

EFECTO DE LAS PRACTICAS AGRICOLAS SOBRE LA MICROFLORA DEL SUELO: OPORTUNIDADES EN LA FITOPROTECCION

Carlos Ramírez

EEFBM y CIPROC, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica

1. RESUMEN

La actividad de los microorganismos es pertinente a la agricultura en la medida que afectan factores relevantes del suelo tales como su estructura, la disponibilidad de nutrientes, la degradación de los residuos orgánicos frescos, el circulamiento de nutrientes, la disponibilidad de los nutrientes a nivel de rizósfera, la formación y degradación de humus y la actividad supresiva de la microflora sobre la sobrevivencia y actividad de propágulos de patógenos o plagas. Las prácticas de manejo afectan la actividad de los microorganismos de una manera directa al alterar parámetros fisicoquímicos tales como la temperatura del suelo, la humedad, la aireación, el estado de oxidoreducción, el contenido y composición de los gases del espacio poroso, la accesibilidad a los sustratos, el pH. Los anteriores factores afectan también el crecimiento de las plantas, e indirectamente la actividad microbiana al variar el aporte de la materia orgánica a través de la cantidad y calidad de los residuos que ingresan al suelo, su disponibilidad para la degradación microbiana y a los efectos rizosféricos. Se analiza el marco general de los efectos anteriores sobre la microflora del suelo así como ejemplos específicos de intervenciones de manejo que optimizan procesos microbianos. Se apuntan a su vez oportunidades de investigación y aplicaciones en esta línea.

2. INTRODUCCION

El suelo es el nicho ecológico más complejo disponible para los microorganismos (Marshall, 1976). Es en la trama del suelo donde se presentan oportunidades de interacción entre el componente mineral sólido; arena, limo y arcillas, minerales en solución, sustratos orgánicos, enzimas, partículas orgánicas coloidales, las raíces y los microorganismos. La estructura del suelo ofrece oportunidades a la actividad de los microorganismos tales como interfases sólido-líquido, sólido-gas y líquido-gas. Estas interfases definen una gama amplia de micronichos en el suelo. La actividad de los microorganismos en el suelo se ha de concebir con la presencia simultánea y variable, tanto en el espacio como en el tiempo de diversos micronichos. De esta manera, se explica la ocurrencia

concomitante de procesos mutuamente excluyentes, en teoría, tales como la nitrificación- que requiere de condiciones aeróbicas y la desnitrificación -que requiere condiciones anaeróbicas. En este ejemplo habría que concebir la existencia de microagregados anaeróbicos en una trama de macroporos esencialmente aireados, así entre otras razones, la limitada difusión de gases al interior del agregado ya sea por el tamaño de los microporos o/ condiciones de saturación de agua, la presencia de sustratos con una demanda bioquímica de oxígeno alta, en la superficie del agregado estimularían la actividad microbiana, consecuentemente la pO_2 disminuye *in situ* y se crean condiciones de anaerobiosis.

La gran cantidad de micronichos disponibles en relativamente pequeños volúmenes de suelo impone una serie limitante a los estudios autoecológicos de los microorganismos de suelo (Dommergues *et al.*, 1978). Hay que hacer énfasis que la mayoría de los estudios con microorganismos del suelo se han hecho *in vitro* o en condiciones de invernadero. Estos resultados aportan información parcial sobre el potencial beneficio de los microorganismos en cuestión. Así bacterias que muestran antagonismos contra patógenos de suelo o rizobia con enorme potencial fijador en asocio con leguminosas fijadoras de nitrógeno, fracasan cuando se introducen a los ecosistemas agrícolas debido al poder homeostático de las condiciones físico-químicas junto con la microflora nativa del suelo. De ahí que exista un enorme interés en identificar aquellas condiciones limitantes que le permitan prosperar a las microorganismos introducidos con el fin de obtener resultados tan prometedores como los observados bajo condiciones menos selectivas.

El reto de modificar las actividades benéficas de microorganismos deseables en el suelo parecería insuperable a no ser por la evidencia existente de prácticas que pueden alcanzar este cometido. El objetivo de la presente exposición no es hacer un inventario de prácticas de manejo que pueden influir sobre los microorganismos del suelo en general, sino más bien de señalar, a manera de ejemplo, utilización de enmiendas con abonos orgánicos como estrategia viable para mejorar la nutrición de los cultivos y el combate de patógenos de suelo, las estrategias para

mejorar su uso y algunas metodologías novedosas para mejorar el éxito de introducir en abonos maduros bacterias seleccionadas para asegurar su supresividad (Cook y Baker, 1983).

La actividad microbiana del suelo es limitada por los sustratos orgánicos (Dommergues *et al.*, 1978); así mismo el deterioro de la fertilidad de los suelos se asocia a la disminución de los niveles de materia orgánica. Aumentar el aporte de materia orgánica a los suelos es oportuno para aumentar el suministro de nutrientes, acondicionar el suelo y para inducir supresividad. A continuación se hace una breve descripción del papel de los abonos orgánicos, las oportunidades de su mejoramiento y uso como fuente de nutrientes y para el control de nematodos fitoparásitos y *Fusarium*.

3. CALIDAD DE LOS ABONOS ORGANICOS

El aumento de la producción agrícola obtenida mediante la fertilización con abonos orgánicos se explica por la interacción de varios factores. Entre ellos, los abonos orgánicos mejoran la estructura y previenen la erosión del suelo, aumentan la retención de agua y ayudan a prevenir el estrés hídrico en las plantas. Además actúan como fertilizante al liberar lentamente nutrientes, aportan cargas eléctricas, y, por lo tanto, almacenan nutrientes en forma disponible para las plantas. Finalmente actúan como activadores de microflora la cual controla enfermedades del suelo y, adicionalmente, entregan a las plantas nitrógeno del aire y formas insolubles de fósforo y potasio de las reservas del suelo (Vandevivere y Ramírez, 1995a).

La polémica sobre la calidad de los abonos orgánicos y su valor fertilizante se origina en su gran variabilidad (Vandevivere y Ramírez, 1996a). Por esto se necesitan análisis cuantitativos para poder estimar la calidad de cada abono, lo cual serviría no solo para compararlos sino también para guiar su uso en el campo y hasta para fijar su precio de venta (Vandevivere y Ramírez, 1995a). Ya se ha desarrollado una metodología rápida que permite evaluar la calidad nutricional de los abonos orgánicos (Vandevivere y Ramírez 1995b). Es ahora necesario afinar la técnica y validarla con experimentos de campo. De esta manera se podrían dar recomendaciones cuantitativas de abonamiento con base a este análisis.

La tecnología del compostaje (Haug, 1980, Rynk, 1993) apunta a obtener la mayor degradación de los residuos que vaya acompañada de la máxima reducción del volumen de los materiales frescos en descomposición, sin atención a la calidad del abono orgánico resultante. Esto causa una

limitante sería en su utilización por los agricultores que no pueden arriesgar sus cultivos con base a recomendaciones no cuantitativas y repetibles. De ahí que se debe investigar cómo optimizar la calidad, lo cual se puede lograr: a) minimizando las pérdidas de N durante el compostaje, b) maximizando la capacidad de intercambio catiónico, c) maximizando el N-orgánico de lenta liberación, d) maximizando el efecto estimulante sobre la microflora, e) maximizando el efecto supresivo sobre enfermedades.

Por limitaciones de espacio se deja para la charla el mencionar algunas alternativas a probar en este sentido.

4. PODER SUPRESIVO DE LOS ABONOS ORGANICOS

El punto de partida del control biológico de patógenos cuya vía de infección es la raíz, constituye la obtención de un abono de alta calidad que no solo aporte nutrientes a las plantas sino que además, permita la colonización de microorganismos supresivos y mantenga una actividad que posibilite el control de las enfermedades.

Es bien conocido la enorme capacidad saprofítica del hongo *Fusarium* (Walker, 1969), que le permite colonizar con facilidad los suelos bajos en materia orgánica o en camas de crisantemos que hayan sufrido tratamientos drásticos, por ejemplo, los cuales crean un vacío ecológico que es aprovechado por el hongo para recolonizar rápidamente y producir daño (Marois y Mitchell, 1981ab; Marois *et al.*, 1983).

Una alternativa (Locke *et al.*, 1985) a estos tratamientos es la introducción de tácticas que mantengan una mayor diversidad y actividad microbianas en las camas y que mediante mecanismos de competencia y antagonismo prevengan su recolonización por el hongo. El uso de abonos orgánicos usualmente supresivos (Hoitink *et al.* 1991) puede lograr este propósito con éxito. Desgraciadamente durante el compostaje termofílico - se alcanzan temperaturas hasta de 65 °C por varios días (Haug, 1980)- se eliminan no solamente los propágulos de patógenos sino también los propágulos de microorganismos potencialmente benéficos. De ahí que la supresividad del abono orgánico en su fase posttermofílica va a depender de la recolonización de microorganismos benéficos, provenientes de las vecindades de la pila de compost, durante la maduración de este, de ahí que la supresividad pueda variar de bache a bache de abono orgánico (Hoitink *et al.*, 1991). Sin embargo, si se desea la supresividad es necesario inocular los abonos orgánicos con organismos especialmente supresivos.

5. ESTRATEGIAS PARA ASEGURAR SUPRESIVIDAD EN EL CONTROL DE NEMATODOS FITOPARASITOS Y *Fusarium*

La escogencia de estos dos fitopatógenos como ejemplo de estrategias de combate con abonos supresivos no es casual. Existe un efecto sinérgico negativo para las plantas entre nematodos y los hongos patógenos del suelo de los géneros *Fusarium* y *Phytophthora* (Padilla *et al.*, 1980; Powell, 1971). El ataque de los nematodos a las raíces abren vías de entrada al hongo. De ahí que el control de nematodos puede potencialmente reducir el daño en presencia de propágulos de *Fusarium*; obviamente el efecto supresivo en un abono orgánico sobre ambos patógenos podría tener un efecto sinérgico positivo.

Existe evidencia de que la presencia de organismos quitinolíticos (Cherif y Benhamou, 1990, Inbar y Chet, 1991) pueden controlar a *Fusarium*. Adicionalmente, la alta actividad quitinolítica se puede obtener añadiendo quitina que enriquecería el número de organismos quitinolíticos (Mitchell y Alexander, 1962).

Algunas investigaciones han demostrado que la quitina, polímero que conforma el exoesqueleto de los insectos y crustáceos, o algunos de sus derivados son también detrimentales para nematodos fitoparásitos como *Tylenchorhynchus dubius*, *Pratylenchus penetrans*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Heterodera glycines*, *H. schachtii*, *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* y *M. javanica* (Mian *et al.*, 1982). La adición de quitina al suelo estimula la actividad microbiana y enriquece en número a aquellos microorganismos capaces de degradar el polímero y parasitar los huevos de los nematodos fitoparásitos; en apariencia, hay una correlación entre la actividad quitinolítica de ciertos microorganismos y la habilidad de parasitar los huevos. Esta hipótesis fue luego comprobada por Spiegel *et al.*, (1987).

Algunos autores han evaluado el efecto nematicida de la quitina, para lo que han usado directamente caparazones de crustáceos (Rich y Hodge, 1993; Mian *et al.*, 1982), mientras que otros han usado el Clandosan, un producto constituido por una mezcla de quitina proveniente de caparazones de crustáceos y proteína (Rodríguez *et al.*, 1990; Spiegel *et al.*, 1987; Spiegel *et al.*, 1989).

En nuestro medio es necesario establecer el uso de la quitina estudiando los aspectos básicos tales como dosis y frecuencia de aplicación, descomposición y efectos residuales, duración del efecto benéfico, la sensibilidad de varias especies de nematodos importantes, caracterización

de la microflora desarrollada en respuesta a la aplicación de quitina, la inoculación del compost con bacterias quitinolíticas y su sobrevivencia y efectividad bajo condiciones de campo y eventualmente la modificación genética de cepas con valor adaptativo.

En una primera fase ha de aislarse bacterias que además de mostrar actividad quitinolítica muestren antagonismo contra *Fusarium* y/o nematodos. El aislamiento de estas bacterias, ya sea de suelo o compost enmendado con quitina deben de marcarse con factores selectivos, usualmente resistencia a la Rifampicina y/o ácido nalidíxico ligados al cromosoma bacteriano y marcaje con el trasposon Tn5 que contenga dos marcadores seleccionables en el cromosoma. Esta última alternativa ofrecería la posibilidad de utilizar hibridación de colonias como herramienta para reconocer una bacteria específica en la naturaleza (Smalla *et al.*, 1993, Van Elsas *et al.*, 1994). Ambos marcadores han mostrado ser excelentes en muchos suelos (Smit y Van Elsas, 1992, Smit *et al.*, 1996).

La idea de este marcaje es evaluar tanto en compost como en suelo la sobrevivencia de las bacterias y eventualmente permitiría evaluar su capacidad colonizadora de la rizósfera. Se deben seleccionar cepas que muestren competitividad ecológica, es decir que sean capaces de multiplicarse en número suficiente para lograr un control efectivo de los patógenos. Cabe enfatizar que la sola presencia de actividades antagonistas bajo condiciones no competitivas no garantiza de ninguna manera su efectividad bajo condiciones de campo.

Para la selección de los antagonistas de suelo de la naturaleza existen protocolos generales establecidos (Renwick y Powell, 1990). La supresividad de los abonos orgánicos se podría asegurar si existe colonización exitosa de los antagonistas en abonos orgánicos que recién hayan pasado por la etapa termofílica y que estén en el proceso de maduración (Hoitink *et al.*, 1991).

Por otro lado, ya no se debe uno limitar a aquellas bacterias aisladas de la naturaleza. Mediante manipulaciones génicas relativamente sencillas es posible movilizar genes entre microorganismos de diferentes especies, con el fin de conjuntar en un sólo microorganismo combinaciones de características deseables no encontradas en la naturaleza (Van Elsas *et al.*, 1994). Por ejemplo es posible aislar una bacteria que es excelente colonizadora de raíces de plantas, característica deseable para combatir a los hongos y nematodos que infectan vía raíz, que no tenga actividad quitinolítica. Por métodos de clonaje genético, es posible introducirle la característica de degradar la quitina de otra bacteria con características quitinolíticas ideales.

5. BIBLIOGRAFIA

- CHERIF, M. Y BENHAMOU, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp on *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicos-lycopersici*. *Phytopathology* 80:1406-1414
- COOK, R.J. Y BAKER K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *Amer. Phytopathol. Soc; Saint Paul, Mn.* 539p.
- DOMMARGUES, Y. R, BELSER, L. W, Y SCHMIDT, E. L. 1978. Limiting factors for microbial growth and activity in soil. *Advances in Microbial Ecology* 2:49-104.
- HAUG, R.T. 1980. *Compost engineering, principles and practices.* Technomic Publishing, Co, Lancaster. 655 p.
- HOITINK, H. A. J; IMBAR Y.; Y BOEHM M. J. 1991. Status of compost-amended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops. *Plant Disease* 75:869-873.
- INBAR J, Y CHET, I. 1991. Evidence that chitinase produced *Aeromonas caviae* is involved in the biological control of soilborne plant pathogens by this bacterium. *Soil Biol. Biochem.* 23:973-978.
- LOCKE, J. C; MAROIS J. J. Y PAPAVIDAS G. C. 1985. Biological control of fusarium wilt in greenhouse chrysanthemums. *Plant Disease* 69:167-169.
- MARSHALL, K. C. 1976. *Interfaces in microbial ecology.* Harvard University Press, Cambridge, 156 p.
- MAROIS, J. J. Y MITCHELL D. J. 1981a. Effects of fumigation and antagonistic soil fungi on the relationships of inoculum density to infection and disease severity in *Fusarium* crown rot of tomato. *Phytopathology* 71:167-170.
- MAROIS, J. J. Y MITCHELL D. J. 1981b. Effects of fungal communities on the pathogenic and saprophytic activities of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 71:1251-1256.
- MAROIS, J. J; DUNN M. T Y PAPAVIDAS G. C. 1983. Reinvasion of fumigated soil by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Phytopathology* 73:680-684.
- MIAN, I.H.; GODOY, G.; SHELBY, R.A.; RODRIGUEZ, R.; MORGAN-JONES, G.. 1982. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica* 12: 71-84.
- MITCHELL, R. Y ALEXANDER M. 1962. Microbiological processes associated with the use chitin for biological control. *Proc. Soil Sci. Soc. Amer.* 26:556-558.
- PADILLA, C; LOPEZ, R.; Y VARGAS. E. 1980. Interacción entre *Meloidogyne spp* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* en arvejas. *Agronomía Costarricense* 4:55-60.
- POWELL, N. T. 1971. Interaction of plant parasitic nematodes with other disease-causing agents, pp. 119-136. In. B. M. Zuckerman, W. F. Mai and R. A. Roehde (ed.). *Plant Parasitic Nematodes.* Academic Press, New York.
- RENWICK, A. Y POWELL, K. 1990. Biological control of soil-borne plant pathogens. *Brighton Crop Protection Conference -pests and diseases-*. 1990. p. 227-231.
- RICH, J.R.; HODGE, C.H.. 1993. Utilization of blue crab scrap compost to suppress *Meloidogyne javanica* on tomato. *Nematropica* 23: 1-5.
- RODRIGUEZ-KABANA, R.; BOUBE, D.; YOUNG, R.W. 1990. Chitinous materials from blue crab for control of root-knot nematode. II. Effects of soybean meal. *Nematropica* 20: 153-168.
- RYNK, R (ed.). 1993. *On-farm Composting Handbook.* Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, N. Y. 187p.
- SMALLA, K.; CRESSWELL, N.; MENDOCA-HAGLER L. C.; WOLTERS, A. Y VANELSAS J. D. 1993. Rapid DNA extraction protocol from soil for polymerase chain reaction mediated amplification. *J. Appl. Bacteriol.* 74: 78-85.
- SMIT, a. C.; WOLTERS, A. C. ; LEE, H.; TREVORS, J. T. Y VAN ELSAS J.D. 1996. Interaction between a genetically engineered *Pseudomonas fluorescens* and bacteriophage FR2f in soil, effects of nutrients, alginate encapsulation and rhizosphere. *Microbial Ecology en prensa*
- SPIEGEL, Y.; CHET, I.; COHN, E. 1987. Use of chitin for controlling plant parasitic nematodes. II. Mode of action. *Plant and Soil* 98: 337-345.
- SPIEGEL, Y.; COHN, E.; CHET, I. 1989. Use of chitin for controlling *Heterodera avenae* and *Tylenchulus semipenetrans*. *Journal of Nematology* 21: 419-422.
- VAN ELSAS, J. D. Y SMALLA K. 1996. Methods for sampling of soil microbes. In *Manual of Environmental microbiology*, section V. Soil, Rhizosphere, Rhizoplane (in press).
- VAN ELSAS, J. D.; CLEGG, C.D.; ANDERSON, LAPIN/SCOTT, H.M.; Y WOLTERS, A.C. 1994. Fitness of genetically modified *Pseudomonas fluorescens* in competition for soil and root colonization. *FEMS Microbiol. Ecol.* 13:259/272.
- VANDEVIVERE, P. Y RAMIREZ C. 1995a. Control de calidad de abonos orgánicos por medio de bioensayos, pp. 121-139. In García, J & Nájera, J (ed.), *Memoria Simposio Centroamericano sobre Agricultura Orgánica*, 6-11 de marzo, 1995. UNED, San José.
- VANDEVIVERE, P. Y RAMIREZ, C. 1995b. Bioensayo microbiano para determinar los nutrientes disponibles en abonos orgánicos. *Boletín de Estación Fabio Baudrit Moreno* 28:90-96.
- WALKER, J. C. 1969. *Plant pathology.* Third ed. McGraw-Hill, New York. 819 p.