

ENFERMEDADES DE IMPLANTACIÓN EN LEGUMINOSAS FORRAJERAS: Importancia y estrategias de control

Carlos Pérez*, Nora Altier**

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas forrajeras cumplen un rol importante en la producción agropecuaria del Uruguay, incrementando -en la mayoría de las situaciones- la cantidad y calidad del forraje producido. A su vez, su capacidad de fijar nitrógeno en simbiosis con rizobios les permite incorporar este nutriente al sistema de producción.

La mayor limitante que presentan las leguminosas forrajeras es su baja persistencia productiva, como consecuencia de la interacción de diversos factores. Entre ellos, las enfermedades juegan un rol importante afectando a la pastura en distintas etapas de su vida útil.

Una pastura mal implantada, no sólo produce menos forraje y de menor calidad (debido al menor número de plantas de las especies sembradas), sino que además ve comprometida su persistencia. Las malezas comienzan a invadir los espacios libres y a competir por luz, agua y nutrientes, siendo, además, fuente de inóculo de enfermedades y plagas. Esta situación estresa a la planta limitando su desarrollo e incluso causándole la muerte.

Para tener una idea de la ineficiencia del proceso de implantación de una leguminosa, se puede considerar como ejemplo al *Lotus corniculatus*. La densidad de siembra recomendada es generalmente 8 kg de semilla/ha, lo que equivale aproximadamente a 670 semillas/m²; sin embargo, se logra una implantación promedio menor a 200 plantas/m². Esto se debe a varios factores, entre otros; plagas, enfermedades, calidad de sementera, calidad de siembra, calidad de semilla. Las enfermedades son responsables de un gran porcentaje de muerte de plántulas cuando se dan las condiciones predisponentes a la enfermedad: alta humedad en el suelo y bajas temperaturas. Estas condiciones favorecen el desarrollo de estos hongos y retardan el normal desarrollo de la planta.

Las enfermedades de implantación -comúnmente llamadas "damping-off"- resultan particularmente importantes afectando el establecimiento del stand inicial de plantas y la resiembra natural.

Estas enfermedades son causadas por un complejo de hongos patógenos de suelo donde predominan especies de los géneros

Pythium, *Rhizoctonia* y *Fusarium* que atacan al vegetal en etapas de pre- y post-emergencia temprana. Luego de esta etapa la planta se vuelve resistente ya que lignifica sus tejidos y los hongos no son capaces de penetrarlos. El período de mayor susceptibilidad para una pastura es de aproximadamente 20-25 días desde la siembra (Figura 1).

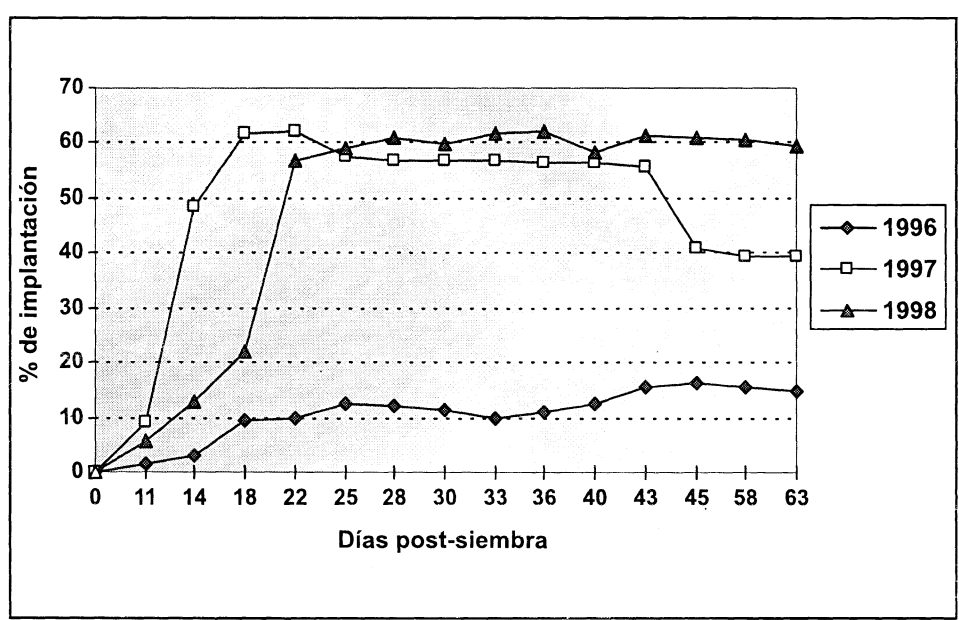


Figura 1. Evolución de la implantación de lotus en tres ambientes diferentes. (Pérez et al., 1999)

PATÓGENO

En Uruguay, las especies del género *Pythium* constituyen el grupo principal de patógenos de implantación. *Pythium* ve favorecido su desarrollo a temperaturas cercanas a 12 °C, y debido a que es un oomiceto (hongo inferior), es fundamental la presencia de agua libre para que las zoosporas puedan desplazarse y alcanzar al huésped.

En la Figura 2 se presentan los resultados obtenidos en la EEMAC, donde se observa que en los meses de marzo y octubre, la población de *Pythium* disminuye. Esta disminución es probablemente explicada por un incremento de la temperatura y un descenso de la humedad del suelo respecto a las condiciones del mes de julio, con predominio de bajas temperaturas y exceso hídrico.

* Ing. Agr., Fitopatología, EEMAC

** Ing. Agr., Protección Vegetal, INIA La Estanzuela

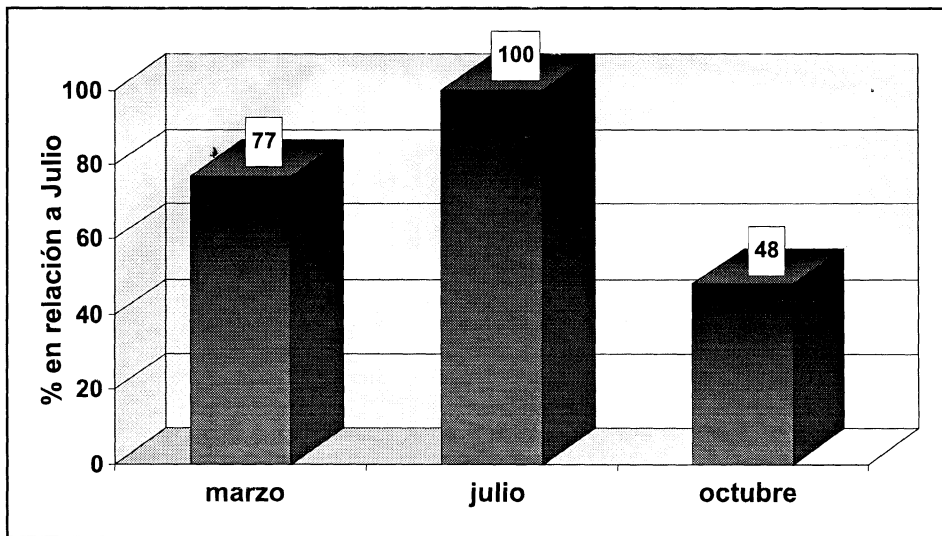


Figura 2. Evolución de la población de *Pythium* en el tiempo (Pérez *et al.*, 1999)

PLANTA

Como se mencionó anteriormente, el período de susceptibilidad culmina con la lignificación de los tejidos, pero a bajas temperaturas, la tasa de desarrollo del vegetal se ve retardada, por lo cual cada estado fenológico lleva más tiempo en cumplirse y la planta demora más en lignificar sus tejidos.

En síntesis, en condiciones de bajas temperaturas y suelo húmedo, el hongo se vuelve más agresivo y aumenta su potencial de inóculo, mientras la planta permanece susceptible por más tiempo y crece bajo estrés, incrementándose las posibilidades de infección.

Se podría decir que el proceso de implantación se asemeja a una carrera entre el hongo y la planta: bajo condiciones edáficas de alta humedad y baja temperatura, la carrera

es ganada por el hongo y ocurre la infección, mientras que si una de esas dos condiciones no se da, la carrera la ganará la planta y logrará un normal establecimiento.

MANEJO DE LAS ENFERMEDADES DE IMPLANTACIÓN

En primer lugar, una estrategia esencial para aumentar el éxito en la implantación de todo cultivo, más aún cuando su destino es una pastura de larga duración, es utilizar **semilla de buena calidad**. Diversas características asociadas a la calidad de la semilla (ejemplo: presencia de hongos contaminantes y de almacenamiento, integridad de la testa, edad) determinan los patrones de germinación y vigor de un lote. En consecuencia, determinan la vulnerabilidad de la semilla a infecciones tempranas por hongos

del suelo y pueden condicionar la velocidad y la uniformidad de la emergencia de las plántulas.

La siguiente estrategia de manejo fundamental para este tipo de enfermedades es el escape a las condiciones predisponentes, mediante la **elección de la época de siembra**. Se deben procurar épocas de siembra sin excesos hídricos y con temperaturas mayores a 12°C.

Este escape se logra normalmente cuando se realiza la siembra de praderas convencionales en los meses de marzo-abril. Por el contrario, en siembras tardías o asociadas a trigo o cebada, el proceso de implantación se cumple bajo condiciones ambientales críticas, incrementándose las posibilidades de ocurrencia de "damping-off".

Hay que recordar que el manejo de la época de siembra no es un mecanismo de resistencia, sino de escape, tendiente a que la planta susceptible, el hongo agresivo y las condiciones predisponentes no coincidan en el tiempo. Esto significa que si se dan las condiciones ambientales favorables en cualquier momento del año, la enfermedad puede ocurrir. Por esto lo que se pretende es disminuir el riesgo de ocurrencia de la enfermedad, ya que la concreción del proceso infectivo dependerá de las condiciones climáticas puntuales y no del mes calendario.

En los Cuadros 1, 2 y 3 se presentan los registros y resultados obtenidos en experimentos realizados entre 1996 y 1998. En estos experimentos se analizó la relación entre temperatura media y precipitaciones durante los primeros 20 días post-siembra y la implantación resultante para el caso de *Lotus corniculatus* cv. San Gabriel.

Cuadro 1. Temperatura (°C) mínima y media del aire promedio para los primeros 20 y 90 días post-siembra

Período(*)		1996	1997	1998
0 - 20	mínima	5	6	13
	media	11	12	18
0 - 90	mínima	5	9	11
	media	11	15	16

(*) días post-siembra

Cuadro 2. Precipitaciones registradas en los primeros 20 días post-siembra

Precipitaciones de los 20 primeros días:	
1996	- 1.3 mm el día 2 y 5 mm el día 15
1997	- 1.5 mm el día 4 y 5 mm el día 11
1998	- 20 mm el día 16 y 20 mm el día 17

Cuadro 3. Porcentaje de implantación de lotus cv. San Gabriel, con relación a semillas viables y sin dureza, sin y con control de *Pythium*

Tratamiento	1996	1997	1998
Testigo	14	41	60
Protegido (*)	51	47	52
P>	0.0001	NS	NS

(*) Tratamiento con desinfección química del suelo

Lo primero a destacar es que en la mejor situación la implantación fue del 60%, lo que está indicando que existen otros factores que están afectando la implantación además de las enfermedades en estudio (ejemplo: plagas, condiciones ambientales, otros patógenos no controlados por el fungicida, calidad de la semilla, entre otros).

El tratamiento protegido se incluyó con el objetivo de medir el impacto de *Pythium*, ya que se utilizó un fungicida específico para oomicetos. Sin embargo, es claro que sólo se logra una evaluación aproximada de dicho impacto, dado que no tenemos información de otros factores como la eficiencia de control lograda, efecto del fungicida sobre el desarrollo de la planta, etc.

Del análisis de la información presentada, surge claramente la existencia de un efecto climático sobre la implantación. En el año 1996 se registraron las menores temperaturas y alta humedad en el suelo durante gran parte del período de implantación, lo que resultó en niveles de implantación extremadamente bajos en el testigo (14%), difiriendo significativamente del tratamiento protegido.

En 1997 el período analizado se caracterizó por ser fresco -similar a 1996-, pero sin precipitaciones de importancia, condiciones que limitan el desarrollo del hongo. En 1998, el período fue cálido y seco hasta fines del período analizado, condiciones adversas para el desarrollo del patógeno. Esto probablemente explica la ausencia de diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento protegido, en estos dos años.

La implantación final estará afectada por

la combinación de factores -temperatura y humedad edáfica- que determinan la importancia de la enfermedad, y no por cada uno por sí sólo. Hay que tener en cuenta que las precipitaciones, además de humedecer el ambiente, disminuyen más aún la temperatura edáfica agravando la situación.

Si bien es indiscutible la importancia de la época de siembra sobre la implantación de la pastura, muchas veces no es fácilmente manejable. Por ejemplo, cuando se realizan siembras asociadas (principalmente con trigos de ciclo intermedio y cebada), situación en la que se busca optimizar la fecha de siembra de los cultivos invernales, se atrasa la fecha óptima para la pastura.

Una medida de manejo alternativa, cuando se estima que la siembra será en los meses críticos (mayo-junio-julio), es la utilización de **fungicidas curasemillas**. Existen curasemillas altamente específicos y de acción sistémica que brindan a la plántula una protección total durante el período de implantación (ejemplo: metalaxil, fosetil-Al para el control de *Pythium*), aunque en Uruguay actualmente no están disponibles las formulaciones como curasemillas. Se debe advertir que algunos principios activos pueden tener efecto negativo sobre los rizobios (ejemplo: Captan) (Altier y Pastorini, 1988).

La **rotación de cultivos** es una medida de manejo de escaso impacto para este tipo de patógenos, debido a su amplio rango de huéspedes y a su capacidad de competencia microbiana aun en ausencia del cultivo comercial hospedero, lo que le permite al hongo mantener altos niveles poblacionales a lo largo del tiempo.

POSIBILIDADES DEL CONTROL BIOLÓGICO

Frente a las limitantes antes mencionadas y conociendo que una gran proporción de las praderas se siembran consociadas al cultivo de invierno, en 1996 se inició un proyecto de investigación interinstitucional, donde participan el Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable" (IIBCE), el INIA La Estanzuela y la Facultad de Agronomía, EEMAC.

Con el objetivo de minimizar el efecto de las enfermedades de implantación en esas situaciones, se comenzó a evaluar la viabilidad del **control biológico** de las mismas. Esto se enmarca en una tendencia universal a reducir el uso de agroquímicos, permitiendo sistemas de producción agrícola sustentables, y contribuye a la generación de alternativas tecnológicas tendientes a fortalecer la imagen de Uruguay como productor natural de alimentos.

En este contexto, se ha realizado una recolección, caracterización y evaluación de la actividad antagonista de distintas cepas de *Pseudomonas* fluorescentes provenientes de la rizósfera de leguminosas (tréboles, lotos y alfalfa).

El efecto antagonista que estas bacterias tienen sobre varios organismos patógenos presentes en el suelo ha sido mundialmente estudiado. Además de beneficiar a las plantas de forma indirecta eliminando a los patógenos, las *Pseudomonas* pueden -al igual que otras bacterias- tener la capacidad de promover el crecimiento vegetal en forma directa a través de la secreción de hormonas y vitaminas.

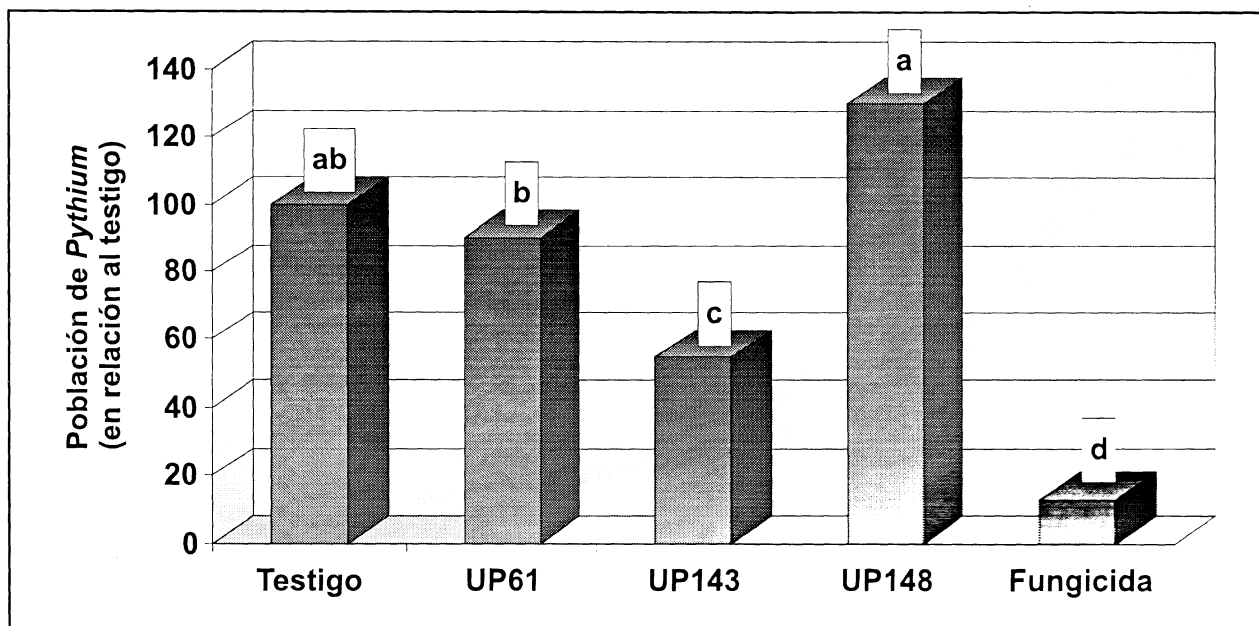


Figura 3. Población de *Pythium* en el suelo a los 90 días post-siembra, expresada como porcentaje del tratamiento testigo ($P > F(0,0001)$)

Producto de la recolección y evaluación *in vitro* del efecto antagonístico de aproximadamente 600 cepas nativas, se han seleccionado tres cepas (UP61, UP143 y UP148) que protegieron eficientemente a plántulas de lotus frente a infecciones causadas por *Pythium* y *Rhizoctonia* (Bagnasco *et al.*, 1995).

Estas cepas han sido caracterizadas, y se han determinado los metabolitos involucrados en el control biológico. Los principales responsables del control son antibióticos (Bagnasco, 1997; De La Fuente *et al.*, 1998), actuando conjuntamente con la liberación de ácido cianhídrico al medio (Voisard *et al.*, 1989) y la formación de sideróforos (grupo de moléculas quelatantes del hierro, que actúan compitiendo con los patógenos por el hierro disponible en el medio) (Loper, 1988).

Luego de comprobarse la acción antagonística de estas bacterias *in vitro* e *in vivo* bajo condiciones controladas, se comenzaron con los experimentos de campo, donde las condiciones de experimentación se asemejan a las condiciones que se dan normalmente en la producción.

Mediante el análisis de muestras de suelo a los 90 días post-siembra, se determinó el efecto de las cepas probadas sobre la población de *Pythium* en el suelo. En la Figura 3 se observa la reducción en la población de *Pythium* obtenida en cada tratamiento con relación al testigo.

Las cepas UP61 y UP148 no difirieron significativamente del testigo, mientras que la cepa UP143 disminuyó significativamente la población de *Pythium*. A su vez se observa la eficiencia del fungicida aplicado al suelo (metalaxil + folpet, 2 kg de producto comercial/ha), donde prácticamente se eliminó al patógeno en la rizósfera.

Respecto al efecto sobre el número de plantas de lotus implantadas y al peso seco de las mismas, cabe destacar que las cepas mejoraron la implantación e incrementaron la producción de materia seca. Sin embargo, las diferencias con el testigo no fueron estadísticamente significativas, registrándose coeficientes de variación relativamente altos.

La inconsistencia en los resultados es una característica generalizada de los experimentos de control biológico a campo, principalmente explicada por la incorporación de otro organismo vivo al triángulo de la enfermedad (planta-patógeno-ambiente), en una densidad poblacional que no es la natural del microambiente al cual se incorpora. Si bien es de esperar una buena adaptación de las cepas a las condiciones climáticas dado que son nativas, por algún factor no identificado la población natural no es la deseable, por lo tanto las cepas incorporadas deben paliar el efecto de ese factor limitante.

COMENTARIOS FINALES

Actualmente la investigación continúa.

Se ha realizado un ajuste de la metodología y se ha incorporado una línea de investigación similar en alfalfa.

Existe una gran expectativa en este trabajo, tanto en lotus como en alfalfa, ya que el control biológico de las enfermedades de implantación es ambientalmente sano, fácil de aplicar y de bajo costo. Las *Pseudomonas* se inoculan junto con el rizobio, pudiendo ser formulado en turba estéril por lo que se estudia la posibilidad de generar un inoculante comercial que contenga rizobio y *Pseudomonas*.

Si se considera que la eficiencia del proceso de implantación en lotus es de aproximadamente 30% (670 semillas/m² para lograr no más de 200 plantas/m²), y se logra incrementar esa eficiencia a valores cercanos al 50%, se podría reducir la densidad de siembra de 8 a 5 kg de semilla/ha. Esto, valorizado al costo actual de la semilla (US\$ 1,5/kg de semilla de lotus), resulta en un ahorro de aproximadamente US\$ 4,5/ha sembrada con lotus.

El control de las enfermedades de implantación no sólo permite una disminución en el costo de semillas (menor densidad de siembra), sino que además permite mejorar la distribución espacial de las plantas, lo que redundará en un mejor aprovechamiento de luz, agua y nutrientes, y un mejor control de malezas. ■

BIBLIOGRAFÍA

- ALTIER, N.; PASTORINI, D. 1988. Curasemillas en leguminosas forrajeras: efecto sobre los rizobios. CIAAB, Est. Exp. La Estanzuela (Uruguay). Hoja de Divulgación No. 74. 2 p.
- BAGNASCO, P. 1997. Estudio de la capacidad inhibidora de una cepa nativa de *Pseudomonas fluorescens* frente al hongo patógeno *Pythium ultimum*. PEDECIBA. Tesis de Maestría.
- BAGNASCO, P.; DE LA FUENTE, L.; POLLA, G.; ARIAS, A. 1995. Native fluorescent *Pseudomonas* as antagonist agents against root legume pathogenic fungi. In 7th International Symposium on Microbial Ecology. Santos, Brasil (Abstr.).
- DE LA FUENTE, L.; BAJSA, N.; WELLER, D.; THOMASHOW, L.; ARIAS, A. 1998. Diversos metabolitos involucrados en la actividad biocontroladora de *Pseudomonas fluorescens* UP61. In IV Encuentro Nacional de Microbiología. Montevideo, Uruguay.
- LOPER, J. 1988. Role of fluorescent siderophores production in biocontrol of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. Phytopathology 78:166-172.
- PÉREZ, C.; ALTIER, N.; JONES, C.; DE LA FUENTE, L.; ARIAS, A. 1999. Control biológico de enfermedades de implantación en lotus mediante *Pseudomonas fluorescens* nativas. In X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Libro de Resúmenes Guadalajara. México. Resumen N° 221.
- VOISARD, C.; KEEL, C.; HAAS, D.; DÉFAGO, G. 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. EMBO J. 8:351-358.