

EFFECTO DE FUNGICIDAS SOBRE HONGOS SAPROFITOS DEL SUELO¹

Por MARTA CABELLO* y GUILLERMO GONZALEZ LIMA**

Summary *The effects of fungicides on soil fungi.* Two fungicides: *benomyl* and *mancozeb* were applied sequentially on a wheat crop and their effects on soil fungal population were studied. Immediately after application, these fungicides reduced the number of fungal propagules in soil; the soils treated were rapidly recolonised within 15 days of the applications of fungicides. This investigation has revealed that the commonly observed soil fungi can tolerate field application of the two fungicides proved; *Aspergillus foetidus*, *A. fumigatus* and *Trichoderma koningii* can tolerate *benomyl* application whereas *A. flavus*, *A. foetidus*; *Fusarium oxysporum*; *Gliocladium roseum* and *Rhizopus stolonifer* can tolerate *mancozeb* treatment.

INTRODUCCION

Raramente se han observado cambios significativos en las poblaciones microbianas del suelo *in situ* debido a las aplicaciones de pesticidas (Audus, 1964; Bartha *et al.*, 1967; Bollen, 1961; Tu, 1970, 1972), sin embargo cuando se estudian estas mismas respuestas en cultivo puro en laboratorio pueden incrementarse o decrecer dependiendo del tipo de producto y del microorganismo (Curl *et al.*, 1968; Peeples *et al.*, 1969; Rodríguez-Kabana *et al.*, 1966, 1970). Con respecto al efecto a largo plazo de los fungicidas sobre la micoflora del suelo, se dispone de poca información en la literatura (Peeples, 1974). Los patógenos y otros microorganismos sensibles pueden ser afectados temporariamente (Bollen, 1961; Martin 1963), siendo importante que no lo sean tanto otros organismos que poseen papeles destacados en la fertilidad de los suelos. Sin embargo, estos compuestos no son específicos para patógenos en particular, por lo cual eliminan también una amplia variedad de saprófitos que crecen normalmente en el suelo, al cual llegan estos productos a través de las partes aéreas de las plantas tratadas (Kuthubutheen y Pugh, 1979).

El *benomyl* es un fungicida comercial particularmente efectivo en el control de muchos hongos fitopatógenos de aplicación foliar (Delp *et al.*, 1968). Sin embargo sirve también para el control de otros patógenos por aplicación directa al suelo

(Delp *et al.*, *op. cit.*; Erwin *et al.*, 1968; Hine *et al.*, 1968; Wensley *et al.*, 1970).

El *mancozeb* es un fungicida efectivo contra un amplio espectro de enfermedades foliares significativamente menos tóxico que el *maneb* en cultivos sensibles (Martin *et al.*, 1977).

El objetivo de esta investigación es estudiar el efecto de 2 fungicidas, uno de contacto: *mancozeb* y otro sistémico: *benomyl*, sobre la micoflora de saprófitos del suelo reconociendo especies tolerantes y recolonizantes.

MATERIALES Y METODOS

La experiencia se llevó a cabo en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata. Se utilizaron 4 parcelas de 1,50 x 4,20 m sembradas con trigo.

Los tratamientos fueron los siguientes:

Parcela 1: aplicación de *benomyl* (Metil 1-(butyl-carbamomyl)-2-benzimidazole-carbamato). Dosis: 250 g de ingrediente activo por ha (Dosis recomendada comercialmente).

Parcela 2: aplicación de *mancozeb*, (producto de coordinación de iones de Zn con etilen-bis-ditio-carbamato de manganeso). Dosis: 2 kg de ingrediente activo por ha (Corresponde a la dosis recomendada comercialmente).

Parcela 3: aplicación combinada de *benomyl* y *mancozeb* en las mismas dosis que en las parcelas 1 y 2.

Parcela 4: testigo no tratado, pulverizado sólo con agua.

Las aplicaciones fueron realizadas a intervalos mensuales (primera aplicación 1-VIII-90; segunda aplicación 28-VIII-90; tercera aplicación 3-X-90 y

¹ Trabajo realizado en el Instituto de Botánica "Spegazzini" 53 N° 477, 1900, La Plata.

* Miembro de la Carrera del Investigador Científico (CIC).

** Profesor Adjunto de la Cátedra de Terapéutica Vegetal, Fac. Cs. Agrarias y Forestales, U.N.L.P.

cuarta aplicación 31-X-90) utilizándose mochila manual de tipo experimental con volúmenes de agua que oscilaban entre 150 y 200 l/ha.

Las muestras fueron recogidas a las 48 hs (3-VIII; 30-VIII y 2-XI-1990); 5 días (6-VIII, 8-X y 2-XI-1990); 15 días (16-VIII, 12-IX y 11-XI-1990); 20 días (21-VIII, 23-X y 20-XI-1990) y 30 días (26-IX, 30-X y 1-XII-1990) posteriores a la aplicación de los fungicidas.

Las parcelas tratadas y la parcela testigo fueron muestreadas al azar entre los 2 y 10 cm de profundidad, tomándose 6 submuestras de 100 gr de suelo en cada una. El material fue guardado en bolsas de polietileno estériles y procesadas inmediatamente utilizándose la técnica de lavado de suelos (Parkinson y Williams, 1961). Cada submuestra fue lavada, sembrándose 50 partículas de cada una (un total de 300 partículas de las 6 submuestras) de la porción retenida en la malla de 0,2 mm (tamaño menor de malla utilizado) del aparato lavador.

Las partículas de suelo lavadas fueron sembradas en agar malta glucosado (Hawksworth *et al.* 1983) con el agregado de una solución de antibiótico. Las placas se incubaron durante 7-14 días a 25°C determinándose frecuencia relativa (Godeas, 1983) y porcentaje de partículas colonizadas.

RESULTADOS

Los porcentajes de partículas colonizadas en los suelos tratados fueron más bajos que en el testigo a las 48 hs. y a los 5 días posteriores a su aplicación (fig. 1). Posteriormente los suelos tratados fueron recolonizados y a los 30 días las partículas colonizadas alcanzaron porcentajes cercanos a las de la parcela testigo, esto fue observado en los 3 muestreos efectuados por lo cual se toma el valor promedio de los mismos.

Inmediatamente después de la aplicación de los fungicidas, sólo un 45-50% de partículas se encuentran colonizadas y a los 15 días su número se eleva a un 70-75% en relación al control.

En la tabla 1 se muestra el total de especies aisladas en los diferentes tratamientos; de estas 61 especies aisladas y determinadas, sólo se representan en la figura 2 y 3 aquellas más representativas presentes con regularidad en los diferentes muestreos en las 3 parcelas tratadas y en la parcela testigo.

Aspergillus fue el género con mayor diversidad específica y frecuencias más altas en todos los tratamientos. *A. foetidus* y *A. fumigatus* fueron en todos los casos las especies con frecuencias relati-

Esquema del muestreo

Aplicación de fungicidas	Muestreo de	Efectuado el
1a. aplicación: 1-VIII-90	48 hs	3-VIII-90
	5 días	6-VIII-90
	15 días	16-VIII-90
	20 días	21-VIII-90
	30 días (no se efectuó muestreo)	
2a. aplicación: 28-VIII-90	48 hs	30-VIII-90
	5 días	2-IX-90
	15 días	12-IX-90
	20 días (no se efectuó muestreo)	
	30 días	26-IX-90
3a. aplicación: 3-X-90	48 hs (no se efectuó muestreo)	
	5 días	8-X-90
	15 días (no se efectuó muestreo)	
	20 días	23-X-90
	30 días (27 días)	30-X-90
4a. aplicación: 31-X-90	48 hs	2-XI-90
	5 días (no se efectuó muestreo)	
	15 días	11-XI-90
	20 días	20-XI-90

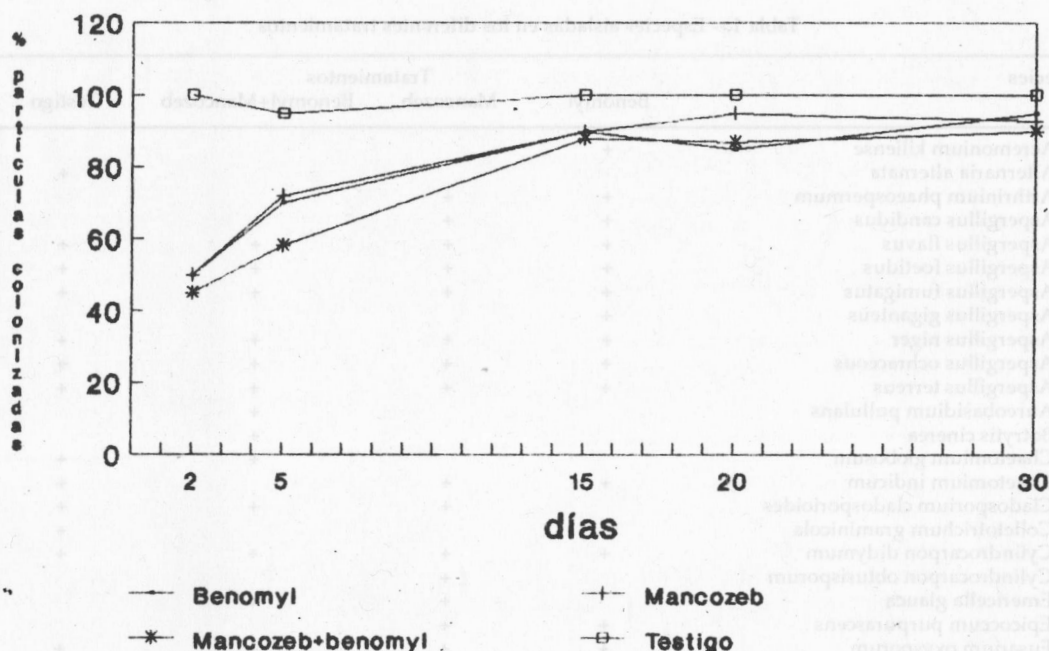


Fig. 1.-- Porcentaje de partículas de suelo colonizadas por hongos saprófitos en los diferentes períodos de muestreo posteriores a la aplicación de los fungicidas. Valores promedios de 3 muestreos (cada muestreo integrado por 6 submuestras con un total de 300 partículas sembradas).

vas más altas (fig. 2). También estuvieron presentes con regularidad en los diferentes muestreos *Fusarium oxysporum*; *Gliocladium roseum*; *Humicola fusco-atra*; *Penicillium frequentans*; *P. restrictum*; *P. rubrum*; *P. thomii*; *Rhizoctonia* sp.; *Rizopus stolonifer*; *Trichoderma harzianum*; *T. koningii*; *T. saturnisporum* y un micelio hialino estéril.

En la parcela tratada con *benomyl* (fig. 2), cuando se la compara con la testigo, mostraron altas frecuencias a las 48 hs *Aspergillus foetidus* (2); *A. fumigatus* (3) y *Trichoderma koningii* (17). A los 5 días siguientes a la aplicación del fungicida *A. foetidus* y *A. fumigatus* conservaron sus altas frecuencias las cuales fueron decayendo después de los 15 y hasta los 30 días. *Fusarium oxysporum* (6) alcanza sus mayores frecuencias a los 30 días posteriores a la aplicación del *benomyl*. *Trichoderma harzianum* (16) presentó altas frecuencias a los 15, 20 y 30 días, se trataría de una especie sensible a este producto. *T. saturnisporum* (18) tampoco aparece hasta los 15 días posteriores a la aplicación y su frecuencia en general es significativamente más baja que en el testigo. Esta especie es la más afectada dentro de las del género *Trichoderma*.

A. foetidus, *A. fumigatus* y *T. koningii* son especies tolerantes al *benomyl* ya que presentan frecuen-

cias iguales o superiores al 15% a las 48 hs. de la aplicación. *Gliocladium roseum* (7) y *Humicola fusco-atra* (8) no mostraron diferencias significativas en sus frecuencias en los diferentes períodos de muestreo en relación al testigo.

Penicillium frequentans (10), *P. restrictum* (11), *P. rubrum* (12), *P. thomii* (13), *Rhizoctonia* sp. (14) y *Rhizopus stolonifer* (15) muestran fluctuaciones en los diferentes muestreos que no pueden ser atribuidas a los efectos del *benomyl*.

Cuando se compara la parcela testigo (fig. 3) con aquella tratada con *mancozeb* (fig. 2) observamos en esta última que después de las 48 hs. *A. flavus* (1), *A. foetidus*, *Fusarium oxysporum*, *Gliocladium roseum* y *Rhizopus stolonifer* mostraron ser especies tolerantes al fungicida a juzgar por las altas frecuencias exhibidas en este muestreo. *Trichoderma harzianum* fue más abundante a los 20 y 30 días posteriores a la aplicación del fungicida. Las restantes especies mostraron frecuencias que fluctuaron en los diferentes períodos no pudiendo atribuirse a efectos del fungicida.

La aplicación combinada de *benomyl*+*mancozeb* (fig. 3) produjo una disminución en las frecuencias de las especies de *F. oxysporum*, las diferentes especies del género *Penicillium* y *Trichoderma*, cuando

Tabla 1.-- Especies aisladas en los diferentes tratamientos

Especies	Tratamientos			Testigo
	Benomyl	Mancozeb	Benomyl+Mancozeb	
* <i>Acremonium kiliense</i>	+			
<i>Alternaria alternata</i>				+
<i>Arthrinium phaeospermum</i>	+	+		
<i>Aspergillus candidus</i>	+	+	+	
<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+
<i>Aspergillus foetidus</i>	+	+	+	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	+	+
<i>Aspergillus giganteus</i>	+			
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	+
<i>Aspergillus ochraceus</i>	+	+	+	+
<i>Aspergillus terreus</i>	+	+	+	+
<i>Aureobasidium pullulans</i>			+	
<i>Botrytis cinerea</i>			+	
<i>Chaetomium globosum</i>			+	+
<i>Chaetomium indicum</i>	+	+		+
<i>Cladosporium cladosporioides</i>		+	+	+
* <i>Colletotrichum graminicola</i>				+
<i>Cylindrocarpon didymum</i>	+	+	+	+
<i>Cylindrocarpon obtusisporum</i>		+		
<i>Emericella glauca</i>	+	+	+	
<i>Epicoccum purpurascens</i>	+	+		
* <i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	+	+
* <i>Fusarium semitectum</i>	+	+	+	+
* <i>Fusarium solani</i>	+	+	+	+
<i>Gliocladium roseum</i>	+	+	+	+
<i>Gliomastix murorum</i>	+			
<i>Gonytrichum macrocladum</i>	+		+	
<i>Humicola fusco-atra</i>	+	+	+	+
<i>Idriella lunata</i>			+	
<i>Metarhizium anisopliae</i>				+
<i>Micelio hialino estéril</i>	+	+	+	+
<i>Micelio demat. estéril</i>				+
<i>Mucor hiemalis</i>	+	+	+	+
<i>Mucor mucedo</i>	+			+
<i>Myrothecium cinctum</i>				+
<i>Myrothecium verrucaria</i>	+		+	+
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	+	+		+
<i>Penicillium clavaeforme</i>			+	+
<i>Penicillium frequentans</i>	+	+	+	+
<i>Penicillium restrictum</i>	+	+	+	+
<i>Penicillium rubrum</i>	+	+	+	+
<i>Penicillium sacculum</i>		+	+	+
<i>Penicillium thomii</i>	+	+	+	+
<i>Phialocephala humicola</i>	+		+	+
<i>Phoma</i> sp.		+		+
<i>Rhizoctonia</i> sp.	+	+	+	+
<i>Rhizopus stolonifer</i>	+	+	+	+
<i>Scopulariopsis brumptii</i>	+			
<i>Scopulariopsis candida</i>				+
<i>Scopulariopsis</i> sp.			+	+
<i>Stachybotrys chartarum</i>			+	+
<i>Syncephalastrum racemosum</i>				+
<i>Talaromyces helicus</i>			+	
<i>Talaromyces</i> sp.	+		+	
<i>Trichoderma hamatum</i>		+	+	+
<i>Trichoderma harzianum</i>	+	+	+	+
<i>Trichoderma koningii</i>	+	+	+	+
<i>Trichoderma polysporum</i>	+			+
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	+	+	+	+
<i>Verticillium tenerum</i>		+		
<i>Zygorrhynchus moelleri</i>	+	+		+

* Parásitos facultativos

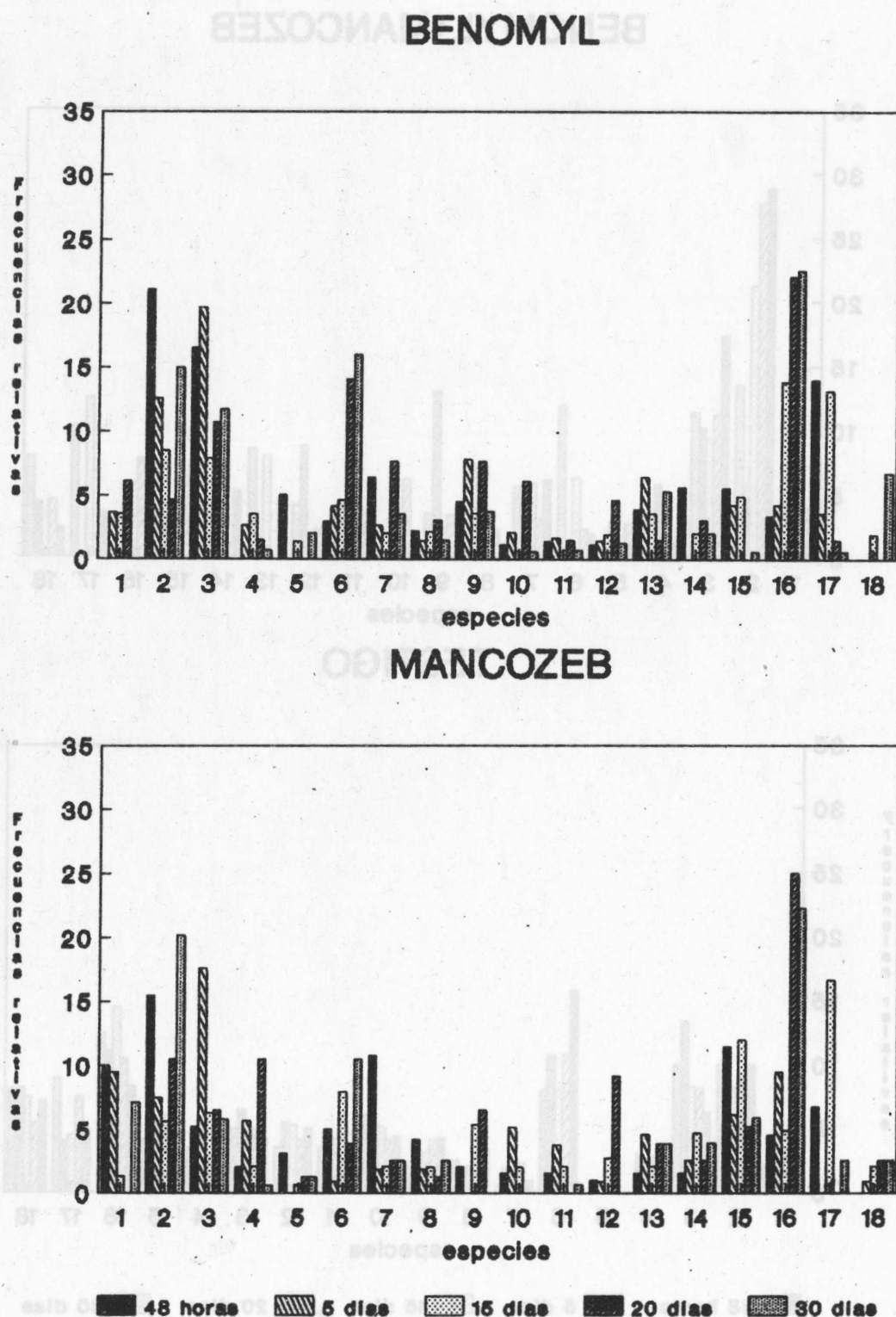
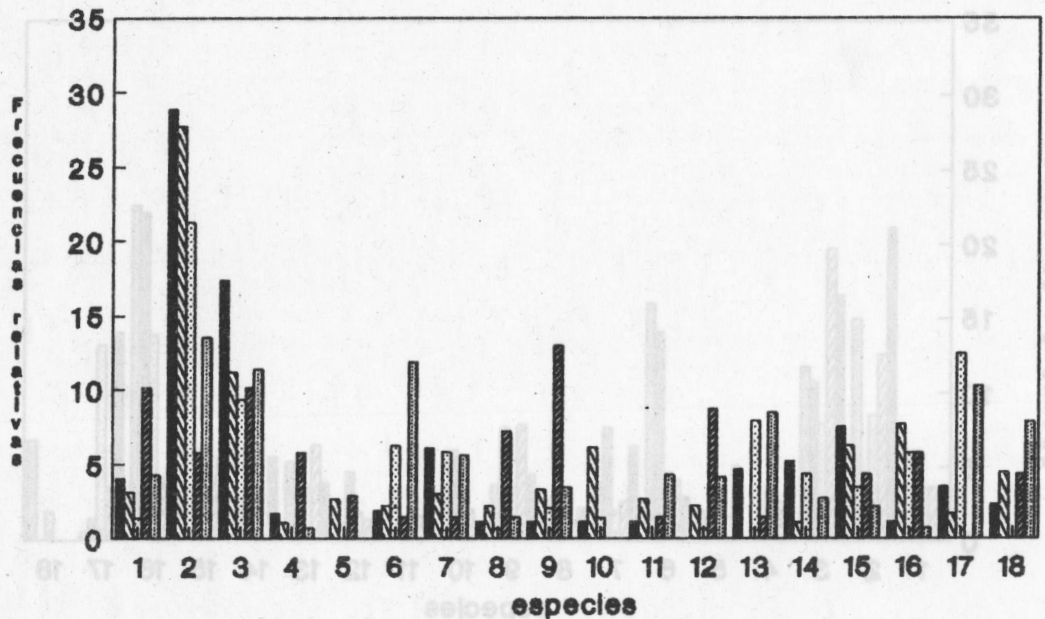
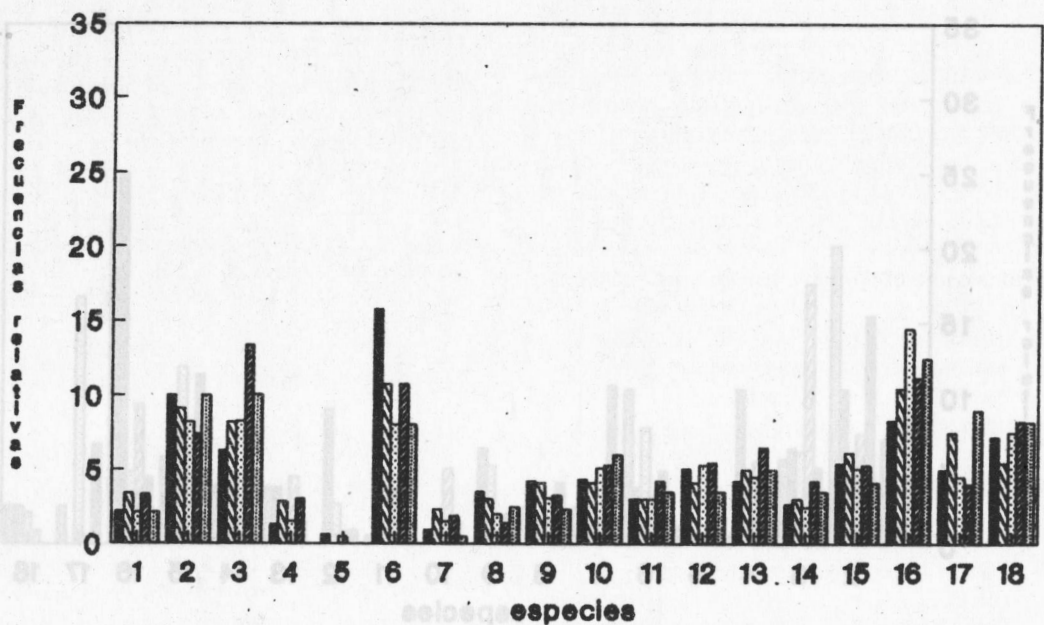


Fig. 2.-- Frecuencias relativas de especies fúngicas en los distintos periodos de muestreo posteriores a la aplicación de los fungicidas. Valores promedios de 3 muestreos. 1. *Aspergillus flavus*; 2. *A. foetidus*; 3. *A. fumigatus*; 4. *A. niger*; 5. *A. ochraceus*; 6. *Fusarium oxysporum*; 7. *Gliocladium roseum*; 8. *Humicola fusco-atra*; 9. Micelio hialino estéril; 10. *Penicillium frequentans*; 11. *P. restrictum*; 12. *P. rubrum*; 13. *P. thomii*; 14. *Rhizoctonia* sp.; 15. *Rhizopus stolonifer*; 16. *Trichoderma harzianum*; 17. *T. koningii*; 18. *T. saturnisporum*.

BENOMYL+MANCOZEB



TESTIGO



■ 48 horas ▨ 5 días ▩ 15 días ▤ 20 días ▥ 30 días

Fig. 3.-- Frecuencias relativas de especies fúngicas en los distintos periodos de muestreo posteriores a la aplicación de los fungicidas. Valores promedios de 3 muestreos. 1. *Aspergillus flavus*; 2. *A. foetidus*; 3. *A. fumigatus*; 4. *A. niger*; 5. *A. ochraceus*; 6. *Fusarium oxysporum*; 7. *Gliocladium roseum*; 8. *Humicola fusco-atra*; 9. Micelio hialino estéril; 10. *Penicillium frequentans*; 11. *P. restrictum*; 12. *P. rubrum*; 13. *P. thomii*; 14. *Rhizoctonia* sp.; 15. *Rhizopus stolonifer*; 16. *Trichoderma harzianum*; 17. *T. koningii*; 18. *T. saturnisporum*.

se las comparan con aquellas de la parcela testigo, pero no afectó a *A. foetidus* y *A. fumigatus* que mantuvieron sus altas frecuencias durante toda la experiencia.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La evaluación en los cambios en las poblaciones de hongos saprófitos en el suelo depende de la técnica utilizada para el aislamiento de las especies. De este modo Corden *et al.*, (1964) encontraron que los hongos aislados de suelos tratados con diversos fungicidas (*vapan*, *mylone*, CP-30249 y *metasol*) utilizando el método de dilución, no representaban la flora fúngica real del suelo, pues esta técnica favorecía a aquellas especies que esporulan mucho y se torna selectiva para aquellos hongos que se desarrollan a partir de micelio. Sin embargo, los hongos que producen muchas esporas pueden ser aquellos que procedan a recolonizar los sitios tratados con fungicidas una vez que éstos se han descompuesto por acción de microorganismos propios del suelo y no ejercen acción nociva sobre ellos.

En nuestra investigación al utilizar el método de lavado de suelos las especies aisladas proceden de aquellos hongos que se encuentran vegetativamente activos en el momento del muestreo.

Este estudio revela que los hongos comunes en los suelos pueden tolerar la aplicación de los fungicidas a dosis recomendadas en condiciones de campo. En general ningún fungicida mostró ser totalmente perjudicial para la micoflora, si bien hubo especies afectadas en los primeros 15 días, todas aparecieron a los 30 días recolonizando el suelo. Esta observación también fue hecha por Peoples (1974) en suelos tratados con *benomyl*. Otros fungicidas como el *thiram* y *verdasan* son más tóxicos para los hongos según revelan las investigaciones de Kuthubutheen y Pugh (1978) aunque las dosis usadas fueron superiores a las comercialmente recomendadas. Sin embargo es imposible deducir de estos resultados que todos los procesos de vida de todos los microorganismos del suelo no sean afectados por estos productos.

Podemos concluir que las especies de *A. foetidus*; *A. fumigatus* junto a *T. koningii* son tolerantes a los tratamientos con *benomyl*, mientras que *A. flavus*; *A. foetidus*; *F. oxysporum*; *G. roseum* y *R. stolonifer* lo son para el *mancozeb*, estas especies aprovecharían los nichos dejados por otras especies las cuales serían afectadas por estos fungicidas en los primeros días después de la aplicación. Estas especies afectadas se tornarían luego en especies recolonizantes, generalmente después de los 15 días,

recobrando así el suelo su equilibrio fúngico normal.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a la Dra. Irma Gamundí y a la Dra. Angélica Arambarri por sus valiosas sugerencias y la lectura crítica de este manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

- AUDUS, L. J. 1964. Herbicide behaviour in soil. II. Interactions with soil microorganisms. En: L. J. Audus, ed. *The physiology and biochemistry of herbicides*. pp. 163-206. Academic Press, New York.
- BARTHA, R., R. P. LANZILOTTA & D. PRAMER. 1967. Stability and effects of some pesticides in soil. *Appl. Microbiol.* 15: 67-75.
- BOLLEN, W. B. 1961. Interactions between pesticides and soil microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* 15: 69-92.
- CORDEN, M. E. & A. R. YOUNG. 1964. Changes in the soil microflora following fungicide treatment. *Soil Science* 99 (4): 272-277.
- CURL, E. A., R. RODRIGUEZ-KABANA & H. H. FUNDERBURK Jr. 1968. Influence of atrazine and varied carbon and nitrogen amenment on growth of *Sclerotium rolfsii* and *Trichoderma viride* in soil. *Phytopathology* 58: 323-328.
- DELP, C. J. & H. L. KLOPPING. 1968. Performance attributes of a new fungicide and mite ovicide candidate. *Plant Dis. Rep.* 52: 95-99.
- ERWIN, D. C., H. MEE & J. J. SIMS. 1968. The systemic effect of 1-(butylcarbamomyl)-2-benzimidazole carbamic acid, methyl ester, on *Verticillium* wilt of cotton. *Phytopathology* 58: 528-529.
- GODEAS, A. M. 1983. Estudios cuali-cuantitativos de los hongos del suelo de *Nothofagus dombeyi*. *Ciencia del suelo* 1 (1): 21-31.
- HAWKSWORTH, D. L., B. C. SUTTON & G. C. AINSWORTH. 1983. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi*. 7a. edición. Comm. Mycol. Inst. Kew, Surrey, 445 pp.
- HINE, R. B., D. L. JOHNSON, C. J. WENGER & J. E. ENDRIZZI. 1968. A systemic fungicide controls *Verticillium* wilt. *Progressive Agriculture in Arizona* 20 (4): 6-7.
- KUTHUBUTHEEN, A. J. & G. J. F. PUGH. 1979. The effects of fungicides on soil fungal populations. *Soil Biol. Biochem.* 11: 297-303.
- MARTIN, J. P. 1963. Influence of pesticide residues on soil microbiological and chemical properties En: F. A. Gunther, ed. *Residue reviews* vol. 4: 96-129, Academic Press.
- MARTIN, H. & C. R. WORTHING. 1977. *Pesticide manual*. 5a. edición. British Crop Protection Council. pp. 328.
- PARKINSON, D. & S. T. WILLIAMS. 1961. A method for isolating fungi from soil microhabitats. *Plant and Soil* 13: 347-355.
- PEEPLES, J. L. 1974. Microbial activity in benomyl treated

- soils. *Phytopathology* 64: 857-860.
- PEEPLES, J. L. & E. A. CURL. 1969. Effect of paraquat, EPTC and trifluralin on growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in liquid culture. *Phytopathology* 59: 117. (abstr.).
- RODRIGUEZ-KABANA, R.; E. A. CURL & H. H. FUNDERBURK, Jr. 1966. Effect of four herbicides on growth of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 56: 1332-1333.
- , -- & J. L. PEEPLES. 1970. Growth response of *Sclerotium rolfsii* to the herbicide EPTC in liquid culture and soil. *Phytopathology* 60: 431-436.
- TU, C. M. 1970. Effect of four organo phosphorous insecticides on microbial activities in soil. *Appl. Microbiol.* 19: 479-484.
- 1972. Effect of four nematicides on activities of microorganisms in soil. *Appl. Microbiol.* 23: 398-401.
- WENSLEY, R. N. & C. M. HUANG. 1970. Control of *Fusarium* wilt of muskmelon and other effects of benomyl soil drenches. *Can. J. Microbiol.* 16: 615-620.
- En nuestra investigación al utilizar el método de lavado de suelos las especies aisladas proceden de aquellos hongos que se encuentran vegetativamente activos en el momento del muestreo.
- Este estudio revela que los hongos comunes en los suelos pueden tolerar la aplicación de los fungicidas a dosis recomendadas en condiciones de campo. En general ningún fungicida muestra ser totalmente perjudicial para la inoculación, si bien hubo especies aisladas en los primeros 15 días, todas desaparecieron a los 30 días recolectando el suelo. Esta observación también fue hecha por Fries (1974) en suelos tratados con benomyl. Otros fungicidas como el thiram y carboxin son más tóxicos para los hongos según revelan las investigaciones de Kuthubutheen y Fugh (1978) aunque las dosis usadas fueron superiores a las comercialmente recomendadas. Sin embargo es imposible deducir de estos resultados que todos los procesos de vida de todos los microorganismos del suelo no sean afectados por estos productos.
- Podemos concluir que las especies de *A. fabae* y *A. fumigatus* junto a *T. tonsurans* son tolerantes al tratamiento con benomyl, mientras que *A. fabae*, *A. fumigatus*, *E. oxysporum*, *G. zeae* y *R. solani* en lo son para el benomyl, estas especies approvechan los nichos dejados por otras especies las cuales serían afectadas por estos fungicidas en los primeros días después de la aplicación. Estas especies aisladas se tornan en luego en especies poco abundantes, generalmente después de los 15 días.