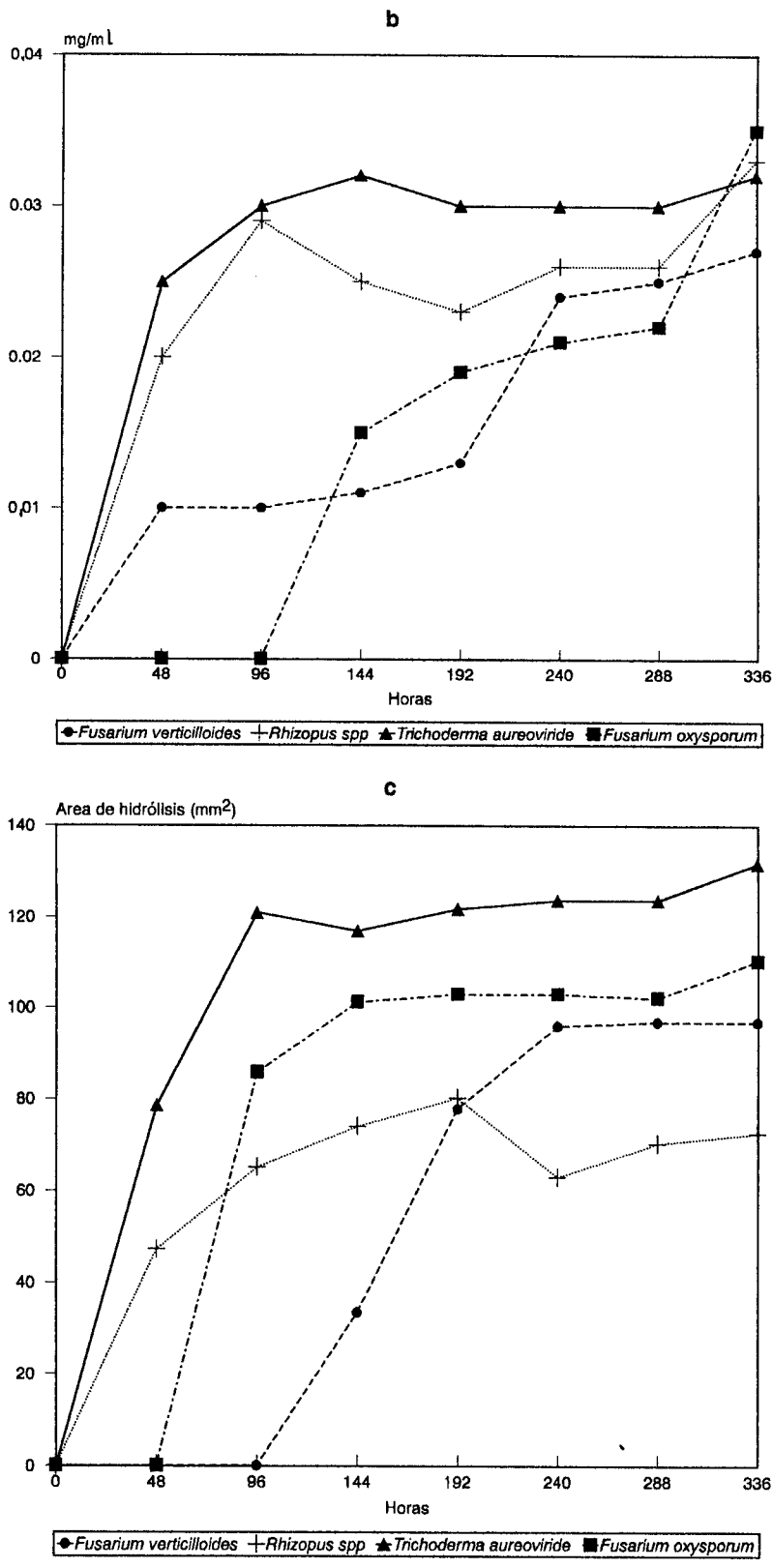


Figura N° 29: *Fusarium verticilloides* (año 1996, rot. M-T/S-S, dilución en placas), *Rhizopus* spp (año 1996, rot. T/S, dilución en placas), *Trichoderma aureoviride* (año 1996, rot. T/S, método de lavado), *Fusarium oxysporum* (año 1996, rot. M-T/S-S, método de lavado).

AL

El peso seco del micelio más el inductor residual, ha tenido poca variación con una tendencia a disminuir, con el transcurso del tiempo. El desarrollo del micelio no llega a equilibrar la pérdida de peso debida al consumo del material celulósico, éste último sería el principal contribuyente al peso seco.

La cantidad de proteínas solubles en los sobrenadantes de cultivo fue siempre inferior a 0,12 mg/ml, y cuando se empleó celulosa cristalina como inductor los valores fueron aún menores, por debajo de 0,036 mg/ml.

Todas las cepas mostraron capacidad celulolítica, sobre CMC en medio sólido, creciente con el paso del tiempo, alcanzando valores más o menos constantes entre las 144 y 192 horas para las primeras cuatro cepas. Entre las cepas en las que se usó celulosa cristalina como inductor, *Trichoderma aureoviride* y *Rhizopus spp* alcanzan valores constantes de actividad a las 86 hs, *Fusarium oxysporum* a las 144 hs y *Fusarium verticilloides* a las 240 hs. Las proteínas solubles mostraron, en todos los casos, variaciones similares a las observadas en la actividad celulolítica.

AL

IV-DISCUSSION:

IV-1- EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTE SOBRE LA MICOTA DE LOS SUELOS:

Los fertilizantes son aplicados al suelo para mantener o incrementar el rendimiento de los cultivos. A largo plazo, se ha observado en diversos trabajos de investigación, que con las aplicaciones regulares de fertilizantes se produce un aumento en el rendimiento de los cultivos que se refleja en un contenido superior de MO y una mayor actividad biológica. Como resultado, de la aplicación de fertilizantes a largo plazo, se ha reportado, en cierto número de casos, el incremento en la porosidad, capacidad de infiltración y conductividad hidráulica y una disminución en la densidad del suelo (123).

El presente ensayo, con doce años de duración, nos permite considerar los efectos a largo plazo, de la aplicación de un fertilizante nitrogenado, sobre los hongos del suelo, en un sistema de labranza convencional con dos rotaciones de cultivo.

La MT se vio aumentada en la rotación M-T/S, la mayor diversidad de cultivos puede favorecer el desarrollo de los microorganismos. El uso del fertilizante, sin embargo no afectó la población fúngica, aunque se espera que a largo plazo debería haber una estimulación microbiana en general (11). A pesar de eso Alvarez y col. (124) no encontraron ninguna influencia significativa de la fertilización nitrogenada sobre los niveles de MO del suelo o biomasa y actividad microbiana, en SD y labranza convencional, con una rotación de cultivos M-T/S.

La MC mostró un aumento significativo en las parcelas fertilizadas, aunque dicho aumento sólo se encontró en la rotación T/S. Ya en un trabajo anterior (63), se observó un efecto más pronunciado de la adición de fertilizantes sobre la MC que sobre

AL

la MT. En ese caso se habían empleado distintos abonos verdes y para cada uno de ellos varió el efecto de la fertilización, por la diversidad de nutrientes presentados a los hongos. La MC, responsable en gran medida de la descomposición del material celulósico, parece ser más sensible que la MT, al agregado de fertilizantes nitrogenados.

La distribución de los hongos celulolíticos parecería estar influenciada por la aplicación de urea, ya que por las técnicas de ordenamiento y clasificación, se forman dos grupos, con las muestras de parcelas fertilizadas, por un lado y las no fertilizadas, por el otro. Las muestras en las que se empleó urea, son más homogéneas entre sí que las otras, con respecto a su composición de hongos celulolíticos. Tal vez la aplicación del fertilizante tenga un efecto directo sobre las especies fúngicas, seleccionando algunas que ven favorecida su capacidad competitiva en esas condiciones, como *Fusarium solani* y cepas que producen micelio estéril. Por el contrario *Penicillium*, un género muy frecuente en el suelo, parecería estar desplazado de las parcelas tratadas con urea. Otros géneros como *Trichoderma* y *Aspergillus* presentan elevadas frecuencias y densidades relativas, independientemente del tratamiento, por lo que la urea no los afectaría.

Trichophyton ajelloi, su estado teleomorfo y *Chrysosporium spp*, fueron los únicos hongos queratinolíticos aislados, con frecuencias más o menos constantes ante los diversos tratamientos. En numerosos trabajos se comprobó la dominancia de *Trichophyton ajelloi* en suelos cultivados, donde las condiciones ambientales sin duda favorecen su desarrollo, sin sufrir la influencia de las diferentes prácticas de manejo que el hombre efectúa en dichos hábitats (88) (63) (59).

Cuando consideramos las características químicas del suelo en su conjunto, no hay ninguna tendencia en la distribución de las mismas, con respecto a los tratamientos

AL

realizados. La aplicación del fertilizante no parece afectar el contenido de nitrógeno y de carbono orgánico de los suelos. Sin embargo hay trabajos de investigación que demuestran otros resultados al respecto. Liang y MacKenzie (125) en un sistema de maíz continuo con labranza convencional, encontraron un aumento del 5 % en el carbono orgánico, y del 6 % en el nitrógeno total después de seis años de fertilización nitrogenada. Salinas Garcia y col. (126) después de dieciséis años de cultivo de maíz y tratamiento con dos dosis diferentes de fertilizante nitrogenado, observaron que con la mayor dosis aumentó el contenido de nitrógeno mineralizable del suelo y el carbono orgánico, pero no influyó considerablemente sobre la biomasa microbiana.

Al llegar al suelo la urea puede sufrir una serie de modificaciones, en un primer paso actúan los enzimas ureasa provistos por los microorganismos, catalizando la transformación de la urea y el agua a carbonato de amonio. El carbonato de amonio, luego se hidroliza para dar hidróxido de amonio, dióxido de carbono y agua. Por último el hidróxido de amonio reacciona con el oxígeno para dar nitrato, que es la forma de nitrógeno más fácilmente utilizable por las plantas.

El hecho de que el nitrógeno total no haya aumentado en las parcelas fertilizadas con urea podría deberse a varias razones:

- Que las plantas hayan absorbido el nitrógeno disponible para su desarrollo.
- Que se haya perdido nitrógeno como amoníaco a la atmósfera, proceso condicionado fundamentalmente por la temperatura, humedad del suelo, intercambio gaseoso y concentración de ureasa del suelo..
- Que el nitrato formado se haya perdido por lixiviado.

De acuerdo a los resultados obtenidos, no se observaron modificaciones en las características químicas de los suelos, por el agregado del fertilizante, ésta puede haber

AL

sido la causa principal de la escasa influencia de la aplicación de urea sobre las poblaciones fúngicas del suelo.

IV-2-DINAMICA DE LA MICOTA CELULOLITICA Y QUERATINOLITICA EN RESIDUOS DE COSECHA Y SUELO BAJO TRES SISTEMAS DE LABRANZA:

IV-2-1-DISTRIBUCION DEL RASTROJO EN EL SUELO:

El aumento que se produjo, hasta los 10 cm de profundidad, en el porcentaje de rastrojo en el suelo con el transcurso de los años, obedece a la acumulación de residuos con los sistemas de labranza empleados, que como ya se demostró determinan la distribución de los residuos con la profundidad, de acuerdo a investigaciones de Staricka y col. (127). Hay que considerar que las parcelas fueron tratadas previamente con métodos de labranza convencional, caracterizados por la disminución de la MO en las capas más superficiales del perfil.

Vyn y col. (128), aunque evaluaron cobertura de residuos, observaron una cantidad de residuos en labranza convencional menor del 7 %, en LV menor del 20 % y en SD mayor del 70 %.

Alvarez y col. encontraron una acumulación de restos vegetales en la superficie del suelo (0-5 cm) en SD y LV comparadas con labranza convencional. Además la cantidad de residuos fue 2,5 veces superior en SD que en LV (129).

En el presente trabajo también la acumulación fue más significativa de 0 a 5 cm de profundidad, en concordancia con el manejo que se realiza con los residuos. En SD, donde no se produce ningún disturbio del suelo salvo la colocación de la semilla, se encontró la mayor concentración de rastrojos en superficie; en LV, donde el cincel introduce los restos vegetales hasta una profundidad de 25 cm, se registró la menor

cantidad de residuos; en tanto que la LC ocupa una posición intermedia sin diferenciarse significativamente de los otros dos sistemas de labranza.

La diferencia observada entre las labranzas fue más notable en la rotación M-T/S-S que además presentó mayor cantidad de rastros que la rotación T/S, probablemente por la importante cantidad de residuos aportados por el cultivo de maíz, que no está presente en la segunda rotación. O bien podría deberse también a una mayor productividad de los cultivos de la primera rotación, que llevaría a la formación de una masa superior de residuos de cosecha.

Según esta relación de los datos, en cuanto a la distribución de los residuos, surge que el mayor aporte de los mismos depende de los sistemas de labranza y de las secuencias de cultivo empleadas.

IV-2-2-RECUESTO DE LA MICOTA CELULOLITICA EN SUELO Y ASOCIADA A RESIDUOS DE COSECHA:

El método de dilución en placas empleado para cuantificar y aislar hongos a partir de diversas fuentes naturales, es uno de los más antiguos, ha sido usado ampliamente y sigue teniendo vigencia. Por esta técnica las colonias que aparecen en el cultivo de las muestras en medio agarizado, pueden derivar de elementos de reproducción o de fragmentos de micelio, por ello los hongos que esporulan abundantemente crecen en gran número sobre las placas de siembra. No se debe despreciar la importancia que tienen los elementos de reproducción ya que ante una depleción de nutrientes o disminución de la humedad del suelo que pone en peligro al micelio vegetativo, son las esporas y conidios los que le dan al hongo la ventaja de sobrevivir y colonización del sustrato. Además se ha demostrado que los elementos de reproducción son metabólicamente activos en la transformación de compuestos

químicos en sustratos naturales (130). Pandey y Shende, estudiando el número de microorganismos en la rizosfera encontraron que el recuento por el método de dilución en placas se correlacionó con la actividad respiratoria del suelo (131). Por lo tanto, la población de esporas o conidios fúngicos puede considerarse como una buena medida de la actividad de los hongos, resultando así interesante conocer las variaciones que se producen en dicha población. En el presente trabajo se han cuantificado por el método de dilución en placas los hongos celulolíticos de suelo sin residuos, y asociados al rastrojo.

En el suelo libre de restos de cosecha, se observa un aumento muy importante en la población de hongos celulolíticos aislados por ésta técnica, comparando la situación inicial (1993) con el último año de muestreo (1996). La relación es de 68 veces y 10 veces mayor de 0 a 5 cm y de 5 a 10 cm respectivamente en 1996 con respecto a los valores obtenidos en 1993. Además sólo se manifiesta diferencia de las UFC/gr de suelo, entre las profundidades en 1996.

Cualquiera de las labranzas aplicadas en el ensayo promueve, en el suelo separado de los residuos, el aumento de la MC y la concentración de esa población en la capa más superficial, si lo comparamos con la situación inicial de labranza convencional realizada previo a 1993. Estas variaciones se atribuyen al aumento del sustrato disponible a los hongos, que se va incorporando al suelo a medida que es degradado por los microorganismos.

Para analizar el recuento de hongos asociados a los residuos de cosecha, se emplearon dos variables. Ambas nos indican el número de propágulos fúngicos asociados al rastrojo, con la diferencia que mientras en la primera las UFC se refieren a 1 gr de rastrojo seco, la segunda hace referencia a las UFC presentes en el rastrojo contenido en 1 gr de suelo. Se consideró la última variable debido a las diferencias

encontradas en la distribución del rastrojo, respecto de las labranzas y las profundidades estudiadas, ya que en ella se ha tenido en cuenta dicha distribución.

Podemos asegurar que las UFC asociadas a los residuos, ya sea por gr de rastrojo o por gr de suelo, han crecido al aumentar el tiempo de tratamiento, manifestando en el último año diferencia entre las labranzas con mayor MC en SD para la rotación M-T/S-S, y en LC y SD para la rotación T/S. Además no se halló ninguna diferencia de recuento de la MC entre las dos rotaciones en el año 1996.

Al estudiar las UFC del rastrojo/gr de suelo se encontró efecto profundidad que se presentó en forma progresiva al pasar los años. Sólo en 1996 se observó diferencia entre las labranzas de 0 a 5 cm de profundidad.

Si bien las dos variables han permitido detectar diferencias de labranzas luego de cuatro años de tratamiento, cuando se tiene en cuenta la distribución del rastrojo son más notables las relaciones entre las labranzas y la profundidad con el transcurso de los años, además esas diferencias son más progresivas en éste último caso.

Con respecto a la MT también aumentó con los años de tratamiento, y presentó efecto profundidad similar al de la MC, pero no presentó diferencias entre las labranzas.

El mayor recuento fúngico en las capas superiores del perfil, se debe fundamentalmente a la abundancia de rastrojos en superficie, aunque también puede influir la disponibilidad de oxígeno, que disminuye con la profundidad, ya que los hongos filamentosos son aerobios estrictos.

Beare y col. también encontraron que las densidades fúngicas fueron afectadas fuertemente por las prácticas de labranza, con número de UFC menores en residuos de labranza convencional que en SD (132).

En una serie de trabajos Deng y Tabatabai (133) (134) (135) observaron el efecto de labranzas y manejo de residuos sobre actividades enzimáticas del suelo, éstas últimas son un reflejo de la dinámica de las poblaciones microbianas que las originan; ellos encontraron que las actividades de la mayoría de los enzimas fueron mayores en SD y LV que en labranza convencional. Además observaron la disminución de las actividades con el aumento de la profundidad del suelo. Entre los enzimas estudiados, es de destacar que las celulasas mostraron la disminución más marcada con la profundidad.

Los resultados de las experiencias desarrolladas concuerdan con los de Salinas Garcia y col. (126), quienes midieron biomasa microbiana, hallando los mayores valores de la misma en SD seguida por labranza mínima, y en último término la LV con valores similares a los de labranza convencional. Es de destacar que dentro de la biomasa microbiana los hongos representan aproximadamente el 60 % en los horizontes A y B, y en determinados sistemas se han hallado aún mayores porcentajes, entre el 78 y el 90 % de biomasa fúngica (136).

También Kandeler y Bohm comprobaron que los sistemas de labranza reducida y mínima tienen una concentración significativa de residuos y acumulación de C orgánico próximos a la superficie, que sirven como sustrato de los microorganismos cuya cantidad se ve aumentada en esa capa del perfil (137).

Como no se encontró efecto de las labranzas sobre la densidad de hongos celulolíticos en el suelo sin residuos, pero sí se hallaron diferencias entre los recuentos asociados a los residuos, obviamente son las poblaciones unidas a éstos últimos las que están más influenciadas por las prácticas de manejo. Esto se debe a la estrecha relación que existe entre estos grupos fúngicos descomponedores de la MO y su sustrato. Confirmando estas observaciones Ronm y col. demostraron, en un modelo de

AL

laboratorio, que la influencia de una fuente de MO está muy localizada y sólo se extiende a una corta distancia en el suelo, que estaría limitada a una capa de menos de 1-8 mm de los restos vegetales (138).

IV-2-3-AISLAMIENTOS DE HONGOS QUERATINOLITICOS EN SUELO:

La prevalencia en los aislamientos de *Trichophyton ajelloi* concuerda con la distribución geográfica mencionada en la literatura, ya que si bien se ha encontrado en todo el mundo es más abundante en regiones de clima templado como la nuestra (81). La abundancia de este hongo en suelos de cultivo ya se observó en trabajos anteriores (88) (63) (59). En todos esos estudios además se aisló siempre *Microsporum gypseum*, que no fue encontrado en ninguno de los muestreos realizados en el presente trabajo.

Sin duda los suelos de cultivo no tienen el aporte de mayor magnitud de sustratos queratinosos que pueden hallarse en suelos de corrales de aves, cerdos y potreros. En esos sitios con un importante aporte de queratinas se encuentran otras especies fúngicas que poseen mayor afinidad por determinados materiales queratinosos (88). En el caso de los suelos sometidos a cultivos durante largos períodos de tiempo se observa más uniformidad en las especies aisladas.

Los tres sistemas de labranza no parecen influir en la distribución ni en la frecuencia de las especies queratinolíticas aisladas de los suelos.

Tampoco se observan diferencias entre el primer año de tratamiento y el último, con respecto a los hongos queratinolíticos hallados.

Los tratamientos efectuados en el presente ensayo, han originado un aumento de los residuos, produciendo también una diferente distribución de los mismos de acuerdo al sistema de labranza empleado. Los restos vegetales no son un sustrato específico para los hongos queratinolíticos, y si bien ellos pueden nutrirse de los productos de

AL

degradación de tales materiales, necesitan de la presencia de otros grupos microbianos para hacerlo. Esto explicaría la falta de dependencia de éstos hongos de las prácticas de manejo de suelos de cultivo.

IV-2-4-AISLAMIENTOS DE HONGOS CELULOLITICOS EN SUELO Y RESIDUOS DE COSECHA:

La mayoría de las especies fúngicas aisladas son cosmopolitas, todas ellas han sido encontradas en suelos cultivados y en diversos sustratos orgánicos, principalmente sobre restos vegetales en distintos estados de descomposición. Muchos de estos hongos ya se mencionaron en la literatura como capaces de degradar material celulósico, como las especies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Monocillium*, *Myrothecium* y *Trichoderma*, incluso fueron aislados con métodos selectivos para microorganismos celulolíticos (96).

Harper y Lynch (139) aislaron como hongos dominantes en la paja inoculada con suelo, a *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Trichoderma*, de los mismos solamente *Mucor* prácticamente no se encontró en el presente trabajo.

De acuerdo a los resultados obtenidos por análisis multivariado, no se produciría efecto de los sistemas de labranza ni de la profundidad sobre la distribución de las especies y géneros de la micota celulolítica, tanto en suelo como en restos de cosecha.

Por los grupos formados en el análisis multivariado, en 1993 se diferencian mejor las muestras de suelo y rastrojo, en tanto que en 1996 forman un grupo bastante homogéneo. En el primer año de tratamiento, habría más diferencia de los hongos celulolíticos entre residuos y suelo, en ese momento recién comienza la colonización del sustrato, que por el tratamiento previo con labranza convencional, era muy escaso.

AL

Luego de cuatro años, la cantidad de residuos aumentó y se han hecho más semejantes los hongos presentes en suelo y los asociados al rastrojo.

A pesar de estas observaciones hay algunas diferencias en las especies encontradas en ambos tipos de muestras aún en 1996. Las especies del género *Fusarium* evidentemente están asociadas a los residuos de cosecha, sin duda deben cumplir un importante rol en la descomposición del sustrato, Jeschke y col. también encontraron en los restos vegetales una mayor diversidad de especies de *Fusarium* con respecto al suelo (140). Por otro lado *Aspergillus* es más frecuente en el suelo sin residuos y *Trichoderma* se encuentra más asociada al rastrojo que al suelo.

El ordenamiento y la clasificación de las muestras de rastrojo (procesadas por el método de dilución en placas) solamente diferencian los primeros (1993 y 1994) y los últimos años de muestreo (1995 y 1996).

Con el transcurso de los años ha cambiado la población de hongos celulolíticos, tanto en suelo como en rastrojo. Dentro de algunos géneros, como *Trichoderma*, *Penicillium* y *Fusarium* han variado las especies predominantes.

Algunas especies, aparecieron en los últimos años de muestreo, esto se refleja en un incremento de la biodiversidad fúngica, producido probablemente por un aumento en la diversidad del sustrato, que se ha acumulado con el transcurso del tiempo, presentando residuos con más variado grado de descomposición, y aumentando de este modo la diferenciación de nichos que es considerada como la causa principal de un incremento en número de especies de una comunidad desde el punto de vista ecológico (136).

Además se sabe que los hongos sufren variaciones estacionales, influenciadas por los cambios climáticos, en este caso las modificaciones en las condiciones de

temperatura y humedad entre los distintos años de muestreo, sin duda también deben ser responsables de las variaciones en la composición de la micota celulolítica.

El rastrojo procesado por la técnica de lavado, mostró efecto de las rotaciones de cultivo sobre la distribución de las especies. La diferencia podría deberse fundamentalmente a la distinta composición del sustrato disponible para los hongos en ambas rotaciones, además de la diferente cantidad de residuos y de MO observada entre las mismas.

Al comparar los dos métodos de aislamiento utilizados, encontramos que las muestras procesadas por la técnica de dilución de la rotación M-T/S-S, se encuentran en el gráfico de distribución, bastante próximas a las de lavado. Las muestras de la rotación T/S por dilución, están más alejadas.

Las diferencias halladas entre los dos métodos de aislamiento, aunque menos evidente para la rotación M-T/S-S, se deben a que si bien ambas técnicas permiten el aislamiento de los hongos, en la de lavado se aíslan principalmente aquellas especies que son metabólicamente activas, en tanto que en la de dilución predominan las cepas fuertemente esporuladas, como es el caso de *Penicillium* encontrado más frecuentemente por esta última técnica. Otros autores ya han observado la disminución en la frecuencia de este género cuando se emplea la técnica de lavado, con respecto a la de dilución en placas (96). Estas observaciones llevaron a considerar a las especies de *Penicillium* como colonizadores efímeros de sustratos efímeros, encontrados en el suelo principalmente como conidios (142). Pero la hipótesis de que *Penicillium* no está presente como hifas en el suelo puede no ser cierta (29), recientes investigaciones realizadas por laboriosas técnicas con micromanipulador, han demostrado que una enorme parte de hifas melanizadas en suelos de bosques corresponde a dicho género (142).



Por el método de lavado se halló mayor diversidad fúngica, ya que al desarrollar los hongos activos, pueden encontrarse especies que por dilución en placas, estarían inhibidas por otras que producen gran cantidad de elementos de reproducción y crecen más rápidamente.

Es de destacar que por la técnica de lavado, se encontró una mayor variedad de especies pertenecientes al género *Fusarium* asociadas al rastrojo. Se ha sugerido que la alta diversidad de especies de *Fusarium* debida a la acumulación de MO, podría indicar un carácter más estable en algunas comunidades, y que miembros de este género pueden ser usados como indicadores del estado de desarrollo de la sucesión ecológica y de la comunidad (30). Knudsen y col. encontraron mayor diversidad de *Fusarium* en suelos tratados orgánicamente y con rotaciones de cultivos más diversos (30). Concordando con esos hallazgos, en el presente trabajo, hay más diversidad de especies de *Fusarium* en la rotación M-T/S-S, que incluye más variedad de cultivos; en la rotación T/S es menor la diversidad de especies de este género, además se suma el aislamiento de *Fusarium graminearum*, reconocido patógeno del cultivo de trigo.

A pesar de que la distribución de las especies fúngicas asociadas a los residuos de cosecha, no pareció estar afectada por los sistemas de labranza, con respecto a dos de los géneros aislados *Fusarium* y *Trichoderma* hubo algunas diferencias. Para todos los muestreos, en la rotación M-T/S-S, se aislaron especies de *Fusarium* en SD a ambas profundidades, cuando en LV y LC no ocurrió lo mismo. En el último año de muestreo (1996) la frecuencia y densidad relativa de *Fusarium* en SD por lo menos duplica a las halladas en los otros dos sistemas de labranza, por los dos métodos de aislamiento. Las especies de *Trichoderma* también fueron aisladas en todos los muestreos en SD, y siempre salvo en 1996, su densidad relativa fue superior en SD.

AL

IV-2-5-TEMPERATURA Y HUMEDAD EDAFICAS Y VARIABLES AMBIENTALES:

No se observó efecto de los sistemas de labranza estudiados, sobre la temperatura del suelo. Alvarez y col. tampoco encontraron diferencias en la temperatura edáfica entre SD y labranza con disco (143), ni entre labranza reducida y labranza convencional en la pampa húmeda argentina (144). Aunque se sabe que los residuos vegetales, especialmente en las regiones cálidas protegen al suelo contra una insolación demasiado fuerte (1), y por lo tanto es de esperar que la temperatura sea menor en los sistemas de labranza que producen mayor acumulación de rastrojos en superficie. Durante algunas estaciones y en determinados climas, esos efectos pueden inhibir la actividad biológica, esto puede estar asociado, ya sea con producción o reducción de los nutrientes disponibles para las plantas (145).

Con respecto a la humedad del suelo, sólo se hallaron diferencias en nueve meses a lo largo del ensayo. De 5 a 10 cm de profundidad hubo más uniformidad en los valores obtenidos, que en superficie. Es de destacar que cuando hubo diferencias, siempre SD presentó los más altos contenidos de humedad, esto puede deberse a la mayor acumulación de residuos en superficie que, disminuye las pérdidas de agua por evaporación. Efectivamente varios autores han comprobado que las mayores cantidades de residuos en superficie de SD y labranza mínima, son fundamentales para aumentar la acumulación de agua en el suelo y la eficiencia de almacenamiento de las precipitaciones (146) (147) (145) (148).

A su vez en los meses de verano de 1994 y 1995 la menor cantidad de residuos en superficie en la LV, donde la humedad fue menor, favoreció la pérdida de agua del suelo por evaporación. En ambos períodos se tuvieron valores máximos de temperaturas medias ambientales, esto produce más pérdida de agua en los sistemas de

AdL

manejo de tierras, que poseen menor cobertura de la superficie, con los residuos de cosecha.

Por otra parte en los inviernos de 1995 y de 1996, los mayores valores de humedad edáfica que se observaron en SD, coinciden con los períodos de las menores precipitaciones registradas en todo el tiempo del ensayo y de humedad relativa ambiente más bajos. Quizás en SD haya diferencias con respecto a los otros sistemas, la acumulación de rastrojo en superficie o las características de compactación del suelo que lleve a un menor drenaje, y por lo tanto a mayor retención de agua. Las diferencias en la humedad edáfica observadas entre los sistemas de labranza, se produjeron en condiciones extremas ya sea de temperatura y humedad ambiental como de precipitaciones.

Sin embargo en la mayor parte del período considerado no hubo diferencias en la humedad del suelo entre los tres sistemas de labranza. En algunos trabajos se reportó la uniformidad en el contenido de agua, a pesar de la diferencia en la distribución de los residuos de cosecha, entre los distintos laboreos a que se somete el suelo (143) (144).

III-2-6-MATERIA ORGANICA Y PH:

Al igual que con los residuos de cosecha, se observaron mayores valores de MO en la rotación M-T/S-S, en SD fue superior que en LV, en tanto que la LC ocupa una posición intermedia. En la rotación T/S, no hubo diferencias de la MO en SD y LC, y en ambos sistemas de labranza fue superior a la LV.

Siempre hubo concentración de MO en la capa más superficial del perfil. Hay varios trabajos que muestran resultados similares, Havlin observó la acumulación de C orgánico en la superficie del suelo (0-2,5 cm) bajo sistemas de labranza reducida con incorporación de residuos (149). El contenido de carbono orgánico en SD en superficie

AL

(0-5 cm) es significativamente mayor que de 5-15 cm según Deng y Tabatabai (133). Alvarez y col. también encontraron que la cantidad de C orgánico de 0 a 5 cm fue aproximadamente 50 % mayor en SD que en LV y labranza convencional (129). A diferencia de la mayoría de los estudios que se limitaron a las capas más superficiales, Angers y col. estudiaron la distribución de la MO en todo el perfil del suelo y allí observaron que SD u otras prácticas de labranza reducida no tienen más MO que la labranza convencional. Así las labranzas producen más bien un efecto diferencial sobre la distribución de la MO con la profundidad (150).

Sin duda los residuos aún no degradados totalmente, son responsables de un aporte importante al contenido de MO del suelo, ya que se encontró una cantidad significativamente mayor de MO en el suelo entero que en el suelo sin rastros.

Los métodos de labranza reducida y especialmente la SD, dejan gran cantidad de residuos de cosecha en el suelo y el mayor número de organismos capaces de degradarlos dan como resultado un aumento de la MO en la capa superficial (0-5 cm) como se ha comprobado en esta experiencia. Algunos autores postulan que el mayor contenido de MO en el suelo, en dichos sistemas de labranza, está ligado a una menor mineralización, con una menor liberación de CO_2 a la atmósfera (151), de este modo el proceso de descomposición de la MO estaría orientado hacia una mayor humificación (129). Se ha observado que cuando los residuos no son enterrados, el crecimiento fúngico predomina sobre el bacteriano (152). Los hongos son los responsables de promover la descomposición de la MO a través de la humificación. Por otra parte los restos en superficie están más expuestos a la desecación que produce una disminución en la velocidad de degradación de los mismos (129).

AL

Con respecto al pH, el más alto se observó en SD, el más bajo en LC y la LV ocupa una posición intermedia entre los otros dos sistemas de labranza. El pH fue más ácido en el suelo sometido a la rotación T/S.

A diferencia de los hallazgos del presente ensayo, Deng y Tabatabai (133) no encontraron efecto de las labranzas y manejo de residuos sobre el pH, comparando SD, LV y labranza convencional.

Tradicionalmente se sabe que la labranza convencional produce una disminución en el pH del suelo, este hecho fue comprobado por Lal (153) quién luego de ocho años de cultivos encontró pHs más ácidos en labranza convencional que en SD. Por otra parte Conyers y col. encontraron un pH mayor en SD de 0-5 cm de profundidad con respecto a la labranza convencional, ocurriendo lo inverso de 5-10 cm, por ello concluyen que la SD produce una estratificación en el pH del suelo (154).

En SD y con la rotación de cultivos M-T/S-S, se encontraron los valores de pH más altos, de acuerdo a Staben y col. (155) esta situación favorece la nutrición vegetal por un incremento de N, P y K disponibles en el suelo, con un efecto positivo sobre el crecimiento de las raíces, y disminución de la concentración de metales pesados.

Los diferentes disturbios del suelo y la incorporación de residuos, producen cambios significativos en las propiedades físicas y químicas del suelo, especialmente sobre el pH y el contenido de MO, como se ha comprobado en el presente trabajo.

III-2-7-RENDIMIENTO:

Evidentemente la mayor disponibilidad de MO y de hongos celulolíticos capaces de degradarla en SD, han facilitado la nutrición vegetal, por poner a disposición del cultivo de trigo sustancias, que le permitieron producir más cantidad de biomasa.

AL

A pesar de la mayor cantidad de rastrojo y MO de la rotación M-T/S-S, con respecto a la rotación T/S, el rendimiento no fue significativamente diferente entre las dos rotaciones.

IV-3-CAPACIDAD CELULOLITICA DE LOS HONGOS AISLADOS:

IV-3-1- PODER CELULOLITICO DE HONGOS FILAMENTOSOS CON EL USO DEL COLORANTE ROJO CONGO:

Por esta técnica el hongo, inoculado en la superficie del medio de prueba, crece hacia el interior del mismo, y al producir enzimas celulolíticos, origina una zona de hidrólisis desde la superficie hacia el interior, demarcando una zona clarificada.

La relación FH/FD nos permite evaluar la capacidad del micelio de producir celulasas o bien la capacidad de éstas de difundir desde las hifas hacia el sustrato. Cuanto más alta sea la relación, mayor será la potencia celulolítica bajo las condiciones experimentales establecidas. De este modo los resultados obtenidos pueden correlacionarse con la estrategia natural de colonización del sustrato (118).

Todas las cepas aisladas a partir de los residuos de cosecha por los dos métodos de aislamiento empleados, presentaron capacidad celulolítica con el uso del colorante Rojo Congo como revelador.

Como los hongos aislados por el método de lavado, presentaron en promedio mayor poder celulolítico, se considera que este hallazgo se debería a que por ésta técnica se aíslan las cepas que son metabólicamente activas, por lo cual es lógico que tengan más capacidad de degradación del material celulósico que las aisladas por el método de dilución, que refleja más la presencia de elementos de reproducción fúngica aún de hongos que pueden no estar desarrollando en el momento del muestreo.



Los resultados obtenidos revelan que diferentes cepas de hongos que pertenecen a la misma especie, pueden presentar capacidad celulolítica muy variada.

Rhizopus y *Fusarium* se destacan por tener mayor poder celulolítico, en las condiciones del ensayo. En general las especies de *Trichoderma* produjeron actividad celulolítica baja o media, aún cuando siempre se menciona en la literatura como uno de los géneros más activos en la celulolisis, y por ello se han empleado en la industria desde hace varios años como productoras de enzimas celulolíticos. Lynch y Harper (156), por ejemplo, comparando una serie de hongos celulolíticos, encontraron que *Trichoderma spp* tuvo la máxima capacidad de aclaramiento en celulosa.

Los tres sistemas de labranza aplicados y las dos profundidades consideradas, no parecen tener ningún efecto sobre el poder celulolítico de las cepas fúngicas aisladas. Se considera que las variables estudiadas, no han alterado la capacidad de esas cepas de producir enzimas celulolíticos.

IV-3-2-: CAPACIDAD CELULOLITICA DE CEPAS FUNGICAS EN SOBRENADANTES DE CULTIVO:

Mientras la mayor parte de la teoría enzimática se basa en reacciones en solución, el sistema celulasa-celulosa involucra una interfase entre los enzimas (ya sea libres en solución o ligados a la superficie celular) y un sustrato insoluble con una superficie heterogénea.

Los métodos de estudio de la capacidad celulolítica de hongos filamentosos basados en medir la desaparición de sustrato, con el uso de un colorante (Rojo Congo) que revela su presencia, tienen algunas ventajas con respecto a los métodos que miden liberación de productos. Fundamentalmente porque las técnicas que dosan, por ejemplo, aparición de extremos reductores solubles están subestimando la actividad, el

AL

dosaje por Somogyi-Nelson detecta los productos de bajo peso molecular (glucosa, celobiosa, celotriosa) pero los oligosacáridos mayores precipitan y no son determinados.

Sobre celulosa insoluble, celulasa tiene una baja actividad específica, cercana a una unidad internacional por mg de proteína soluble, cuando se usa papel de filtro como sustrato. Esto se debe a la insolubilidad y resistencia a la degradación de la celulosa. En la fermentación de 1 % de celulosa, se obtienen 2 mg de proteína extracelular (2 unidades de papel de filtro) por ml (157).

En la presente experiencia la concentración proteica no superó nunca los 0,12 mg/ml. Junto con las limitaciones del método de medición de azúcares reductores, la baja cantidad de proteínas sería la causa de la falta de detección de actividad enzimática, cuando se empleó celulosa cristalina como sustrato. Considero que la metodología utilizada no ha sido lo suficientemente sensible, en este caso, como para medir actividad celulolítica.

Por otro lado el ensayo de aclaramiento en placas de CMC con Rojo Congo permitió la medición de la actividad enzimática, para todas las cepas. Tal método fue bien estudiado por monitoreo de gran número de muestras, y como hay relación lineal entre el área de hidrólisis y el logaritmo de la concentración de enzima, virtualmente cualquier concentración de enzima dará un resultado medible (32). Por lo cual este método es más sensible y por ello nos permitió detectar actividad enzimática, a pesar de la escasa cantidad de proteína presente. Las condiciones del ensayo fueron controladas estrictamente de acuerdo a Magnelli y col. (118), aún así la actividad se expresó como área de hidrólisis, porque para expresar los resultados en unidades absolutas se requiere calibración con endoglucanasas estandarizadas por otros métodos.

AdL

Cuando se empleó paja de trigo como inductor de la síntesis de celulasa, la concentración proteica en los sobrenadantes de cultivo, fue superior que cuando se usó celulosa cristalina. Esto se debe a que el primer sustrato es mucho más complejo ya que posee otros constituyentes, además de celulosa, y sin duda hay más enzimas involucrados en su degradación, que aumentarían el contenido de proteínas solubles. Para evaluar, en sistemas naturales, el grado de actividad enzimática, la paja de trigo sería en este caso el inductor más adecuado.

Las primeras cuatro cepas mostraron, con el transcurso del tiempo, comportamientos bastante similares entre sí, en cuanto a su capacidad de aclaramiento en CMC. No ocurrió lo mismo con las restantes cepas, entre ellas *Trichoderma aureoviride* presentó la mayor actividad enzimática y *Rhizopus spp* la menor.

En general los valores de FH/FD medidos con los hongos creciendo en el medio de prueba, no se correlacionaron con la actividad de los sobrenadantes de cultivo. Por ejemplo las cepas de *Rhizopus spp* que tuvieron los más altos valores de FH/FD, no mostraron elevadas áreas de hidrólisis en las determinaciones realizadas a partir de cultivos en medio líquido. En realidad los dos ensayos evalúan aspectos diferentes de la capacidad celulolítica de los hongos. Cuando realizamos el cociente entre FH y FD, se está considerando fundamentalmente la capacidad de producir enzimas a distancia, y en ese cálculo también se mide el crecimiento del hongo en el medio sólido.

IV-4-ASPECTOS ECOLOGICOS DE LAS COMUNIDADES FUNGICAS:

La parte del sustrato obtenida por un hongo, en un ecosistema terrestre, estará determinada: (a) directamente por su habilidad saprofítica competitiva (HSC), (b) directamente por su potencial de inóculo (densidad de propágulos y energía total

disponible para la colonización) a la superficie del sustrato, (c) inversamente por el inóculo potencial de sus competidores (158).

La habilidad saprofítica competitiva es la suma de características fisiológicas que llevan al éxito en la colonización competitiva de sustratos. Muchos hongos, en cultivos puros son capaces de usar sustratos que en la naturaleza son incapaces de colonizar. La razón de ello es que otros muchos organismos que están presentes excluyen activamente a los organismos menos exitosos, por mecanismos de antagonismo (159).

Hay cuatro atributos generales que contribuyen a que un hongo determinado posea un alto grado de HSC:

1. Rápida germinación de esporas y conidios y alta velocidad de crecimiento hifal, ambos favorecen la rápida colonización del sustrato.
2. Buena producción enzimática que favorece una rápida y extensa colonización del sustrato.
3. Producción de sustancias tóxicas para otros organismos, lo cual puede reducir la competición por los sustratos disponibles.
4. Tolerancia a sustancias antibióticas producidas por otros organismos.

Se vio que los hongos de muy baja HSC generalmente no sobreviven como saprófitos en el suelo.

Entre los hongos terrestres, los de baja HSC se desarrollan en los pasos iniciales de descomposición del sustrato y son los colonizadores primarios, los hongos que tienen alta HSC se hacen activos al final cuando las condiciones culturales imponen antagonismos más intensos.

De hecho la HSC no es una característica fija para cada hongo, sino que varía de acuerdo al ambiente particular presentado.

AL

En un trabajo de Garret (158), estudiando hongos celulolíticos que se hacían crecer simultáneamente sobre paja, encontró que la velocidad a la cual las cepas probadas, penetraban los residuos vegetales, se correlacionó altamente con su habilidad de descomponer el papel de filtro cuando esos hongos estaban aislados. Como entre las cepas se produjo distinto grado de inhibición del crecimiento en un medio suplementado con suelo, consideraron que esa observación se debería a la presencia de sustancias inhibitorias producidas por otros microorganismos. En este caso los factores más importantes en el éxito saprofítico serían la habilidad de descomponer la celulosa, la eficiencia en la absorción de nutrientes a partir de una provisión limitada y la posible tolerancia hacia metabolitos microbianos.

Por otro lado Tribe (160) estudió la habilidad competitiva de hongos celulolíticos, y no obtuvo correlación con la actividad celulolítica, sin duda otros factores no definidos estarían aparentemente involucrados.

Pruebas de competición con algunos hongos patógenos de plantas, demostraron que *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani* fueron los colonizadores más efectivos, sobre piezas de raíz de tomate (161). En este caso la eficiencia en la colonización se correlacionó en parte, con la velocidad de crecimiento.

En el presente trabajo las cepas de *Rhizopus* tuvieron altas frecuencias y densidades relativas en prácticamente todas las muestras de 1995 y 1996, tanto en suelo como en rastrojo, por ambos métodos de aislamiento. Esto podría deberse a una elevada HSC, si consideramos que *Rhizopus*, perteneciente al orden de los Mucorales, es un género con micelio no tabicado, con una velocidad de crecimiento y utilización del sustrato excepcionalmente altas, una rápida y prolífica producción de propágulos de dispersión (159), y de acuerdo a los resultados obtenidos en la determinación del poder

celulolítico con Rojo Congo, con gran capacidad de producir enzimas que difunden al medio.

Como *Fusarium* se encontró solamente asociado a los rastrojos, hallándose más diversidad de especies por la técnica de lavado, y teniendo en cuenta que las cepas pertenecientes a dicho género presentaron, en promedio, junto con *Rhizopus* el mayor poder celulolítico, sin duda desempeñan un papel muy activo en el proceso de degradación de los residuos de cosecha.

Una de las especies de *Fusarium* más frecuentemente aislada y que presentó alto poder celulolítico, fue *Fusarium oxysporum*, considerado como un saprófito común, que ha sido hallado a partir de un gran número de muestras de suelos que contienen paja en distintos estados de descomposición (162).

Algunas de las especies de *Fusarium* también podrían actuar como potenciales patógenos de los cultivos, sin embargo la coexistencia de diversas cepas pertenecientes al mismo género se ha probado que pueden ejercer acción antagónica sobre los patógenos, controlando de este modo su efecto perjudicial (30).

Las especies de *Aspergillus* aunque se presentaron con mayor frecuencia en los primeros años y más asociadas al suelo que a los residuos, estuvieron presentes en prácticamente todos los muestreos, son hongos muy versátiles en cuanto a su actividad metabólica, muchos de ellos tienen capacidad de producir metabolitos secundarios con diversos efectos en el medio ambiente.

Se ha comprobado que cepas de *Penicillium*, *Trichoderma* y *Gliocladium* poseen habilidad de antagonizar con patógenos fúngicos de los cultivos, y reducir de este modo la enfermedad causada por ellos (29). El antagonismo puede deberse a competición por los nutrientes, antibiosis o hiperparasitismo (163). Es conocido que muchas cepas de *Penicillium* producen antibióticos (96). La producción de metabolitos

AL

tóxicos fue demostrada no sólo en experimentos desarrollados in vitro, sino también en piezas de paja de trigo y semillas sobre suelo inalterado, donde la cantidad de toxinas fue lo suficientemente grande como para permitir su extracción y caracterización (158).

En esta experiencia, los tres géneros mencionados, especialmente *Penicillium* y *Trichoderma*, presentaron elevadas densidades relativas, principalmente en los últimos años de muestreo, y si bien no se destacaron por poseer altos valores de FH/FD, tienen otras características que los harían buenos competidores en la descomposición de los restos vegetales, como su capacidad de producir abundantes elementos de reproducción y de antagonizar, por diversos mecanismos con otros organismos.

De echo cepas de *Penicillium purpurogenum* y *Trichoderma harzianum* aisladas en el presente trabajo, presentaron capacidad antagónica in vitro contra especies de *Fusarium* patógenas de los cultivos (164).

Según Baker y Cook (158) cuando hay en el suelo más variedad y cantidad de microorganismos, hay mayor chance de control biológico de los patógenos de plantas. Este comportamiento se basa en el concepto ecológico de que cuanto más compleja sea una comunidad biológica, mayor será su estabilidad. Se considera que en los ecosistemas maduros hay más número de especies fúngicas que en los inmaduros o que han sufrido disturbios recientemente.

Después de cuatro años de iniciado el presente ensayo, se observó un aumento de la población fúngica celulolítica asociada a los residuos de cosecha, que varió de acuerdo al sistema de labranza empleado, y un aumento en la diversidad de la misma a medida que el ecosistema maduraba.

Sin duda aunque existan algunas relaciones entre las características de ciertos hongos aislados y su capacidad competitiva, en realidad en los sustratos naturales las interacciones entre los microorganismos y con las condiciones fisicoquímicas y

climáticas son mucho más complejas, y por eso mismo difíciles de evaluar en su totalidad.

Ad

V-CONCLUSIONES:

1- Los tres sistemas de labranza, mejoraron las condiciones de cantidad de rastrojos y poblaciones de hongos celulolíticos, de las parcelas sometidas previamente a labranza convencional. Por ello es de destacar los beneficios, en general, que producen los sistemas de labranza nula o reducida, relacionados fundamentalmente con la retención de los residuos de cosecha, que de este modo no son enterrados en profundidad como ocurre cuando se usa arado de rejas y vertedera.

Dentro de los sistemas de labranza empleados, en SD se observaron: el mayor contenido de MO, el pH menos ácido, y la mayor acumulación de rastrojos en superficie. La MO es el indicador más importante de calidad de suelo y sustentabilidad agronómica, por el impacto que tiene sobre otros indicadores físicos, químicos y biológicos, de la calidad de suelo. Los residuos de cosecha en las capas más superficiales del perfil, pueden ser muy efectivos en la reducción de la erosión, protección de la estructura del suelo y aumento de la humedad por aumento de la infiltración y disminución de la evaporación.

Además en SD se obtuvieron los mayores recuentos de MC asociada al rastrojo, una característica que nos indicaría una buena capacidad de descomposición de los residuos de cosecha, orientada en tales condiciones hacia una mayor humificación.

Por todo lo expuesto en SD se han presentado algunas de las características que favorecerían la fertilidad edáfica. Estas observaciones se confirman por los mayores rendimientos del cultivo de trigo, obtenidos en ese sistema de labranza.

La rotación de cultivos M-T/S-S mostró algunas ventajas con respecto a la rotación T/S, fundamentalmente por el contenido de MO, mayor acumulación de rastrojos (especialmente en SD) y pH más elevado. Si bien entre las dos rotaciones no

hubo diferencias en los recuentos de MC asociada al rastrojo, se observó mayor diversidad de especies de *Fusarium*, hecho que puede considerarse beneficioso en cuanto al control de ciertos hongos potenciales patógenos de los cultivos.

De acuerdo a los resultados obtenidos puede inferirse que las prácticas de manejo que producirían mejores condiciones en el suelo son la SD combinada con rotaciones de cultivos diversos (rotación M-T/S-S). De este modo se combinan el escaso disturbio realizado al suelo con un aporte variado de residuos de distinta composición, disponible para ser degradado por la microbiota de los suelos.

2- La población de hongos celulolíticos, en cuanto al recuento de UFC, permitió observar diferencias entre los tres sistemas de labranza y las dos profundidades en el lapso de cuatro años de tratamiento, datos que están relacionados con la distribución del rastrojo y el contenido de MO.

Indudablemente la distribución de los hongos celulolíticos estuvo determinada por la cantidad de residuos presentes en cada tratamiento, ya que la disponibilidad del sustrato más que otros factores involucrados, es fundamental para el desarrollo de los microorganismos en general.

Los sistemas de labranza aquí probados tienen efecto sobre el recuento fúngico, pero no así sobre la composición de la comunidad de hongos celulolíticos, en general, asociados a los residuos de cosecha, ni sobre la capacidad celulolítica in vitro de los mismos.

Como la MC fue sensible a las modificaciones de la distribución de los residuos de cosecha, producidas por los diferentes sistemas de labranza, los valores de UFC de hongos celulolíticos del rastrojo/gr de suelo pueden ser usados, junto con otros indicadores, para caracterizar los cambios originados en el suelo por las prácticas de manejo.

3- Las especies del género *Fusarium* podrían emplearse como marcadoras de la capacidad de un suelo de degradar restos vegetales, debido a que:

- Fueron aisladas exclusivamente asociadas a los residuos de cosecha.
- Presentaron elevado poder celulolítico.
- Se aislaron con más frecuencia en SD, donde hubo la mayor acumulación de rastrojos y los mayores contenidos de MO.

A su vez la diversidad de especies pertenecientes al género *Fusarium*, se puede considerar como una medida de la capacidad antagónica del suelo en el control de cepas patógenas de los cultivos.

Los resultados aquí presentados fueron obtenidos en el transcurso de cuatro años de tratamiento, por lo cual, sólo pueden considerarse como indicativos de tendencias, las que deberían ser confirmadas con estudios a largo plazo, y que según la literatura tendrían que tener por lo menos siete años de duración.

AL

VI-RESUMEN:

Los hongos cumplen un importante rol en ecosistemas terrestres, ya que su intervención en el ciclado de nutrientes y energía es de notable magnitud.

Estos microorganismos participan activamente en la descomposición de restos vegetales y animales, hecho que favorece la nutrición vegetal porque se solubilizan muchas sustancias que la planta puede aprovechar directamente. De allí la importancia de los diversos grupos funcionales fúngicos en la fertilidad del suelo, entre ellos se destacan los hongos celulolíticos y queratinolíticos, activos en la degradación de compuestos carbonados y nitrogenados.

Es de interés conocer las modificaciones que se producen sobre estos grupos funcionales fúngicos y su actividad biológica, ante diversas prácticas de manejo de suelos empleadas en agricultura, como el agregado de fertilizantes, las rotaciones de cultivos, los sistemas de labranza y el manejo de los residuos de cosecha, con el fin de aplicar los datos obtenidos en programas de conservación de suelos agrícolas.

Se emplearon dos ensayos:

1. Para estudiar el efecto de la aplicación de fertilizante en un sistema de labranza convencional, sobre los hongos celulolíticos y queratinolíticos del suelo.

2. Para estudiar el efecto de los sistemas de labranza en la incorporación de los residuos de cosecha y las poblaciones fúngicas celulolíticas asociadas a los mismos, como así también los hongos celulolíticos y queratinolíticos de suelo.

1. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTE SOBRE LA MICOTA DE LOS SUELOS:

Se emplearon parcelas con y sin aplicación de urea como fertilizante y sometidas a dos rotaciones de cultivo, en un sistema de labranza convencional.

La micota queratinolítica no presentó variaciones con los factores estudiados.

La MT aumentó en la rotación M-T/S, y la MC se vio incrementada en las parcelas fertilizadas con la rotación T/S.

La distribución de hongos celulolíticos, fue aparentemente afectada por la aplicación del fertilizante, que podría actuar seleccionando algunas especies que verían favorecida su capacidad competitiva, como *Fusarium solani* y *Mycelia Sterilia*, por otro lado *Penicillium* parece estar excluido de las parcelas fertilizadas.

Contrariamente a lo esperado no se observó efecto de la aplicación de urea sobre las características químicas del suelo, ésta puede ser la causa principal de la escasa influencia del tratamiento sobre las poblaciones fúngicas del suelo.

2. DINAMICA DE LA MICOTA CELULOLITICA Y QUERATINOLITICA EN RESIDUOS DE COSECHA Y SUELO BAJO TRES SISTEMAS DE LABRANZA:

Se emplearon parcelas sometidas a tres sistemas de labranza: SD, LV y LC, con dos rotaciones de cultivo.

La distribución de los residuos de cosecha fue afectada por las labranzas, con una mayor acumulación de rastrojos en la capa más superficial del perfil en SD, y menor cantidad en LV, en concordancia con el manejo que se realiza con el suelo. Las secuencias de cultivo también influyeron sobre disposición del rastrojo en el suelo.

La cantidad de MO sufrió variaciones similares a los residuos de cosecha.

El pH más alto se observó en SD y en la rotación M-T/S-S.

Los sistemas de labranza no influyeron en la distribución de los hongos queratinolíticos, entre los cuales se destaca el predominio en prácticamente todas las muestras de *Trichophyton ajelloi*.

Las poblaciones de hongos celulolíticos asociadas al rastrojo, fueron influenciadas por las prácticas de manejo. Los recuentos de MC fueron superiores en SD. En todos los casos las UFC asociadas a los residuos/ gr de suelo presentaron mayores valores de 0 a 5 cm de profundidad. El sustrato disponible para los hongos es el factor principal que determina tal disposición.

Con respecto a los hongos celulolíticos, se aislaron por la técnica de dilución en placas y de lavado, fundamentalmente especies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Monocillium*, *Myrothecium*, *Rhizopus* y *Trichoderma*. Se observó que *Fusarium* sólo se aisló a partir de los residuos de cosecha, por lo cual debe cumplir un importante rol en la descomposición de los mismos. Los primeros años se diferenciaron de los últimos, por las variaciones producidas en las especies fúngicas predominantes, y por un aumento en la diversidad al aumentar la diferenciación de nichos.

Por la técnica de lavado se encontró más diversidad fúngica en general y de especies de *Fusarium* en particular, principalmente en la rotación M-T/S-S.

Muchas de las cepas aisladas fueron probadas en su capacidad celulolítica, con el uso del colorante Rojo Congo. *Rhizopus* y *Fusarium* se destacaron por presentar mayor poder celulolítico.

Los tratamientos aplicados no parecen tener ningún efecto sobre el poder celulolítico de las cepas fúngicas aisladas.

De acuerdo a los resultados obtenidos puede inferirse que las prácticas de manejo que producirían mejores condiciones en el suelo son la SD con rotaciones de cultivos diversos (rotación M-T/S-S). De este modo se combinan el escaso disturbio realizado al suelo con un aporte variado de residuos de distinta composición, disponible para su descomposición por la microbiota de los suelos. Sin embargo estos resultados

fueron obtenidos a los cuatro años de tratamiento, por lo cual sólo pueden considerarse como indicativos de una tendencia.

Como la MC fue sensible a las modificaciones de la distribución de los residuos de cosecha, producidas por los diferentes sistemas de labranza, los valores de UFC de hongos celulolíticos del rastrojo/gr de suelo pueden ser usados, junto con otros indicadores, para caracterizar los cambios originados en el suelo por las prácticas de manejo.

Especies de *Fusarium* pueden considerarse como potenciales marcadores de la capacidad de un suelo de degradar restos vegetales, por la estrecha relación que se observó entre dicho género y los residuos de cosecha.

AL

APENDICE I: MEDIOS DE CULTIVO:**AGAR PAPA DEXTROSA (APD)**

Papa.....	250 g
Glucosa. (Cicarelli).....	10 g
Agar.(Difco).....	20 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

AGAR SALES CELULOSA

(medio de Eggins modificado)

Sulfato de amonio. (Cicarelli).....	0,5 g
Fosfato monopotásico.(Anedra).....	1,0 g
Cloruro de potasio.(M & B May Baker Ltd.).....	0,5 g
Sulfato de magnesio. (Cicarelli).....	0,2 g
Cloruro de calcio.(Anedra).....	0,1g
L-asparagina.(Malinckrodt).....	0.5 g
Carboximetilcelulosa.(Merck).....	10 g
Agar.(Difco).....	20 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

AGAR SABOURAUD GLUCOSA (ASG)

Neopeptona.(Difco).....	10 g
Glucosa.....	20 g
Agar.....	15 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

AL

CZAPEK-DOX

(empleado en la identificación de especies de *Aspergillus*)

NaNO ₃ . (Cicarelli).....	3 g
K ₂ HPO ₄ . (Anedra).....	1 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O. (Cicarelli).....	0,5 g
KCl.....	0,5 g
FeSO ₄ . 7H ₂ O. (Cicarelli).....	0,01 g
Sacarosa. (Cicarelli).....	30 g
Agar.....	15 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

AGAR PAPA SACAROSA (APS)

(empleado en la identificación de especies de *Fusarium*)

Extracto de papa.....	500 cm ³
Sacarosa.....	20 g
Agar.....	20 g
Agua destilada.....	500 cm ³

AGAR EXTRACTO DE MALTA (AEM)

(empleado en la identificación de especies de *Trichoderma*)

Extracto de malta. (Britania).....	30 g
Agar.....	15 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

AL

Medios de cultivo empleados en la identificación de especies de *Penicillium*:

1. CZAPEK CONCENTRADO

NaNO ₃	30 g
KCl.....	5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O.....	0,1 g
Agua destilada.....	100 cm ³

2. AGAR CZAPEK EXTRACTO DE LEVADURA (CYA)

K ₂ HPO ₄	1 g
Czapek concentrado.....	10 cm ³
Extracto de levadura.....	5 g
Sacarosa.....	30 g
Agar.....	15 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

3. AGAR EXTRACTO DE MALTA (MEA)

Extracto de malta en polvo.....	20 g
Peptona.(Britania).....	1 g
Glucosa.....	20 g
Agar.....	15 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

4. AGAR NITRATO GLICEROL (G25N)

K ₂ HPO ₄	0,75 g
Czapek concentrado.....	7,5 cm ³
Extracto de levadura.....	3,7 g
Glicerol.(Merck).....	250 g
Agar.....	12 g
Agua destilada.....	750 cm ³

MEDIO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD CELULOLÍTICA CON ROJO CONGO

NaNO ₃	2 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
MgSO ₄	0,2 g
Ca.Cl ₂ .2H ₂ O.(Anedra).....	0,02 g
MnSO ₄ .H ₂ O.(Merck A. G. Darmstadt).....	0,02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O.....	0,02 g
Carboximetilcelulosa.....	5 g
Agar.....	15 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

MEDIO BASE DE THEODOROU

ZnSO ₄ .7H ₂ O. (Cicarelli).....	0,0014 g
CoCl ₂ .(Carlo Erba).....	0,02 g
EDTA.Na ₂ .2H ₂ O.(ICN Biomedicals Inc.) ..	0,05 g
Peptona.....	1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄ . (Cicarelli).....	1,4 g
KH ₂ PO ₄	2,0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0,3 g
Ca.Cl ₂	0,3 g
FeSO ₄ .7H ₂ O.....	0,005 g
MnSO ₄ .H ₂ O.....	0,0016 g
Agua destilada.....	1000 cm ³

AL

VII-BIBLIOGRAFIA:

- 1)-Buol, S.W.; Hole, F.D.; McCracken, R.J. (1981) Génesis y Clasificación de Suelos. Primera edición en español. Editorial Trillas. México. Pag. 20-26, 46-50, 170-187.
- 2)-Montico, S. (1993) Apunte curso: El suelo, un enfoque conservacionista. Especialidad Manejo de Tierras. Fac. Cs. Agrarias. U.N.R. Pag. 5, 11-13.
- 3)-Gaucher, G. (1971) Tratado de pedología agrícola, el suelo y sus características agronómicas. Editorial Omega. Barcelona. Pag. 288, 534-535, 647.
- 4)-Paul, E. A.; Clark, F. E. (1989) Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, Inc. San Diego, California. Pag. 13-29, 87-88, 105, 111-112.
- 5)-Alexander, M. (1977) Introduction to soil microbiology. John Wiley and Sons. London. Pag. 52-59, 115, 128-155, 186-187.
- 6)-Griffin, M. D. (1972) Ecology of soil fungi. Syracuse University Press USA. Pag.10.
- 7)-Schinner, F.; Olinger, R.; Kandeler, E.; Margesin, R. (1996) Methods in soil biology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Alemania. Pag.: 3-6, 396.
- 8)-Sinsabaugh, R. L. (1994) Enzymic analysis of microbial pattern and process. Biology and Fertility of Soils. 17: 69-74.
- 9)-Skujins, J. (1976) Extracellular enzymes in soil. CRC Critical Reviews in Microbiology. 4: 383-421.
- 10)-Kjoller, A.; Struwe, S. (1994) Beyond the Biomass. Edited by K. Ritz, J. Dighton and K. E. Giller. British Society of Soil Science. Pag. 191-216.
- 11)-Zerpa, G. E.(1996) Condición química del suelo. El manejo de la fertilidad edáfica. Apunte inédito. Especialidad Manejo de Tierras. Fac. Cs. Agrarias. U. N. R. Pag. 1, 2, 10, 11.

12)-Wonisch, A.; Trinkaus, P.; Wutzl, C.(1995) Influence of different soil Tillage and cropping systems on aggregate stability. *Bodenkultur* 46: 99-106.

13)-Grant, C.A.; Lafond, G. P.(1994) The effects of tillage systems and crop rotations on soil chemical properties of a black chernozemic soil. *Canadian Journal of Soil Science* 74: 301-306.

14)-Andriulo, A. E.; Rosell, R. A.; Crespo, M. B.(1987) Effect of tillage on organic matter properties of a soil of central Argentina. *Science of the Total Environment*. 62: 453-456.

15)-Gallaher, R. N.; Ferrer, M. B.(1987) Effect of no tillage vs. Conventional tillage on soil organic matter and nitrogen contents. *Soil Science and Plant Analysis*. 18: 1061-1076.

16)-Doran, J. W.(1980) Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44: 765-771.

17)-Constantini, A.; Cosentino, D.; Segat, A.(1996) Influence of tillage systems on biological properties of a Typic Argiudoll soil under continuous maize in central Argentina. *Soil & Tillage Research* 38: 3-4.

18)-Montico, S.(1998) Principios de rotaciones. Apunte inédito. Especialidad Manejo de Tierras. Fac. Cs. Agrarias. U. N. R. Pag. 1-4, 9.

19)-Dick, R. P.(1992) A review-long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 40: 25-36.

20)-Gupta, V. V. S. R.; Roper, M. M.; Kirkegaard, J. A.; Angus, J. F.(1994) Changes in microbial biomass and organic matter levels during the 1st year of modified tillage and stubble management practices on a red earth. *Australian Journal of Soil Research* 32:1339-1354.

21)-Sanchez, S. R.; Studdert, G. A.; Echeverria, H. E.(1996) Descomposición de residuos de cosecha en un Argiudol Típico. Ciencia del Suelo. 14: 63-68.

22)-Brown, L. C.; Wood, R. K.; Smith, J. M.(1992) Residue management demonstration and evaluation. Applied Enngineering in Agriculture. 8: 333-339.

23)-Brown, L. C.; Foster, G. R.; Beasley, D. B.(1989) Rill erosion as affected by incorporated crop residue and seasonal consolidation. Transactions of the ASAE. 32: 1967-1978.

24)-Martínez, A. E.; Godeas, A. M.; Mc Allister, C.(1991) Descomposición de celulosa en un suelo de la provincia de Buenos Aires. Ciencia del Suelo. 9: 33-40.

25)-Sosa, O.(1998) Dinámica degradativa y balance de la materia orgánica en el suelo. Apunte inédito. Especialidad Manejo de Tierras. Fac. Cs. Agrarias. U. N. R. Pag.2,3.

26)-Sastre, I. ; Vicente, M. A.; Lobo, M. C.(1996) Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity. Bioresource Technology. 57: 19-23.

27)-Frioni, L.(1986) Efecto de enmiendas orgánicas sobre la actividad biológica de un suelo cultivado con maní. Ciencia del Suelo. 2: 139-145.

28)-Arnebrant, K.; Baath, E.; Soderstrom, B.; Nohrstedt, H.(1996) Soil microbial activity in eleven swedish coniferous forests in relation to site fertility and nitrogen fertilization. Scand. J. For. Res 11:1-6.

29)-Elmholt, S.; Kjoller, A.(1989) Comparison of occurrence of the saprophytic soil fungi in two differently cultivated field soils. Biological Agriculture and Horticulture. 6: 229-239.

30)-Knudsen, I. M. B.; Elmholt, S.; Hockenhull, J.; Jensen, D. F.(1995) Distribution of saprophytic fungi antagonistic to *Fusarium culmorum* in two

differently cultivated field soils, with special emphasis on the genus *Fusarium*. Biological Agriculture and Horticulture. 12: 61-79.

31)-Elmholt, S.(1996) Microbial activity, Fungal abundance, and distribution of *Penicillium* and *Fusarium* as bioindicators of a temporal development of organically cultivated soils. Biological Agriculture and Horticulture. 13: 123-140.

32)-Sharrock, K. R. (1988) Cellulase assay methods: a review. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 17: 81-106.

33)-Deacon, J. W. (1984) Introduction to modern mycology. Editor Wilkinson, J. F. Second edition. Blackwell Scientific Publications. London. Pag. 79-80.

34)-Barr, B. K., Hsieh, Y-L. , Ganem, B., Wilson, D. B. (1996) Identification of two functionally different classes of exocellulases. Biochemistry, Vol. 35: 586-592

35)-Nieves, R. A.; Ellis, R. P.; Tood, R. J.; Johnson, T. J. A.; Grohmann, K.; Himmel, M. E.(1991) Visualization of *Trichoderma reesei* cellobiohydrolase I and endoglucanase I on aspen cellulose by using monoclonal antibody-colloidal gold conjugates. Appl. Env. Microbiol. 57: 3163-3170.

36)-Mandels, M. (1981) Cellulases. Annual Reports on Fermentation Processes. 5: 35-78.

37)-Wood, T. M.; Garcia-Campayo, V.(1990) Enzymology of cellulose degradation. Biodegradation. 1:147-161.

38)-Coughlan, M. P.(1985) The properties of fungal and bacterial cellulases with comment on their production and application. Biotechnol. Genet. Eng. Rev. 3: 39-109.

39)-Sing, S.; Brar, J. K.; Sandhu, D. K.; Kaur, A.(1996) Isozyme polymorphism of cellulases in *Aspergillus terreus*. Journal of Basic Microbiology. 36: 289-296.

40)-Kubicek, C. P.; Messner, R.; Gruber, F.; Mandels, M.; Kubicek-Pranz. E. M.(1993) Triggering of cellulase biosynthesis by cellulose in *Trichoderma reesei*. The Journal of Biological Chemistry. 268: 19364-19368.

41)-Heitz, H. J.; Witte, K.; Wartenberg, A.(1991) Synergism of isoenzymes of cellobiohydrolase-I and cellobiohydrolase-II of *Trichoderma reesei* in hydrolysis of amorphous cellulose. Acta Biotechnologica. 11: 279-286

42)-Irwin, D. C.; Spezio, M.; Walker, L. P.; Wilson, D. B.(1993) Activity studies of eight purified cellulases: specificity, synergism, and binding domain effects. Biotechnology and Bioengineering. 42: 1002-1013.

43)-Nidetzky, B.; Steiner, W.; Hayn, M.; Claeysens, M.(1994) Cellulose hydrolysis by the cellulases from *Trichoderma reesei*- A new model for synergistic interaction. Biochemical Journal. 298: 705-710.

44)-Bailey, M. J.; Siika-aho, M.; Valkeajärvi, A.; Penttilä, M. E.(1993) Hydrolytic properties of two cellulases of *Trichoderma reesei* expressed in yeast. Biotechnol. Appl. Biochem. 17: 65-76.

45)-Kleman-Leyer, K. M.; Siika-aho, M.; Teeri, T. T.; Kirk, T. K.(1996) The cellulases endoglucanase I and cellobiohydrolase II of *Trichoderma reesei* act synergistically to solubilize native cotton cellulose but not to decrease its molecular size. Applied and environmental Microbiology. 62: 2883-2887.

46)-Medve, J.; Stahlberg, J.; Tjerneld, F.(1994) Adsorption and synergism of cellobiohydrolase I and II of *Trichoderma reesei* during hydrolysis of microcrystalline cellulose. Biotechnology and Bioengineering. 44: 1064—1073.

47)-Garcia-Kirchner, O.; Huitron, C.(1996) Saccharification of native sugar cane bagasse pith by cross-synergistic action of cellulases from *Penicillium sp.* CH-M-

ALP

001 and *A. terreus* CH-M-013. Applied Biochemistry and Biotechnology. 57/58: 253-265.

48)-Baker, J. O.; Adney, W. S.; Nieves, R. A.; Thomas, S. R.; Wilson, D. B.; Himmel, M. E.(1994) A new thermostable endoglucanase, *Acidothermus cellulolyticus* E1-synergism with *Trichoderma reesei* CBH I and comparison to *Thermomonospora fusca* E(5). Applied Biochemistry and Biotechnology. 45-6: 245-256.

49)-Wyk van, J. P. H.(1998) Paper hydrolysis by cellulase from *Penicillium funiculosum* and *Trichoderma viride*. Bioresource Technology. 63: 275-277.

50)-Wilson, D. B.(1993) Structure-function relationships in cellulase genes. ACS Symposium Series No. 516 Biocatalyst Design for Stability and Specificity. Himmel, ME and Georgiou G, Editors. Pag. 243-250.

51)-Linder, M.; Teeri, T. T.(1996) The cellulose-binding domain of the major cellobiohydrolase of *Trichoderma reesei* exhibits true reversibility and a high exchange rate on crystalline cellulose. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 93: 12251-12255.

52)-Hoshino, E.; Shiroishi, M.; Amano, Y.; Nomura, M.; Kanda, T.(1997) Synergistic actions of exo-type cellulases in the hydrolysis of cellulose with different crystallinities. J. Ferment. Bioeng. 84: 300-306.

53)-Ramos, L. P.; Nazhad, M. M.; Saddler, J.N.(1993) Effect of enzymatic hydrolysis on the morphology and fine structure of pretreated cellulosic residues. Enzyme Microb. Technol. 15: 821-831.

54)-Tanaka, M.; Ikesaka, M.; Mtsuno, R.(1988) Effect of pore size in substrate and diffusion of enzyme on hydrolysis of cellulosic materials with cellulases. Biotechnology and Bioengineering. 32: 698-706.

AL

55)-Nidetzky, B.; Steiner, W.; Hayn, M.; Esterbauer, H.(1993) Enzymatic hydrolysis of wheat straw after steam pretreatment: experimental data and kinetic modelling. *Bioresource Technology*. 44: 25-32.

56)-Cho, Y. K.; Park, K.(1992) Correlating the effect of pretreatment on the enzymatic hydrolysis of straw. *Biotechnology and Bioengineering*. 39: 113-116.

57)-Rhee, Y. H., Hah, Y. C., Hong, S. W. (1987) Relative contributions of fungi and bacteria to soil carboxymethylcellulase activity. *Soil Biology and Biochemistry*. 19: 479-481.

58)-Harper, S. H. T.; Lynch, J. M.(1985) Colonization and decomposition of straw by fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 85: 655-661.

59)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Papa, J. C.(1993) Efecto de la aplicación de herbicidas sobre el número y la frecuencia de cepas fúngicas celulolíticas y queratinolíticas de suelos cultivables. *Boletín Micológico*. 8: 19-25.

60)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Papa, J. C.; Cuesta, C.; Passamonti, M. E.(1994) Efecto de herbicidas para el control de malezas en cultivo de trigo, sobre la micota total del suelo. *RIA*. 25: 83-94.

61)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; D'Anna, M. L.(1993) Micota celulolítica de suelos con cultivo de trigo y tratamiento herbicida. *Boletín Micológico* 8: 61-65.

62)-Alvarez, D. P.; Rossi, G.S.(1993) Producción de celulasas por cepas de *Aspergillus niger* y *Trichoderma harzianum* aisladas de suelos tratados con fluroxypyr. Estudio preliminar I. *Boletín Micológico* 8: 71-75.

63)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Papa, J. C.; Gamberale, M. E.(1991) Aislamiento de la micota total, celulolítica y queratinolítica de suelos cultivables, con abonos verdes y fertilizantes. *Ciencia del Suelo*. 9: 63-67.

64)-Lehninger, A. L.(1978) Bioquímica. Segunda edición. Ediciones Omega, S. A. Barcelona. Pag. 128-129.

65)-Takiuchi, I. ; Higuchi, D.; Sei, Y.; Koga, M.(1982) Isolation of an extracellular proteinase (keratinase) from *Microsporium canis*. Sabouraudia. 20: 281-288.

66)-Asahi, M.; Lindquist, R.; Fukuyama, K.; Apocada, G.; Epstein, W. L.; McKerrow, J. H.(1985) Purification and characterization of major extracellular proteinases from *Trichophyton rubrum*. Biochem. J. 232: 139-144.

67)-Yu, R. J.; Harmon, S. R.; Grappel, S. F.; Blank, F.(1971) Two cell-bound keratinases of *Trichophyton mentagrophytes*. The Journal of Investigative Dermatology. 56: 27-32.

68)-Onifade, A. A.; Al-Sana, N. A.; Al-Musallam, A. A.; Al-Zarban, S.(1998) A review: potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. Bioresource Technology. 66: 1-11.

69)-Kunert, J.(1992) Effect of reducing agents on proteolytic and keratinolytic activity of enzymes of *Microsporium gypseum*. Mycoses. 35: 343-348.

70)-Bockle, B.; Muller, R.(1997) Reduction of disulfide bonds by *Streptomyces pactum* during growth on chicken feathers. Appl. Environ. Microbiol. 63: 790-792.

71)-Kunert, J.(1976) Keratin decomposition by dermatophytes. II Presence of S-sulfoysteine and cysteic acid in soluble decomposition products. Zeitschrift für Allg. Mikrobiologie. 16: 97-105.

72)-Kunert, J.(1981) Inorganic sulphur sources for the growth of the dermatophyte *Microsporium gypseum*. Folia Microbiol. 26: 196-200.

ALP

73)-Kunert, J.(1975) Formation of sulphate, sulphite and S-sulphocysteine by the fungus *Microsporium gypseum* during growth on cystine. Folia Microbiol. 20: 142-151.

74)-Rajak, R. C.; Parwekar, S.; Malviya, H.; Hasija, S. K.(1991) Keratin degradation by fungi isolated from the grounds of a gelatin factory in Jabalpur, India. Mycopathologia. 114: 83-87.

75)-Wawrzekiewicz, K.; Wolski, T.; Lobarzewski, J.(1991) Screening the keratinolytic activity of dermatophytes in vitro. Mycopathologia. 114: 1-8.

76)-Malviya, H. K.; Rajak, R. C.; Hasija, S. K.(1992) Synthesis and regulation of extracellular keratinase in 3 fungi isolated from the grounds of a gelatin factory, Jabalpur, India. Mycopathologia. 120: 1-4.

77)-Meevootisom, V.; Niederpruem, D. J.(1979) Control of exocellular proteases in dermatophytes and especially *Trichophyton rubrum*. Sabouraudia. 17: 91-106.

78) Singh, C. J.(1997) Characterization of an extracellular keratinase of a *Trichophyton simii* and its role in keratin degradation. Mycopathologia. 137: 13-16.

79)-Siesenop, U.; Bohm, K. H.(1995) Comparative studies on keratinase production of *Trichophyton mentagrophytes* strains of animal origin. Mycoses. 388: 205-209.

80)-Vabreuseghem, R.(1952) Technique biologique pour l'isolement des dermatophytes du sol. Ann. Soc. Belge Med. Trop. 332: 173-178.

81)-Wright, J. E.(1973) El suelo: fuente de hongos potencialmente patógenos. Bioquímica Clínica. 7: 75-80.

82)-Simpanya, M. F.; Baxter, M.(1996) Isolation of fungi from soil using the keratin-baiting technique. Mycopathologia. 136: 85-89.

83)-Marchisio, V. F.; Curetti, D.; Cassinelli, C.; Bordese, C.(1991) Keratinolytic and keratinophilic fungi in the soils of Papua-New-Guinea. Mycopathologia. 115: 113-119.

84)-Soon, S. H. T.(1991) Isolation of keratinophilic fungi from soil in Malaysia. Mycopathologia. 113: 155-158.

85)-Elsaid, A. H. M.(1994) Keratinophilic fungi in soils of Yemen Arab Republic. Journal of Basic Microbiology. 34: 311-315.

86)-Bracalenti, B. J., Alvarez, D. P.; Colella, M. G.(1975) Ecología de los dermatofitos. I Correlación entre dermatofitias y hongos queratinofilicos de suelos de Rosario. Sabouraudia. 13: 255-262.

87)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Bracalenti, B. C. de.(1986) La influencia de factores ecológicos en el aislamiento de dermatofitos y queratinolíticos geofilicos. Rev. Lat-amer. Microbiol. 28: 351-354

88)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Marini, P.(1986) Influencia del sustrato queratinoso de suelos de pradera sobre la colonización por dermatofitos geofilicos. Boletín Micológico. 3: 25-29.

89)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Marini, P.(1986) Influencia de herbicidas sobre la micota queratinolítica de los suelos. Boletín Micológico. 3: 81-85.

90)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Marini, P.; Gamberale, M. E.(1988) Queratinolisis por *Microsporium fulvum* (Uriburu). Boletín Micológico. 3: 253-257.

91)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Marini, P.; Gamberale, M. E.(1988) Influencia de herbicidas preemergentes sobre el desarrollo de dermatofitos geofilicos en suelos agrícolas. Boletín Micológico. 3: 275-281.

92)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.; Gamberale, M. E.(1990) Resistencia de cepas de *Microsporium fulvum* a herbicidas preemergentes. Ciencia del Suelo. 8: 25-29.

93)-Alvarez, D. P.; Luque, A. G.(1990) Patogenicidad de cepas de *Microsporium fulvum*, aisladas de suelos tratados con herbicidas. Rev. Microbiol. , São Paulo. 21: 282-286.

94)-Smith, N. R.; Dawson, V. T. (1944) The bacteriostatic action of rose de bengala in media used for the plate count of soil fungi. Soil Sci. 58: 467-471.

95)-Eggins, H. Q. W.; Pugh, G. F.(1962) Isolation of cellulose decomposing fungi from the soil. Nature. 193: 94-95.

96)-Domsch, K. H.(1980) Compendium of soil fungi. Vol. 1. Academic Press. London. Pag. 16-29, 73-75, 165-183, 305-377, 427, 461-487, 703-709, 724-741, 828-845.

97)-Raper, K. B.; Fennell, D. I. (1965) The genus *Aspergillus*. Williams and Wilkins Co: Baltimore. Pag. 129-146, 238-344, 357-404, 491-577.

98)-Booth, C.(1971) The genus *Fusarium*.Commonwealth Micological Institute, Kew England. Pag. 5-57.

99)-Rifai, M. A.(1969) A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Papers. 116: 1-56.

100)-Van Orschot, C. A. N.(1980) A revision of *Chrysosporium* and allied genera. Studies in Mycology. N 20. Pag. 8-56.

101)-Hoog, G.S.; Guarro, J.(1995) Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures (The Netherlands)/ Universitat Rovira i Virgili (Spain). Pag. 118, 342-343.

102)-Gasoni, L.; Rimolo, M. (1983) Evolución de la micoflora en campos anegables de la pampa deprimida. Ciencia del Suelo. 1: 97-103.

103)-Sokal y Rohlf. (1981) Biometry. Freeman and Company. Pag. 421-423.

AL

- 104)-Shannon, E. (1948) A mathematical theory of communication. Bell System Technology Journal. 27: 379-423.
- 105)-Bisby, G. R.; James, N.; Timonin, M. J. (1933) Fungi isolated from Manitoba soils by the plate method. Can. J. Research. 8: 252-275.
- 106)-James, N.; Sutherland, M. (1939) The accuracy of plating method for estimating the numbers of bacteria and fungi from one dilution and from aliquot of laboratory sample of soil. Can. J. Research. 17: 97-108.
- 107)-Javis, B.; Seiler, D.; Ould, A.; Williams, A. P. (1983) Observations on the enumeration of moulds in food and feedingstuffs. J. Appl. Bacteriol. 55: 325-336.
- 108)-Williams, S. T.; Parkinson, D.; Burges, N. A. (1965) An examination of the soil washing technique by its application to several soils. Plant and Soil. 22: 167-186.
- 109)-Hering, T. F. (1966) An automatic soil-washing apparatus for fungal isolation. Plant and Soil. 25: 195-200.
- 110)-Godeas, A. M. (1983) Estudios cuali y cuantitativos de los hongos del suelo del bosque de Nothofagus Dombeyi. Ciencia del Suelo. 1: 21-31.
- 111)-Bissett, J. (1984) A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section Longibrachiatum sect. nov. Can. J. Bot. 62: 924-931.
- 112)-Bissett, J. (1991) A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Can. J. Bot. 69: 2357-2372.
- 113)-Bissett, J. (1991) A revision of the genus *Trichoderma*. II. Section Pachybasidium. Can. J. Bot. 69: 2373-2417.
- 114)-Bissett, J. (1992) *Trichoderma atroviride*. Can. J. Bot. 70: 639-641.
- 115)-Pitt, J. I. (1979) The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press Inc. London. Pag. 16-46, 154-464.

116)-Ellis, M. B.(1971) Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. Pag. 452-457, 464-466.

117)-Jackson, M. L.(1964) Análisis químico de suelos. Editorial Omega. Barcelona. Pag. 300-303.

118)-Magnelli, P. E.; Martinez, A.; Mercuri, O. A.(1997) Método simple para determinar actividad celulolítica en hongos. Revista Argentina de Microbiología. 29: 210-214.

119)-Theodorou, M. K.; Basin, M. J.; Trinci, A. P. J.(1980) Cellulose degradation in a structured ecosystem which in analogous to soil. Trans. Br. Mycol. Soc. 75: 445-450.

120)-Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.

121)-Nelson, N.(1944) A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 153: 375-380.

122)-Somogyi, M.(1952) Notes on sugar determination. J. Biol. Chem. 195: 19-23.

123)-Haynes, R. J.; Naidu, R. (1998) Infuence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions. A review. Nutrient Cycling in Agroecosystems. 51: 123-137.

124)-Alvarez, R.; Russo, M. E.; Prystupa, P.; Scheiner, J. D.; Blotta, L. (1988) Soil carbon pools under conventional and no-tillage systems in the argentine rolling pampa. Agronomy Journal. 90: 138-143.

125)-Liang, B. C.; MacKenzie (1992) Changes in soil organic carbon and nitrogen after six years of corn production. Soil Sci. 153: 307-313.

AL

126)-Salinas-Garcia, J. R.; Hons, F. M.; Matocha, J. E. (1997) Long-term effects of tillage and fertilization on soil organic matter dynamics. *Soil Sci Soc Am J.* 61: 152-159.

127)-Staricka, J. A.; Allmaras, R. R.; Nelson, W. W. (1991) Spatial variation of crop residue incorporated by Tillage. *Soil Science Society of America Journal.* 55: 1668-1674.

128)-Vyn, T. J.; Opoku, G.; Swanton, C. J. (1998) Residue management and minimum tillage systems for soybean following wheat. *Agronomy Journal.* 90: 131-138.

129)-Alvarez, R.; Díaz, R. A.; Barbero, N.; Santanatoglia, O. J.; Blotta, L. (1995) Soil organic carbon, microbial biomass and CO₂-C production from three tillage systems. *Soil & Tillage Research.* 33: 17-28.

130)-States, J. (1981) Useful criteria in the description of fungal communities. In Wicklow, D. T.; Carroll, G. *The fungal community, its organization and role in the ecosystem.* Marcel Dekker, Inc. New York and Bassel. Pag. 192-193.

131)-Pandey, A.; Shende, S. T. (1994) Comparative studies on microbial activity in *Azotobacter chroococcum* inoculated wheat (*Triticum aestivum*) rhizosphere by plate count and manometric methods. *Microbiological Research.* 149: 379-384.

132)-Beare, M. H.; Pohlad, B. R.; Wright, D. H.; Coleman, D. C. (1993) Residue placement and fungicide effects on fungal communities in conventional and no-tillage soils. *Soil Sci Soc Am J.* 57: 392-399.

133)-Deng, S.P.; Tabatabai, M. A. (1996) Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. I. Amidohydrolases. *Biol Fertil Soils.* 22: 202-207.

AL

134)-Deng, S.P.; Tabatabai, M. A. (1996) Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. II.Glycosidases. Biol Fertil Soils. 22: 208-213.

135)-Deng, S.P.; Tabatabai, M. A. (1997) Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. III.Phosphatases and arylsulfatase. Biol Fertil Soils. 24: 141-146.

136)-Christensen, M. (1989) Aview of fungal ecology. Mycologia. 81: 1-19.

137)-Kandeler, E.; Bohm, K. E. (1996) Temporal dynamics of microbial biomass, xylanase activity, N-mineralisation and potential nitrification in different tillage systems. Applied Soil Ecology. 4: 181-191.

138)-Ronn, R.; Griffiths, B.; Ekelund, F.; Christensen, S. (1996) Spatial distribution and successional pattern of microbial activity and micro-faunal populations on decomposing barley roots. Journal of Applied Ecology. 33: 662-672.

139)-Harper, S. H.; Lynch, J. M. (1984) Nitrogen fixation by cellulolytic communities at aerobic-anaerobic interfaces in straw. Journal of Applied Bacteriology. 57: 131-137.

140)-Jeschke, N.; Nelson, P. E.; Marasas, W. F. O. (1990) *Fusarium* species isolated from soil samples collected at different altitudes in the Transkei, Southen Africa. Mycologia. 82: 727-733.

141)-Pugh, G. J. F. (1980) Strategies in fungal ecology. Transactions of the British Mycological Society. 75: 1-14.

142)-Söderström, B. E.; Erland, S. (1986) Isolation of fluorescein diacetate stained hyphae from soil by micromanipulation. Transactions of the British Mycological Society. 86: 465-468.

AL

143)-Alvarez, R.; Santanatoglia, O.; García, R. (1996) Plant and microbial contribution to soil respiration under zero and disk tillage. *European Journal of Soil Biology*. 32: 173-177.

144)-Alvarez, R.; Santanatoglia, O. J.; Daniel, P. E.; García, R. (1995) Respiration and specific activity of soil microbial biomass under conventional and reduced tillage. *Pesq. Agropec. Bras.* 30: 701-709.

145)-Schoenau, J. J.; Campbell, C. A. (1996) Impact of crop residues on nutrient availability in conservation tillage systems. *Canadian Journal of Plant Science*. 76: 621-626.

146)-Tanaka, D. L.; Anderson, R. L. (1997) Soil water storage and precipitation storage efficiency of conservation tillage systems. *Journal of Soil and Water Conservation*. 52: 363-367.

147)-Sheptukhov, V. N.; Nesterova, A. V.; Konovalov, S. N.; Skvortsova, E. B. (1997) The effect of different tillage systems on the water regime, structure, and hydrophysical properties of soddy-podzolic soils. *Eurasian Soil Science*. 30: 311-317.

148)-McConkey, B. G.; Campbell, C. A.; Zentner, R. P.; Dyck, F. B.; Selles, F. (1996) Long-term tillage effects on spring wheat production on three soil textures in the brown soil zone. *Canadian Journal of Plant Science*. 76:747-756.

149)-Havlin, J. L.; Kissel, D. E.; Maddux, L. D.; Claassen, M. M.; Long, J. H. (1990) Crop rotation and tillage effects on soil organic carbon and nitrogen. *Soil Sci Soc Am J.* 54: 448-452.

150)-Angers, D. A.; Bolinder, M. A.; Carter, M. R.; Gregorich, E.G., Drury, C.F.; Liang, B. C.; Voroney, R. P.; Simard, R. R.; Donald, R.G.; Beyaert, R. P.; Martel, J. (1997) Impact of tillage practices on organic carbon and nitrogen storage in cool, humid soils of eastern Canada. *Soil & Tillage Research*. 44: 191-201.

Ad

151)-Borin, M.; Menini, C.; Sartori, L. (1997) Effects of tillage systems on energy and carbon balance in north-eastern Italy. *Soil & Tillage Research*. 40: 209-226.

152)-Holland, E. A.; Coleman, D. C. (1987) Litter placement effects on microbial and organic matter dynamics in an agroecosystem. *Ecology*. 68: 425-433.

153)-Lal, R. (1998) Soil quality changes under continuous cropping for seventeen seasons of an alfisol in western Nigeria. *Land Degradation & Development*. 9: 259-274.

154)-Conyers, M. K.; Heenan, D. P.; Poile, G. J.; Cullis, B. R.; Helyar, K. R. (1996) Influence of dryland agricultural management practices on the acidification of a soil profile. *Soil & Tillage Research*. 37: 127-141.

155)-Staben, M. L.; Bezdicek, D. F.; Smith, J. L.; Fauci, M. F. (1997) Assessment of quality in conservation reverse program and wheat-fallow soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 124-130.

156)-Lynch, J. M.; Hrper, H. T. (1985) The microbial upgrading of straw for agricultural use. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 310: 221-226.

157)-Mandels, M.; Andreotti, R. E. (1978) Problems and challenges in the cellulose to cellulase fermentation. *Process Biochemistry*. 13: 6-13.

158)-Lockwood, J. L. (1981) Exploitation competition. In Wicklow, D. T.; Carroll, G. The fungal community, its organization and role in the ecosystem. Marcel Dekker, Inc. New York and Bassel. Pag. 332-367.

159)-Park, D. (1968) The ecology of terrestrial fungi. In *The fungi*. Vol. III: The fungal population. Ainsworth, G. C., Sussman, A. S. Academic Press Inc. New York. Pag. 9-13.

160)-Tribe, H. T. (1966) Interactions of soil fungi on cellulose films. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 49: 457-466.

AP

161)-Davet, P. (1976) Etude de quelques interactions entre les champignons associés a la maladie des racimes liégeuses de la tomate. I. Phase non parasitaire. Ann. Phytopatol. 8: 171-183.

162)-Halsall, D. M. (1993) Inoculation of wheat straw to enhance lignocellulose breakdown and associated nitrogenase activity. Soil Biol. Biochem. 25: 419-429.

163)-Lockwood, J. L. (1986) Soilborne plant pathogens: Concepts and connections. Phytopathology. 76: 20-27.

164)- Pioli, R; Luque, A.; Gómez, E.; Sianca, R.; Toresani, S.; Salas, J.; Borghi, A. (1998) Evaluación de microorganismos celulolíticos aislados del rastrojo de trigo, como potenciales antagonistas de hongos patógenos. Primer Congreso Argentino de Control Biológico de enfermedades de plantas. Buenos Aires 6 de octubre.

AL