



BACTERIAS DEL SUELO Y SU CAPACIDAD PARA INHIBIR A HONGOS PATÓGENOS DE LAS PLANTAS

López SMY^{*1}; Medina R²; Franco MEE³ y Balatti PA^{1,3}.

1-Instituto de Fisiología Vegetal - CONICET; 2- Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales; 3- Centro de Investigaciones en Fitopatología – UNLP, La Plata.

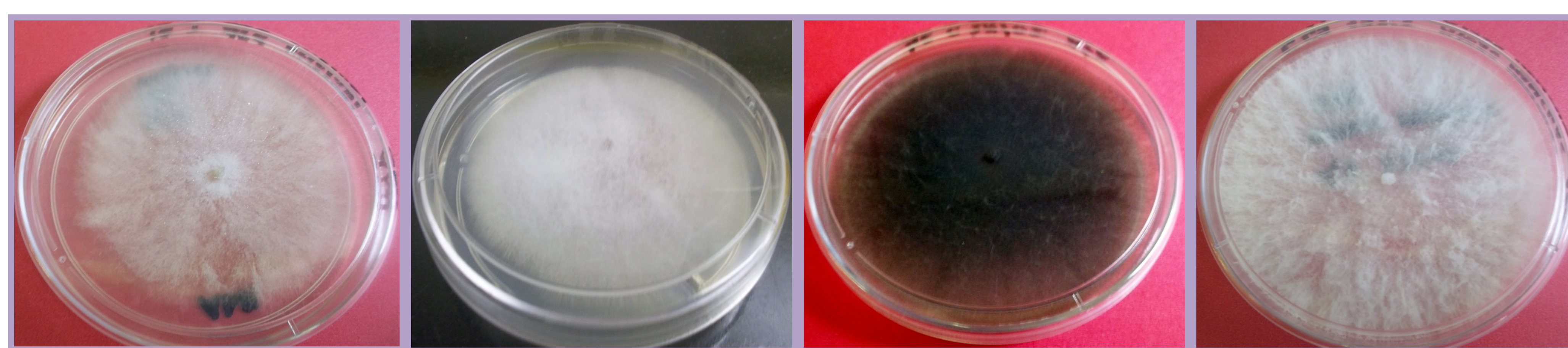
Introducción

La rizósfera, definida como el volumen del suelo próximo a la raíz, es el sitio en donde tanto la cantidad como la actividad de microorganismos es mayor [1]. Es decir, que la rizósfera es un ambiente en donde los metabolitos liberados por la planta influyen la actividad tanto de los microorganismos patógenos como benéficos afectando la sanidad y el crecimiento de las plantas.

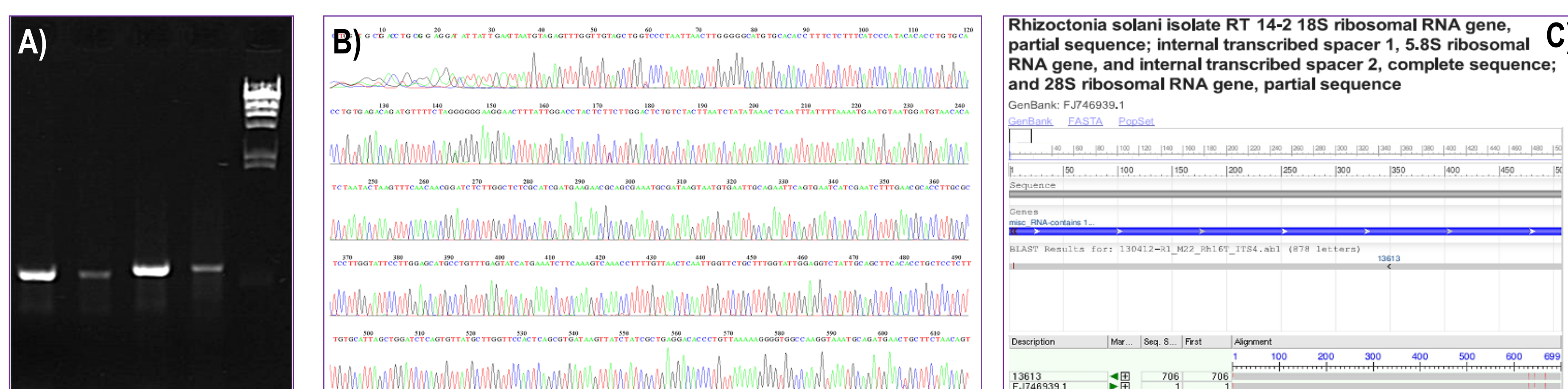
En el suelo se encuentran bacterias, especialmente de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*, que inhiben a los patógenos, sobre todo hongos, para lo cual sintetizan compuestos con actividad antifúngica. Otras especies y/o cepas bacterianas sintetizan inhibidores como por ejemplo los antibióticos [2]. Toyoda y Utsimi (1991) [3] demostraron que cepas de *Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas solanacearum* hidrolizan el ácido fusárico, que es un agente causal del marchitamiento cuando las plantas son afectadas por *Fusarium*.

Rhizoctonia solani es hongo fitopatógeno que ataca a un amplio rango de cultivos. Las semillas y las plántulas son particularmente susceptibles a este hongo, que persiste en el suelo en forma de esclerocios [4]. Si bien existen fungicidas que se utilizan para el control de *R. solani*, estos no siempre son eficientes. Adicionalmente, recientemente se ha puesto énfasis en el aislamiento de organismos del suelo que tienen potencial para el desarrollo de formulados para control biológico de organismos patógenos [5].

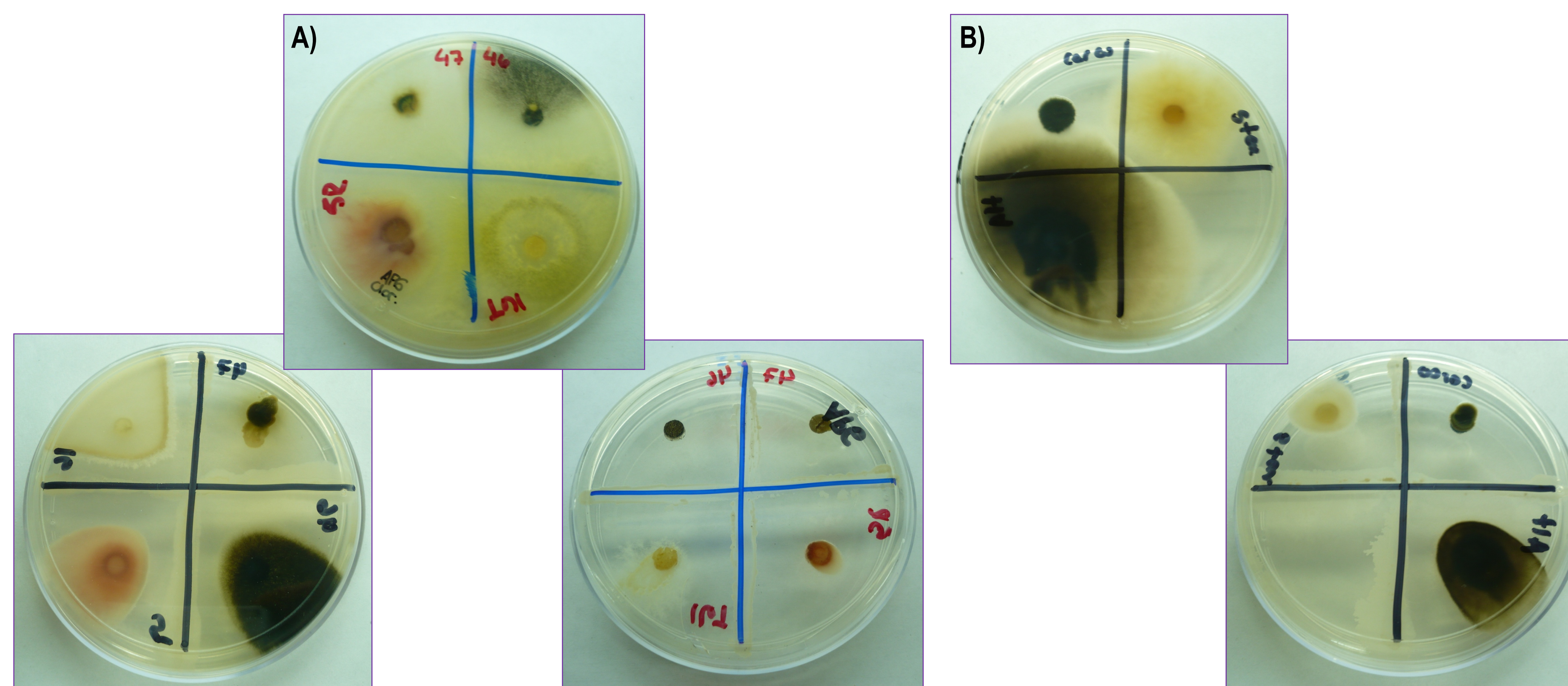
Objetivo → Analizar las interacciones entre microorganismos con capacidad antagonista sobre organismos patógenos de los cultivos.



Rhizoctonia solani *Fusarium graminearum* *Rhizoctonia bataticola* *Stenocarpella maydis*



A) Fragmento ITS amplificado. B) Cromatograma de secuenciación. C) Análisis BLAST de una de las secuencias obtenidas.



En las imágenes superiores se muestran las placas control en las que solo se sembraron los discos de cultivos de hongos patógenos: A) *Rhizoctonia solani*, *Fusarium graminearum*, *Rhizoctonia bataticola* y *Stenocarpella maydis*; B) *Cercospora*, *Alternaria* y *Stemphylium*. En las imágenes inferiores se muestra placas en las que las estrias bacterianas que dividen los cuadrantes inhiben el crecimiento de los hongos patógenos sembrados.

Materiales y Métodos

Se aislaron organismos patógenos y antagonistas, estos se identificaron en base a características morfológicas y a las secuencias ribosomales, además se evaluó la capacidad antagonista de los aislamientos in vitro.

•Aislamientos de hongos patógenos de soja, maíz y sorgo: *Rhizoctonia solani* y otros hongos patógenos como *Fusarium graminearum*, *Rhizoctonia bataticola* y *Stenocarpella maydis*, a partir de tejido vegetal infectado. Se cortaron trozos de 0,5 cm de largo y se esterilizaron superficialmente. Estos trozos se colocaron en medio de cultivo selectivo suplementado con cloranfenicol, estreptomicina y fosetil-aluminio (fungicida). Cultivos de los aislados en agar papa glucosado (APG) fueron utilizados para el análisis microscópico de las características morfológicas. A partir de las placas de las que se seleccionaron los patógenos se aislaron y purificaron un total de 14 bacterias que mostraban antagonismo con los hongos de interés.

•Extracción de ADN e identificación mediante secuenciación de ITS: La extracción de ADN se realizó utilizando el kit Wizard® Genomic DNA Purification– Promega.

Con los primers universales ITS4-ITS5 se amplificó la secuencia ribosómica ITS (Internal Transcribed Spacer). Con la secuencia de los organismos se realizó un Blast (con la herramienta de alineamiento básico local Blast - NCBI) con lo que se confirmó la identidad de los aislamientos

•Evaluación cualitativa del antagonismo de microorganismos: se realizó un screening de actividad antifúngica de los microorganismos aislados y de *Bacillus megaterium* (un antagonista evaluado en ensayos previos). Las bacterias antagonistas se sembraron en estrias rectas que dividieron la placa de Petri en cuatro cuadrantes. El medio de cultivo fue APG c/cloranfenicol o Agar nutritivo. En el centro de cada cuadrante se colocó un cilindro de 5 mm de diámetro de *F. graminearum*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia bataticola* y *Stenocarpella maydis*. Las cajas se incubaron a 26°C durante 3 días. A los 3 días de la inoculación se midió el diámetro de las colonias de los tratamientos y de los controles sin bacterias antagonistas.

Conclusiones

Los microorganismos antagonistas aislados inhibieron el crecimiento de los hongos patógenos incluidos los aislamientos de *Rhizoctonia*.

La capacidad antagonista es una capacidad variable e intrínseca de cada aislado. La capacidad antagonista diferencial de los aislados probablemente se deba a que estos microorganismos inhiben el crecimiento de los hongos patógenos por medio de distintos mecanismos, y en este caso podrían utilizarse cooperativamente.

Bibliografía

- [1] Westover K, Kennedy A, Kellys S. 1997. Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plant species. *J Ecol* 85: 863-873.
[2] Whipps JM. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp Bot*, 52: 487-511.
[3] Toyoda H, Utsimi R. 1991. Method for the prevention of Fusarium diseases and microorganisms used for the same. United States Patent Number: 4,988,586.
[4] Domsch KH, Gams W, Anderson TH. 1980. Compendium of soil fungi. London, England: Academic Press. 865 p.
[5] Crowe JD, Olsson S. 2001. Induction of laccase activity in *Rhizoctonia solani* by antagonistic *Pseudomonas fluorescens* strains and a range of chemical treatments. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2088–2094.