

Agraria

Revista

Científica

Facultad de Ciencias Agrarias



UNJu
Universidad
Nacional de Jujuy

Vol. X N° 17 -Año 2017

Autoridades
Universidad Nacional de Jujuy

Rector: **Lic. Rodolfo Alejandro Tecchi**
Vicerrector: **Lic. Jorge Eugenio Griot**

Secretaría de Extensión Universitaria
Dra. Elena Belli

Facultad de Ciencias Agrarias

Decano: **MSc. Ing. Agr. Mario César Bonillo**
Vicedecano: **Ing. Agr. Jorge Horacio Schimpf**
Sec. de Académica: **Ing. Agr. Dante Hormigo**
Sec. de Administración: **Ing. Agr. Rodolfo Aguado**
Sec. de Extensión y Difusión: **Dra. Natalia Avila Carreras**
Sec. de Ciencia y Técnica: **MSc. Ing. Agr. Silvia del V. Abarza**

*Queda hecho el depósito
que marca la ley*
ISSN 2362-4035
Año 2017

Comité Editor:

Dr. Osvaldo H. Ahumada
Dra. Noemí Bejarano
MSc. Ing. Agr. Claudia Gallardo

Edición y Diseño:

D.G Marina Schimpf



Agraria es producida por la
Facultad de Ciencias Agrarias
de la Universidad Nacional de Jujuy
Alberdi N° 47 - C.P. 4600 - San Salvador de Jujuy

El presente volumen fue financiado
por la Facultad de Ciencias Agrarias

**AGRARIA agradece a los siguientes investigadores el arbitraje
de los artículos publicados en este tomo:**

Mg. Ing. Agr. Susana Álvarez

Dr. Osvaldo Ahumada

Mic. Gustavo Ancasi

Dra. Noemí Bejarano

Dra. Leonor Carrillo

Dra. Marcela De Paul

Dr. Leonardo Serio

Dra. María Inés Zamar

DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES HÍDRICAS PARA LAS PROVINCIAS DE JUJUY Y SALTA, A NIVEL DE ASOCIACIÓN DE SUELOS

WATER CONSTANTS DETERMINATION AT SOIL ASSOCIATION LEVEL IN JUJUY AND SALTA PROVINCES

Alabar F.¹, Hurtado R.¹, Arias P.², Mayo H.¹, Hormigo D.³, Moreno C.¹, Portal M.¹, Valdiviezo Corte M.¹, Spescha L.⁴ y Riquelme, A.¹

RESUMEN

Unas de las principales causas de la variación de los rendimientos de los cultivos, es la disponibilidad de agua en el suelo. A pesar de la importancia de la humedad del suelo para la estimación de los rendimientos, la determinación fiable de esta variable a escala regional, a través de mediciones puntuales convencionales, es compleja. Entre la información necesaria para la modelización del agua en el suelo, están las precipitaciones, la evapotranspiración y las constantes hidrológicas. La primera se la obtiene por mediciones de diferentes lugares, la segunda por estimaciones; mientras que al no disponer de mediciones de humedad edáfica in situ, las constantes hidrológicas del suelo se estiman a partir de datos de sus propiedades físicas. El objetivo del presente trabajo es determinar las constantes hidrológicas correspondientes a las asociaciones de suelos para las provincias de Jujuy y Salta. Para ello se ha utilizado el software SPAW, que posee ecuaciones de pedotransferencia y los valores de las propiedades físicas de los suelos. Las constantes hídricas estimadas a nivel de asociación, para las profundidades 30, 70, 100 cm y profundidad efectiva, expresan la gran variación edáfica que presentan los suelos en ambas provincias.

Palabras claves: Noroeste Argentino. Asociaciones. Constantes hídricas.

SUMMARY

Water availability in the soil is one of the main causes of crop yield variations. Despite the importance of soil moisture in yields estimations, the reliable determination of this regional scale variable through accurate conventional measurements, is complex. Rainfall, evotranspiration and hydrologic constants are among the information needed for soil water modelling. The first one is obtained from different places measurement, the second one from estimates; and as in situ soil moisture measurements are not available, soil water constants are estimated from their physical data. The aim of this study is to determine water constants corresponding to soil associations in Jujuy and Salta provinces. For this purpose, SPAW software, which has pedotransfer equations and soils physical properties values, was used. Water constants estimated at the association level, for the depths 30, 70, 100 cm and effective depth, show the great edaphic variation of soils in both provinces.

Key words: Argentine Northwest. Associations. Water constants.

INTRODUCCIÓN

El incremento en la demanda mundial de alimentos y energía, además de la adecuada distribución, es esencial para la seguridad alimentaria. Argentina es uno de los seis primeros productores mundiales de granos (PNUD, 2009), y al igual que en varios países, la principal causa de la oscilación en los rendimientos de los cultivos, es la dependencia con la variabilidad de la humedad del suelo, tanto para los que crecen con riego o sin él. Un elemento fundamental para apoyar las políticas de exportación e importación es la predicción del rendimiento. Una de las herramientas para éste proceso, es la determinación fiable de la humedad edáfica en diferentes escalas. En la escala regional, resulta complejo hacerlo a partir de mediciones puntuales convencionales. Estos métodos son caros y están disponibles en un número limitado de estaciones. Por otra parte, pueden existir elevadas incertidumbres debido a que muchos factores influyen en la variabilidad espacial de la humedad del suelo (Crow et al, 2005; Grayson y Western, 1998).

La información requerida por los modelos de balance hídrico es variable y depende de su complejidad (Antelo y Fernández Long, 2013), entre ellas están las propiedades físicas, biológicas e hídricas del suelo. La información básica sobre las primeras suele estar disponible, como es el caso de la composición granulométrica, el contenido de materia orgánica y la densidad aparente o la porosidad (Martínez Fernández y Ceballos Barbancho, 2001). Además son necesarias las precipitaciones, la evapotranspiración y las constantes hidrológicas. La primera, se obtiene por mediciones en diferentes lugares, la evapotranspiración, por estimaciones, mientras que al no disponer de mediciones de humedad del suelo *in situ*, las constantes hidrológicas se calculan a partir de sus propiedades físicas.

Las zonas productivas de mayor importancia de las provincias de Jujuy y Salta presentan un clima templado con una estación seca muy marcada. El régimen de precipitación es típicamente monzónico, donde el 80% o más de la precipitación se produce en el semestre cálido (octubre-marzo). En el semestre frío, queda distribuido el remanente (9 al 20 %).

Los principales cultivos en ambas provincias son: tabaco, caña azúcar, cítricos, soja, maíz y algunos frutales subtropicales. Dichas producciones repre-

sentan un porcentaje importante del PBI provincial. La mayor parte de la superficie cultivada se realiza bajo riego por las características climáticas de la región. En consecuencia, la estimación de la reserva de humedad de agua del suelo adquiere una importancia notoria.

En las últimas dos décadas se han desarrollado técnicas para la detección de la humedad del suelo basadas en el uso de sensores remotos (Batlivala y Ulaby, 1977; Chauhan *et al.*, 2003; Du *et al.*, 2000; Dubois *et al.*, 1995; Jackson *et al.*, 1977., 1996; Moran *et al.*, 1994; Sandholt *et al.*, 2002; Wang y Qu, 2009). Estos se apoyan en la información de bandas óptico-térmicas y de microondas del espectro electromagnético. Los sensores de microondas tienen la capacidad de monitorear en superficie (0-10 cm) bajo todas las condiciones meteorológicas, mientras que los sensores ópticos térmicos lo hacen sólo en condiciones de cielo despejado. La principal desventaja de los sensores pasivos de microondas es la resolución espacial, pero ésta es superada parcialmente con el uso de sensores de microondas activos, que tienen una mejor resolución (Mallick *et al.*, 2009).

Para estimar la disponibilidad de agua del suelo se utilizan constantes hídricas como la capacidad de campo (CC), punto de marchitez (PM) y, en función de ellas, el agua útil (AU) (Oszust *et al.*, 2010). CC y PM se obtienen por medición *in situ* o estimación a partir de sus propiedades físicas, que requieren de instrumental especializado o de procedimientos desarrollados en laboratorio, por lo que su determinación resulta costosa en tiempo y recursos.

Para ello, se han desarrollado funciones que relacionan las variables físicas del suelo con el contenido volumétrico de agua y los potenciales hídricos seleccionados (CC, PM o AU), las cuales se denominan ecuaciones de pedotransferencia (EPT) (Damiano y Taboada, 2000). Por ejemplo, Pineda y Vilorio (1997) en Venezuela, establecieron ecuaciones que estiman la CC y PM a partir de regresiones lineales, considerando una alternativa válida para estimar la retención de humedad del suelo. En Argentina, Damiano y Taboada (2000) realizaron estudios comparativos de EPT, demostrando que las mismas estiman aceptablemente los límites de retención de agua a partir de un mínimo de información disponible en la cartografía de suelo. Mastromauro (2014) evaluó las EPT desarrolladas desde el año 1979 hasta

1996, para estimar constantes hídricas en tres suelos de la provincia de Córdoba, determinando que para los límites inferiores y superiores de retención de agua en el suelo, las ecuaciones eran aceptables para condiciones a campo.

Correlaciones estadísticas entre la textura y el potencial hídrico del suelo, pueden proporcionar estimaciones lo suficientemente precisas para gestionar el uso del agua. Este estudio fue desarrollado por Saxton (2009) y consiste en EPT que incluyen más variables para su obtención que las determinadas en trabajos anteriores. El sistema predictivo fue programado en un modelo gráfico computarizado denominado SPAW (Suelo-planta-atmosfera-agua, Versión 6.02).

Alabar *et al.* (2014) determinaron las constantes hidrológicas para veinte asociaciones de suelos de los valles templados y cálidos de la provincia de Jujuy, utilizando el programa SPAW a partir de la información disponible en el Sistema de Información Geográfica adecuado por Osinaga y Paoli (2009), del estudio de "Los Suelos del NOA (Salta y Jujuy) de Nadir y Chafatinos, 1990".

En consecuencia, una alternativa a la escasez de información con mediciones directas, para representar la gran variabilidad espacial del contenido de agua en ambas provincias, son las EPT contenidas en el software SPAW.

El objetivo del presente trabajo es estimar las constantes hidrológicas correspondientes a las asociaciones de suelos, para las provincias de Jujuy y Salta, descriptas en el estudio de suelos mencionado precedentemente.

Esta información, junto con la precipitación y evapotranspiración, son fundamentales para sistematizar el uso del agua. Los resultados encontrados en este estudio servirán de base para el diseño de un aplicativo del Servicio Agroclimático de Jujuy (SIAJ) que permitirá estimar cada constante hídrica según su coordenada geográfica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La Figura 1, muestra la región en estudio correspondiente a las provincias de Jujuy y Salta, cuyas coordenadas geográficas extremas son: 21° 47' y 26° 24' S; y 62° 00' y 69° 30' W.

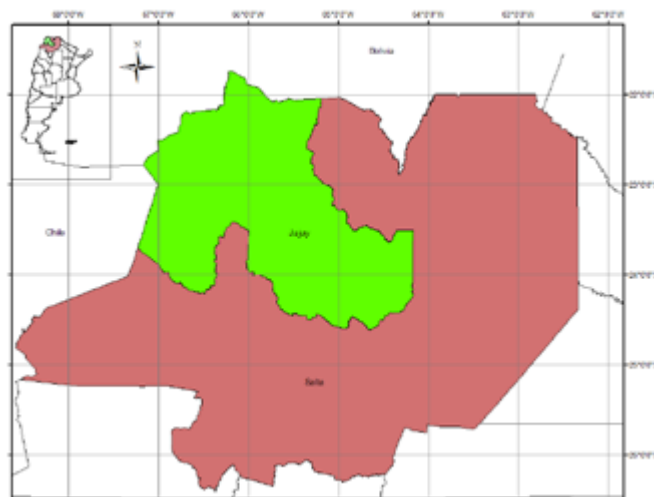


Figura 1: Región de estudio correspondiente a las provincias de Jujuy y Salta.

Las asociaciones para los suelos que se determinaron las constantes hidrológicas quedan diferenciadas en la figura 2, que corresponden al trabajo de Osinaga y Paoli (2009).

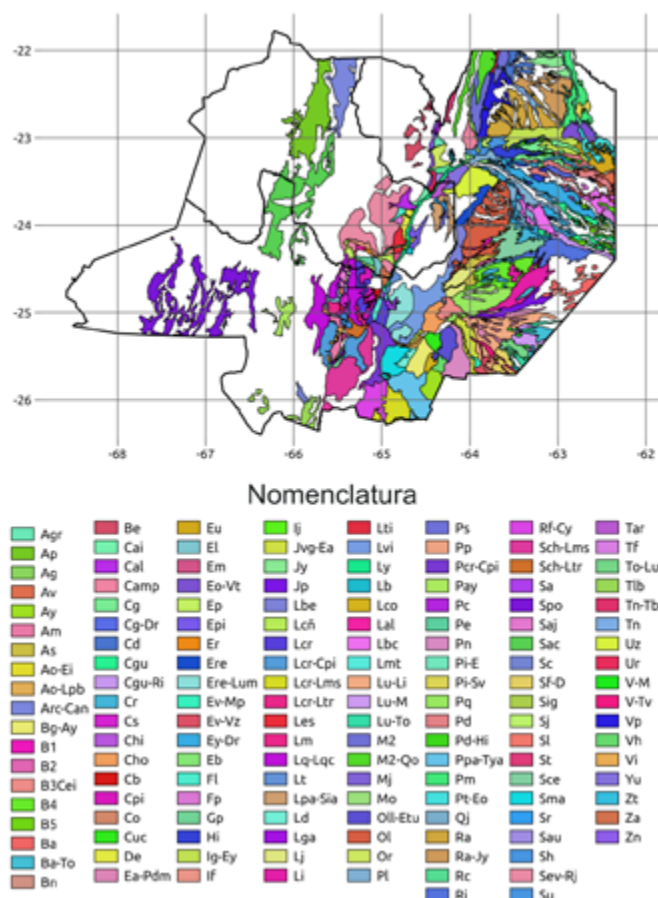


Figura 2: Asociaciones de suelo de las provincias de Jujuy y Salta clasificadas por Osinaga y Paoli, (2009) en las que se determinó las constantes hídricas.

Las asociaciones están representadas por series de suelos clasificadas como dominantes, subordinados e incluidos. La serie que interviene en un porcentaje igual o mayor al 60 % es dominante y le otorga el nombre a la Asociación. Cuando la representación es del 40%, se corresponde con suelos subordinados y consideran incluidos, cuando no superan más de un 15% (Osinaga y Paoli, 2009). Para el cálculo de las constantes hídricas se consideró la serie de suelo dominante de cada asociación y para su estimación se utilizaron los datos de porcentaje de arena, arcilla, materia orgánica y conductividad eléctrica ($dS \cdot cm^{-1}$), de cada horizonte.

Con el software SPAW (Versión 6.02; Saxton, 2009) se procedió al cálculo de las constantes CC y PM expresadas en porcentaje volumétrico.

Dada la variabilidad de la profundidad de muestreo de los perfiles (entre 30 y 220 cm) la lámina de agua (mm) se determinó para las profundidades de 30, 70, 100 cm y profundidad efectiva (profundidad hasta donde se pueden desarrollar las raíces de las plantas, determinado en el análisis de suelo). Los índices de compactación y porcentaje de grava se fijaron en uno y cero por ciento, respectivamente, debido a que no se disponía de dicha información.

La selección de la profundidad de 30 cm, se realizó debido a que la mayoría de los suelos de Quebrada y Puna se encuentran desarrollados hasta esa profundidad coincidiendo con la de mayor volumen radicular. Los 70 cm fueron seleccionados como profundidad media de desarrollo de los suelos de los valles templados y cálidos, y los 100 cm, porque es la requerida por la mayoría de los modelos de balance hidrológico utilizados para caracterizar, entre otras cosas, los diferentes tipos de clima (Burgos y Vidal, 1951, Vich et al, 2010).

A cada asociación le corresponde un grupo de tierra, identificado con cinco letras mayúsculas y combinaciones entre dos, que describen características de los grupos que la constituyen.

- Grupo A: constituyen áreas de primer orden para el desarrollo agrícola, con al menos 50% de la superficie cubierta por suelos de clase a (ligeras limitaciones de erosión, anegabilidad, drenaje y salinidad y/o sodicidad, fáciles de corregir) y el restante varía en su aptitud, lo que permite la implantación de un elevado número de cultivos con prácticas comu-

nes de manejos.

- Grupo B: son suelos caracterizados para el desarrollo agrícola como de segundo orden. El 50 % del área está cubierta por suelos de clase a, b (ligeras y eventualmente moderadas limitaciones que se corrigen con prácticas culturales sencillas) y c (limitaciones moderadas a algo severas, pero aún son arables) con dominancia del segundo. La implantación de un número elevado de cultivos se puede realizar con técnicas auxiliares de ingeniería de suelo.

- Grupo C: son áreas de tercer orden para el desarrollo agrícola. El 50 % de la superficie está representada por suelos de clase c. Lo cual implica un manejo especial con aplicaciones de tratamientos constantes e intensivos de tipo zonal (desagüe, drenaje etc.,).

- Grupo D: En general solo admiten una planificación pecuaria y forestal por las limitaciones que presentan los suelos. El grupo E: son suelos de clase e (severas limitaciones en el relieve, drenaje, erosión, anegamiento, profundidad efectiva, salinidad, sodicidad), que resultan no aptos para la agricultura (Osinaga y Paoli, 2009).

Los grupos que consideran combinaciones de letras (grupo B-C; C-D y D-E) presentan características de ambos. Por ejemplo, el grupo B-C considera que un 50 % de los suelos de la asociación constituyen áreas de segundo orden para el desarrollo agrícola. Está compuesto por suelos de las clases a, b y c, con dominancia de la clase b pero las prácticas de manejo deben ser especiales y aplicadas con tratamientos constantes e intensivos (Osinaga y Paoli, 2009).

RESULTADOS

Los datos de las constantes hídricas (CC, PM y AU) se agruparon por provincia, según la profundidad del perfil analizado (30, 70, 100 cm) y profundidad efectiva, (Cuadros 1, 2, 3, 4, 5 y 6)

En las figuras 3 y 4 se detallan las asociaciones que disponen de información de análisis de suelo de ambas provincias, para la determinación de las constantes.

Las áreas en blanco de las figuras corresponden a suelos que no poseen análisis físico-químico, o tienen

severas limitaciones para la agricultura o presentan limitaciones para la estimación de las constantes con el software SPAW. Entre las principales restricciones para la agricultura, se encuentran las asociaciones que tienen series de suelos dominantes con afloramientos (Af) como rocas volcánicas del tipo dacitas, andesitas, rocas piroclásticas (tobas e ignimbritas), rocas sedimentarias (areniscas, areniscas silificadas, limolitas, conglomerados,

pizarras, etc), y algunos sedimentos marinos.

De las 170 asociaciones clasificadas por Osinaga y Paoli (2009), se determinó las constantes hídricas de 102, debido a las limitaciones ya mencionadas. 42 asociaciones (con asterisco en todos los cuadros) fueron estimadas a partir de información de Nadir y Chafatino (1995), que no estaban disponibles en Osinaga y Paoli (2009).

Cuadro 1. Asociaciones, nomenclaturas y constantes hídricas (CC, PM y AU) para 30 y 70 cm de la provincia de Jujuy.

Asociación	Nomenclatura	Constantes Hídricas (mm)						Grupo
		CC (30 cm)	PM (30 cm)	AU (30 cm)	CC (70 cm)	PM (70 cm)	AU (70 cm)	
Abra Pampa	(Ap)	85	56	29	153	94	59	B
Arroyo Colorado - Cangrejillos	(Arc-Can)	105	65	40	S/D	S/D	S/D	D
San Antonio de los Cobres*	(Sac)	47	26	22	S/D	S/D	S/D	D
Barro Negro	(Bn)	118	69	48	265	155	110	B
Caimancito	(Cai)	63	22	41	177	85	92	B
Callegua	(Cal)	41	12	29	S/D	S/D	S/D	B
Don Enrique	(De)	80	44	36	166	85	81	D
El Milagro	(El)	48	15	34	115	39	76	B
El Mollar	(Em)	59	29	30	124	58	66	B
El Paño	(Ep)	97	40	57	276	171	106	C
El Piquete	(Epi)	71	31	41	185	87	98	A
El Remate	(Er)	92	44	48	253	151	102	C
Florencia	(Fl)	83	40	43	203	110	93	B
Fraile Pintado	(Fp)	70	27	43	169	71	98	B
La Cañada	48	29	19	94	51	43	C
La Cruz	(Lcr)	93	33	60	231	101	130	E
La Esperanza	(Les)	83	38	44	172	82	90	E
La Quesera - La Quesera Chica	(Lq-Lqc)	96	42	54	188	85	103	B
Lapachal - Siete Aguas	(Lpa-Sia)	59	28	31	124	56	68	E
Lavayén	(Ly)	100	34	66	232	84	148	D
Lobatón	(Lb)	52	18	34	114	40	75	C
Los Alisos	(Lal)	81	39	42	201	104	97	A
Monterrico	(Mo)	70	33	37	156	79	78	B
Palma Sola	(Ps)	44	14	30	104	34	71	A
Palpalá	(Pp)	99	50	50	238	127	112	B
Perico	(Pe)	77	31	46	185	79	106	B
San Alejo	(Saj)	107	67	40	254	162	92	C
Santa Rita*	(Sr)	79	46	33	198	119	79	D
Sevengual - Río Jordán*	(Sev-Rj)	89	47	41	202	111	91	D
Talar*	(Tar)	71	10	62	180	26	154	C
Urizar*	(Uz)	78	40	38	167	78	89	A
Yuchán*	(Yu)	78	37	41	S/D	S/D	S/D	C
Zapallar*	(Za)	125	87	38	258	173	84	C
Promedio		78	38	41	186	93	93	

S/D: Profundidad de la asociación, sin datos de análisis de suelo.

*: Limitaciones del Software para estimar las constantes hídricas en mayor profundidad.

Cuadro 2. Asociaciones, nomenclaturas y constantes hídricas (CC, PM y AU) para 100 cm de la provincia de Jujuy.

Asociación	Nomenclatura	Constantes Hídricas			Grupo
		CC (100 cm)	PM (100 cm)	AU (100 cm)	
Abra Pampa	(Ap)	256	165	91	B
Barro Negro	(Bn)	373	217	156	B
Caimancito	(Cai)	267	136	131	B
El Milagro	(El)	145	48	97	B
El Mollar	(Em)	166	76	90	B
El Paño	(Ep)	378	225	153	C
El Piquete	(Epi)	254	117	137	A
El Remate	(Er)	357	213	144	C
Florencia	(Fl)	286	156	129	B
Fraile Pintado	(Fp)	241	105	136	B
La Cañada	(Lcñ)	114	58	56	C
La Cruz	(Lcr)	335	153	183	E
La Esperanza	(Les)	239	115	125	E
La Quesera - La Quesera Chica	(Lq-Lqc)	232	106	126	B
Lapachal - Siete Aguas	(Lpa-Sia)	166	74	92	E
Lobatón	(Lb)	164	56	108	C
Los Alisos	(Lal)	253	131	122	A
Palma Sola	(Ps)	146	46	100	A
Palpalá	(Pp)	350	190	160	B
Perico	(Pe)	254	106	148	B
San Alejo	(Saj)	365	235	130	C
Talar*	(Tar)	289	80	208	C
Urizar*	(Uz)	221	93	128	A
Sevengual -Rio Jordán*	(Sev-Rj)	289	160	128	D
Promedio		256	128	128	

*: Limitaciones del Software para estimar las constantes hídricas en mayor profundidad.

Cuadro 3. Asociaciones, nomenclaturas y constantes hídricas (CC, PM y AU) para la profundidad efectiva de la provincia de Jujuy.

Asociación	Nomenclatura	Prof. Efectiva (cm)	Constantes Hídricas (mm)			Grupo
			CC	PM	AU	
Abra Pampa	(Ap)	100	256	165	91	B
Arroyo Colorado - Cangrejillos	(Arc-Can)	40	135	83	52	D
San Antonio de los Cobres *	(Sac)	30	47	26	22	D
Barro Negro	(Bn)	100	373	217	156	B
Caimancito	(Cai)	100	267	136	131	B
Calilegua	(Cal)	35	47	14	33	B
Don Enrique	(De)	40	101	54	47	D
El Milagro	(El)	100	145	48	97	B
El Mollar	(Em)	100	166	76	90	B
El Paño	(Ep)	70	276	171	106	C

El Piquete	(Epi)	100	254	117	137	A
El Remate	(Er)	70	253	151	102	C
Florencia	(Fl)	100	286	156	129	B
Fraile Pintado	(Fp)	100	241	105	136	B
La Cañada	(Lcñ)	70	94	51	43	C
La Quesera - La Quesera Chica	(Lq-Lqc)	100	232	106	126	B
Lavayén	(Ly)	40	134	47	87	D
Lobatón	(Lb)	70	114	40	75	C
Los Alisos	(Lal)	100	253	131	122	A
Monterrico	(Mo)	90	194	99	95	B
Palma Sola	(Ps)	100	146	46	100	A
Palpalá	(Pp)	100	350	190	160	B
Perico	(Pe)	100	254	106	148	B
San Alejo	(Saj)	70	254	162	92	C
Santa Rita*	(Sr)	40	108	64	44	D
Sevengüial -Rio Jordán*	(Sev-Rj)	40	115	62	53	D
Talar*	(Tar)	70	180	26	154	C
Urizar*	(Uz)	100	221	93	128	A
Yuchán*	(Yu)	56	153	74	80	C
Zapallar*	(Za)	70	258	173	84	C
Promedio		77	197	100	97	

*: Limitaciones del Software para estimar las constantes hídricas en mayor profundidad.

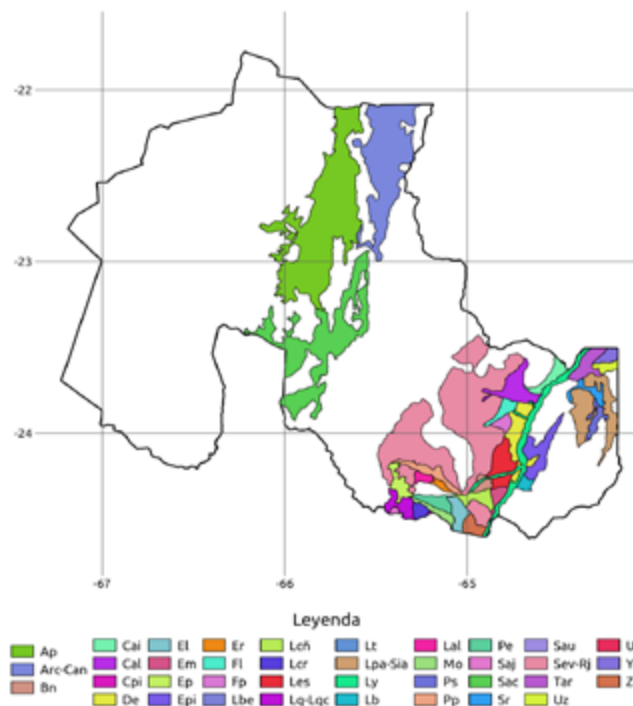


Figura 3. Asociaciones de suelo de la provincia de Jujuy con información disponible para la determinación de las constantes hídricas.

En las figuras 5, 6, 7 y 8 (Anexo), y los cuadros 1, 2 y 3, muestran la distribución de la capacidad de campo para las profundidades de 30, 70, 100 cm y profundidad efectiva respectivamente, en la provincia de Jujuy. Se observa que la retención de agua es diferente para cada asociación de suelo (Oszust *et al.*, 2010). La mayor CC a los 30 cm, se encuentra en la región de Valles Templados al sur de la provincia, en suelo de clase C correspondientes a la Asociación Zapallar (Za) con 125 mm. A 70 cm la CC es de 276 mm en suelos de clase C de la Asociación El Paño (Ep), situada en parte del departamento San Antonio y a 100 cm esta constante es de 378 mm. El valor extremo de CC a profundidad efectiva (100 cm) se ubica en suelo de clase B en la Asociación Barro Negro (Bn), departamento San Pedro, con 373 mm.

Las menores retenciones corresponden para las profundidades de 30 cm y efectiva (35 cm) con 41 y 47 mm respectivamente, en suelos de clase B de la Asociación Calilegua (Cal). La menor CC para las profundidades de 70 y 100 cm, se comparte en

la Asociación La Cañada (Lcñ) con 94 y 114 mm respectivamente, en suelos de clase C.

Con respecto al agua útil, los valores extremos para los 30 cm, corresponden a la Asociación Lavayén (Ly) con 66 mm, en suelos de clase D, la cual se ubica al borde del río del mismo nombre. Los valores extremos para 70 y 100 cm, se encuentran en suelos de clase C de la Asociación Talar (Tar), con 154 y 208 mm respectivamente. El mayor valor de agua útil para la profundidad efectiva (100 cm) corresponde a la Asociación Palpalá (Pp) de suelo de clase B, con 160 mm.

La Asociación La Cañada (Lcñ) presenta los menores valores de agua útil para 30, 70 y 100 cm, con 19, 43 y 56 mm respectivamente, mientras que para la profundidad efectiva (30 cm) el menor valor de agua útil corresponde a la Asociación San Antonio de los Cobres (Sac), con 22 mm, en suelos de clase D.

Cuadro 4. Asociaciones, nomenclaturas y constantes hídricas (CC, PM y AU) para 30 y 70 cm de la provincia de Salta.

Asociación	Nomenclatura	Constantes Hídricas						Grupo
		CC (30 cm)	PM (30 cm)	AU (30 cm)	CC (70 cm)	PM (70 cm)	AU (70 cm)	
Abra Grande	(Agr)	70	36	34	136	65	72	B
Aguay	(Ag)	57	24	33	133	60	74	B
Alto verde	(Av)	59	26	33	166	86	80	A
Amasuyo	(Ay)	88	34	54	154	47	107	D
Ampascachi	(Am)	53	20	33	111	43	68	C
Apolinario Saravia	(As)	37	17	20	85	38	48	B
Arrocera El Pantanillo	(Ao-Ei)	73	39	34	117	57	59	C
Arrocera La Población	(Ao-Lpb)	73	39	34	117	57	59	C
Bajo Grande Amasuyo	(Bg-Ay)	106	59	48	264	162	102	D
Bañados 1	(Bñ1)	115	66	50	262	139	123	D
Bañados 2	(Bñ2)	115	66	50	262	139	123	D
Bañados 3	(Bñ3)	115	66	50	262	139	123	D
Bañados Ceibalito	(Bñ3-Cei)	115	66	50	262	139	123	D
Bañados 4	(Bñ4)	115	66	50	262	139	123	D
Bañados 5	(Bñ5)	115	66	50	262	139	123	D
Barilari	(Ba)	85	40	45	181	79	102	C
Barilari-Tolloche	(Ba-To)	85	40	45	181	79	102	C
Bermejo	(Be)	50	22	28	117	54	62	C
Campichuelo	(Cam)	91	53	38	218	104	115	C
Campo Argentino	(Cg)	64	33	31	181	105	77	A
Campo Argentino Dragones	(Cg-Dr)	64	33	31	181	105	76	A
Campo Durán	(Cd)	63	29	34	151	78	74	B

Campo General Güemes	(Cgu)	101	39	62	238	97	141	C
Campo Gral. Güemes Rivadavia	(Cgu-Ri)	101	39	62	238	97	141	C
Campo Redondo	(Cr)	78	40	38	164	74	90	A
Cerrillos	(Cs)	72	35	37	184	98	86	C
Chicoana	(Chi)	82	37	45	S/D	S/D	S/D	B
Chorroarín	(Cho)	59	28	31	153	76	76	C
Cobo	(Cb)	65	29	36	130	60	70	B
Corral de Piedra	(Cpi)	59	30	29	154	81	73	D-E
Corralito	(Co)	99	50	49	254	149	105	C
Curú Curú	(Cuc)	75	41	34	155	84	70	B
El Arenal Puesto del Medio	(Ea-Pdm)	42	20	23	96	45	52	B
El Cruce	(Eu)	107	46	61	251	112	139	A
El Milagro	(El)	48	15	34	115	39	76	B
El Moro-Vuelta los Tobas	(Eo-Vt)	82	30	52	193	72	121	B
El Paño	(Ep)	97	40	57	278	170	108	C
El Rey	(Ere)	92,4	45,3	47,1	S/D	S/D	S/D	E
El Rey-Lumbreras	(Ere-Lum)	92,4	45,3	47,1	S/D	S/D	S/D	E
El Vencedor Macapillo	(Ev-Mp)	103	49	54	257	146	110	D
El Vencedor Vizcachera	(Ev-Vz)	103	49	54	257	146	110	D
El Yacón Dragones	(Ey-Dr)	125	87	38	288	196	91	E
Embarcación	(Eb)	106	53	53	S/D	S/D	S/D	C
Guachipas	(Gp)	110	56	55	256	130	125	C
Güemes	(Gü)	104	53	51	241	124	116	A
Hickmann	(Hi)	85	44	41	178	85	94	A
Iguana El Yacón	(Ig-Ey)	86	43	43	190	117	73	D
Infierno	(If)	88	23	66	190	44	146	C
Ingeniero Juárez	(Ij)	67	28	39	163	70	94	C
Joaquín V. González El Arenal	(Jvg-Ea)	90	33	57	197	68	129	A
Joyín	(Jy)	119	70	48	284	177	107	B-C
Jumi Pozo	(Jp)	49	22	27	89	39	50	C
La Bebida	(Lbe)	98	56	42	202	113	90	B-C
La Cruz	(Lcr)	93	33	60	231	101	130	E
La Cruz-Corral de Piedra	(Lcr-Cpi)	93	33	60	231	101	130	E
La Cruz-La Mesada	(Lcr-Lms)	93	33	60	231	101	130	E
La Cruz-La Troja	(Lcr-Ltr)	93	33	60	231	101	130	E
La Merced	(Lm)	53	21	32	134	56	78	B
La Quesera La Quesera Chica	(Lq-Lqc)	96	42	54	188	85	103	B

La Trampa	(Lt)	27	10	17	S/D*	S/D*	S/D*	B
LapachaSiete Aguas	(Lpa-Sia)	59	28	31	124	56	68	E
Las Delicias	(Ld)	87	33	54	182	69	114	A
Las Garzas	(Lga)	62	31	30	132	68	63	C-D
Las Lajitas	(Lj)	79	40	39	217	125	92	B
Las Lianas	(Li)	112	61	50	255	154	101	D
Las Viboras	(Lvi)	49	20	30	96	38	59	E
Lavayén	(Ly)	100	34	66	232	84	148	D
Lomas Coloradas	(Lco)	47	19	28	108	41	67	E
Los Blancos	(Lbc)	102	44	58	S/D	S/D	S/D	C
Los Matos	(Lmt)	83	37	46	195	85	109	B
Luján-Las Lianas	(Lu-Li)	68	21	47	162	45	116	B-C
Luján-Mayo	(Lu-M)	68	21	47	162	45	116	B-C
Luján-Tolloche	(Lu-To)	68	21	47	162	45	116	B-C
Madrejones 2	(M2)	95	44	51	262	161	101	E
Madrejones 2 -Quijarro	(M2-Qo)	95	44	51	262	161	101	E
Mojotoro	(Mj)	59	19	40	S/D	S/D	S/D	NC
Olleros·El Tunal	(Oll-Etu)	74	33	41	186	89	97	B-C
Olmedo	(Ol)	60	32	27	133	69	64	B
Orán	(Or)	58	23	35	S/D	S/D	S/D	B
Padre Lozano	(Pl)	93	49	44	239	129	110	B
Paso de la CruzCorral de Piedra	(Per-Cpi)	113	69	44	275	176	99	D
Payogasta	(Pay)	41	19	22	95	50	45	D
Peña Colorada	(Pc)	62	25	37	142	63	79	B
Pilancho	(Pn)	61	23	37	126	45	82	A
Pin PinEl Ñato	(Pi-Eñ)	111	54	57	254	126	128	D
Pin PinSanta Victoria	(Pi-Sv)	111	54	57	254	126	128	D
Piquete Cavado	(Pq)	108	60	48	241	127	113	B
Pluma de Pato	(Pd)	51	8	43	73	13	60	D
Pluma de Pato- Hickmann	(Pd-Hi)	51	8	43	73	13	60	D
Puente de Plata - Taco Yala	(Ppa-Tya)	97	32	64	209	65	144	B
Puesto Monteagudo	(Pm)	113	54	59	258	124	135	B

Puesto Trampeadero - El Moro	(Pt-Eo)	85	34	51	196	77	119	B
Ranchos	(Ra)	67	31	37	167	82	85	A
Ranchos-Joyín	(Ra-Jy)	67	31	37	167	82	85	A
Río Colorado	(Rc)	114	80	34	S/D	S/D	S/D	B
Rivadavia	(Ri)	106	55	51	239	125	114	D
Rosario de la Frontera - Chillyaco	(Rf-Cy)	102	51	50	235	124	111	C
SachaLa Troja*	(Sch-Ltr)	76	33	42	164	81	83	E
SachaLa Mesada*	(Sch-Lms)	76	33	42	164	81	83	E
Saladillo	(Sa)	79	25	53	S/D	S/D	S/D	B
Salar Pocitos	(Spo)	47	29	18	S/D	S/D	S/D	D
San Alejo	(Saj)	107	67	40	254	162	92	C
San Antonio de los Cobres*	(Sac)	47	26	22	S/D	S/D	S/D	D
San Carlos*	(Sc)	69	39	30	164	93	71	B-C
San Felipe-Desvio*	(Sf-D)	53	30	23	116	62	54	C
San Ignacio*	(Sig)	41	15	26	99	38	61	B
San José*	(Sj)	16	3	13	S/D	S/D	S/D	C
San Lorenzo*	(Sl)	95	47	48	263	164	100	C
San Telmo*	(St)	87	37	50	185	78	107	B
Santa Cecilia*	(Sce)	30	5	26	69	14	56	C-D
Santa María*	(Sma)	83	42	41	170	85	85	C
Saucelito*	(Sau)	93	34	60	218	79	139	C
Senda Hanchada*	(Sh)	127	83	43	296	194	102	D
Sumalao*	(Su)	73	31	42	181	81	100	C
Talar*	(Tar)	71	10	62	180	26	154	B
Teniente Fraga*	(Tf)	101	57	44	249	159	90	D
Tolloche-Luján*	(To-Lu)	41	14	27	112	33	80	B
Tolombon*	(Tlb)	14	1	13	S/D	S/D	S/D	D-C
Tonono*	(Tn)	42	15	26	67	24	43	D
TononoTobantirenda*	(Tn-Tb)	78	19	60	177	34	143	C
Urizar*	(Uz)	78	40	38	167	78	89	A
Urundel*	(Ur)	108	64	44	256	155	101	B
Valle-Mayo*	(V-M)	139	102	37	326	239	86	D
Valle-Talavera*	(V-Tv)	139	102	37	326	239	86	D
Vespucio*	(Vp)	63	26	37	159	71	88	B
Vinal Huacho*	(Vh)	89	46	44	220	119	101	C
Viñaco*	(Vi)	39	5	34	97	13	84	C
Yuchán*	(Yu)	78	37	41	S/D	S/D	S/D	C

Zanja del Tigre*	(Zt)	46	18	29	128	52	76	B
Zapallar*	(Za)	125	87	38	258	173	84	C
Zenta*	(Zn)	63	22	41	174	81	93	C
Promedio		80	38	42	190	94	96	

*: Limitaciones del Software para estimar las constantes hídricas en mayor profundidad.

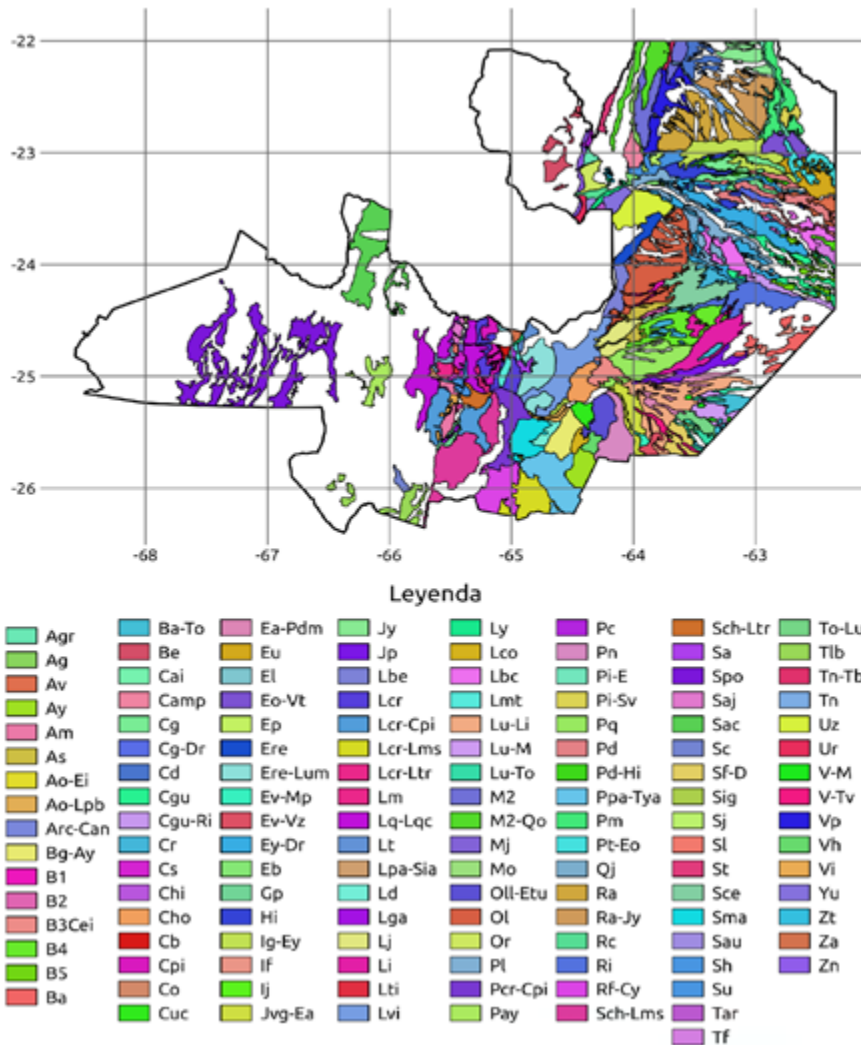


Figura 4. Asociaciones de suelo de la provincia de Salta con información disponible para la determinación de las constantes hídricas.

Las figuras 9, 10, 11 y 12 (Anexo), y cuadros 4, 5 y 6, muestran la distribución de la capacidad de campo para las profundidades de 30, 70, 100 cm y profundidad efectiva respectivamente, en la provincia de Salta.

Los valores extremos de capacidad de campo para los 30 y 70 cm, se sitúan en suelos de grupo D de las Asociaciones Valle-Mayo (V-M) y Valle-Talavera (V-M), con 139 y 326 mm, respectivamente. La

mayor C.C a un metro, se ubica en suelos de grupo D de la Asociación Senda Hanchada (Sh) con 428 mm. A una profundidad efectiva de un metro, el valor extremo de CC, se encuentra en suelos de grupo B de la Asociación Puesto Monteagudo (Pm), con 354 mm.

La menor retención de agua del suelo, para las profundidades de 70 y 100 cm, se presenta en suelos de grupo D de la Asociación de Tonono (Tn) con

67 y 86 mm, respectivamente. Los menores valores de CC a 30 cm y profundidad efectiva (5 cm), se ubican en suelos de grupo D-C y C de las Asociaciones Tolombón (Tlb) y Quijano (Qj), con valores de 14 y 15 mm, respectivamente.

La Asociación Puente de Plata-Taco Yala (Ppa-Tya) presenta los mayores valores de agua útil a 100 cm con 209 mm, en suelos de grupo B. En Salta, el mayor valor de A.U. para la profundidad de 30 cm, se encuentra en suelos de grupo D de la Asociación Lavayén (Ly) con 66 mm, mientras que para la profundidad de 70 cm el mayor valor corresponde a suelos de grupo B de la Asociación Talar (Tar), con 154 mm.

Las Asociaciones Tonono (Tn) y La Cañada (Lcñ), suelos de grupo D y C respectivamente, presentan los menores valores de agua útil, con 43 mm a 70 cm de profundidad, mientras que el menor valor de AU para 30 cm, se ubica en las asociaciones de Tolombón* (Tlb) y San Jose (Sj) con 13 mm, en suelos de grupo D-C y C, respectivamente.

La Asociación Tonono (Tn) con suelos de grupo D, presenta el menor valor de agua útil con 55 mm, a una profundidad de 100 cm; mientras que para la profundidad efectiva (5 cm), el menor valor se ubica en la Asociación Quijano (Qj), con 10 mm.

En los cuadros 1, 2, 3, 4, 5 y 6, se presentan además los valores promedios de constantes hídricas para las diferentes profundidades estudiadas, los cuales presentan variaciones a los 30 cm de 78 mm para Jujuy, y 80 mm en la provincia de Salta. A los 70 cm la capacidad de almacenamiento promedio del suelo es de 186 mm en Jujuy, y de 190 mm en Salta, y para el metro la CC promedio de Salta es mayor (259 mm), mientras que en Jujuy a la misma profundidad es de 256 mm.

Con respecto al punto de marchitez en Jujuy y Salta, los valores promedios no muestran gran variación para las profundidades de 30, 70 y 100 cm (38-30; 93-94; 128-125, respectivamente). La profundidad efectiva promedio para la provincia de Jujuy es de 77 cm, y para Salta 68 cm con valores de 100 y 83 mm de punto de marchitez, respectivamente.

CONCLUSIÓN

Los valores promedios de CC, no presentan grandes diferencias a las profundidades de 30, 70 y 100 cm, y varían entre 78-80, 186-190 y 256-259 mm, para la provincia de Jujuy y Salta, respectivamente.

La profundidad efectiva media en Jujuy es superior a la de Salta. Ello estaría relacionado fundamentalmente por la variabilidad de suelos analizados en esta última provincia. En Jujuy, la mayor proporción de suelos considerados en este estudio corresponden a la Región de Valles Templados y Subtropicales, lo cual le confiere una mayor homogeneidad a las constantes hídricas estimadas. Es así que los valores promedios de CC, se encuentra entre 197 y 173 mm para las profundidades medias de 77 y 68 cm, respectivamente.

El agua útil media acumulada a 30, 70 y 100 cm es de 41-42, 93-96 y 128-135 mm, para la provincia de Jujuy y Salta, respectivamente.

Las constantes hídricas estimadas a nivel de asociación, expresan la gran variación edáfica que presentan los suelos en ambas provincias. A partir de las constantes hídricas obtenidas, y con los datos de evapotranspiración, precipitaciones y la metodología del balance hídrico, será posible realizar un seguimiento de la evolución de agua del suelo en Jujuy y Salta.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en el marco del Proyecto Sector de la UNJu. Estimación del agua en el suelo para las provincias de Jujuy y Salta con sensores remotos, y programa de Beca estímulo a la vocación científica 2015.

BIBLIOGRAFÍA

- Alabar, F.; Hurtado, R.; Arias, P.; Valdiviezo Corte, M.; Moreno, C.; Mayo, H.; Portal, M.; Riquelme, A. 2014. Determinación de las constantes hídricas de los suelos de los valles templados y cálidos de Jujuy. Acta de Reunión Binacional Uruguay - Argentina de Agrometeorología y XV Reunión Argentina de Agrometeorología. Piriápolis, Uruguay. Pág: 103-104.

- Antelo, M.R.; Fernández Long, M.E. 2013. Caracterización agroclimática del agua en el suelo en Buenos Aires y Patagonia. Consultado en: http://www.ina.gov.ar/pdf/ifrrhh/03_026_Antelo.pdf. Fecha de consulta: 20/04/2016.
- Batlivala, P.P.; Ulaby, F.T. 1977. Feasibility of monitoring soil moisture using active microwave remote sensing. University of Kansas Center for Research, Inc., Remote Sensing Laboratory Technical Report No. 264-12.
- Burgos, J. J.; Vidal, A. L. 1951. "Los climas de la República Argentina, según la nueva clasificación de Thornthwaite". Serie agroclimática. Publ. N° 3, 32 págs. Servicio Meteorológico Nacional. Buenos Aires.
- Chauhan, N.S.; Miller, S., Ardanuy, P., 2003. Spaceborne soil moisture estimation at high resolution: a microwave optical/IR synergistic method. *Int. J. Remote Sens.* 24 (22), 4599–4622.
- Crow, W.T.; Ryu, D.; Famiglietti, J.S., 2005. Upscaling of field-scale soil moisture measurements using distributed land surface modelling. *Adv. Water Resour.* 28, 1–14.
- Damiano, F.; Taboada, M.A. 2000. Predicción del agua disponible usando funciones de pedotransferencia en suelos Agrícolas de la Región Pampeana. *Revista de la Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo.* Vol. 18, N° 2: 77-88.
- Du, Y.; Ulaby, F.T.; Dobson, M.C. 2000. Sensivity to soil moisture by active and passive microwave sensors. *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.* 38 (1), 105–113.
- Dubois, P.C.; Zyl, J.; Engman, T. 1995. Measuring soil moisture with imaging radars. *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.* 33 (4), 915–926.
- Grayson, R.B.; Western, A.W. 1998. Towards areal estimation of soil water content from point measurement: time and space stability of mean response. *J. Hydrol.* 207, 68–82.
- Jackson, R.D.; Reginato, R.J.; Idso, S.B. 1977. Wheat canopy temperature: a practical tool for evaluating water requirements. *Water Resour. Res.* 13, 651–656.
- Jackson, T.J.; Schmugge, T.J.; Wang, J.R. 1982. Passive microwave sensing of soil moisture under vegetation canopies. *Water Resour. Res.* 18, 1137–1142.
- Jackson, T.J.; Schmugge, J.; Engman, E.T. 1996. Remote sensing applications to hydrology: soil moisture. *J. Hydrol. Sci.* 41 (4), 517–529.
- Mallick, K.; Battacharya, B.K.; Patel, N.K. 2009. Estimating volumetric surface moisture content for cropped soils using a soil wetness index based on surface temperature and NDVI. *Agricultural and Forest Meteorology.* Consultado en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168192309000574>. Fecha consultada: 22/06/2016.
- Martínez Fernández, J.; Ceballos Barbancho, A. 2001. Estimación de propiedades hídricas de los suelos mediante el uso de funciones de edafo-transferencia. Consultado en http://abe.ufl.edu/carpena/files/pdf/zona_no_saturada/temas_de_investigacion_v5/11.pdf. Fecha de consulta: 19/05/2016.
- Mastromauro, M. 2014. Evaluación de funciones de pedotransferencia para la estimación de constantes hídricas en tres suelos del Centro de la provincia de Córdoba, Argentina. Trabajo Final para optar al grado académico de Especialista en Producción de Cultivos Extensivos. Consultado en: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/1547>. Fecha de consulta: 20/05/2016.
- Moran, M.S., Clarke, T.R., Inoue, Y., Vidal, A. 1994. Estimating crop water deficit using the relation between surface-air temperature and spectral vegetation index. *Remote Sens. Environ.* 49, 246–263.
- Nadir, A.; Chafatinos, T. 1990. Los Suelos del NOA (Salta y Jujuy). Tomo I (86 pág.) y Tomo II (123 pág.). Ed. UNSa. Ciudad de Salta.
- Nadir, A.; T. Chafatinos. 1995. Los suelos del NOA (Salta y Jujuy). Tomo I (428 pág.). Ed. UNSa. Ciudad de Salta.
- Osinaga, R.; Paoli, H. 2009. Adecuación a un Sistema de Información Geográfica del estudio de "Los Suelos del NOA (Salta y Jujuy) Nadir y

Chafatinos, 1990". Consultado en: <http://inta.gov.ar/documentos/adequacion-a-un-sistema-de-informacion-geografica-del-estudio-los-suelos-del-noa-salta-y-jujuy-nadir-a.-chafatinos-t.-1990/>. Fecha de consulta: 01/01/2016.

- Oszust, J.D.; Wilson M.G.; Sasal M.C. 2010. Obtención del punto de marchitez permanente para el cálculo de agua útil para trigo y soja en suelos molisol y vertisol. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. E.E.A. Paraná. Consulta en: <http://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-obtencion-punto-de-marchitez-permanente-para-clcu.pdf>. Fecha de consulta: 30/04/2016.

- Pineda, C.; Viloria, J. 1997. Funciones de pedotransferencia para estimar la retención de humedad en suelos de la cuenca del lago de Valencia. Revista de la Sociedad Venezolana de la Ciencia del Suelo y del Instituto de Edafología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. Vol. 5, N° 1 y 2: 39-45.

- PNUD (United Nations Development Programme). 2009. Caracterización de la producción agrícola en Argentina frente al cambio climático. Consultado en: <http://www.undp.org.ar/docs/prensa/brief-06-cambios.pdf>. Fecha de consulta: 12/06/2016.

- Sandholt, I.; Rasmussen, K.; Andersen, J. 2002. A simple interpretation of the surface temperature/vegetation index space for assessment of surface moisture status. Remote Sens. Environ. 79 (2-3), 213–224.

- Saxton, K. 2009. Soil-Plant- Atmosphere-Water Field & Pond hidrology. USDA. Agricultural Research Service. Consultado en: <http://ars.usda.gov/ba/anri/hrsl/ksaxton>. Fecha de consulta: 24/12/2015.

- Servicio de información agroclimática de Jujuy (SIAJ). En: <http://www.siaj.fca.unju.edu.ar/>.

- Vich H., Antello M. Y Hurtado R. 2010. Clasificación climática de Thornthwaite para la región oriental de la República Argentina. Actas de la XIII Reunión Argentina y VI Latinoamericana de Agrometeorología. Bahía Blanca. Argentina. ISBN: 978-987-26317-0-3.

- Wang, L.; Qu, J.J. 2009. Satellite remote sensing applications for surface soil moisture monitoring: a review. Front. Earth Sci. China 3 (2), 237–247.

ANEXO

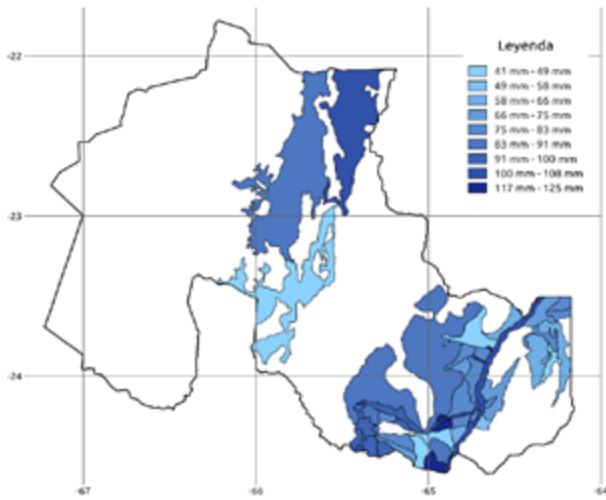


Figura 5. Distribución espacial de la capacidad de campo (milímetros) para la profundidad de 30 centímetros, de las asociaciones de suelos analizadas en la provincia de Jujuy.

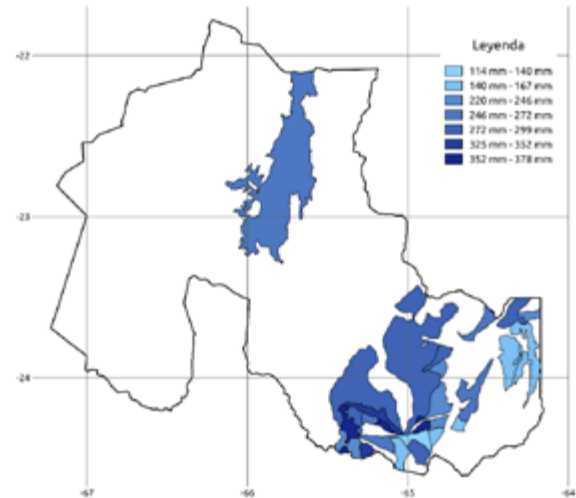


Figura 7. Distribución espacial de la capacidad de campo (milímetros) para la profundidad de un metro, de las asociaciones de suelos analizadas en la provincia de Jujuy.

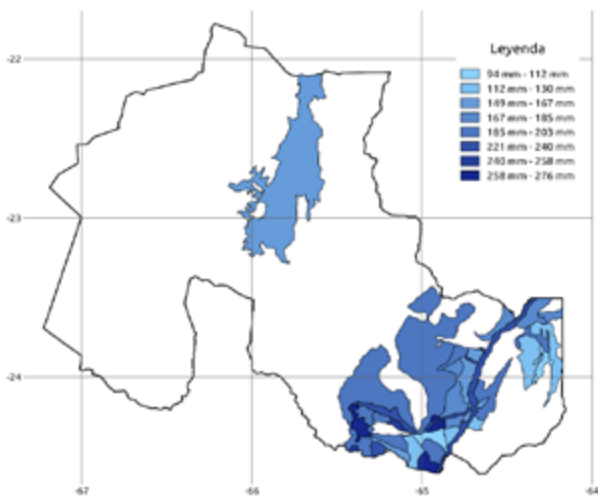


Figura 6. Distribución espacial de la capacidad de campo (milímetros) para la profundidad de 70 centímetros, de las asociaciones de suelos analizadas en la provincia de Jujuy.

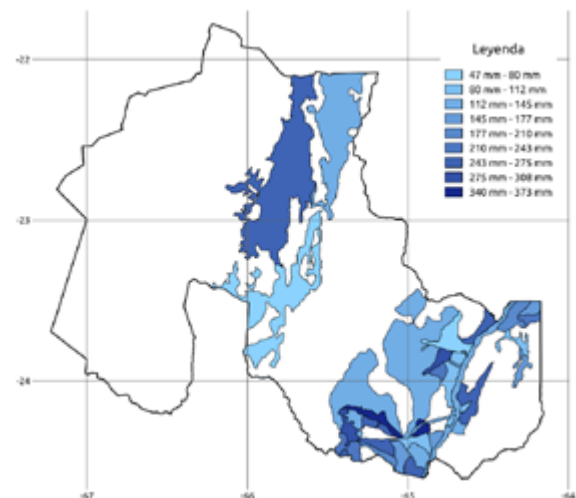


Figura 8. Distribución espacial de la capacidad de campo (milímetros) para la profundidad efectiva del suelo, de las asociaciones de suelos analizadas en la provincia de Jujuy.

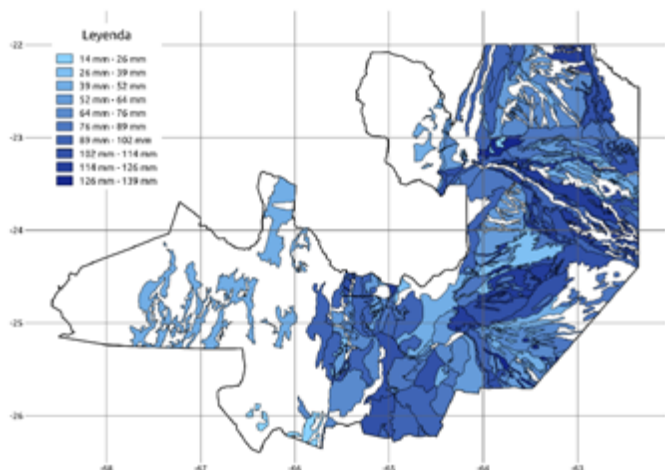


Figura 9. Distribución espacial de la capacidad de campo (milímetros) para la profundidad de 30 centímetros, de las asociaciones de suelos analizadas en la provincia de Salta.

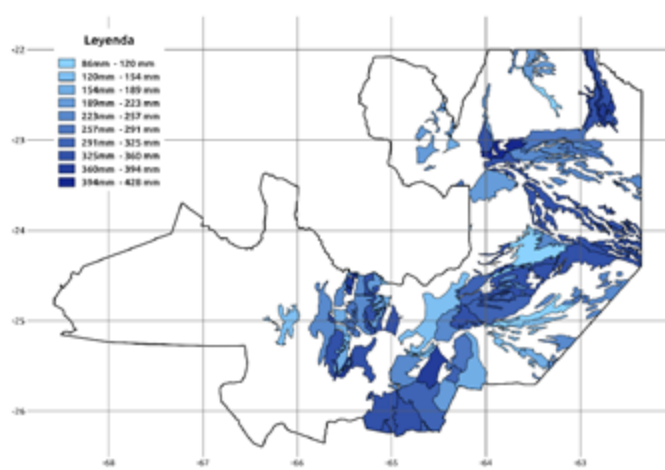


Figura 11. Distribución espacial de la capacidad de campo (milímetros) para la profundidad de un metro, de las asociaciones de suelos analizadas en la provincia de Salta.

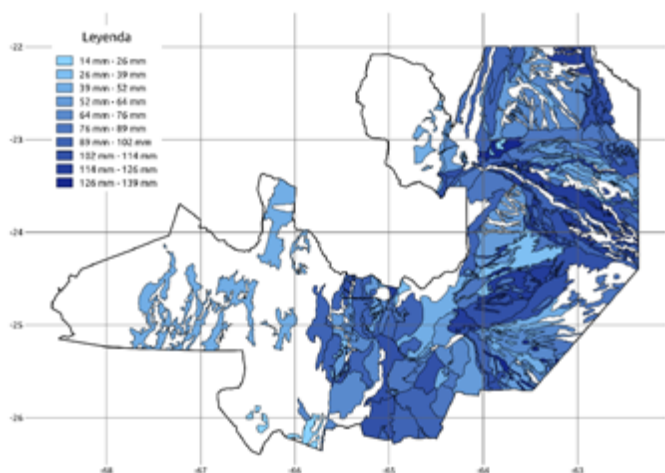


Figura 10. Distribución espacial de la capacidad de campo (milímetros) para la profundidad de 70 centímetros, de las asociaciones de suelos analizadas en la provincia de Salta.

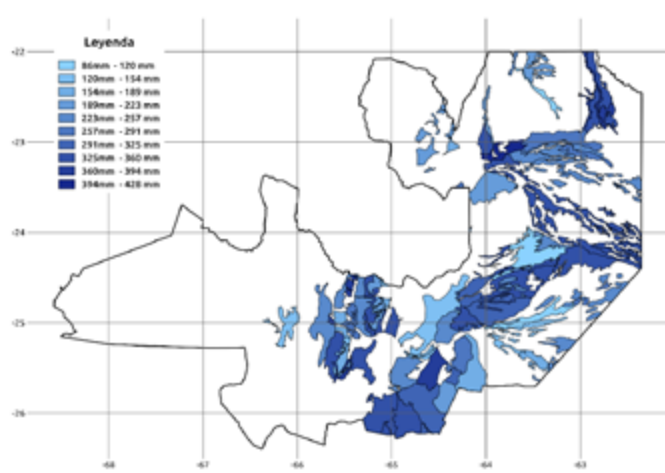


Figura 12. Distribución espacial de la capacidad de campo (milímetros) para la profundidad efectiva del suelo, de las asociaciones de suelos analizadas en la provincia de Salta.

SELECCIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. TOLERANTES AL ARSÉNICO Y CON CAPACIDAD DE REMOCIÓN EN MEDIO LÍQUIDO

SELECTION OF STRAINS OF *Trichoderma* spp. TOLERANT TO ARSENIC AND CAPABLE OF REMOVAL IN LIQUID MEDIUM

Yañez L. M.^{1a}, Alfaro J. A.², Bovi Mitre G.³

RESUMEN

En este trabajo se seleccionó cepas de *Trichoderma* spp. con capacidad de tolerar y remover arsénico (As). La metodología utilizada para las pruebas de tolerancia fue la exposición a 500 y 1000 mg L⁻¹ de As (III) en medio sólido. El estudio de remoción de As se realizó en medio líquido, cuantificando la concentración de As mediante espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros. Los resultados obtenidos indican que de las 4 cepas de *Trichoderma* spp. bajo estudio las cepas T4R3 y T01 mostraron los menores porcentajes de inhibición 20,2% y 18,7% a 500 mg L⁻¹ y 4,1% y 8,7% a 1000 mg L⁻¹ respectivamente a las 24 h de cultivo. Estas mismas cepas presentaron los mayores índices de tolerancia con valores de 0,80 a 0,93 a las 24 h de cultivo. En medio líquido con 1,44 mg L⁻¹ de As las cepas que presentaron mayor crecimiento fueron Mai y T4R3 con 3,63 y 3,88 g L⁻¹ respectivamente. La que mostro mayor efectividad en la remoción de As luego de 72 h de exposición fue la cepa T1R3 con 40,52%. Estos resultados demuestran el potencial de la cepa T1R3 para ser utilizada en estudios de mitigación del As.

Palabras claves: Contaminación. Arsénico. *Trichoderma* spp.. Selección.

SUMMARY

In this work selected strains of *Trichoderma* spp. with the ability to tolerate and remove arsenic (As). The methodology used for the tolerance tests was exposure to 500 and 1000 mg L⁻¹ of As (III) in solid medium. The As removal study was performed in liquid medium, quantifying the concentration of As by atomic absorption spectrometry with hydride generation. The results indicate that of the 4 strains of *Trichoderma* spp. under study the T4R3 and T01 strains showed the lowest percentages of inhibition 20.2% and 18.7% at 500 mg L⁻¹ and 4.1% and 8.7% at 1000 mg L⁻¹ respectively at 24 h culture. These same strains presented the highest tolerance indices whit values from 0.80 to 0.90 at 24 h of culture. In liquid medium whit 1.44 mg L⁻¹ of arsenic the strains that presented the greatest growth were Mai and T4R3 with 3.63 an 3.88 g L⁻¹ respectively. The one that showed greater effectiveness in the removal of arsenic after 72 h of exposure was the strain T1R3 with 40.52%. These results demonstrate the potential of strain T1R3 to be used in As mitigation studies.

Key words: Contamination. Arsenic. *Trichoderma* spp.. Selection.

1a-Becario Doctoral CONICET. Facultad de Ciencias Agrarias-UNJu (4600). Alberdi Nº 47, San Salvador de Jujuy, lumaya12@hotmail.com;

2-Facultad de Ciencias. Agrarias-UNJu; 3- Profesora Titular. Cátedra Toxicología de los Alimentos. Facultad de Ciencias Agrarias-UNJu.

INTRODUCCIÓN

El arsénico (As) es considerado uno de los tóxicos más peligrosos para el ambiente y particularmente en ecosistemas empleados para la agricultura (Su y otros, 2010). Su presencia natural (suelo, aire, agua, alimentos), así como en procesos industriales (la minería, fábricas textiles, producción de diferentes sustancias químicas) han dado lugar a una contaminación generalizada en muchas áreas del mundo generando exposición de un gran sector de la población humana (Ali y otros, 2009).

Jujuy (Argentina) es una de las provincias cuyas características geogénicas hacen que el agua de algunas zonas del noroeste (región Puna), contengan altas concentraciones de As (Ponce y otros, 2006). Estudios cuantitativos revelaron valores entre 5 y 10.000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As (Tschambler y otros, 2007). En particular, la localidad de Pastos Chicos ubicada a 3843 metros sobre el nivel del mar en el departamento de Susques, (cuyas coordenadas: 23°45'58,48"S-66°26'13,86"O), presenta concentraciones de As en agua superiores a los límites máximos permitidos (Fariás y otros, 2008). Hossain (2006) y Brammer (2009) observaron que el uso de agua subterránea contaminada con As empleada para el riego está aumentando los niveles del mismo en los suelos transformándolos inadecuados para la agricultura. Los cultivos producidos en estos suelos contaminados con As también pueden ser una fuente de exposición para los seres humanos (Williams y otros, 2005). Varios autores reportaron que el As ingresa en la cadena alimenticia por el consumo de estos cultivos contaminados (Roychowdhury y otros, 2005).

La transformación microbiana de los elementos del suelo es el resultado de procesos asimilatorios en los que se los incorpora en la biomasa celular y/o procesos disimilatorios en los que la transformación da lugar a la generación de energía, oxidación/reducción y/o detoxificación (Srivastava y otros, 2011).

La bioacumulación de As es un proceso natural de inmovilización que ayuda a la biorremediación de ambientes contaminados con este elemento. El empleo de organismos como hongos, bacterias y algas sirven para este propósito (Su y otros, 2010).

El género *Trichoderma* alcanzó una posición especial en el campo de la agricultura. Son muy conocidos por ser hongos rizosféricos, capaces

de colonizar todo el sistema radicular y persistir activamente en la planta (Tucci y otros, 2011). Existen informes sobre su potencial aplicación para remediar la contaminación del suelo y agua, ya que presenta gran tolerancia a una gama de contaminantes persistentes incluyendo metales pesados, plaguicidas e hidrocarburos poliaromáticos (Tripathi y otros, 2012). Ejemplos de estas biotecnologías fueron publicados por Siddiquee (2013), quienes evaluaron la absorción de iones de metales pesados utilizando *Trichoderma aureoviride*, *T. harzianum* y *T. virens* en la limpieza de áreas contaminadas. Su (2010), estudiaron la bioacumulación y biovolatilización de As pentavalente por *Trichoderma asperellum*.

La selección de cepas de *Trichoderma* spp. tolerantes al As permitirá escoger aquellas especies con habilidades de remoción del tóxico. Se propone iniciar investigaciones en la Puna Jujeña ensayando procesos de mitigación de As en el ambiente mediante el uso de estos hongos. Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado **el Objetivo de este trabajo** consiste en seleccionar cepas de *Trichoderma* spp. tolerantes al As con capacidad de disminuir la concentración de este elemento en el ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas de *Trichoderma* spp.

Las cepas de *Trichoderma* spp. estudiadas T4R4, T1R3 y Mai fueron provistas por el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Jujuy, mientras que la cepa T01 se aisló previamente del suelo de la localidad de Maimará (Jujuy).

Ensayo de tolerancia al arsénico

Para evaluar la tolerancia al As cada una de las cepas fue cultivada en el medio Agar Papa Dextrosa (PDA) (Britania), al que se le adicionó por diseminación superficial 200 μL de una solución de 500 y 1000 mg L^{-1} de As (III) preparada a partir de trióxido de arsénico marca Mallinckrodt (USA). Discos de 5 mm de agar con micelio se colocaron en el centro de las cajas de Petri estériles (90 mm de diámetro) las que se incubaron posteriormente a 27 °C durante 120 h. Como control positivo de crecimiento se utilizó el medio PDA no suplementado con As (III). El ensayo se realizó con un diseño

completamente aleatorizado con 3 repeticiones por tratamiento (Srivastava y otros, 2011).

El crecimiento radial (mm) de las cepas de *Trichoderma* spp. se registró a las 24, 48 y 72 h después de la inoculación (Behzad 2010). El porcentaje de inhibición del crecimiento radial se midió utilizando la fórmula indicada por Sarkar y colaboradores (2010).

$$\text{Porcentaje de Inhibición (\%I)} = [(X - Y / X) \times 100]$$

X = crecimiento radial (mm) de las placas de control

Y = crecimiento radial (mm) de las placas tratadas

Índice de tolerancia al arsénico

Con los datos de crecimiento radial se determinó el Índice de Tolerancia (IT), el cual es un indicador de la respuesta del organismo al estrés causado por el As. Este índice se calculó a partir del crecimiento de la cepa expuesta al As dividido por el crecimiento en la placa de control. Cuanto mayor sea el IT, mayor es la resistencia (Fazli y otros, 2015).

Ensayo de remoción de arsénico por cepas de *Trichoderma* spp.

Las cepas de *Trichoderma* spp. fueron evaluadas según su capacidad de remover el As en medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Caldo (Britania) suplementado con 0,05 g L⁻¹ de cloranfenicol (Sigma) (SDC). Para ello se extrajeron con sacabocados estériles discos de 8 mm de diámetro de los cultivos puros de 7 días de crecimiento en medio PDA y se inocularon en frascos que contenían 50 mL de SDC. Los medios de cultivos se prepararon con agua proveniente del Río Pastos Chicos (cuyas coordenadas son: 23°70'88,3"S-66°44'55,8"O), la cual contenía una concentración de As de 1,44 mg L⁻¹.

Cada ensayo se realizó por triplicado y como controles se utilizaron medios SDC no inoculados (control abiótico) y sin As (control biótico). Todos los frascos se incubaron a 27 °C en un agitador rotatorio a 150 rpm durante 72 h, luego se filtraron empleando un filtro Millipore de 0,45 µm y la biomasa retenida se secó por 12 h a 65 °C en estufa de secado para determinar crecimiento por peso seco (g L⁻¹) (López

Errasquin y otros, 2003). En el filtrado se analizó la concentración de As total residual.

Cuantificación de arsénico total

La concentración de As se determinó mediante espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros a través de un sistema de flujo continuo (FIAS) en un equipo FIAS 400 acoplado a un espectrómetro AAnalyst 100 (marca Perkin Elmer). La técnica presenta un límite de detección de 0,1 µg L⁻¹ y de cuantificación de 0,3 µg L⁻¹ con una respuesta lineal de hasta 5 µg L⁻¹ (r=0,998). Se trabajó con un error relativo del 10% verificando la sensibilidad del equipo mediante el empleo de patrones externos.

Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se expresaron como Media (M) ± Desviación Estándar (DE). Los cuales fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA). La prueba de comparación de medias se realizó mediante el test de Duncan, con nivel de significancia de P ≤ 0,05. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo empleando el programa estadístico InfoStat (versión 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tolerancia al arsénico por las cepas de *Trichoderma* spp.

Para seleccionar las cepas de *Trichoderma* spp. tolerantes al As se utilizó el Porcentaje de Inhibición (%I) y el Índice de Tolerancia (IT).

Las cepas de *Trichoderma* spp. expuestas a As (III) (500 y 1000 mg L⁻¹), a medida que se realizaron las mediciones, presentaron una menor elongación del micelio en los ensayos de exposición en comparación con los controles, evidenciando un posible efecto inhibitorio del tóxico (Tabla 1 y 2).

Los resultados de crecimiento radial de las cepas expuestas a 500 mg L⁻¹ de As (III) durante 72 h de cultivo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Crecimiento radial (mm) de las cepas de *Trichoderma* spp. cultivadas en medio APG suplementadas con 500 mg L⁻¹ de As (III)

Crecimiento radial (mm)			
Cepas	24 h	48 h	72 h
T01	8,7 ± 0,6	29 ± 1	45
Control	10,7 ± 0,6	31,7 ± 0,6	45
Mai	8,3 ± 0,6	27 ± 1	43,7 ± 1,5
Control	11,7 ± 0,6	32 ± 1,7	45
T4R3	7,7 ± 0,5	31,3 ± 1,2	45
Control	9,7 ± 0,6	32,7 ± 1,5	45
T1R3	5,5 ± 0,7	21 ± 1,4	45
Control	7,3 ± 0,6	27,3 ± 1,2	45

Los valores están expresados en M ± DE con n=3.

El crecimiento radial de las cepas expuestas a 1000 mg L⁻¹ de As (III) durante 72 h de cultivo se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Crecimiento radial (mm) de las cepas de *Trichoderma* spp. cultivadas en un medio APG suplementadas con 1000 mg L⁻¹ de As^{III}

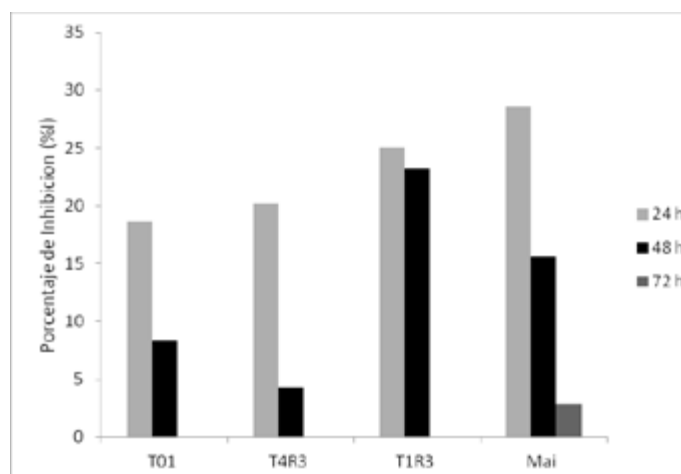
Crecimiento radial (mm)			
Cepas	24 h	48 h	72 h
T01	11,3 ± 0,5	30,5 ± 0,6	45
Control	12,3 ± 0,6	31,7 ± 0,6	45
T4R3	9,3 ± 1	29,5 ± 0,6	45
Control	9,7 ± 0,6	30,3 ± 0,6	45
Mai	9,2 ± 0,8	28 ± 1,2	45
Control	11,7 ± 0,6	32 ± 1,7	45
T1R3	4,1 ± 0,6	20,3 ± 2,1	43,4 ± 2,2
Control	6 ± 1	21,7 ± 0,6	45

Los valores están expresados en M ± DS con n=3.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con lo informado por Ngu (1998) y Srivastava (2011), quienes expusieron diferentes cepas de *Trichoderma* spp. a las mismas concentraciones de As (V) (500 y 1000 mg L⁻¹). Estos investigadores observaron un buen crecimiento radial, una elevada tolerancia a medida que transcurría el tiempo de exposición y una estimulación en el crecimiento radial de algunas cepas en presencia de diferentes concentraciones de As.

Con las cepas ensayadas se observó una disminución del porcentaje de inhibición (%I) a medida que transcurrió el periodo de exposición al tóxico. Las cepas T01 (18,7%) y T4R3 (20,2%) expuestas a 500 mg L⁻¹ de As (III) mostraron los menores %I a las 24 h de cultivo y los menores %I a las 48 h de cultivo con valores de 8,4% y 4,3% respectivamente. Cabe destacar que a las 72 h de cultivo la cepa Mai presentó una inhibición del 2,9%, el resto de los hongos cubrieron la totalidad de la caja de Petri (90 mm de diámetro) por lo no se determinó el %I respecto al control (Fig. 1).

Figura 1. Porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* spp. frente a 500 mg L⁻¹ de As (III)



A concentraciones de 1000 mg L⁻¹ de As (III), las cepas T01 (8,1%) y T4R3 (4,1%) mostraron los menores %I a las 24 h de cultivo. Estas mismas cepas presentaron los %I más bajos a las 48 h de cultivo con valores de 3,8% y 2,6% respectivamente. La cepa T1R3 presentó una inhibición del 3,5% a las 72 h de cultivo, el resto de los hongos se desarrollaron cubrieron la totalidad de la caja de Petri por lo no se determinó el %I respecto al control (Fig. 2).

La disminución de los valores de %I de las cepas de *Trichoderma* spp., a la exposición a 500 y 1000 mg L⁻¹ de As (III), se relaciona con el aumento en los índices de tolerancia estimando que los hongos desarrollan diferentes estrategias de tolerancia o mecanismos de resistencias (Srivastava y otros, 2011).

Figura 2. Porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* spp. frente a 1000 mg L⁻¹ de As (III)

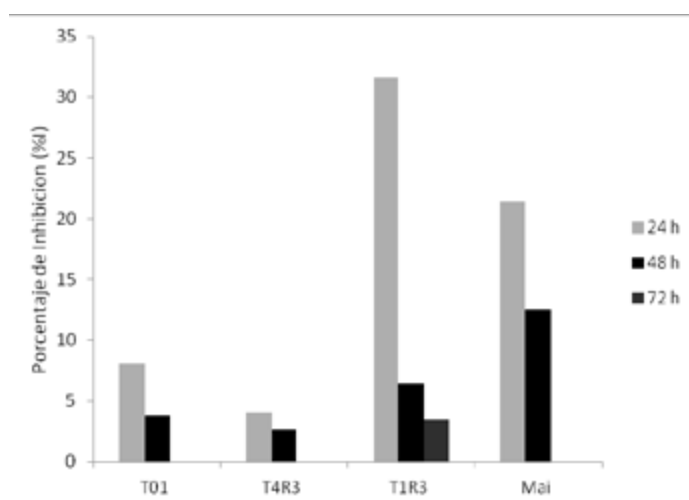
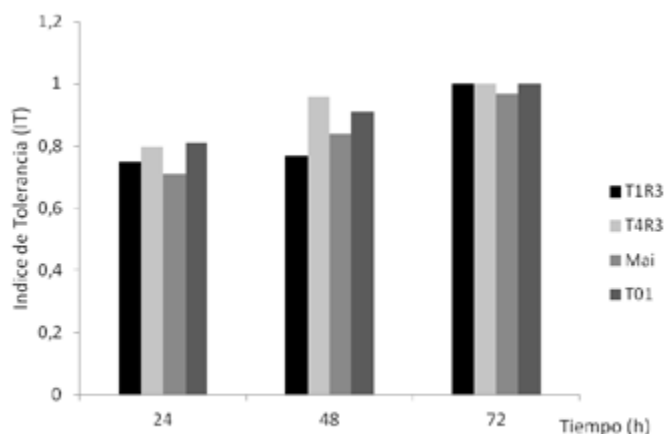
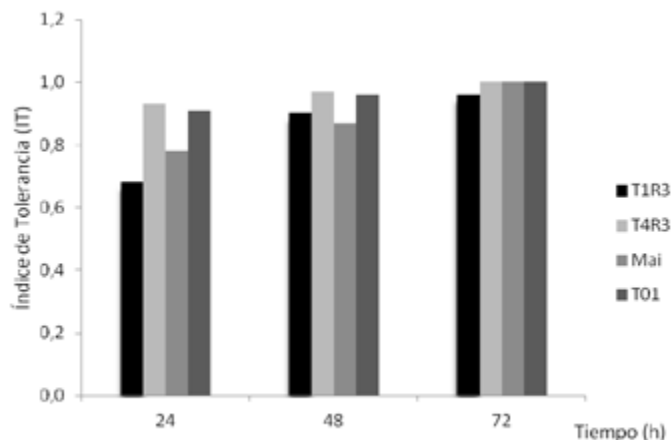


Figura 3. Índice de tolerancia de cepas de *Trichoderma* spp. frente a 500 mg L⁻¹ de As (III)



A concentraciones de 1000 mg L⁻¹ de As (III), las cepas T4R3 y T01 nuevamente mostraron la mayor tolerancia con valores de 0,91 y 0,93 a las 24 h respectivamente (Fig. 4).

Figura 4. Índice de tolerancia de cepas de *Trichoderma* spp. frente a 1000 mg L⁻¹ de As (III)



A las 24 y 48 h de cultivo, a concentraciones de 500 y 1000 mg L⁻¹ de As (III), pudo observarse variación en los valores de IT de las cepas bajo estudio. Estos resultados concuerdan con los informados por Muñoz y otros (2012), quienes probaron la teoría de que cepas del mismo género (*Paecilomyces* sp. 9, *Paecilomyces* sp. G) y (*Aspergillus multicolor*, *Aspergillus fumigatus*) no necesariamente desarrollan la misma tolerancia. La tolerancia no es inherente a los microorganismos sino que es adquirida del medio ambiente (Fazli y otros, 2015). Cabe aclarar que la similitud de los valores de IT obtenidos a las 72 h se debió a que las cepas ensayadas se desarrollaron cubriendo la totalidad de la caja de Petri.

La variedad de valores de tolerancia al As obtenida en el uso de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. podría deberse a la presencia de estrategias o mecanismos de resistencia tales como la precipitación extracelular, cristalización, biosorción en la pared celular y pigmentación (Gadd 2004), reducción del As (V) a As (III), el cual es expulsado de la célula (Cernanský y otros, 2009), unión del As (III) con glutatión o secuestro en el interior de vacuolas (Canovas y de Lorenzo, 2007), metilación a formas orgánicas menos tóxicas (Qin y otros, 2006), oxidación de As (III) a As (V) (Gihring y otros, 2001).

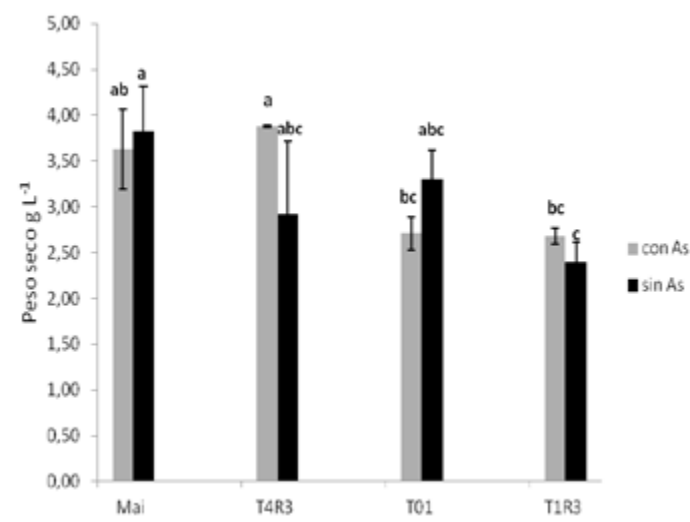
Remoción de arsénico por cepas de *Trichoderma* spp.

El crecimiento fúngico obtenido como peso seco y al ser expuesto al tóxico, se pudo observar que existió una diferencia estadísticamente significativa entre las cepas Mai (3,63 g L⁻¹) y T4R3 (3,88 g L⁻¹),

las cuales crecieron más rápidamente, respecto a las cepas T01 (2,71 g L⁻¹) y T1R3 (2,68 g L⁻¹).

Al comparar el crecimiento de cada cepa expuesta al As respecto a los controles se observó que T4R3 y T1R3 tuvieron mayor crecimiento (Fig. 3).

Figura 3. Crecimiento de las cepas de *Trichoderma* spp. expuestas al As



Las columnas con letras diferentes son significativamente diferentes según el método de Duncan con (P ≤ 0,05). Las barras verticales indican

la desviación estándar de los promedios (n = 3).

Estos resultados se asemejan a los informados por Zeng (2010) y Su (2011), quienes publicaron que una concentración adecuada de As (V) es propicia para el aumento de la biomasa fúngica y simultáneamente favorece la reducción del As (V). Se postula que algunos microorganismos podrían ganar energía a través de la reducción de As (V) y promover así su crecimiento (Takai y otros, 2002). Sin embargo, Oremland y Stolz (2003) sugieren que algunos microorganismos ganan energía para su crecimiento no sólo por la reducción de As (V), sino también por la oxidación de As (III).

Al realizar las determinaciones de As total en medio líquido se pudo estimar la habilidad de las 4 cepas de *Trichoderma* spp. para remover As después del periodo de incubación de 72 h.

Pudo determinarse que la cepa T1R3 fue la más eficiente entre las cepas bajo estudio, con una remoción de 40,52%, mostrando una diferencia significativa entre las demás cepas (Tabla 3). Resultados semejantes obtuvieron Visoottiviseth y Panvirroj (2001), quienes aislaron hongos tolerantes al As (V) con capacidad de remoción en medio líquido del 40% en un período de 120 h de incubación.

Tabla 3. Remoción de As por las cepas de *Trichoderma* spp. en medio líquido

Cepas	As residual en SDC (mg L ⁻¹)	As removido (mg L ⁻¹)	% de remoción
T1R3	0,86 ± 0,12	0,58 ± 0,12	40,52 ± 8,50 (a)*
T01	1,11 ± 0,01	0,33 ± 0,01	22,92 ± 0,98 (b)
T4R3	1,11 ± 0,04	0,33 ± 0,04	22,74 ± 2,50 (b)
Mai	1,12 ± 0,01	0,32 ± 0,01	22,26 ± 0,83 (b)

El As removido se calculó por diferencia entre la concentración de As en el control abiótico ([As]= 1,44 mg L⁻¹) y la concentración de As residual en SDC. Los valores están expresados como M ± Ds, con n=3. *a y b valores significativamente diferentes (P ≤ 0,05).

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la capacidad de remoción no es proporcional al nivel de tolerancia. Observaciones similares se

han informado anteriormente respecto a la falta de correlación entre la tolerancia y la capacidad de eliminación de un tóxico (Zafar y otros, 2007; Pan y otros, 2009).

CONCLUSIÓN

Las cepas de *Trichoderma* spp. expuestas a As (III) (500 y 1000 mg L⁻¹) presentaron menor inhibición y mayor tolerancia a medida que transcurrió el período

de exposición al tóxico. Las cepas que mostraron mayor tolerancia a las concentraciones expuestas fueron T4R3 y T01. En medio líquido, la cepa T1R3 fue la más eficiente entre las cepas bajo estudio, con una remoción de $(40,52\% \pm 8,50)$. Es necesario realizar estudios de remoción de As en diferentes matrices e investigar cuales son los mecanismos de tolerancia y/o remoción del tóxico utilizados por estos hongos. Estos resultados reflejan el potencial de estas cepas para el desarrollo de futuras estrategias con un enfoque basado en la biorremediación de los suelos y ambientes agrícolas contaminados con As.

AGRADECIMIENTOS

A la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional de Jujuy.

Este trabajo se llevo a cabo con financiamiento del proyecto PIO-UNJu-CONICET (14020140100136 CO).

BIBLIOGRAFÍA

- Ali W., Isayenkov S. V., Zhao F. J., Maathuis F. J. M. 2009. Arsenite transport in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 66:2329-2339.

- Behzad H. 2010. Effect of some metal-containing compounds and fertilizers on mycoparasite *Trichoderma* species mycelia growth response. *African Journal of Biotechnology*. 9(26):4025-4033.

- Brammer H. 2009. Mitigation of arsenic contamination in irrigated paddy soils in South and South-East Asia. *Environ Int*. 35:856-63.

- Canovas D. y de Lorenzo V. 2007. Osmotic stress limits arsenic hyper-tolerance in *Aspergillus* sp. P37. *FEMS Microbiol Ecol*. 61:258-63.

- Cernanský S., Cík K.M., Ševc J., Urík M., Hiller E. 2009. Fungal Volatilization of Trivalent and Pentavalent Arsenic under Laboratory. Conditions, *Bioresour. Technol*. 100:1037-1040.

- Farías S. S., Escalante J., Servant R. E., Bianco de Salas G., Bovi Mitre M. G., Ávila Carreras N. E., Ponce R.I. 2008. Survey of arsenic in drinking water and assessment of the intake of arsenic from water

in Argentine Puna. 1:397-407.

- Fazli M. M., Soleimani N., Mehrasbi M., Darabian S., Mohammadi J., Ramazani A. 2015. Highly cadmium tolerant fungi: their tolerance and removal potential. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*. 13:19.

- Gadd G. M. 2004. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma*. 122:109-19.

- Gihring T. M., Druschel G. K., McCleskey R. B., Hamers R. J., Banfield J. F. 2001. Rapid Arsenite Oxidation by *Thermus aquaticus* and *Thermus sthermophilus*: Field and Laboratory Investigations. *Environ. Sci. Technol*. 35:3857-3862.

- Hossain M.F. 2006. Arsenic contamination in Bangladesh—an overview. *Agr. Ecosyst. Environ*. 113:1-16.

- Lopez Errasquin E., Vazquez C. 2003. Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge. *Chemosphere*. 50:137-143.

- Muñoz A.J., Ruiz E., Abriouel H., Gálvez A., Ezzouhri L., Lairini K. 2012. Heavy metal tolerance of microorganisms isolated from wastewaters: Identification and evaluation of its potential for biosorption. *Chem. Eng. J*. 210:325-32.

- Ngu M., Moya E., Magan N. 1998. Tolerance and uptake of cadmium, arsenic and lead by *Fusarium* pathogens of cereals. *Int. Biodeter. Biodegr*. 42:55-62.

- Oremland R. S. and Stolz J. F. 2003. The Ecology of Arsenic. *Science*. 300:939-944.

- Pan R., Cao L., Zhang R. 2009. Combined effects of Cu, Cd, Pb, and Zn on the growth and uptake of consortium of Cu-resistant *Penicillium* sp. A1 and Cd-resistant *Fusarium* sp. A19. *J. Hazard Mater*. 171:761-6.

- Ponce R., Farías S., Bovi Mitre G., Vélez D., Montoro R. 2006. Determinación de arsénico total e inorgánico en carne y vísceras de camélidos (*Lama glama*) autóctonos de la provincia de Jujuy, Argentina. *Rev. Facultad de Agronomía UBA*. 26:105-109.

- Qin J., Rosen B. P., Zhang Y., Wang G. J., Franke S., Rensing C. 2006. Arsenic Detoxification and Evolution of Trimethylarsine Gas by a Microbial Arsenite S-Adenosylmethionine Methyltransferase, Proc. Natl. Acad. Sci. 103: 2075–2080.
- Roychowdhury T., Tokunaga H., Uchino T., Ando M. 2005. Effect of arsenic-contaminated irrigation water on agricultural land soil and plants in West Bengal, India. Chemosphere. 58:799–810.
- Sarkar S., Satheskumar A., Jayanthi R., Premkumar R. 2010. Biosorption of Nickel by Live Biomass of *Trichoderma harzianum*. Research Journal of Agricultural Sciences. 1:69-74.
- Siddiquee S., Aishah S. N., Azad S. A., Shafawati S. N., Naher L. 2013. Tolerance and biosorption capacity of Zn²⁺, Pb²⁺, Ni³⁺ and Cu²⁺ by filamentous fungi (*Trichoderma harzianum*, *T. aureoviride* and *T. virens*). Advances in Bioscience and Biotechnology. 4:570-583.
- Srivastava P. K., Vaish A., Dwivedi S., Chakrabarty D., Singh N., Tripathi R. D. 2011. Biological removal of arsenic pollution by soil fungi. Science of the Total Environment. 409:2430–2442
- Su S. M., Zeng X. B., Bai L. Y., Jiang X. L., Li L. F. 2010. Bioaccumulation and biovolatilisation of pentavalent arsenic by *Penicillium janthinellum*, *Fusarium oxysporum* and *Trichoderma asperellum* under laboratory conditions. Curr. Microbiol. 61:261–6.
- Su S. M., Zeng X. B., Bai L. Y., Li L. F., Duan R. 2011. Arsenic Biotransformation by Arsenic-Resistant Fungi *Trichoderma asperellum* SM-12F1, *Penicillium janthinellum* SM-12F4, and *Fusarium oxysporum* CZ- 8F1, Sci. Total Environ. 409: 5057–5062.
- Takai K., Hirayama H., Sakihama Y., Inagaki F., Yamato Y., Horikoshi K. 2002. Isolation and Metabolic Characteristics of Previously Uncultured Members of the Order Aquificales in a Subsurface Gold Mine. Appl. Environ. Microbiol. 68:3046–3054.
- Tripathi P., Singh P. C., Mishra A., Chauhan P. S., Dwivedi S., Bais R. T., Tripathi R. D. 2012. *Trichoderma*: a potential bioremediator for environmental clean up. Clean Techn Environ Policy. DOI 10.1007/s10098-012-0553-7.
- Tucci M., Ruocco M., De Masi L., De Palma M., Lorito M. 2011. The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. Mol. Plant Pathol. 12:341–54.
- Tschambler J., Cabrera R., Bovi-Mitre G. 2007. Georreferenciamiento del contenido de Arsénico en aguas de la Provincia de Jujuy-Argentina, XV Congreso Argentino de Toxicología, 26 al 28 de setiembre, Neuquén, Libro de resúmenes p 48.
- Visoottiviseth P. and Panviroj N. 2001. Selection of Fungi Capable of Removing Toxic Arsenic Compounds from Liquid Medium. Science Asia. 27:83-92.
- Williams P. N., Price A. H., Raab A., Hossain S. A., Feldmann J., Meharg A. A. 2005. Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure. Environmental Science and Technology. 39:5531-5540.
- Zafar S., Aqil F., Ahmad I. 2007. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. Bioresour Technol. 98:2557–61.
- Zeng X. B., Su S. M., Jiang X. L., Li L. F., Bai L. Y., Zhang Y. R. 2010. Capability of Pentavalent Arsenic Bioaccumulation and Biovolatilization of Three Fungal Strains under Laboratory Conditions. Clean – Soil Air Water. 38:238–241.

NEMATODOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE POROTO EN EL DEPARTAMENTO PALPALA (PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA)

NEMATODES ASSOCIATED WITH BEAN CROP IN PALPALA DEPARTMENT (JUJUY PROVINCE, ARGENTINA)

Gallardo C.¹, Quintana de Quinteros S.¹, Cap G.² y Nico A.³

RESUMEN

El cultivo de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) reviste gran importancia para la economía del noroeste argentino. Entre las múltiples adversidades fitosanitarias del cultivo se encuentran los nematodos, quienes ocasionan importantes pérdidas de rendimiento en distintas partes del mundo. Sin embargo poco se sabe acerca de la nematofauna asociada al cultivo en Jujuy. Por ello los objetivos del estudio fueron identificar los géneros de nematodos presentes en esta leguminosa de grano y establecer el grupo trófico de cada una de ellas. Para este fin se tomaron muestras de suelo y raíz de cuatro lotes cultivados con poroto blanco var. "alubia". Los nematodos presentes se separaron mediante la técnica de flotación - centrifugación. Las especies de vida libre pertenecen al orden Rhabditida mientras que entre los ejemplares fitoparásitos se encontraron especies de Tylenchida correspondientes a los géneros: *Aphelenchoides*, *Helycotylenchus*, *Meloidogyne*, *Mesocriconema*, *Psylenchus* y *Tylenchorhynchus*. Durante todo el muestreo que abarcó desde la siembra hasta la cosecha del cultivo la estructura trófica estuvo dominada por nematodos bacteriófagos.

Palabras claves: Diversidad. Nematofauna. Poroto. Jujuy.

SUMMARY

Bean cropping (*Phaseolus vulgaris* L.) is very important for the economy in the Argentinian northwest region. Nematodes which cause significant yield losses in different places worldwide are among the many crop phytosanitary setbacks. However, little is known about nematodes associated with cropping in Jujuy. Therefore, the study aims were identifying genera nematode present in this grain legume and to establish the trophic group of each one of them. For this purpose soil and root samples were taken from four plots cropped with "alubia" bean. The nematodes present were separated by the centrifugal flotation technique. The identified free-living species correspond to the Rhabditida order whereas among phytoparasitic specimens Tylenchida species pertaining to the *Aphelenchoides*, *Helycotylenchus*, *Meloidogyne*, *Mesocriconema*, *Psylenchus* y *Tylenchorhynchus* genera were found. In each of the sampling dates the trophic structure was dominated by bacteriophage nematodes.

Key words: Diversity. Nematofauna. Bean. Jujuy.

1- Cátedra de Zoología Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias - UNJu. Alberdi. 47, San Salvador de Jujuy. Jujuy, Argentina (4600).

claudiagallardo52@yahoo.com; 2- AE La Plata - EEA - AMBA - UCT- Sur- INTA. Ruta 36 km 44 - La Plata. Buenos Aires, Argentina. (1900);

3- Cátedra de Horticultura - Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Calle 60 y 119. La Plata. Buenos Aires. Argentina (1900).

INTRODUCCIÓN

La República Argentina es el quinto productor de poroto del continente americano, y de acuerdo con el año, contribuye con un porcentaje variable entre el 3,5 y 5% total de la producción regional y entre el 1,3 y 1,9% de la producción mundial. En el ámbito del Mercosur, es el segundo productor después de Brasil con una participación promedio para el último quinquenio de alrededor del 10%. La principal zona productora del país es el NOA, desde donde proviene el 95% de la producción Nacional (Plan Estratégico Productivo Jujuy 2011-2020). En la provincia de Jujuy la actividad porotera se realiza en dos zonas agroecológicas bien definidas: los valles templados y el ramal jujeño. En la primera de ellas la actividad agrícola es fundamentalmente intensiva, bajo riego y cuenta con una superficie con aptitud agrícola de 35.600 ha y en la segunda 117.000 ha. Entre los numerosos organismos que afectan al cultivo de poroto se encuentran los nematodos, quienes ocasionan importantes pérdidas de rendimiento en distintas partes del mundo (Jatala, 1981). Sin embargo poco se sabe acerca de la nematofauna asociada al cultivo en Jujuy. Dentro de los nematodos fitófagos citados por Muruaga y otros en cultivos agrícolas para Jujuy (2007) se encuentran: *Meloidogyne*, *Nacobbus*, *Pratylenchus*, *Aphelenchus*, *Tylenchulus*, *Helicotylenchus* y *Xiphinema*. Así también Gallardo y otros (2014) estudiaron la asociación de la bacteria *R. solanacearum* con *Meloidogyne* spp. sobre tabaco tipo Virginia en Jujuy. En 2016 Gallardo y otros realizaron estudios de campo para detectar la presencia de nematodos asociados al cultivo de poroto. Sus resultados permitieron identificar a *Meloidogyne incognita* (Chitwood, 1949) sobre esta leguminosa en los Valles Templados de Jujuy.

Actualmente los nematodos no son un problema de relevancia en el cultivo de poroto en Salta y Jujuy (Casalderrey y otros, 2008), debido probablemente a que el verdadero impacto económico de los nematodos fitopatógenos suele ser subestimado porque los síntomas provocados en la parte aérea son a menudo inespecíficos y porque el diagnóstico requiere un alto grado de calificación (Castillo y Verdejo Lucas, 2011). La estructura trófica es una clasificación funcional que contribuye a la comprensión de la nematofauna ya que cada grupo afecta la transferencia de materia y/o energía en el ecosistema (Freckman y Caswell, 1985). Por otra parte los nematodos poseen atributos que los

hacen útiles como indicadores ecológicos debido a su abundancia y amplia distribución en el suelo. Sobre la base de estos antecedentes se plantearon los siguientes objetivos del estudio: identificar y establecer el grupo trófico de los géneros de nematodos presentes en el cultivo de poroto en Jujuy.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en cuatro lotes ubicados en las localidades de Carahunco (24°18'08,9"S y 65°05'23,3"W) y Río Blanco (24°13'40"S y 65°14'70"W) del departamento Palpalá – provincia de Jujuy (Fig. 1). Las muestras de suelo y raíces de lotes cultivados se tomaron entre diciembre de 2015 y junio de 2016 inclusive con una periodicidad de 15 días desde el inicio del cultivo y hasta la finalización del mismo y consistieron en la extracción de muestras de suelo de 500 gr. c/u tomadas al azar a una profundidad de 15 cm alrededor de la planta, colectando en total 36 muestras de suelo (Fig. 2). Las muestras de raíces estuvieron conformadas por 26 plantas completas en cada fecha de muestreo, las que se acondicionaron en bolsas individuales.

Las muestras de suelo se procesaron mediante la técnica de flotación – centrifugación (Jenkins, 1964) para la obtención de individuos vermiformes (Fig. 3).

La extracción de nematodos a partir de las raíces comenzó por el lavado de las mismas con un chorro fino de agua. Luego se las licuó por espacio de un minuto aproximadamente. La suspensión obtenida fue sometida a un proceso de clarificación por centrifugación similar al empleado con el método de extracción a partir de las muestras de suelo. Luego se analizó bajo microscopio estereoscópico con el fin de extraer los nematodos.

Los ejemplares se fijaron, deshidrataron y aclararon para su montaje definitivo en glicerina anhidra de acuerdo a la técnica de Seinhorst (1962).

La identificación de nematodos del suelo y raíz se realizó mediante las claves de Chaves y Torres (1985) y de Mai y Lyon (1960). Las preparaciones microscópicas se depositaron en los laboratorios de Zoología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNJu) y de la Chacra Experimental Gorina del Ministerio de Agroindustria de la provincia de Buenos Aires (La Plata).



Figura 1. Ubicación de los lotes de poroto muestreados durante la campaña 2015/16 en el departamento Palpalá (Jujuy, Argentina).



Figura 2. Muestras de suelo en Laboratorio.



Figura 3. Muestras procesadas por la técnica de Jenkins

RESULTADOS

A partir de las extracciones de suelo se detectaron nematodos de vida libre correspondientes al orden Rhabditida pertenecientes a los géneros: *Cephalobus*, *Panagrolaimus*, *Rhabditis* y *Wilsonema*.

Entre los nematodos fitófagos del orden Tylenchida, se encontraron los siguientes géneros: *Aphelenchoides*, *Helicotylenchus*, *Mesocriconema*, *Psilenchus* y *Tylenchorhynchus*. (Tabla 1).

En el total de las raíces muestreadas sólo se encontraron nematodos fitófagos pertenecientes al género: *Meloidogyne*.

Tabla 1. Géneros de nematodos de vida libre y fitófagos hallados en los muestreos, con mención a sus características sobresalientes.

Géneros	Orden	Grupo Trófico	Características sobresalientes
<i>Cephalobus</i>	Rhabditida	Bacteriófago	Se alimentan de bacterias Se encargan de la descomposición de la materia orgánica y cumplen un rol importante en el reciclaje de los nutrientes de suelo
<i>Panagrolaimus</i>			
<i>Rhabditis</i>			
<i>Wilsonema</i>	Plectida		
<i>Aphelenchoides</i>	Tylenchida	Fungívoro	Se alimentan del micelio de hongos de suelo.
<i>Meloidogyne</i>		Fitófago	Endoparásitos sedentarios
<i>Helicotylenchus</i>			Ectoparásitos. Cumplen todo su ciclo de vida en el suelo
<i>Mesocriconema</i>			
<i>Psylenchus</i>			
<i>Tylenchorhynchus</i>			

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Este trabajo constituye un primer aporte en cuanto al conocimiento de especies de diferentes grupos tróficos que se establecen en suelos de tres localidades cultivados con poroto en la provincia de Jujuy, bajo la premisa de que los nematodos constituyen un perjuicio económico en distintos cultivos de importancia agrícola de la región.

Del complejo de nematodos asociados al cultivo de poroto se identificaron 10 géneros de nematodos distribuidos en 3 grupos tróficos. Entre los fitófagos sólo los géneros *Aphelenchoides*, *Meloidogyne* y *Tylenchorhynchus* coinciden con los registros de Doucet (1999), mientras que *Helicotylenchus*, *Mesocriconemoides* y *Psylenchus* son citados por primera vez para el cultivo de poroto en Argentina. Estos organismos cuando se presentan en altas densidades pueden llegar a producir una disminución en la producción, además de favorecer la penetración de otros organismos de suelo. (Cepeda Siller, 1996).

Los nematodos agalladores pertenecientes al género *Meloidogyne* afectan el rendimiento de las leguminosas de grano y juegan un papel muy importante en suelos arenosos y clima cálido (Sikora y Greco, 1990). Estos nematodos favorecen la infección de hongos hipogeos como *Rizoctonia solani* (Singh y Reddy, 1981) y afectan el crecimiento y la fisiología

de la planta de poroto. (Sharma, 1981). Además existe relación documentada entre poblaciones de *Meloidogyne* y nematodos fungívoros. Así en 1991 Ishibashi y otros comprobaron a nivel de invernadero que la infestación causada por *Meloidogyne* se veía reducida por la presencia de *Aphelenchus avenae*.

Doucet (1999) menciona 22 especies de nematodos fitófagos asociados a *Phaseolus vulgaris* (L.) en la República Argentina. Ninguno de los ejemplares mencionados en ese reporte procede de la provincia de Jujuy.

La presencia de nematodos bacteriófagos de vida libre, como *Cephalobus*, *Panagrolaimus*, *Rhabditis* y *Wilsonema* encontrados en este estudio son coincidentes con lo identificados por Muruaga y otros (2012) en cultivos florales de la provincia de Jujuy. Estos organismos en el suelo pueden afectar directamente la biomasa y la actividad de la comunidad microbiana a través del consumo de hongos y bacterias. Los nematodos bacteriófagos y fungívoros aumentan la disponibilidad de carbono y nitrógeno (C y N) para otros integrantes de la biota del suelo y contribuyen a disponer los nutrientes para el crecimiento de las plantas. (Freckman y Caswell, 1985).

BIBLIOGRAFÍA

- Casalderrey, N., Maggio, M. E., Pérez Brandán, C. y García Medina, S. 2008. Prospección de enfermedades de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) en el noroeste argentino. Pp. 20-22. En: Jornadas de actualización de Poroto 2008. INTA. Estación Experimental Cerrillos Salta.
- Castillo, P. y Verdejo Lucas, S. 2011. Nematodos fitoparásitos. Pp. 19-40. En: Enfermedades causadas por nematodos fitoparásitos en España Andrés Yeves, M. F. y Verdejo-Lucas, S., (Eds.). Phytoma. Sociedad Española de Fitopatología. Valencia.
- Cepeda Siller, M. 1996. Nematología Agrícola. México. Ed. Trillas, S. A. de C. V. ISBN 968-24-5230-9. 305 pp.
- Chaves, E.; Echeverría, M. y Torres M. 1995. Clave para determinar géneros de nematodos de suelo de la República Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. 91 pp.
- Doucet, M. E. 1999. Nematodos del suelo asociados con vegetales en la República Argentina. Serie de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria N°24. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, 259 pp.
- Freckman, D. W. y Caswell, E. P. 1985. The ecology of nematodes in agroecosystem. Annual Review of Phytopathology 23:275-295.
- Gallardo, C.; Bejarano, N.; Quintana de Quinteros, S.; Catacata, J. y Quinteros, H. 2014. *Meloidogyne* spp. asociado a *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi en Tabaco tipo Virginia en la provincia de Jujuy. Agraria. Vol. VIII(15) 68-73. ISSN 2362-4035.
- González Cortéz, J. C., Cepeda Villegas, M. A., Carreón Abud, Y. y Martínez Trujillo, M. 2013. Nematofauna asociada a cultivos agrícolas en el Estado de Michoacán. Biológicas Vol 15 N°1.
- Ishibashi, N. y Choi, D. R. 1991. Biological control of soil pests by mixed application of entomopathogenic and fungivorous nematodes. Journal of nematology 23(2):175-181.
- Jatala, P. 1981. Nematodos parásitos de la papa. Centro Internacional de la Papa. (CIP) Boletín de información técnica N°8. Lima, Perú. Mayo de 1981. 17 pp.
- Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal – flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, 48:692.
- Mai, W. F. y Lyon, H. H. 1960. Pictorial key to genera of plant-parasitic nematodes. Comstock Publishing Ithaca. New York 221 pp.
- Ministerio de la Producción de la Provincia de Jujuy. 2011. Sector Cultivos Extensivos Pp. 143-154. (En: Plan Estratégico Productivo Jujuy 2011-2020. Tijman, G., Toconás, J. Ed.). Jujuy. Argentina.
- Muruaga de L'Argentier, S.; Gallardo, C.; Quintana de Quinteros, S. y Vilte, H. 2007. Nematodos fitófagos detectados en cultivos de importancia agrícola de diferentes localidades de la Provincia de Jujuy – NOA Argentina. Agraria. Vol. III (10) 41-48. ISSN N° 0328-8080.
- Muruaga de L'Argentier, S.; Gallardo, C.; Quintana de Quinteros, S.; Vilte, H. y Bautista, Ramón. 2012. Nematodos presentes en cultivos ornamentales y flores de corte en la Quebrada de Humahuaca y Valles templados de la provincia de Jujuy, Argentina. Agraria. EdiUNJu. Año 2012. VI (13): 119 – 123. ISSN 2362-4035.
- Sharma, R. D. 1981. *Pathogenicity of Meloidogyne javanica* to bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Sociedade Brasileira de Nematología 5:137-144.
- Seinhorst, J. 1962. On the killing fixation and transferring to glycerin of nematodes. Nematology. 29:32.
- Sikora, R. A. y Greco, N. 1990. Nematode parasites of food legumes. Pp. 181-235.

INHIBICIÓN DE *Bacillus circulans* POR UNA LEVADURA

Bacillus circulans INHIBITED BY A YEAST

Benítez-Ahrendts M.R.¹, Carrillo L. ¹

RESUMEN

Una cepa de *Pichia anomala*, aislada de la superficie de una palta (*Persea americana Mill.*) e identificada por sus características fisiológicas y morfológicas, causó la inhibición del crecimiento de una cepa de *Bacillus circulans*, obtenido del suelo. Pero, frente a *Bacillus subtilis* productor de lipopéptidos, se observó que tanto bacteria como levadura se afectaban ligeramente.

Palabras claves: *Pichia anomala*. *Bacillus circulans*. *Bacillus subtilis*. Inhibición.

SUMMARY

A strain of *Pichia anomala*, isolated from the surface of avocado (*Persea americana Mill.*) and identified by their physiological and morphological characteristics, caused the inhibition of the growth of a *Bacillus circulans* strain, recovered from soil. But, facing *Bacillus subtilis* lipopeptides producer, it was observed that both bacteria and yeast were slightly affected.

Keywords: *Pichia anomala*. *Bacillus circulans*. *Bacillus subtilis*. Inhibition.

INTRODUCCIÓN

El antagonismo que presentan las levaduras frente a diversos microorganismos se atribuye en principio a: (1) competición por nutrientes; (2) cambios de pH en el medio; (3) producción de altas concentraciones de etanol; (4) secreción de compuestos antimicrobianos. Entre estos últimos se encuentran: (a) las micocinas que son glicoproteínas extracelulares que afectan la membrana celular de las levaduras sensibles; (b) los soforolípidos que son biosurfactantes extracelulares y tienen propiedades antibacterianas [Hatoum y otros, 2012].

Las características de *Pichia anomala* son: diversidad morfológica (brotación, pseudomicelio); tolerancia al estrés (por bajo pH, alta presión osmótica, bajo O₂, baja a_w); secreción de enzimas (invertasa, lipasa, peptidasa, amilasa, fitasa); diversidad nutricional (en fuentes de C, N y P); biodegradación de hidrocarburos poliaromáticos, naftaleno, benzopireno); efecto Crabtree negativo (insensibilidad a la glucosa); actividad antimicrobiana (frente a levaduras, mohos, bacterias, virus) por la producción de micocina y soforolípidos [Walker, 2011].

La observación circunstancial de la inhibición parcial de una colonia bacteriana por otra de levadura dio origen al siguiente trabajo. El objetivo fue identificar dicha levadura y comprobar el comportamiento de la misma frente a dos especies del género *Bacillus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos

La levadura M19 fue aislada de la superficie de palta en TGY (glucosa 10 g, extracto de levadura 0,5 g, triptona 0,5 g, agua 100 mL, pH 5,5) y mantenida sobre MEA (extracto de malta 2 g, peptona 0,1 g, glucosa 2 g, agar 2 g, agua 100 mL, pH 5,6).

Para la identificación de la levadura se la cultivó sobre los medios para auxanograma de fuentes de carbono, asimilación de nitrato, fermentación de azúcares, prueba de la ureasa, y coloración con azul de diazonio B [Déak y Beuchat, 1996]. Se hizo la observación de las ascosporas mediante contraste de fases.

La bacteria aislada de una suspensión de suelo agrícola sobre agar nutritivo, fue identificada mediante la observación morfológica y las pruebas bioquímicas [Nakamura y Swezey, 1983; Dragutinovic y otros, 2012].

Se ensayó también la cepa de *Bacillus subtilis* n°408, aislada de naranja (*Citrus x sinensis* Osbeck), que en medio sacarosa-asparagina-sales producía 0,54 mg de lipopéptidos por mL de filtrado de un cultivo [Benítez-Ahrendts, 2009].

Producción y ensayo del antimicrobiano

La cepa de levadura fue cultivada a 30°C con agitación durante una semana, en el medio glucosa-sales (glucosa 1 g; fosfato monopotásico 0,1 g; sulfato de magnesio heptahidrato 0,05 g; sulfato de amonio 0,5 g; agua 100 mL). Las células fueron separadas por centrifugación a 5000 g durante 15 minutos a temperatura ambiente y el filtrado se usó para los ensayos.

En sendas placas de TGBY (triptona 0,5 g; glucosa 1 g; extracto de carne 0,3 g; extracto de levadura 0,1 g; agar 1,5 g; agua 100 mL, pH 7,0) se sembraron las cepas de bacterias por diseminación en superficie. En las placas se hicieron pocillos con un sacabocados y se depositó en cada uno 100 mL del filtrado de la levadura. Se incubaron a 30°C durante 48 hs. En otras placas del mismo medio se sembraron, en estrías confluentes, las cepas de bacterias y levadura.

RESULTADOS

Identificación de las cepas

Levadura M19: Aislada de palta. Colonia pastosa, lisa, color crema. Células redondeadas a ovales (2 a 4 x 2 a 6 µm), Forma pseudomicelio. Posee ascosporas hemisféricas. Asimila nitrato, eritritol, manitol, celobiosa, citrato, almidón. Fermenta glucosa, galactosa, maltosa, sacarosa y rafinosa. Desarrolla sin agregado de una solución de vitaminas al medio de cultivo. Crece a 35°C y en medio con 7% de NaCl. No produce ureasa. No asimila arabinosa, lactosa, melibiosa, rhamnosa, inositol. No crece con 0,01% de cicloheximida. No se colorea con azul de diazonio. Identificada como *Pichia anomala* de acuerdo a Déak y Beuchat [1996]

y Barnett y otros [2000], aunque actualmente se la denomina *Wickerhamomyces anomalus* [Kurtzman y otros, 2008].

Bacteria aislada de suelo: Colonia lisa, mucosa, convexa, con bordes lisos. Células de $1 \times 3 - 5 \mu\text{m}$, con extremos redondeados. Gram positivo. Esporo elipsoidal, terminal, deforma al bacilo. Catalasa positiva. Crece a 37°C, no prolifera con 7% de NaCl, Voges-Proskauer negativo. Fermenta glucosa, arabinosa, maltosa, esculina, xilosa, celobiosa y manitol. Hidroliza almidón y gelatina. Identificada como *Bacillus circulans* [Nakamura y Swezey, 1983; Dragutinovic y otros, 2012].

Actividad antagónica

El filtrado del cultivo de *P. anomala* originó amplios halos de inhibición en las placas sembradas con *B. circulans*, pero no en las que contenían *B. subtilis*.

En el medio gelificado, las estrías de *P. anomala* produjeron la inhibición del crecimiento de *B. circulans*; mientras que tanto *B. subtilis*, como la levadura se vieron algo afectados.

DISCUSIÓN

Los biosurfactantes son compuestos bioactivos con una parte polar y otra no-polar, que reducen la tensión superficial y son solubles tanto en fase acuosa como oleosa. Algunos tienen actividad antibacteriana, entre los cuales se encuentran los soforolípidos. Éstos son producidos por algunas levaduras (*P. anomala*, *Candida bombicola*, *Candida apicola*) y muestran actividad frente a bacterias, especialmente las Gram positivas [Kim y otros, 2002].

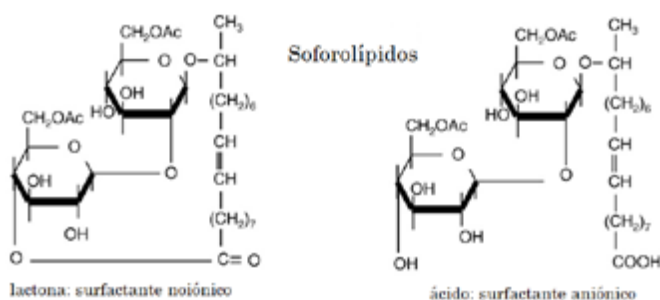


Figura 1. Estructuras de los soforolípidos de *P. anomala* [Hirata y otros, 2009]

Los soforolípidos son producidos como una mezcla de lactona y ácido, según se muestra en la figura 1, cuya porción hidrofílica es la soforosa, un azúcar dimérico, y la parte lipofílica está compuesta por ácidos grasos de larga cadena con grupos hidroxilo [Thaniyavarn y otros 2008]

Entre los varios lipopéptidos producidos por *B. subtilis* se encuentran la surfactina, cuyo nombre indica su bioactividad, y la iturina con acción antimicrobiana [Chalasanani y otros, 2015]

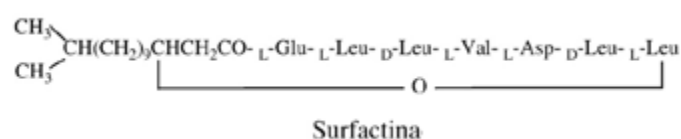


Figura 2. Estructura de la surfactina de *B. subtilis* [Hirata y otros, 2009]

CONCLUSIÓN

La cepa de *P. anomala* produce un biosurfactante que inhibe el crecimiento de *B. circulans*, mientras que *P. anomala* y *B. subtilis* se afectan parcialmente entre sí debido a sus exometabolitos.

BIBLIOGRAFÍA

- Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. 2000. Yeasts: Characteristics and Identification. Cambridge University Press, pp. 494-495.
- Benítez-Ahrendts MR. 2009. Biocontrol de *Penicillium*. Tesis, Doctorado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ingeniería, UNJu, cap. 4.
- Chalasanani AG y otros. 2015. An antimicrobial metabolite from *Bacillus* sp.: significant activity against pathogenic bacteria including multidrug-resistant clinical strains. *Frontiers in Microbiology* v. 6 art. 1335, doi: 10.3389/fmicb.2015.01335
- Déak T, Beuchat L. 1996. Handbook of Food Spoilage Yeasts. CRC Press, Boca Raton, cap. 7.
- Dragutinovic V y otros 2012. Characterisation of new *Bacillus circulans* strain isolated from oil shale.

Food Technol. Biotechnol. 50 (1): 123-127.

- Hatoum R, Labrie S, Fliss I. 2012. Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. *Frontiers in Microbiology* vol. 3 art. 421; doi: 10.3389/fmicb.2012.00421

- Hirata Y y otros. 2009. Novel characteristics of sophorolipids, yeast glycolipid biosurfactants, as biodegradable low-foaming surfactants. *J. Bioscience and Bioengineering* 108 (2): 142-146.

- Kim K y otros 2002. Characteristics of sophorolipid as an antimicrobial agent. *J Microbiol. Biotechnol.* 12 (2): 235-241.

- Kurtzman CP, Robnett CJ, Basehoar-Powers E. 2008. Phylogenetic relationships among species *Pichia*, *Issatchenkia* and *Williopsis* determined from multigene sequence analysis, and the proposal of *Barnettozyma* gen. nov., *Lindnera* gen. nov. and *Wickerhamomyces* gen. nov. *FEMS Yeast Research* 8: 939-954.

- Nakamura LK, Swezey J. 1983. Taxonomy of *Bacillus circulans*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 33 (1): 46-52.

- Thaniyavarn J y otros. 2008. Production of sophorolipid biosurfactant by *Pichia anomala*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72 (8): 2061-2068.

- Walker GM. 2011. *Pichia anomala* cell physiology and biotechnology relative to other yeasts. *Antoine van Leuwenhoek* 99 (1): 25-34.

ESTABLECIMIENTO DE UNA COLECCIÓN BASE DE *Fusarium* spp. DEL ÁREA TABACALERA DE LA PROVINCIA DE JUJUY

ESTABLISHMENT OF A BASE COLLECTION OF *Fusarium* spp. OF THE TOBACCO AREA OF JUJUY PROVINCE

Sivila N.¹, Jurado E.¹, Bejarano N.¹, Catacata J.¹

RESUMEN

Las cepas de *Fusarium oxysporum* causantes de marchitamientos, son responsables de daños graves en muchas especies de plantas de importancia económica, muestran un alto nivel de especificidad del huésped y en base a las especies y variedades que pueden infectar, se clasifican en más de 120 formas especiales y razas. *F. oxysporum* f. sp. *nicotianae* causa marchitamientos en las plantas de tabaco, debido a que necrosa los haces vasculares y puede destruir una parte o todo el sistema radicular. El objetivo del presente trabajo fue obtener aislamientos de *Fusarium* spp. de plantas de tabaco con síntomas de marchitamiento de los valles templados de Jujuy y caracterizarlos cultural y morfológicamente. Se recolectaron plantas con síntomas de marchitamiento del área en estudio, se realizaron aislamientos de haces vasculares y de raíces. Para su caracterización se utilizaron cepas monoconidiales de *Fusarium* spp. Se obtuvo una colección de 23 aislamientos de *Fusarium* spp. 15 de los cuales se caracterizaron como *F. oxysporum*. Esta colección permitirá realizar a futuro la caracterización molecular, y estudios de comportamiento varietal, esta última información muy requerida por los productores, al ser esta una patología limitante para este cultivo.

Palabras claves: Jujuy. Tabaco. Colección. *Fusarium*.

SUMMARY

Fusarium oxysporum strains causing wilt are responsible for serious damage to many plant species of economic importance, show a high level of host specificity, based on species and varieties that can infect, are classified into more of 120 special forms and races. *F. oxysporum* f. sp. *nicotianae* causes wilting in tobacco plants, due to necrosis of vascular tissue and can destroy part or all of the root system. The aim of this work was to obtain isolates of *Fusarium* spp. of tobacco plants with wilting symptoms of the temperate valleys of Jujuy. Plants with wilting symptoms were collected from the study area, vascular and root tissue were used for the isolation of the strains. Monoconidial strains of *Fusarium* spp. were used for their characterization. A collection of 23 isolates of *Fusarium* spp. was obtained, 15 of which were characterized as *F. oxysporum*, which will allow to carry out in the future in addition to the molecular characterization the studies of varietal behavior, this last information very required by the producers, because this pathology is limiting for the crop.

Key words: Jujuy. Tobacco. Collection. *Fusarium*.

INTRODUCCIÓN

Argentina es uno de los 100 países productores de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), el mismo se desarrolla en las provincias de Jujuy, Salta, Tucumán, Chaco, Catamarca, Misiones y Corrientes, constituyéndose en el motor socioeconómico en esas provincias. Jujuy y Salta aportan el 99 % de la producción nacional de tabaco tipo Virginia. En Jujuy la superficie destinada a este cultivo es aproximadamente de 20.000 ha, con una producción de alrededor de 45.000 tn y un rendimiento promedio de 2,2 tm/ha. Se cultiva en los departamentos de Palpalá, El Carmen, Dr. Manuel Belgrano y Santa Bárbara (Cámara de tabaco Jujuy, 2016).

El tabaco es afectado por diferentes patógenos que alteran tanto su calidad como su rendimiento, una de las principales enfermedades vasculares es el marchitamiento causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae*.

Fusarium oxysporum Schltdl., Fl. Berel. (Berlin) 2: 139 (1824).

Colonias de crecimiento rápido, alcanzando 6-8 cm de diámetro en 8 días a 25 °C en APG, con micelio aéreo, abundante, estriado, ligeramente flocoso, de color blanquecino, púrpura o violeta. Microconidios ovales o ligeramente curvados, de 5-12 x 2,2-3,5 µm, formados en falsas cabezas, sobre conidióforos cortos, no ramificados. Macroconidios relativamente delgados, rectos o ligeramente curvados, de 3-5 septos, con la célula apical en punta y ligeramente curvada y la célula basal en forma de pie, formados en conidióforos ramificados, de 25-35 x 2,5-4 µm. Clamidosporas abundantes, globosas o subglobosas, de 8-10 µm, de superficie lisa, terminales o intercalares, solitarias, en pares o formando cadenas cortas. Esta especie se relaciona con *F. solani* de la que se distingue por producir sus microconidios en falsas cabezas sobre monofálides muy largas (Leslie y otros, 2005).

Otras formas especiales fueron citadas afectando al tabaco (Noguera, 1977). El marchitamiento se debe a que este hongo necrosa los haces vasculares, la enfermedad se manifiesta inicialmente con un amarillamiento unilateral de hojas, seguido de encorvamiento de la planta hacia la parte dañada, las hojas también se encorvan hacia el lado de los haces vasculares afectados. Cuanto más temprano

es el daño, las plantas son de menor altura, en ataques severos causa la podredumbre seca del tallo. El hongo puede destruir una parte o todo el sistema radicular. Otras cepas de *F. oxysporum* se encuentran en la rizosfera y pueden penetrar en las raíces, pero sin invadir el sistema vascular o causar la enfermedad (Olivain y Alabouvette, 1997; Pérez y otros, 1997). Las formas patógenas de plantas que causan marchitamientos, se agrupan en formas especiales en función a su rango de hospedantes, algunos se subdividen en razas (Gordon y Martyn, 1997). El objetivo del presente trabajo fue obtener aislamientos de *Fusarium* spp., de plantas de tabaco con síntomas de marchitamiento procedentes de los valles templados de Jujuy y caracterizarlos cultural y morfológicamente como base de una colección para luego realizar estudios de variabilidad genética e interacción con hospedantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Durante el ciclo de cultivo 2015 se realizó un relevamiento en distintas localidades tabacaleras de los valles templados de la provincia de Jujuy, de donde se tomaron muestras de plantas de tabaco Virginia con síntomas de marchitamiento.

Aislamiento y cultivo

Se cortaron, lavaron y desinfectaron tallos y pecíolos de hojas con síntomas. En ambiente estéril se descortezaron los pecíolos y con ayuda de un bisturí se tomaron 5 trozos de tejido vascular y se sembraron en agar papa glucosado 2 % (APG 2%). Las colonias tipo *Fusarium* spp. se repicaron nuevamente en APG para obtener cultivos puros, luego se realizaron cultivos monoconidiales para la caracterizaron cultural y morfológica (Summerell y otros, 2003).

Caracterización cultural

Los caracteres cualitativos y cuantitativos evaluados fueron: color de la colonia en el anverso y el reverso, textura, pigmentación del medio (por apreciación visual del pigmento producido e intensidad), tasa de crecimiento (diámetro de la colonia medido en mm/d).

Caracterización morfológica

Para la identificación de las especies de *Fusarium* se utilizaron las claves propuestas por Booth (1969), Booth (1971), Booth (1977), Gerlach y Nirenberg (1982), Singh (1991), López (2003), Summerell y Leslie (2005).

Se tuvo en cuenta: la presencia, ausencia, forma y tamaño de los macroconidios y microconidios. En caso de presentarse clamidosporas y esporodocios, se tuvo en cuenta su tamaño y posición. Se realizaron 30 mediciones de las estructuras presentes en las preparaciones microscópicas, para lo cual se usó una escala micrométrica acoplada a un microscopio óptico Zeiss Estandar 25 (10-40 x).

Las colonias son conservadas en el cepario del Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de las Plantas de la Cátedra de Fitopatología (FCA - UNJu) a 10 °C.

RESULTADOS

Se tomaron 23 muestras de plantas con síntomas de marchitamiento (Figura 1), correspondientes a 11 localidades de la zona tabacalera de la provincia de Jujuy: Monterrico, Coronel Arias, San Vicente, El Carmen, Manantiales, Aguas Calientes, La Ovejería, Puesto viejo, El Arenal, Los Molinos, de las cuales se obtuvieron 23 aislamientos con las características morfológicas tipo *Fusarium* spp.

Los aislamientos FT 1, 2, 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 19 y 23 en APG a 25 °C presentaron una

tasa media de crecimiento diario de 125 y 110 mm/d, al tercer y séptimo día respectivamente.

Culturalmente presentaron abundante micelio aéreo algodonoso, a veces afelpado, de color blanquecino, con tonalidades rosa violáceo y púrpura, fundamentalmente en el centro de la colonia y una pigmentación variable, con predominio de los colores rosa violáceo y púrpura en el anverso de la placa y tonalidades azules en el reverso (Figura 2).

Desde el punto de vista micro-morfológico, se caracterizaron por presentar: conidióforos que surgieron lateralmente de hifas simples y ramificadas; macroconidios hialinos, semicurvos o casi rectos (falcados) a curvados, puntiagudos en sus extremos, con tres a cinco septos de 28,7-32,5 x 3,4-5,54 μm y célula basal en forma de pie (Figura 3); microconidios hialinos formados en falsas cabezas y abundantes, de forma oval a elíptica, con uno o dos septos de 3,5-4,2 x 2-3 μm ; y clamidosporas de 6,6-10,19 μm de tamaño, globosas a subglobosas, de paredes lisas, terminales o intercalares y dispuestas individualmente o en pares a lo largo de la hifa, fueron identificados como *F. oxysporum*.

Las cepas FT 4, 5, 7, 13, 17, 20, 21 y 22, no se correspondieron cultural ni morfológicamente con lo descrito para *F. oxysporum* (Figura 3 y 4), de las cuales FT 4, 5, 13, 17 y 22, fueron aisladas de partes subterráneas de las plantas y la cepa FT 21 fue aislada del cuello de plantas de almácigo, por lo cual puede tratarse de *Fusarium* spp. saprobio en la rizósfera o de un endófito.

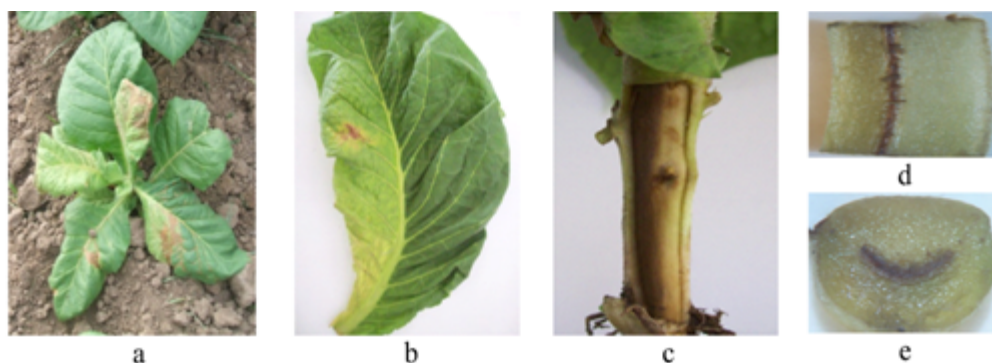


Figura 1. Planta de Tabaco con síntomas de marchitamiento vascular: a) encorvamiento de la planta hacia la parte dañada, b) amarillamiento unilateral de las hojas, c) necrosis de tallo, d) necrosis de haces vasculares visto en corte longitudinal del tallo y e) necrosis de haces vasculares visto en corte transversal del tallo.

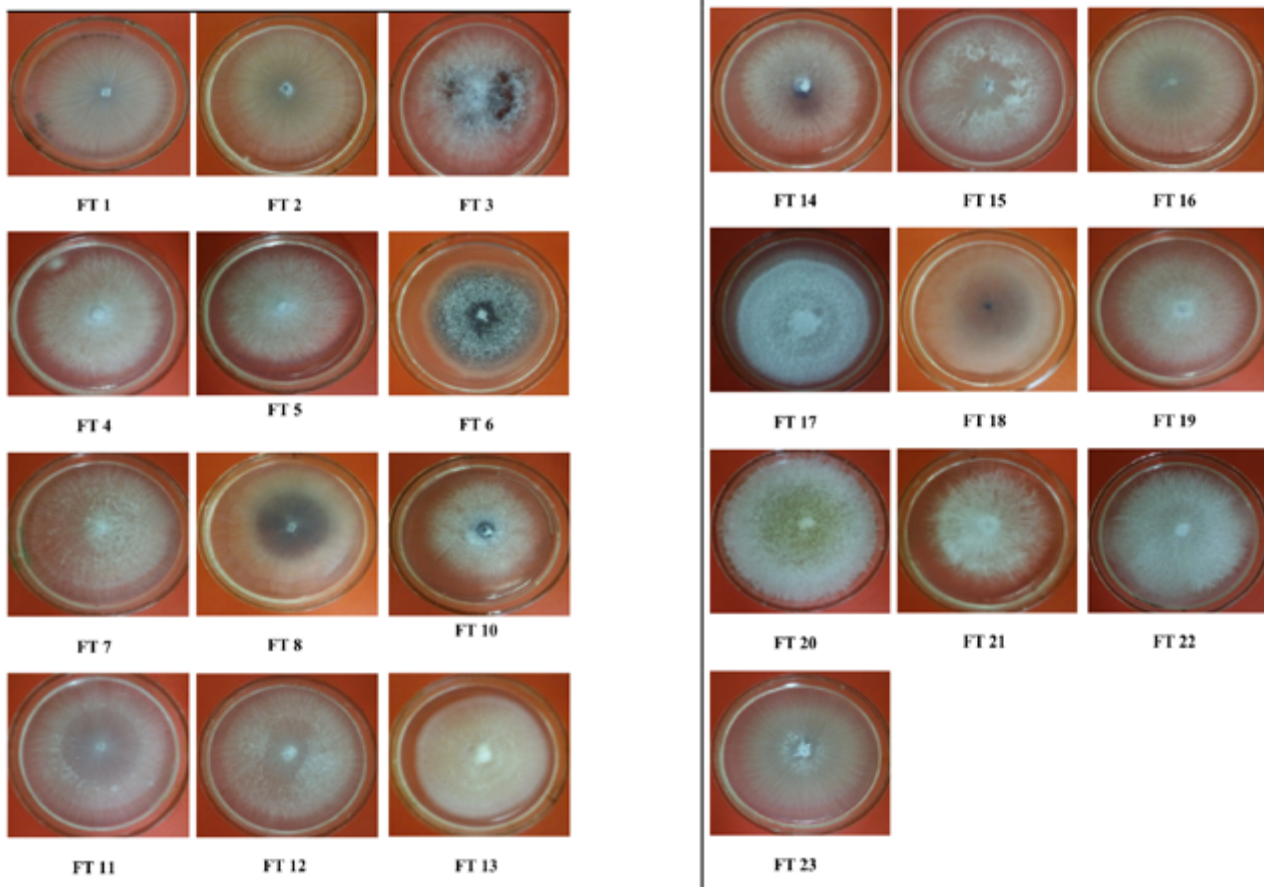


Figura 2. Características culturales de las cepas aisladas FT 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y 23, a los 7 días a $26 \pm 2^\circ\text{C}$. La cepa 9 no pudo recuperarse para el registro de imágenes.

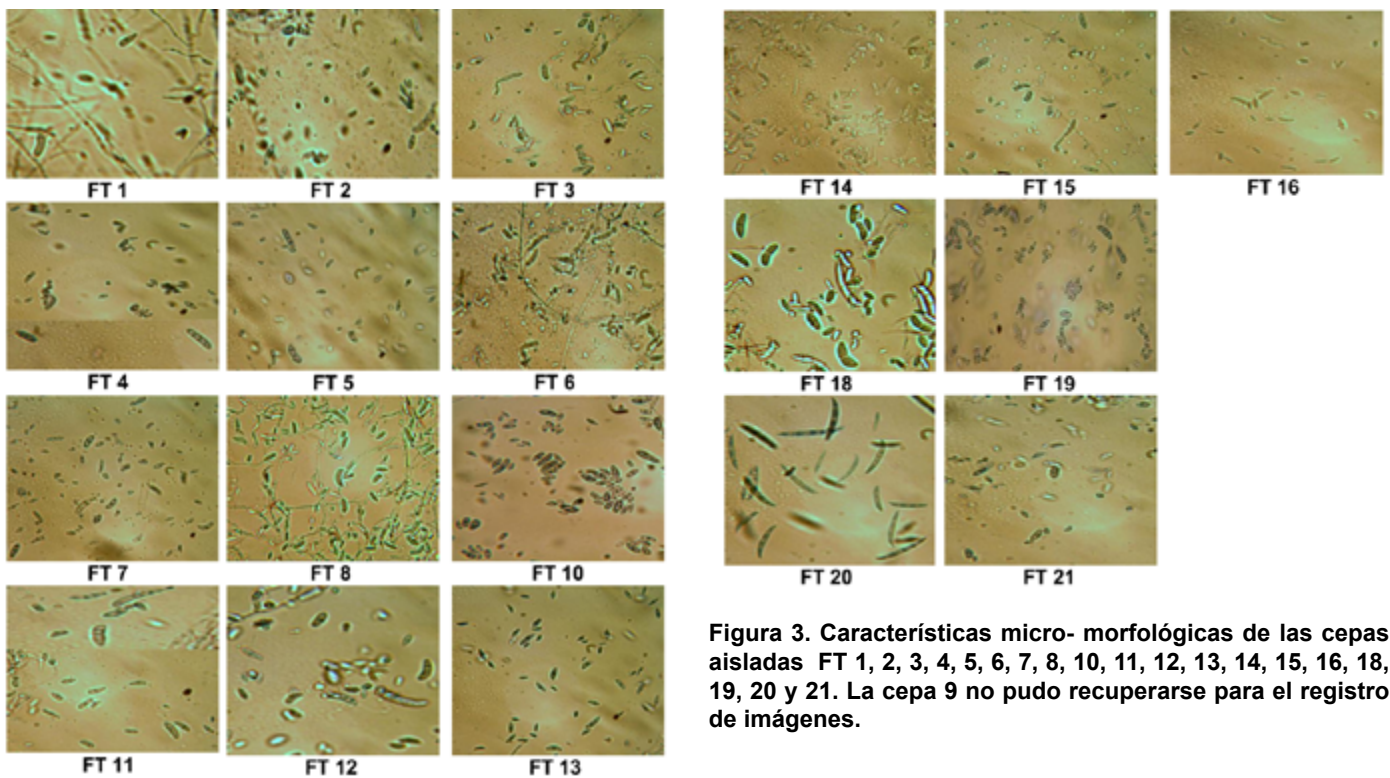


Figura 3. Características micro- morfológicas de las cepas aisladas FT 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 y 21. La cepa 9 no pudo recuperarse para el registro de imágenes.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se evidenció prevalencia y diversidad en la distribución de las especies de *F. oxysporum* asociadas a síntomas de marchitamiento de tabaco y a sus raíces en la zona de estudio. En otras áreas tabacaleras también hay citas de diferentes formas especiales de *F. oxysporum* asociadas a síntomas de marchitamiento en plantas de tabaco (Noguera, 1977; Pérez y otros, 1997), algunos determinados como patógenos, otros como saprófitos inclusive con potencial antagonista de cepas patógenas, la posibilidad de aislarlos del mismo tejido muestran su coexistencia e interacción, aspectos que requieren ser dilucidados. Análisis filogénicos moleculares futuros se pueden realizar de esta colección que pueden explicar esta diversidad.

CONCLUSIÓN

La colección de cepas de *F. oxysporum* obtenidas en este trabajo, mostró una diversidad morfológica y cultural entre los aislamientos, que pueden indicar diferencias patogénicas entre ellas y deben ser considerada a la hora de realizar la selección por resistencia varietal, ya que esta diversidad patógena es con la que las plantas se encuentran en la zona en estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Booth, C. 1969. *Fusarium oxysporum*- In: Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. Commonwealth Mycological Institute (CAB) (Set 22). Kew, Surrey, England. N° 211.

- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute (CAB). Kew, Surrey, England.

- Booth, C. 1977. *Fusarium*: Laboratory guide to the identification of the major species. Commonwealth Mycological Institute (CAB). Ferry Land, Kew, Surrey, England. 58 p.

- Gerlach, W.; H. Nirenberg. 1982. The genus *Fusarium*- a pictorial atlas. Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Institut für Mikrobiologie. Berlin.

- Gordon, T. R.; R. D. Martyn. 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. Annual review of phytopathology. Volume 35. N° 1. Pages

111-128.

- Cámara del tabaco Jujuy. Producción Nacional. Disponible on line:

http://www.tabacojujuy.com.ar/noticias/index.php?option=com_content&view=article&id=3824:produccion-nacional&catid=72:produccion&Itemid=121
Fecha de consulta: 19.IX.2016.

- Leslie, J. F.; B. A. Summerell; S. Bullock; F. J. Doe. 2005. *Gibberella sacchari*: The teleomorph of *Fusarium sacchari*. Mycologia. Volume 97. Pages 718- 724.

- López, D. 2003. Contribución al diagnóstico de las especies del género *Fusarium* Link. Tesis presentada en opción al título académico de Maestro en Ciencias en Sanidad Vegetal. Mención Fitopatología. Universidad Agraria de La Habana. La Habana. Cuba. Páginas 61.

- Noguera, R. 1977. Influencia de *Meloidogyne incognita* en la fusariosis del tabaco (*Nicotiana* spp.) causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *batatas*. Agronomía Tropical. Volumen 27. N° 4. Páginas 461-464.

- Olivain, C.; C. Alabouvette. 1997. Colonization of tomato root by a non-pathogenic strain of *Fusarium oxysporum*. New Phytologist. Volume 137. Pages 481-494.

- Pérez, C.; J. Pineda; D. Ulacio. 1997. Micoflora asociada a las raíces de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) provenientes del Estado Portuguesa. Bioagro. Volumen 9. N° 1. Páginas 3-11.

- Singh, K. 1991. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries; Technical University of Denmark Department of Biotechnology.. An Illustrated manual on identification of some seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their mycotoxins. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, Denmark. Pages 133.

- Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. Plant Disease. Volume 87. N° 2.

- Summerell, B. A.; J. Leslie. 2005. The *Fusarium* Laboratory Manual. Kansas State University, Manhattan. Pages 87-110.

PRODUCCIÓN ARTESANAL DE *Trichoderma* spp. UTILIZANDO DIFERENTES SUSTRATOS Y CONTENEDORES

TRADITIONAL PRODUCTION OF *Trichoderma* spp. USING DIFFERENT SUBSTRATES AND CONTAINERS

Sivila N. F.¹, Álvarez S. E.¹, Catacata J. R.¹ y Bonillo M. C.²

RESUMEN

La producción artesanal del hongo antagonista del género *Trichoderma*, se realizó sobre 5 sustratos, empleando 2 tipos de contenedores. Los granos de arroz, quinua y amaranto se hirvieron en agua durante 5 min, trigo 10 min y avena 40 min. Se colocaron 100 g de cada sustrato en botellas de vidrio y 50 g en bolsas plásticas. Se esterilizaron a 120 °C durante 10 min. y se inocularon con la cepa local T.001 e incubaron a 27 °C durante 10 días. Se realizaron 10 tratamientos (BTar, BTq, BTam, BTt, BTav, BSar, BSq, BSam, BSt, BSav) con 3 repeticiones cada uno. A los 10 días de incubación se evaluó la concentración de conidios/gramo de sustrato y a los 120 días de almacenamiento se evaluó la viabilidad y pureza de los conidios. La producción de conidios/gramo fue significativa en BTq (4,97 E+09) y BTar (4,37 E+09). La viabilidad fue superior al 79 % en todos los tratamientos (excepto BTt y BSt). Se obtuvieron valores de pureza entre 90-100 %. La mejor producción se obtuvo sobre quinua y arroz, con el empleo de botellas, sin embargo, en ambos tipos de contenedores y cualquiera de los sustratos (excepto trigo) se obtuvo un número aceptable de conidios/gramo para su uso como biofungicida.

Palabras claves: *Trichoderma*. Biofungicida. Fitopatógenos.

SUMMARY

The artisanal production of the antagonistic fungus of the genus *Trichoderma* was carried out on 5 substrates, using 2 types of containers. The grains of rice, quinoa and amaranth were boiled in water for 5 min, wheat 10 min and oats 40 min. A hundred g of each substrate were placed in glass bottles and 50 g in plastic bags. They were sterilized at 120 °C for 10 min and inoculated with the local strain T.001 and incubated at 27 °C for 10 days. Ten treatments were performed (BTar, BTq, BTam, BTt, BTav, BSar, BSq, BSam, BSt, BSav) with 3 replicates each. At 10 days of incubation the concentration of conidia/gram of substrate was evaluated and at 120 days of storage the conidia viability and purity were evaluated. The production of conidia/gram was significant in BTq (4.97 E + 09) and BTar (4.37 E + 09). The viability was higher than 79 % in all treatments (except BTt and BSt). Purity values were obtained between 90-100%. Production on quinoa and rice and the use of bottles resulted in the best treatments, however in both types of containers and on any substrates (except wheat) the numbers of conidia/gram were acceptable for use as biofungicide.

Key words: *Trichoderma*. Biofungicide. Phytopathogens.

INTRODUCCIÓN

La utilización de agentes de control biológico, constituye una de las alternativas más promisorias para disminuir el impacto ambiental causado por el frecuente uso de productos químicos en el control de plagas y enfermedades de plantas (Boyetchko e Hynes, 2006).

En este sentido las especies del género *Trichoderma* se han estudiado como agentes de control biológico de enfermedades de plantas causadas por otros hongos, tanto de los que invaden la raíz (Wells y otros, 1972) como la parte aérea y/o sus productos durante la post-cosecha (Papavizas, 1985). Este hongo ejerce su control por varios modos de acción: competencia por nutrientes, producción de metabolitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas y micoparasitismo, además de producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal (Stefanova, 1996). *Trichoderma* produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios (Papavizas, 1985). Estos últimos, colonizan los nuevos sustratos y son la principal forma de producción comercial de *Trichoderma* (Agamez Ramos y otros, 2008).

La multiplicación del antagonista se realiza de forma artesanal o industrial, mediante técnicas de fermentación líquida y sólida. En la multiplicación artesanal de *Trichoderma* sobre los diferentes sustratos pueden emplearse frascos de vidrio o bolsas esterilizables (CET, 2004). En la fermentación sólida se utilizan sustratos como el arroz y los residuos agroindustriales (Fernández y Vega, 2001).

La calidad del producto se determina mediante los siguientes parámetros: a) concentración de conidios, la cual no debe ser menor de 10^9 conidios por gramo de sustrato en formulaciones sólidas; b) viabilidad, entre 85 y 100%, mientras mayor sea la viabilidad mayores probabilidades de éxito pueden esperarse; y c) pureza, que permite conocer si existen otros microorganismos como posibles contaminantes, hecho esencial para mejorar el proceso de producción y formulación (CET, 2004).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la calidad del bioinsumo obtenido en la producción artesanal de una cepa local de *Trichoderma*, utilizando diferentes granos como sustrato y el empleo de dos tipos de contenedores durante el proceso de producción de las esporas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy.

Sustratos y contenedores

Para la producción artesanal del antagonista se probaron cinco sustratos: granos de arroz, quinua, amaranto, trigo y avena; y dos tipos de contenedores: botellas de vidrio y bolsas plásticas esterilizables, en 10 tratamientos denominados BTar, BTq, BTam, BTt, BTav, BSar, BSq, BSam, BSt y BSav, con tres repeticiones cada uno.

Cepa antagonista

Se utilizaron cultivos de 7 días de la cepa local de *Trichoderma* sp. T.001 en medio agar papa glucosa al 2% (APG 2 %), de probado comportamiento antagonista frente a los fitopatógenos *Fusarium* sp., *Sclerotium* sp. y *Rhizoctonia* sp., proporcionados por el Centro de Estudios para el Desarrollo de la Agricultura Familiar (CEDAF).

Preparación de los sustratos sólidos

Los granos de arroz, quinua y amaranto se colocaron en una olla con suficiente agua, a punto de ebullición, e hirvieron por 5 min, mientras que el trigo y la avena por 10 y 40 min respectivamente. Los granos se escurrieron y fueron colocados en una bandeja plástica dejándolos orear por 24 horas.

Acondicionamiento del material

Se colocaron 100 g de cada sustrato en sendas botellas de vidrio (previamente desinfectada con alcohol) con tapones de algodón, los cuales se cubrieron con papeles atados con hilo de algodón.

Se colocaron 50 g de cada sustrato en bolsas plásticas esterilizables, que fueron selladas con una cinta adhesiva. Las botellas y bolsas conteniendo el sustrato, fueron esterilizadas en autoclave durante 10 min a 120 °C.

Inoculación e incubación

El sustrato contenido en cada uno de los contenedores, fue inoculado con una sección de

2 cm² del cultivo del antagonista puro, y se agitó manualmente a fin de esparcir el inóculo. Se incubaron en estufa a 27 °C durante 10 días y con un fotoperiodo de 12 horas. Los recipientes fueron agitados periódicamente para evitar apelmazamiento del sustrato.

Secado, envasado y almacenamiento

Transcurrida la incubación, los sustratos ya colonizados se colocaron en bandejas plásticas en una cámara con extractor de aire hasta verificar un peso constante. Luego se envasaron en bolsas de polietileno, sellándolas al vacío y se almacenaron durante un periodo de 4 meses en oscuridad a temperatura media de 10 °C.

Pruebas de calidad del producto

Concentración de conidios: A los 10 días de incubación, se pesó en balanza analítica 1 g de sustrato colonizado y se suspendió en 9 ml de agua destilada estéril agitando vigorosamente. Luego se determinó el número de conidios por gramo haciendo recuentos en cámara de Neubauer según French y Hebert (1980).

Viabilidad de conidios: A los 120 días de almacenamiento, se colocó 0,1 g de sustrato en 9 ml de agua destilada estéril y se agitó vigorosamente, una alícuota de la dilución fue sembrada en portaobjetos excavados conteniendo APG 2 %, se dejó incubar en estufa a 27 °C durante 18 horas. El porcentaje de germinación de conidios (PG %), se obtuvo multiplicando el número de conidios germinados (CG) en 3 campos de observación bajo microscopio óptico por 100, dividido el número total de conidios germinados y no germinados (TC) ($PG \% = CG \times 100 / TC$). Los conidios se consideran viables si el largo del tubo germinativo es dos veces el diámetro del conidio. Se contaron más de 200 conidios, si este número se incrementa la prueba se hace más exacta (CET, 2004).

Pureza: A los 120 días de almacenamiento, se pesó 1 g de sustrato, se suspendió en 9 ml de agua destilada estéril, se agitó vigorosamente y se efectuaron una serie de 7 diluciones, luego 100 µl de la última dilución se dispersaron en placas con medio APG 2 %, las que se llevaron a estufa durante 4 días a 27 °C. Se consideró 100 % de pureza cuando la totalidad de la placa fue colonizada por

Trichoderma sp.

Diseño Estadístico

Se aplicó un diseño Completamente Aleatorizado (DCA) y para identificar las diferencias significativas se usó la prueba de comparación de Tukey con un $\alpha=0,05$ con el programa estadístico InfoStat versión 2015.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La utilización de granos de arroz y quinua como sustratos en botellas de vidrio, mostró diferencias significativas, obteniéndose la mayor concentración de conidios a los 10 días de incubación: 4,37 E+09 en BTar y 4,97 E+09 en BTq (Tabla 1 y Figura 1). Estos resultados fueron superiores a los alcanzados por Pérez y Ramírez (2000) quienes obtuvieron 1,6 E+09 conidios/gramo al utilizar granos de arroz como sustrato, asimismo Agamez Ramos y otros (2008) obtuvieron una concentración 1,20 E+08 empleando cascarilla de arroz. La alta producción de conidios pudo deberse a que el arroz es un sustrato rico con aproximadamente 70 % de almidón, además de proteínas y los elementos traza (Mg, Zn y Cu) que requiere *Trichoderma* para su crecimiento (Chávez-García y otros, 2008).

Tabla 1. Concentración de conidios/gramo de sustrato a los 10 días de incubación.

Tratamientos	Conidios/gramo	
\bar{x} BTar	4,37 E+09	AB
\bar{x} BTq	4,97 E+09	A
\bar{x} BTam	3,93 E+09	BC
\bar{x} BTt	3,08 E+07	F
\bar{x} BTav	3,29 E+09	CD
\bar{x} BSar	1,78 E+09	E
\bar{x} BSq	3,44 E+09	CD
\bar{x} BSam	2,90 E+09	D
\bar{x} BSt	3,50 E+07	F
\bar{x} BSav	2,00 E+09	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

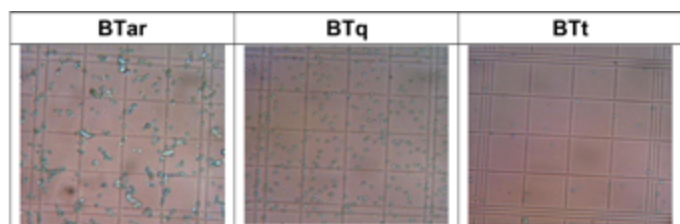


Figura 1. Conidios en cámara de Neubauer, de los tratamientos BTar, BTq y BTt.

El grano de quinua presenta el valor más alto de proteínas (13,0 %) que otros cereales, como la avena (12,30 %), trigo (11,43 %) y arroz (10,25 %), además se caracteriza por la calidad de sus proteínas dada por los aminoácidos esenciales que la constituyen (Fundación PROINPA, 2004). Esto pudo favorecer la mayor producción de esporas, ya que *Trichoderma* asimila como fuente de nitrógeno compuestos tales como aminoácidos, urea, nitritos, amoníaco y sulfato de amonio (Agamez Ramos y otros, 2008). Sin embargo Michel-Aceves y otros (2008) observaron que el olote era el mejor sustrato en la producción de esporas pero el que contenía menos proteína cruda (2,86 %) y manifestaron que este hongo no es exigente en su nutrición, ya que con un mínimo de nutrientes crece y se desarrolla satisfactoriamente produciendo muchas esporas.

Al comparar la composición de los granos de trigo con los del arroz en cuanto a: proteínas (11,43 % trigo; 10,25 % arroz); nitrógeno (2,24 % trigo; 1,52 % arroz) (Mujica y Jacobsen, 2006) y carbohidratos (71 % trigo; 78 % arroz) (Fundación PROINPA, 2004), se podría suponer que el grano de trigo actuaría como un sustrato eficiente en la producción de *Trichoderma*, pero la colonización del antagonista utilizando este grano y en ambos tipos de contenedores mostró los valores más bajos en concentración: $3,08 \text{ E}+07$ en BTt y $3,50 \text{ E}+07$ en BSt (Tabla 1 y Figura 1). Estos resultados pueden atribuirse a que el tiempo de hervor de 10 min durante la preparación del sustrato no fue suficiente para ablandar el tegumento de los granos y como consecuencia se obtuvo una baja hidratación en los mismos. El sustrato debe tener la humedad suficiente para permitir el crecimiento del microorganismo y se lleven a cabo todos los procesos metabólicos, ya que una baja humedad tiende a reducir la difusión de nutrientes, la estabilidad enzimática y la degradación del sustrato. En general, los contenidos de humedad

encontrados en los procesos de fermentación sólida están entre el 30 % y el 85 % (Cruz Martínez, 2007).

El resto de los tratamientos presentaron valores entre $1,78 \text{ E}+09$ y $3,93 \text{ E}+09$ conidios/gramo de sustrato (Tabla 1 y Figura 1) superiores a los obtenidos por Agamez Ramos y otros (2008) cuya mejor producción de esporas fue de $2,1 \text{ E}+08$ en cascarilla de algodón enriquecida con soluciones de melaza.

En todos los sustratos se evidenció la producción de esporas (Tabla 1 y Figura 1), coincidiendo con Michel-Aceves y otros (2008) en el sentido de que *Trichoderma* se desarrolla bien en muchos sustratos y no exige muchos nutrientes.

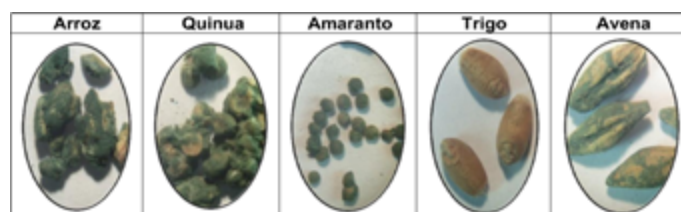


Figura 2. Sustratos colonizados por *Trichoderma*, luego del periodo de secado.

En cuanto a viabilidad de conidios a los 120 días de almacenamiento, se obtuvieron los valores más bajos de germinación en los tratamientos BSar (79 %), BTt (35 %) y BSt (36 %), no existiendo diferencias entre los dos últimos, en el resto los valores de viabilidad se encontraban entre el 89-99 % (Tabla 2 y Figura 3). Estos últimos valores coinciden con lo recomendado en el Manual Producción y Utilización de *Trichoderma* spp. (CET, 2004) en que la viabilidad de los conidios puede estar entre el 85 y el 90 %, lo obtenido puede deberse a la realización del proceso de secado, ya que el contenido de humedad es un factor determinante en la supervivencia de los conidios, cuando estos están secos pueden mantener un nivel de germinación alto durante meses, además la temperatura durante el almacenamiento de $10 \text{ }^\circ\text{C}$ pudo influir sobre la viabilidad de los conidios, debido a que las temperaturas bajas son más favorables para mantener niveles de viabilidad adecuados en condiciones de almacenamiento (CET, 2004). Michel-Aceves y otros (2008) obtuvieron resultados similares, donde las esporas de *Trichoderma* germinaron satisfactoriamente de 87,8 a 99 %, lo que indica que los componentes de los diferentes

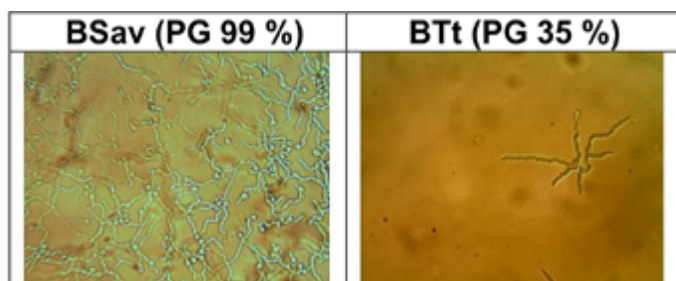
sustratos no influyen negativamente en la viabilidad.

Tabla 2. Germinación de conidios (PG %) a los 120 días de almacenamiento.

Tratamientos	PG %
\bar{x} BTar	89 A
\bar{x} BTq	90 A
\bar{x} BTam	96 A
\bar{x} BTt	35 B
\bar{x} BTav	98 A
\bar{x} BSar	79 A
\bar{x} BSq	89 A
\bar{x} BSam	91 A
\bar{x} BSt	36 B
\bar{x} BSav	99 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Figura 3. Germinación de conidios (PG %) a los 120 días de almacenamiento, de los tratamientos BSav y BTt.



Se obtuvieron valores favorables de pureza, entre el 90-100 % a los 120 días de almacenamiento, observándose escasa contaminación de otros microorganismos (Tabla 6), lo que pudo deberse al hecho de que todas las producciones microbianas tienen el riesgo de contaminarse y en las artesanales esto puede ocurrir con más frecuencia si no se cumplen las buenas prácticas de producción debido al gran número de operaciones manuales (Orestes Elósegui Claro, 2006). Por otra parte, la utilización de bolsas, presenta como desventaja mayor nivel de contaminación y la manipulación debe ser muy cuidadosa ya que es muy fácil la ruptura de los envases y la pérdida del contenido (CET, 2004).

Tabla 3. Pureza (P %) del producto final a los 120 días de almacenamiento.

Tratamientos	P %
\bar{x} BTar	90 C
\bar{x} BTq	100 A
\bar{x} BTam	100 A
\bar{x} BTt	100 A
\bar{x} BTav	91,25 BC
\bar{x} BSar	100 A
\bar{x} BSq	100 A
\bar{x} BSam	97,33 AB
\bar{x} BSt	99,83 A
\bar{x} BSav	99,75 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

CONCLUSIONES

Del presente trabajo se concluye que los dos métodos de cultivo resultan apropiados en la multiplicación del antagonista, siendo las botellas de vidrio más eficientes comparado con la utilización de bolsas esterilizables. También se demuestra la potencialidad de la quinua, ya que la producción de esporas es elevada obteniéndose $4,97 \text{ E}+09$ conidios/gramo a 10 días de incubación con viabilidad del 90 % y pureza del 100 %. Sin embargo, los granos de arroz, amaranto y avena también podrían ser empleados como sustratos, al obtenerse concentraciones superiores lo establecido en el Manual de Producción y Utilización de *Trichoderma* spp. (CET, 2004) que sugiere valores mayores a $1 \text{ E}+09$ conidios/gramo. En cuanto al grano de trigo se recomienda ajustar la forma de acondicionamiento, previo a ser descartado como un sustrato alternativo.

BIBLIOGRAFÍA

- Agamez Ramos, E. Y.; R. I. Zapata Navarro; L. E. Oviedo Zumaqué; J. L. Barrera Violeth. 2008. Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. Revista Colombiana de Biotecnología. X (2): 23-34.

- Boyetchko, S.; R. Hynes. 2006. Research initiatives in the art and science of biopesticide formulations. *Soil Bio Biochem.* 38: 845-900.
- CET. 2004. Manual de Producción y Utilización de *Trichoderma* spp. Centro de Educación y Tecnología, Santiago de Chile. Disponible on line: <https://es.scribd.com/document/206333862/Manual-de-Produccion-y-utilizacion-de-Trichoderma>.
- Chávez-García, M.; J. S. Montaña-Lara; M. M. Martínez-Salgado; M. Mercado-Reyes; M. X. Rodríguez; B. Quevedo-Hidalgo. 2008. Efecto del sustrato y la exposición a la luz en la producción de una cepa de *Trichoderma* sp. *Universitas Scientiarum.* 13 (3): 245-251.
- Cruz Martínez, L. C. 2007. Estandarización del Proceso de Producción Masiva del hongo *Trichoderma koningii* Th 003 mediante fermentación bifásica a escala piloto. Trabajo de Grado, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias.
- Fernández, O.; L. Vega. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Revista Manejo Integrado de Plagas.* 62: 96-100.
- French, E. R.; T. T. Hebert. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José, Costa Rica.
- Fundación PROINPA. 2004. Estudio de los Impactos Sociales, Ambientales y Económicos de la Promoción de la Quinoa en Bolivia. La Paz, Bolivia.
- Michel-Aceves, A. C.; M. A. Otero-Sánchez; R. D. Martínez-Rojero; N. L. Rodríguez-Morán; R. Ariza-Flores; A. Barrios-Ayala. 2008. Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Chapingo, serie Horticultura.* 14 (2):185-191.
- Mujica A.; S. Jacobsen. 2006. La Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus Parientes Silvestres. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. Pp. 449-457.
- Elósegui Claro O. 2006. Métodos Artesanales de Producción de Bioplaguicidas a partir de Hongos Entomopatógenos y Antagonistas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) Ciudad de La Habana, Cuba. Pp. 1-61.
- Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma and Gliocladium: Biology, ecology, and potential for biocontrol.* *Annual Review of Phytopathology.* 23: 23-54.
- Pérez, L. F. y Ramírez, C. 2000. Efecto de las variables, condiciones de la fermentación y del sustrato en la producción de *Trichoderma harzianum*. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C.
- Stefanova, N. M. 1996. Producción y Aplicación de *Trichoderma* spp. como Antagonista de Hongos Fitopatógenos. Instituto de Sanidad Vegetal.
- Wells, H. D.; D. K. Bell; C. A. Jaworski. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology.* 62: 442-447.

ANTAGONISMO DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. PROVENIENTES DE SUELOS DE JUJUY, SOBRE LOS FITOPATÓGENOS *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. Y *Rhizoctonia solani*

ANTAGONISM OF *Trichoderma* spp. FROM SOILS OF JUJUY, ON PHYTOPATHOGENS *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. AND *Rhizoctonia solani*

Sivila N. F.¹, Álvarez S. E.¹, Catacata J. R.¹ y Bonillo M. C.²

RESUMEN

Hongos de suelo como *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*, afectan a numerosos cultivos, causando podredumbre de raíces y tallos, marchitamientos vasculares y *damping off*. Una alternativa para el control de estos patógenos es la utilización de agentes de control biológico como las especies del género *Trichoderma*. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la capacidad antagónica de 18 cepas nativas de *Trichoderma* frente a los tres hongos fitopatógenos mediante ensayos de cultivo dual, calculando al séptimo día el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). Los mejores tratamientos con PICR > 60 % fueron T16-6 que inhibió a *Fusarium* (69 %), T15-3 a *Sclerotium* (62,79 %) y T19-2 que inhibió a *Sclerotium* y *R. solani* (62,79 % y 77,80 % respectivamente). Del total de cepas, 7 obtuvieron PICR > 40 % frente a los tres fitopatógenos (T15-3, T16-6, T1-2, T19-1, T19-2, T8-2 y T1-4), 4 cepas frente a *Fusarium* y *R. solani* (T8-3, T5-4, T11-1 y T12-1), T7-4 sólo frente a *Fusarium* y T4-1 sólo frente a *R. solani* y 5 cepas presentaron PICR < al 40 %. Los resultados demuestran que hubo antagonismo *in-vitro* al utilizar los aislamientos nativos.

Palabras claves: Agroecología. Antagonismo. Biocontrol. Fitopatógenos.

SUMMARY

Soil fungi such as *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. and *Rhizoctonia solani*, affect numerous crops, causing rotting of roots and stems, vascular wilting and *damping off*. An alternative for the control of these pathogens is the use of biological control agents such as the species of the genus *Trichoderma*. The objective of this work was to evaluate the antagonistic capacity of 18 native *Trichoderma* strains compared to the three phytopathogenic fungi using dual culture assays, calculating the percentage of radial growth inhibition (PICR) at the seventh day. The best treatments with PICR > 60 % were T16-6 which inhibited *Fusarium* (69 %), T15-3 to *Sclerotium* (62.79 %) and T19-2 inhibited *Sclerotium* and *R. solani* (62.79 % and 77,80 % respectively). From the total of strains 7 obtained PICR > 40 % against the three phytopathogens (T15-3, T16-6, T1-2, T19-1, T19-2, T8-2 and T1-4), 4 strains against *Fusarium* and *R. solani* (T8-3, T5-4, T11-1 and T12-1), T7-4 only against *Fusarium* and T4-1 only against *R. solani* and 5 strains had 40 % PICR. The results demonstrate that there was *in-vitro* antagonism when using native isolates.

Key words: Agroecology. Antagonism. Biocontrol. Phytopathogens.

INTRODUCCIÓN

Fusarium spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*, se encuentran dentro del grupo de hongos de suelo que afectan a numerosos cultivos, causando podredumbre de raíces y tallos, marchitamientos vasculares y *damping off*. Aislamientos del género *Trichoderma* son los organismos antagónicos más conocidos y estudiados, recomendándose para el control de hongos de suelo (Stefanova, 1997). Este hongo ejerce su control por medio de mecanismos de acción; competencia por nutrientes, producción de metabolitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas y micoparasitismo, además de producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal (Stefanova, 1996). Existen formulaciones comerciales basadas en el uso de *Trichoderma*, las cuales no tienen el mismo efecto en todas las regiones agrícolas, debido a la diversidad de condiciones ambientales existentes en la naturaleza que disminuyen la efectividad de estos productos (Bale y otros, 2008), por lo cual es necesaria la búsqueda y utilización de aislamientos de *Trichoderma* nativos de la región en la que se pretenda utilizarlos. También se debe tener en cuenta que el nivel de control de un patógeno puede variar de acuerdo con la cepa utilizada dentro y entre especies de *Trichoderma* (Dennis y Webster, 1971).

El presente trabajo tuvo como objetivo seleccionar cepas nativas de *Trichoderma* previamente aisladas de muestras de suelos de diferentes puntos de la provincia de Jujuy, mediante pruebas *in-vitro*, frente a los hongos fitopatógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *R. solani*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy (FCA-UNJu), las cepas antagonistas y patógenas empleadas fueron proporcionadas por el cepario de dicho laboratorio.

Cepas antagonistas

Se utilizaron 18 cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas de muestras de suelos de diferentes puntos de la provincia de Jujuy, denominadas; T1-2, T1-4, T2-1, T4-1, T5-4, T7-1, T7-4, T8-2, T8-3, T9-1, T11-1, T12-1, T14-1, T15-3, T16-2, T16-6, T19-1 y T19-2.

Cepas patógenas

Se utilizaron cepas de *Fusarium* spp, *Sclerotium* spp. y *R. solani* aisladas de plantas con sintomatología típica en cada caso.

Cultivo Dual (CD)

Las cepas nativas de *Trichoderma* se enfrentaron a los tres hongos fitopatógenos. Se colocó en uno de los extremos de la caja de petri con medio de cultivo agar papa glucosado al 2% (APG) una sección de 4x4 mm del cultivo puro de 7 d del antagonista y en el extremo opuesto una sección de 4x4 mm de cultivo puro de 7 d del patógeno, a 6 cm aproximadamente entre ellos. Para los testigos, en el centro de cajas de petri se sembraron secciones de 4x4 mm de colonias del antagonista y de los patógenos. Los tratamientos y testigos se llevaron a incubación en estufa (25 °C, 12 h de oscuridad/12 h de luz) durante 7 d. Cada tratamiento y testigos se realizaron por triplicado. Los ensayos se llevaron a cabo en 4 tandas, empleándose en todos los casos, el mismo medio de cultivo, condiciones de incubación y evaluación (Tabla 1).

Tabla 1. Cepas nativas de *Trichoderma* empleadas en ensayos de cultivo dual (CD).

	Tandas			
	Tanda 1	Tanda 2	Tanda 3	Tanda 4
Tratamientos	T 15-3	T 1-2	T 2-1	T 1-4
	T 16-2	T 4-1	T 8-2	T 5-4
	T 16-6	T 19-1	T 8-3	T 7-1
		T 19-2	T 14-1	T 7-4
				T 9-1
				T 11-1
				T 12-1

La capacidad antagónica de las distintas cepas de *Trichoderma* se comprobó mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a 7 d de incubación, para lo cual se empleó la siguiente fórmula; $PICR = (R1 - R2) / R1 \times 100$, donde R1 es el radio mayor o radio del patógeno testigo y R2 es el radio menor o radio del patógeno en enfrentamiento con el antagonista (Ezziyyani y otros, 2004).

Diseño y Análisis estadístico

Se realizó un DCA y para identificar las diferencias significativas se usó la prueba de comparación de Tukey con un $\alpha=0,05$ con el programa estadístico InfoStat versión 2015.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En enfrentamientos con *Fusarium* spp. el mayor antagonismo se presentó en T16-6 que disminuyó el crecimiento del patógeno en un 69 %, sin embargo otras 4 cepas presentaron PICR superior al 60 % (T15-3, T19-1, T1-4 y T11-1), 3 cepas inhibieron entre el 50-60 % (T1-2, T19-2 y T12-1) y 4 cepas inhibieron entre el 40-50 % (T8-2, T8-3, T5-4 y T7-4), las cepas restantes obtuvieron PICR inferiores al 40 % (Tabla 2 y Figuras 1, 2, y 3). Resultados similares obtuvieron Fernández Barbosa y Suárez Meza (2009), al estudiar seis cepas de *Trichoderma harzianum* (nativas y comerciales) frente a *Fusarium oxysporum*, obteniendo PICR del 40-60 % a los 8 d de evaluación.

Frente a *Sclerotium* spp. las mejores cepas fueron T15-3 y T19-2 que inhibieron un 62,79 %. Las cepas T16-6, T19-1 y T8-2 presentaron valores entre 50-60 %, T1-2 y T1-4 entre un 40-50 % y las restantes inhibieron menos del 40 % (Tabla 2 y Figuras 1, 2, y 3). Correa y otros (2007) obtuvieron aislamientos de *Trichoderma* que inhibieron un 18,97 % y hasta un 44,12 % a *Sclerotium rolfsii*.

Con respecto a *R. solani*, 6 cepas (T16-6, T1-2, T19-1, T19-2, T8-3 y T1-4) inhibieron al patógeno por encima del 60 %, sobresaliendo la cepa T19-2 con PICR igual a 77,80 %, 5 cepas (T15-3, T4-1, T8-2, T11-1 y T12-1) inhibieron entre el 50-60 % y sólo T5-4 inhibió un 44,31 %, las restantes presentaron PICR inferior al 40 % (Tabla 2 y Figuras 1, 2, y 3). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Yusimy Reyes y otros (2008), en donde *Trichoderma* a las 96 h, muestra frente a *Rhizoctonia* sp. un efecto inhibitorio entre un 34-85 %.

En las Tabla 2 y Figuras 1, 2, y 3 puede observarse que numerosas cepas presentaron PICR > 40%, 7 frente a los tres fitopatógenos (T15-3, T16-6, T1-2, T19-1, T19-2, T8-2 y T1-4), 4 cepas frente a *Fusarium* spp. y *R. solani* (T8-3, T5-4, T11-1 y T12-1) y sólo T7-4 frente a *Fusarium* spp. y sólo T4-1 frente a *R. solani*. Estos resultados demuestran la actividad controladora de *Trichoderma* spp. sobre los fitopatógenos, lo cual coincide con lo observado

en diferentes estudios ya sea por micoparasitismo, antibiosis u otros mecanismos de control (Márquez y otros, 2002). También se hallaron 5 cepas con PICR < 40% frente a los tres patógenos (T16-2, T2-1, T14-1, T7-1 y T9-1).

El hecho de que T7-4 sólo actúe positivamente frente a *Fusarium* spp. y T4-1 sólo frente a *R. solani*, muestra que no todos los aislamientos de una misma especie de *Trichoderma* actúan de la misma manera e intensidad contra los tres patógenos ensayados, por el contrario su actividad es altamente específica. La especificidad puede deberse a las interacciones bioquímicas entre hongos, este fue el caso de *T. asperellum* el cual tuvo niveles intermedios en la reducción de la enfermedad causada por *S. rolfsii*, pero en el control de *R. solani* fue uno de los más eficaces, en ensayos realizados por Hoyos-Carvajal y otros (2008). Por lo tanto se debe tener presente que el nivel de control de un patógeno puede variar de acuerdo con la cepa utilizada y con su adaptabilidad a las condiciones bióticas y abióticas específicas (Dennis y Webster, 1971) dentro y entre especies de *Trichoderma*. Dado que especies de *Trichoderma* pueden ser diferencialmente selectivas contra diferentes hongos (Wells y otros, 1972), se recomienda la selección de antagonistas contra una enfermedad específica y la evaluación de mezclas de antagonistas para amplias aplicaciones (Bell y otros, 1982).

Tabla 2. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR %) de cepas nativas de *Trichoderma*. Tandas 1, 2, 3 y 4

Tandas	T vs. <i>Fusarium</i> spp.		T vs. <i>Sclerotium</i> spp.		T vs. <i>Rhizoctonia solani</i>	
	Trat.	PICR %	Trat.	PICR %	Trat.	PICR %
1	T15-3/F	61,65 B	T15-3/ScI	62,79 B	T15-3/Rz	50 B
	T16-2/F	24,79 A	T16-2/ScI	-52,71 A	T16-2/Rz	39,29 A
	T16-6/F	69 B	T16-6/ScI	57,36 B	T16-6/Rz	64,29 C
2	T1-2/F	53,33 B	T1-2/ScI	48,84 B	T1-2/Rz	65 B
	T4-1/F	31,67 A	T4-1/ScI	-69,77 A	T4-1/Rz	52,50 A
	T19-1/F	61,67 C	T19-1/ScI	55,81 C	T19-1/Rz	65 B
3	T2-1/F	24,82 A B	T2-1/ScI	-70,27 A	T2-1/Rz	22,89 A
	T8-2/F	48,74 B	T8-2/ScI	52,94 D	T8-2/Rz	55 B
	T8-3/F	45,33 B	T8-3/ScI	34,12 C	T8-3/Rz	61,67 B
4	T14-1/F	14,57 A	T14-1/ScI	17,65 B	T14-1/Rz	22,25 A
	T1-4/F	63,49 D	T1-4/ScI	42,75 C	T1-4/Rz	65,88 D
	T5-4/F	43,58 BC	T5-4/ScI	-70,98 A	T5-4/Rz	44,31 B C
4	T7-1/F	24,44 A	T7-1/ScI	-78,04 A	T7-1/Rz	12,16 A
	T7-4/F	48,06 CD	T7-4/ScI	-75,69 A	T7-4/Rz	38,04 B
	T9-1/F	30,03 AB	T9-1/ScI	-77,25 A	T9-1/Rz	14,51 A
	T11-1/F	60,83 D	T11-1/ScI	-80,39 A	T11-1/Rz	53,73 C D
	T12-1/F	57,27 CD	T12-1/ScI	21,18 B	T12-1/Rz	54,51 C D

PICR 60-77%	Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)
PICR 50-60%	
PICR 40-50%	
PICR < 40%	

Tabla 4. Ensayos de CD de cepas nativas de *Trichoderma* frente a *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *R. solani* a 7 días de incubación y PICR (%). Tanda 2.

Testigos	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Sclerotium</i> spp.	<i>R. solani</i>
Patógenos			
Testigos			
Antagonistas			
T 1-2	53,33 %	48,84 %	65 %
T 4-1	31,67 %	-69,77 %	52,50 %
T 19-1	61,67 %	55,81 %	65 %
T 19-2	53,33 %	62,79 %	77,80 %

Tabla 3. Ensayos de CD de cepas nativas de *Trichoderma* frente a *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *R. solani* a 7 días de incubación y PICR (%). Tanda 1.

Testigos	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Sclerotium</i> spp.	<i>R. solani</i>
Patógenos			
Testigos			
Antagonistas			
T 15-3	61,65 %	62,79 %	50 %
T 16-2	24,79 %	-52,71 %	39,29 %
T 16-6	69 %	57,36 %	64,29 %

Tabla 5. Ensayos de CD de cepas nativas de *Trichoderma* frente a *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *R. solani* a 7 días de incubación y PICR (%). Tanda 3.

Testigos	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Sclerotium</i> spp.	<i>R. solani</i>
Patógenos			
Testigos			
Antagonistas			
T 2-1	24,82 %	-70,27 %	22,89 %
T 8-2	48,74 %	52,94 %	55 %
T 8-3	45,33 %	34,12 %	61,67 %
T 14-1	14,57 %	17,65 %	22,25 %

CONCLUSIONES

Dado que las cepas de *Trichoderma* spp. utilizadas en los ensayos, provienen de muestras de suelo de diferentes puntos de la Provincia de Jujuy, las mismas estarían adaptadas a las condiciones climáticas de la zona, lo cual resultaría favorable si se pretende emplear estos microorganismos en el control biológico de enfermedades fúngicas o como promotor de crecimiento, alcanzando una mayor probabilidad de éxito.

De las 18 cepas nativas evaluadas, no todas actuaron de la misma forma frente a los tres fitopatógenos, a pesar de pertenecer a un mismo género, lo cual denota su especificidad. Es así que; 7 cepas (T15-3, T16-6, T1-2, T19-1, T19-2, T8-2 y T1-4) inhibieron el crecimiento de los tres fitopatógenos en más del 40%; 4 cepas (T8-3, T5-4, T11-1 y T12-1) inhibieron a *Fusarium* spp. y *R. solani*; 1 cepa (T7-4) inhibió sólo a *Fusarium* spp. y 1 cepa (T4-1) sólo a *R. solani*.

Dado que en pruebas *in-vitro* no se tiene en cuenta la interacción con la planta, se deberán realizar pruebas de invernadero y a campo que comprueben el biocontrol de los antagonistas nativos.

BIBLIOGRAFÍA

- Bale, J.; J. C. Van Lenteren; F. Bigler. 2008. Biological control and sustainable food production. Phil Trans R Soc B. Volume 363. Pages 761–76.

- Bell, D. K.; H. D. Wells; C. R. Markham. 1982. *In Vitro* Antagonism of *Trichoderma* Species Against Six Fungal Plant Pathogens. Phytopathology. Volume 72. Pages 379-382,

- Correa, S.; M. Mello; Z. R. Ávila; L. M. Braúna; R. R. Pádua; D. Gomes. 2007. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* sacc. Fitosanidad. Volumen 11. Nº1. Páginas 3-9.

- Dennis, C.; J. Webster. 1971. Antagonistic Properties of Species-Groups of *Trichoderma* I. Production of Non-Volatile Antibiotics. Transactions British Mycological Society. Volume 57. Pages 25-39.

- Ezziyyani, M.; S. C. Pérez; M. E. Requena; L. Rubio; M. Candela. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la podredumbre

del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. Anales de Biología. Volumen 26. Páginas 69-78.

- Fernández Barbosa, R. J. y C. L. Suárez Meza. 2009. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *passiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. *flavicarpa*) del municipio Zona Bananera Colombiana. Revista Fac. Nal. Agr. Medellín. Volumen 62. Nº 1. Páginas 4743-4748.

- Hoyos-Carvajal, L.; P. Chaparro; M. Abramsky; L. Chet; S. Orduz. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. Revista Agronomía Colombiana. Volumen 26. Nº3. Páginas 451-458.

- Márquez, M.; M. M. Martínez; M. Franco. 2002. Aislamiento de *Trichoderma* sp. y actinomicetes a partir de suelos de clavel (*Dianthus caryophyllus*) y evaluación de su capacidad antagónica *in vitro* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Revista Agronomía Colombiana. Volumen 19. Nº 1-2. Páginas 81-87.

- Stefanova, M. 1996. Producción y aplicación de *Trichoderma* spp. como antagonista de hongos fitopatógenos. La Habana: Instituto de Sanidad Vegetal.

- Stefanova, M. 1997. Biopreparados de *Trichoderma*: una forma de lucha efectiva contra patógenos fúngicos del suelo. Agricultura Orgánica Páginas 22-24.

- Wells, H. D.; D. K. Bell; C. A. Jaworski. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* As a Biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology. Volume 62. Pages 442-447.

- Yusimy Reyes; B. Martínez; D. Infante. 2008. Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Revista de Protección Vegetal. Volumen 23. Nº2. Páginas 112-117.

CLAVE PARA LA DETERMINACIÓN DE 21 ESPECIES DE ÁRBOLES CARACTERÍSTICOS DE YUNGAS Y BOSQUE CHAQUEÑO, AL ESTADO DE PLÁNTULA.

KEY FOR THE DETERMINATION OF 21 SPECIES OF TREES OF YUNGAS AND BOSQUE CHAQUEÑO, TO THE SEEDLING STAGE

Humano C.¹, Martín C., Huanuco A. y Durán A.²

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue crear una clave dicotómica para la identificación de la regeneración de las especies arbóreas nativas de mayor valor forestal. Con la finalidad de ser usada en inventarios forestales para efectuar la cuantificación de este tipo de regeneración. Este proceso es de vital importancia en el manejo del bosque nativo.

Palabras claves: Clave. Identificación. Regeneración natural.

SUMMARY

The aim of this work was to create a dichotomous key for the identification of regeneration of native forest species. In order to be used in forest inventories for quantifying natural forest regeneration. This process is vital in the management of native forests . It was observed that employment is quick and easy.

Key words: Key. Identification. Natural regeneration.

1- Servicio Forestal. Facultad Ciencias Agrarias-UNJU- Alberdi 47.CP 4600. Jujuy. Argentina, cahumano@yahoo.com.

2- Editor.

INTRODUCCIÓN

En la provincia de Jujuy, pese a su reducida extensión, es una de las provincias florísticamente de mayor riqueza de especies vegetales. Con un régimen de precipitaciones monzónico y relieve montañoso, que va desde 500 a 6000 msnm. determinan una multiplicidad de climas y ambientes, con las consiguientes variaciones en la vegetación. En ella encontramos selvas subtropicales, bosques chaqueños, bosques de montaña, matorrales xerófilos, pastizales de altura y estepas alto andinas, representadas por las Provincias fitogeográficas Alto andina, Puneña, Pre puneña, de las Yungas y Chaqueña (Cabrera, 1977).

La provincia Chaqueña se ubica al Este de Jujuy con dos distritos, el Distrito Occidental, con predominio de *Schinopsis lorentzii* (Quebracho Colorado) y el Distrito Serrano caracterizado por *Schinopsis haenkeana* (Horco Quebracho) (Cabrera y Willink, 1973).

Existen diferentes criterios respecto a las unidades ambientales que constituyen las Yungas (Brown 1995, Morales et al. 1995, Prado 1995). De acuerdo a Cabrera (1976) y Cabrera y Willink (1973) en Jujuy, las Yungas, se extienden al Este por las laderas orientales y se dividen en tres distritos de acuerdo a un gradiente altitudinal.

- Distrito de los Bosques Montanos: en laderas elevadas entre 1200 y 2700 msnm Su clima es más frío que el de los distritos selváticos, con precipitaciones en forma de nieve durante la estación húmeda de verano. Se diferencian cuatro comunidades, Bosques de Pino del Cerro, Bosques de Aliso, Bosques de Queñoa y Praderas Montanas. Sus árboles dominantes son: *Podocarpus parlatorei* Pilg., *Alnus acuminata* Kunth, *Cinnamomum porphyrium* (Griseb.) Kosterm. y *Polylepis australis* Bitter, encontrándose en algunos casos bosques monoespecíficos de las dos primeras especies (Cabrera, 1976).

- Distrito de las Selvas Montanas: en laderas de montañas entre 550 y 1200 msnm, en su interior el ambiente es húmedo y sombrío, cubiertas permanentemente por nubes durante el verano. Constituye una selva densa donde las especies vegetales se distribuyen en cinco estratos de acuerdo a su tolerancia o exigencia de luz, los dos

superiores los forman especies arbóreas como: *Nectandra pichurim* (Kunth) Mez, *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, *Cedrela lilloi* C. DC., *Juglans australis* Griseb., *Amomyrtella gülli* (Speg.) Kausel, *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand, *Amburana cearencis* (Allemão) A.C. Sm., *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, *Parapiptadenia excelsa* (Griseb.) Burkart, *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. Ex Niederl., *Prunus tucumanensis* Lillo, *Fagara coco* (Gillies ex Hook. f. & Arn.) Engl., *Celtis tala* Gillies ex Planch. y *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sarg. (Cabrera, 1976).

- Distrito de las Selvas de Transición: en llanuras al pie de las montañas y cerros bajos, entre 350 y 550 msnm, con precipitaciones que varían entre 700 y 1000 mm anuales. Se diferencia en dos comunidades climáticas, Selva de Palo Blanco y Palo Amarillo y Selva de Tipa y Pacará. Las especies arbóreas representativas en este distrito son: *Calycophyllum multiflorum* Griseb., *Phyllostylon rhamnoides* (J. Poiss.) Taub., *Tipuana tipu* (Benth.) Kuntze, *E. contortisiliquum*, *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Vell.) Brenan, *P. excelsa*, *Myroxylon peruiferum* L. f., *Cedrela balansae* C. DC., *Astronium urundeuva* var. *urundeuva* (Allemão) Engl., *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl. y *Chlorophora tinctoria* L. (Gaud) (Cabrera, 1976).

La selva de Yungas, hacia fines del siglo XIX y principios del XX, ha sufrido una destrucción antrópica prácticamente completa (Prado, 1995). En un comienzo esta transformación se centró en las áreas planas con posibilidades de implementar un cultivo intensivo, en estos sitios se instaló la actividad azucarera, que representa en la actualidad alrededor de medio millón de hectáreas y que implicó la transformación del 30% de la Selva Pedemontana original.

De tal forma, importantes superficies de la Selva Pedemontana en áreas sin posibilidades de riego se mantuvieron en un estado relativamente bueno de conservación hasta el inicio de la década del 80, momento en el que irrumpió el desarrollo de la soja y se desató un acelerado proceso de transformación que, hoy en día, implica la transformación de cerca de 10.000 ha de Selva Pedemontana por año.

En sitios de la selva disturbados la sucesión es dominada principalmente por el rebrote de especies

preexistentes (*T. impitiginosa*, *J. australis*, *Erithrina falcata* Benth., etc.). En sitios de sucesión post-ganadería dominan especies dispersadas por el ganado como las nativas *Acacia aroma* Gillies ap Hooks et Arn., *Xylosma pubescens* Griseb., *Gleditsia amorphoides* (Griseb.) Taub. En campos de agrícolas abandonados dominan especies dispersadas por el viento, aves o fauna (Brown et al., 2001). A medida que aumenta la disponibilidad de semillas, las especies exóticas se vuelven dominantes (Grau y Aragón, 2000), particularmente en áreas muy antropizadas.

El éxito del establecimiento de la regeneración es esencial para asegurar la dinámica y renovación del bosque, se asegura el reemplazo de los árboles maduros que aprovechados por el hombre o caídos por causas naturales. El reconocimiento de la regeneración es clave a la hora de determinar el estado actual del bosque estimando si estamos en un bosque en regeneración, sobreexplotado, disgénico, etc.

Así mismo, la cuantificación de la regeneración se emplea en estudios de diversidad vegetal, en estudio de patrones de distribución de renovales de especies arbóreas.

Por ello el objetivo de este trabajo es realizar una clave dicotómica de reconocimiento de 21 especies arbóreas al estado de plántula de los bosques de Jujuy.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron veintiún especies características de la Selva pedemontana y del Bosque Chaqueño que se encontraban al estado de plántula. El material de trabajo provino de dos partes, una de material in situ de las parcelas de medición permanente pertenecientes a la Fundación Proyungas, las cuales están distribuidas a lo largo del gradiente latitudinal que abarca la Selva Pedemontana de las Yungas, 22° a 28° de latitud sur, en el rango altitudinal de 400 a 800 msnm, que de acuerdo a la clasificación por pisos altitudinales (SRNyDS 1998; Brown et al. 2002), abarcan una superficie de 1500 km² y la otra parte de material de vivero (plantines) pertenecientes al vivero forestal del campo Experimental "Dr Emilio Navea".

Las observaciones que se tuvieron en cuenta

fueron de tipo cualitativas: disposición de la hoja (alterna u opuesta), tipo de hoja (simple o compuesta, paripinada o imparipinada, paribipinada o imparibipinada), forma de la hoja ó foliolo (lanceolada, aovada, elíptico, oblongos, etc.) y de tipo cuantitativa como numero de foliolos, simetría, presencia o ausencia de pecíolo (o peciolulo), etc.

LISTA DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

Nombre Científico	Nombre Vulgar	Familia	Provincia Fitogeográfica
<i>Amburana caerensis</i>	Roble criollo	Leguminosae	YUNGAS
<i>Anadenanthera colubrina</i>	Cebill colorado	Leguminosae	YUNGAS
<i>Aspidosperma quebracho blanco</i>	Quebracho Blanco	Apocynaceae	CHACO
<i>Astronium urundeuva</i>	Urundel	Anacardiaceae	YUNGAS
<i>Caesalpinia paraguayensis</i>	Guayacán	Leguminosae	CHACO
<i>Calycophyllum multiflorum</i>	Palo blanco	Rubiaceae	YUNGAS
<i>Cedrela balsanae</i>	Cedro oran	Meliaceae	YUNGAS
<i>Cedrela lilloi</i>	Cedro coya	Meliaceae	YUNGAS
<i>Chlorophora tinctoria</i>	Mora amarilla	Moraceae	YUNGAS
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Pacará	Leguminosae	YUNGAS
<i>Erythrina falcata</i>	Ceibo jujeño	Leguminosae	YUNGAS
<i>Jacaranda mimosifolia</i>	Jacarandá	Bignoniaceae	YUNGAS
<i>Juglans australis</i>	Nogal	Juglandaceae	YUNGAS
<i>Myroxylon peruiferum</i>	Quina	Fabaceae	YUNGAS
<i>Parapiptadenia excelsa</i>	Horco cebill	Leguminosae	YUNGAS
<i>Phyllostylom rhamnoides</i>	Palo amarillo	Ulmaceae	YUNGAS
<i>Pterogyne nitens</i>	Tipa colorada	Leguminosae	YUNGAS
<i>Schinopsis quebracho colorado</i>	Quebracho colorado	Anacardiaceae	CHACO
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	Lapacho rosado	Bignoniaceae	YUNGAS
<i>Tabebuia lapacho</i>	Lapacho amarillo	Bignoniaceae	YUNGAS
<i>Tipuana tipu</i>	Tipa blanca	Leguminosae	YUNGAS

RESULTADOS

CLAVE DICOTÓMICA PARA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES ARBÓREAS AL ESTADO DE PLÁNTULAS

A. Hojas simples.

B. Hojas dispuestas en verticilos, coriáceas, lanceoladas, con una espina aguda en el ápice*Aspidosperma quebracho blanco* Schltr. "Quebracho blanco" (Fig. 18)

B.B. Hojas opuestas o alternas,

C. Hojas opuestas, elípticas de borde liso, pubescente en el revés.

.....*Calycophyllum multiflorum* Griseb. (Castelo)
"Palo blanco" (Fig. 19)

C.C. Hojas alternas, elíptica o aovada, con borde aserrado, sin pubescencia.

D. Hoja aovada, con peciolo corto, borde con el ápice distal aserrado, rugoso, lustroso en el haz.

.....*Phyllostylom rhamnoides* (J. Poiss) Taub
"Palo amarillo" (Fig. 20)

D.D. Hoja elíptico-lanceolada, con peciolo notorio, borde totalmente aserrado, lustrosa en el envés.

.....*Chlorophora tinctoria* (L.) D. Don ex Steudd
"Mora amarilla" (Fig. 21)

AA.- Hojas compuestas

B - Hojas Bipinaticompuesta.

C - Hojas Alternas.

D - Pinas con 5 - 9 pares de foliolos. Folíolos oblongos o oval-lanceolados, con peciolo breve, de borde liso y base simétrica.

E - Hojas imparipinadas, con folíolos oblongos, con ápice romo.

.....*Caesalpinia paraguariensis* (D. PARODI)
BURKART.

"Guayacán". (Fig. 1)

EE. - Hojas paripinada, folíolos oval-lanceolados, con ápice apiculado.

.....*Enterolobium contortisiliquum* (Vell) Morong
"Pacará" (Fig. 2)

DD. - Pinas con 30-40 pares de folíolos. Folíolos oblongos, pecíolos breves, opuestos, de borde liso, base asimétrica, no acuminado

E - Hojas con 10-14 pares de pinas. El par final de pinas no fácilmente distinguible. Las hojas se insertan en el tallo principal, no en ramas

.....*Anadenanthera colubrina* (Vell) Brenan
"Cebil Colorado" (Fig. 3)

EE.- Hojas con 5-7 pares de pinas. El par final de pinas fácilmente distinguible. Las hojas se insertan en ramas 1º del tallo principal.

.....*Parapiptadenia excelsa* (Griseb.) Burkat
"Horco Cebil". (Fig. 4)

CC.- Hojas opuestas, paripinadas, folíolos acuminados, subopuestos, elípticos, sésiles, borde entero, liso. El folíolo terminal de cada pina más grande y acuminado.

.....*Jacaranda mimosifolia* D. Don.
"Jacaranda" (Fig. 5)

BB. - Hojas pinaticompuestas, palmaticompuestas

o trifoliadas.

C. - Hojas pinaticompuestas

D.- Folíolos sésiles, opuestos - subopuesto, semicoriáceos, lineal lanceolados, agudos en el ápice

.....*Schinopsis lorentzii* (Griseb.) Engl
"Quebracho Colorado" (Fig. 6)

DD - Folíolos peciolados o brevemente peciolados, no coriáceos.

E.-Folíolos opuestos o subopuestos

F.-Folíolos falcados o lanceolados

G. - Folíolos con borde aserrado, falcados. Peciolo pubescente, breve, ápice acuminado y base oblicua (asimétrica)

.....*Juglans Australis* Griseb.
"Nogal" (Fig. 7)

GG. - Folíolo con borde entero. Ápice terminado en una punta, base asimétrica.

H.- Folíolo lanceolado, color verde claro.

.....*Cedrela lilloi* C. DC
"Cedro Coya" (Fig. 8)

HH.- Folíolo oval-lanceolado, color verde oscuro.

.....*Cedrela balansae* DC.

"Cedro Oran" (Fig. 9)

FF.- Folíolos oblongo o elípticos

G.- Folíolos con bordes enteros.

H.- Folíolo oblongos subopuestos, con peciolo breve, de ápice obtuso.

.....*Tipuana tipu* (Benth.) Kuntze
"Tipa blanca". (Fig. 10)

HH.- Folíolos elípticos alternos, casi sésiles, ápice obtuso, con el haz lustroso.

.....*Pterogyne nitens* Tul.
"Tipa Colorada". (Fig. 11)

GG.-Folíolos con borde aserrado.

.....*Astronium urundeuva* (Fr. & All.) Engl
"Urundel". (Fig. 12)

EE.-Folíolos notablemente alternos.

F.- Folíolo elípticos, con el ápice romo, márgenes enteros sin ondulaciones, cara inferior pubescente, la superior sin pelos.

.....*Amburana cearensis* (Allemão) A. C. SM.
"Roble Criollo". (Fig. 13)

FF.- Folíolo oval-lanceolados, con el ápice

acuminado, borde entero con suaves notablemente ondulaciones, con el haz lustroso.

.....*Myroxylom peruiferum* L. F.

“Quina”. (Fig. 14)

CC- Hojas palmaticompuestas o trifoliadas.

D.-Hojas palmaticompuestas, foliolos oblongos, borde levemente dentado en la parte superior, el pecíolo y lamina del foliolo medio es mayor que los otros cuatros.

E.-Foliolos sin pubescencia, margen liso, aserrado levemente en la parte superior.

.....*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.)

“Lapacho Rosado”. (Fig. 15)

EE.- Foliolos con pubescencia, margen aserrado.

.....*abebuia lapacho* (K. Schumann) Sandwith

“Lapacho Amarillo” (Fig. 16)

DD-Hojas trifoliadas, foliolos oval-lanceolados, borde liso, con presencia de aguijones en peciolos, los tres foliolos de tamaño similar.

.....*Erythrina falcata* Benth.

“Ceibo jujeño” (Fig. 17)

Las figuras correspondientes a cada especie pueden observarse en el ANEXO I.

CONCLUSIÓN

En todo plan de manejo, conservación y restauración de Bosque nativo, es de suma importancia el reconocimiento de la regeneración de las especies componentes del bosque. A partir de la identificación de las plántulas nos permitirá definir el estado de conservación del bosque a estudiar, lo cual direcciona nuestras decisiones técnicas en pos de realizar el aprovechamiento, conservación y promover la dinámica poblacional de las especies en cuestión.

Por ello la creación de una clave de fácil uso nos permitirá una eficiente y rápida identificación de las especies arbóreas al estado de plántula.

BIBLIOGRAFÍA

- Ayarde, H. 1995. Estructura de un sector de selva pedemontana, Reserva Fiscal Parque La Florida, Tucumán. En: Brown, A. D. y H. R. Grau, eds. Investigación, conservación y desarrollo en las selvas subtropicales de montaña. Laboratorio de

Investigaciones Ecológicas de las Yungas, UNT. Pp: 69-78.

- Brown, A. D.; A. Grau; T. Lomáscolo y N. I. Gasparri. 2002. Una estrategia de conservación para las selvas subtropicales de montaña (Yungas) de Argentina. *Ecotropicos*, 15: 147-159.

- Brown, A. D.; H. R. Grau; L. R. Malizia y A. Grau. 2001. Los Bosques Nublados de la Argentina. En: *Bosques Nublados de Latinoamérica* (M. Kappelle y A. D. Brown, eds.), pp: 623-659. Editorial INBio, Costa Rica.

- Brown, A. D. y L. R. Malizia. 2004. Las Selvas Pedemontanas de las Yungas: en el umbral de la extinción. *Ciencia Hoy*, 14: 52-63.

- Brown, A. D.; S. Pacheco; T. Lomáscolo y L. R. Malizia. 2006. Situación ambiental en los Bosques Andinos Yungueños. En: *La Situación Ambiental de la Argentina 2005* (A. D. Brown; U. Martinez; M. Acerbi y J. Corcuera, eds.), pp.52-71. Fundación Vida Silvestre Argentina.

- Brown, A. D. 1995. Las selvas de montaña del noroeste de Argentina: problemas ambientales e importancia de su conservación. Pp. 9-18, en *Investigación, conservación y desarrollo en las selvas subtropicales de montaña* (A. D. Brown y H. R. Grau, eds.). Laboratorio de Investigaciones Ecológicas de las Yungas, UNT.

- Cabrera, A. 1976. Regiones fitogeográficas de la República Argentina. *Enciclopedia de Agricultura, Jardinería y Fruticultura*, 2: 1-85. Acme Buenos Aires.

- Cabrera, A. L. y A. Willink. 1973. *Biogeografía de América Latina*. OEA, Serie de Biología, Monografía 13, Washington D.C., 117 pp.

- Cabrera, A. L. 1977. *Flora de la Provincia de Jujuy*. República Argentina. Colección Científica del INTA, parte II, 275pp.

- Grau, H. R.; Argón, R. (eds.). 2000. *Ecología de árboles exóticos en las Yungas argentinas*. Laboratorio de Investigaciones Ecológicas de las Yungas, UNT.

- Legname, P. R. 1982. *Árboles indígenas del noroeste argentino* (Salta, Jujuy, Tucumán, Santiago

del Estero y Catamarca). Opera Lilloana XXIV. Tucumán, Argentina. 226p

- Morales, J. M., M. Sirombra y A. D. Brown. 1995. Riqueza de árboles en las Yungas Argentinas. Pp. 163-170, en Investigación, Conservación y Desarrollo en Selvas Subtropicales de Montaña (A. D. Brown y H. R. Grau, eds.) Laboratorio de Investigaciones Ecológicas de las Yungas, UNT.

- Prado, D. E. 1995. Selva pedemontana: contexto regional y lista florística de un ecosistema en peligro. Pp. 19-52, en Investigación, Conservación y Desarrollo en Selvas Subtropicales de Montaña (A. D. Brown y H. R. Grau, eds.) Laboratorio de Investigaciones Ecológicas de las Yungas, UNT.

ANEXO I - GUIA FOTOGRÁFICA



Hoja compuesta, alternas, imparipinada.



Foliolos oblongos, romos en el ápice.



Corteza

Figura 1. *Caesalpinia Paraguariensis*. "Guayacán"



Hojas compuestas pinnadas.



Tallo principal



Corteza

Figura 3. *Anadenanthera colubrina*. "Cebil Colorado"



Hojas compuestas alternas, paripinadas



Foliolos lanceolados, aciculados en el ápice



Corteza

Figura 2. *Enterolobium Contortisiliquum* "Pacará"



Hojas paripinadas con 6 pares de pinas.

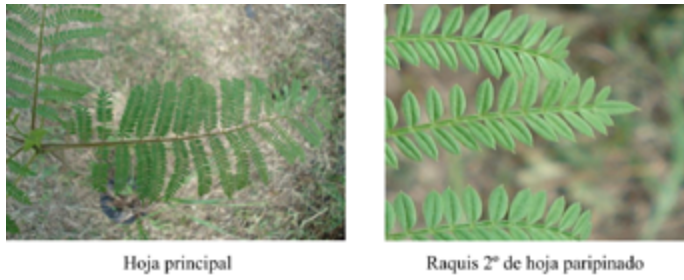


Hojas insertas en ramas 1° del tallo.



Corteza

Figura 4. *Parapiptadenia excelsa* "Horco Cebil".



Hoja principal

Raquis 2° de hoja paripinado



Hojas alternas imparipinnadas



Foliolos con margen aserrado



Corteza

Figura 5. *Jacaranda mimosifolia* "Jacaranda"

Corteza

Figura 7. *Juglans australis* "Nogal criollo"

Hoja principal



Foliolos semicoriáceos



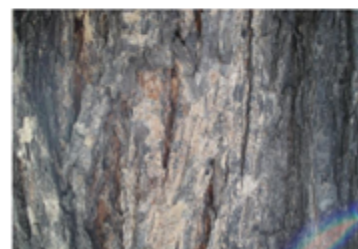
Corteza

Figura 6. *Schinopsis lorentzii*. "Quebracho Colorado"

Regeneración Bosque Montano de Yungas



Hoja compuesta, foliolos verde claro

Figura 8. *Cedrela lilloi* "Cedro Coya"



Regeneración en Selva Pedemontana



Hoja compuesta, folíolos verdes oscuros



Corteza

Figura 9. *Cedrela balansae* "Cedro Oran"



Hoja compuesta lustrosa



Folíolos elípticos, casi sésiles



Corteza

Figura 11. *Pterogyne nitens* "Tipa Colorada".



Hojas imparipinnadas



Folíolos subopuestos, con breve peciolo



Corteza

Figura 10. *Tipuana tipu* "Tipa blanca".



Hojas compuestas alternas



Corteza

Figura 12: *Astronium urundeuva* "Urundel"



Hojas imparipinnadas, alternas



Folíolos alternos, elípticos, margen entero



Corteza

Figura 13. *Amburana cearensis* "Roble Criollo".



Hojas compuestas, con haz lustroso



Corteza

Figura 14. *Myroxilom peruiferum* "Quina"



Hoja, palmaticompuesta, sin pubescencia



Foliolo, con borde aserrado

Figura 15. *Tabebuia impetiginosa* "Lapacho rosado"



Hoja palmaticompuesta, pubescente



Foliolo con borde aserrado

Figura 16. *Tabebuia lapacho* "Lapacho amarillo"



Corteza



Hojas simples en verticilos, terminadas en punta



Corteza

Figura 17. *Erythrina falcata* "Ceibo Jujeño"



Hojas simples en verticilos, terminadas en punta



Corteza

Figura 18. *Aspidosperma quebracho blanco* "Quebracho blanco"



Plántula con tallos finos



Hojas simples opuestas en verticilos

Figura 19. *Calycophyllum multiflorum* "Palo blanco"



Corteza



Hojas alternas simples, con nervadura visible



Corteza

Figura 20. *Phyllostylom rhamnoides* "palo amarillo"



Hojas Alternas, elípticas lanceoladas, pecioladas



Corteza

Figura 21. *Chlorophora tinctoria* "Mora amarilla"

TÓXICOS INORGÁNICOS Y CÁLCULOS DE INGESTASEN UNA POBLACIÓN PRÓXIMA AL PARQUE INDUSTRIAL DE PALPALÁ, JUJUY

INORGANIC TOXICOS AND CALCULOS DE INGESTASEN A NEXT POPULATION TO THE INDUSTRIAL PARK OF PALPALA, JUJUY

Avila Carreras N.¹ , Bovi Mitre M. G.

RESUMEN

La contaminación ambiental con Pb, Cd, As y Bes muy estudiada en proximidades a explotaciones mineras, áreas industriales y zonas costeras. Este trabajo busca evaluar los contenidos de Pb, Cd, As total y B en alimentos cocinados y consumidos por habitantes próximos a un parque industrial y realizar cálculos de ingestas parciales y semanales de estos contaminantes en la población infantil y adulta del lugar. Los tóxicos fueron cuantificados por espectrometría de emisión atómica plasma de acoplamiento inductivo. Para el cálculo de ingestas semanal se consideró el peso y cantidad de las porciones consumidas en la semana y el peso corporal de niños y adultos. El cálculo de ingesta parcial se realizó sobre alimentos agrupados considerando la cantidad de alimentos consumidos y las concentraciones del toxico halladas. Se analizaron 18 muestras (desayunos, almuerzos, meriendas y cenas). Los resultados obtenidos se hallaron en un rango de 0,1 a 3,4 µg/g de Pb, y de 0,04 a 11,52 µg/g de B, para Cd y As los valores fueron no cuantificables. La ingesta diaria total semanal de Pb en niños fue de 30,1 µg/Kgpc/semana y de 10,8 µg/Kgpc/semana en adultos. Las ingestas parciales mostraron que los alimentos agrupados como "otros" (pizas y asado) son los que mayor aporte de Pb y B realizan a la dieta semanal y diaria (respectivamente).

Palabras claves: Plomo. Boro. Alimentos. Contaminación.

SUMMARY

Environmental pollution with Pb, Cd, As and Bes very studied in proximity to mining, industrial areas and coastal areas. This work seeks to evaluate the contents of Pb, Cd, total As and B in foods cooked and consumed by inhabitants close to an industrial park and perform calculations of partial and weekly intakes of these contaminants in the child and adult population of the place. The toxins were quantified by inductive coupling plasma atomic emission spectrometry. For the calculation of weekly intakes, the weight and quantity of the portions consumed in the week and the body weight of children and adults were considered. The calculation of partial intake was made on grouped foods considering the amount of food consumed and the toxic concentrations found. 18 samples were analyzed (breakfasts, lunches, snacks and dinners). The results obtained were in a range of 0.1 to 3.4 µg / g of Pb, and of 0.04 to 11.52 µg / g of B, for Cd and As the values were not quantifiable. The total weekly daily intake of Pb in children was 30.1 µg / Kgpc / week and 10.8 µg / Kgpc / week in adults. The partial intakes showed that the foods grouped as "others" (pizzas and roasts) are the ones that contribute the most Pb and B to the weekly and daily diet (respectively).

Key words: Lead. Boro. Food. Pollution.

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental con metales es una grave problemática a nivel mundial. En Argentina es muy estudiada en proximidades a zonas de explotación minera, en áreas industriales y en zonas costeras (Pérez y otros 2005). Entre los elementos más tóxicos se estudia frecuentemente el plomo (Pb), cadmio (Cd), arsénico (As) y en menor medida el boro (B). En el ambiente, el Pb se encuentra como fosfato de plomo y carbonato de plomo II y sulfuro de plomol. La solubilidad de estos compuestos en el agua dependerá del pKa, dureza, salinidad y la presencia de material húmico (EFSA, 2010).

Una de las principales patologías asociadas al Pb es el "saturnismo o plumbismo", también afecta a los riñones, gónadas, principalmente al sistema nervioso produciendo encefalopatías, neuropatías, daños en las conexiones nerviosas (especialmente en niños de corta edad) trastornos cerebrales, degeneración neuronal, inhibición del grupo hemo y de enzimas de la cadena respiratoria, entre otros (Shahryar y otros 2011; Rubio y otros 2004). La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) considera al elemento plomo como un probable cancerígeno en humanos, grupo 2B (ATSDR, 2007).

En el agua puede encontrarse como sulfato de plomo y cloruro de plomo II en medio ácido, o en forma iónica (Pb^{+2}) a pH de 7,5 que al reaccionar con carbonatos puede formar complejos insolubles como el $PbCO_3$ (EFSA 2010). Los alimentos vegetales pueden contener plomo porque lo absorben del suelo y por depósito como polvo ambiental (Camean y otros 2006; Rubio y otros 2004). El Código Alimentario Argentino (C.A.A.) establece como límite máximo de plomo en aguas de bebidas 0,05 mg/L (Cap. XII, 2010) y en el Cap. III (2012) detalla las concentraciones máximas de plomo permitidas en ciertos grupos de alimentos. El límite máximo permitido es de 2 mg/Kg (2 μ g/g) en alimentos generales. La FAO/WHO establece una Ingesta Semanal Tolerable Provisional (ITSP) de 25 μ g/Kg p.c./sem.

El cadmio es muy estudiado por ser altamente tóxico, bioacumulado y biomagnificado por los organismos expuestos. La exposición a través de los alimentos constituye la principal vía de ingreso del tóxico al organismo humano (Camean y otros 2005). En la naturaleza se encuentra asociado con zinc y se presenta generalmente formando compuestos

inorgánicos con estado de oxidación (+2). Las fuentes de cadmio pueden ser industriales (galvanostegia, aleaciones, pigmentos para vidrios y pinturas, amalgamas dentarias, lámparas incandescentes) o agrícolas (fertilizantes fosfatados) (EFSA, 2009²; Camean y otros 2006). Algunos fertilizantes contienen plomo y cadmio en su composición como contaminante accidental, por lo que se estima pueden incorporarse en parte en suelos y cultivos (Chaney y otros 2004). La exposición al cadmio se ha asociado con nefrotoxicidad, osteoporosis, neurotoxicidad, carcinogenicidad, efectos endocrinos y reproductivos (EFSA, 2009²). El C.A.A. establece como límite máximo permitido en agua potable 0,005 mg/L (Cap. XII, 2010) y 0,05 mg/L en carnes, mientras que la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece una ISTP de 7 μ g/Kgpc/sem.

Por otro lado, el arsénico es un tóxico y está presente en suelos y aguas en diversos lugares del planeta (Maddison y otros 2005). Su presencia puede ser de origen natural o antropogénica (Bundschuh y otros 2012). Puede estar presente formando compuestos orgánicos e inorgánicos, siendo estos últimos los más tóxicos (Singh y otros 2008). Este puede ingresar a los alimentos vegetales mediante el uso de aguas arsenicales durante el riego (Chuan-Yun Wu y otros 2016) o por el uso de estas aguas en la preparación de alimentos. La toxicidad del arsénico inorgánico se debe a que actúa como un disruptor endócrino del organismo provocando numerosos efectos adversos (Sigrist y otros 2010), entre las que se encuentran enfermedades inflamatorias, neoplásicas, respiratorias, cambios degenerativos de la piel, entre otras (Singh y otros 2008). La IARC clasifica al arsénico inorgánico como cancerígeno en el grupo 1 (ATSDR, 2007).

El boro a pesar de ser considerado benéfico, en altas concentraciones puede resultar fitotóxico (Krejčova y otros 2003). A dosis superiores a 500 mg/día a través de la dieta, puede producir náuseas, vómitos y diarrea en el hombre (Simsek y otros 2003), además de provocar un aumento de la excreción urinaria del calcio (Hunt y otros 2012). La principal fuente de boro son los alimentos entre los que se encuentra la manteca de maní, el vino, las pasas de uva, frutas secas, legumbres, maní y otros frutos secos (Simsek y otros 2003). Los alimentos de origen vegetal son la principal fuente de boro dietético en comparación con los productos alimenticios de origen animal.

En la ciudad de Palpalá en la provincia de Jujuy, se encuentra un parque industrial en una zona urbana. Entre las actividades que se realizan esta la quema de baterías a cielo abierto, el refinamiento de metales extraídos de la Puna Jujeña, fabricación de ácido sulfúrico, una boratera y quema de basurales, entre otros. Esto motivó la realización de un trabajo de investigación para determinar plomo en sangre en la población del Barrio 23 de agosto, que habitan en proximidades al parque industrial. Los resultados obtenidos en sangre mostraron que: el 18% (19 niños) presentaron valores que superan los 10 µg/dL, el 50% de los niños (53 niños) presentaron valores mayores a los 5 µg/dL inferiores o iguales a 10 µg/dL resultados (Tschambler y col. 2010). La OMS establece que valores superiores de plumbemias a los 5 µg/dL en sangre representa un riesgo para la población. Dada la situación de riesgo en que se encuentra el 68% de la población de Palpalay debido a la actividad realizada en la zona, el objetivo del presente trabajo fue evaluar los contenidos de plomo, cadmio, arsénico total y boro, en alimentos cocinados y consumidos por las familias más afectadas de la zona. Se realizó el cálculo de ingestas de plomo, cadmio, arsénico y boro considerando la población infantil y adulta expuesta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Los criterios de selección de la población de estudio, se basó en los resultados de plumbemias realizados con anterioridad, tomando como criterio de selección aquellos individuos que habían presentado plumbemias mayores a 10 µg/dL en sangre.

El estudio se llevó en el barrio 23 de Agosto de Pálpala ubicado a 14 Km al sudeste de la ciudad capital de San Salvador de Jujuy ubicada a 24°15'30"S 65°12'30"O.

Metodología de Muestreo y procesamiento de alimentos cocinados

Se tomaron 18 muestras de los alimentos de las cuatro comidas principales: desayuno, merienda, almuerzo y cena, a las que se les cuantificó Pb, Cd, As y B. La toma de muestras se realizó durante siete días en el mes de agosto. Los alimentos sólidos se recolectaron en bolsas de polietileno o bandejas

de plástico, mientras que los alimentos líquidos en botellas plásticas de 500 mL. Las muestras se conservaron en freezer a -20 °C. Posteriormente se procedió a su liofilización y triturado con procesadora. Se registraron los pesos húmedos y liofilizados, fechas de muestreo, humedad absoluta y el detalle de los ingredientes de cada porción. Las muestras una vez liofilizadas fueron conservadas a 4°C.

Con el objeto de poder facilitar la discusión de los resultados, los alimentos recolectados fueron categorizados en cuatro grupos: 1) pan (bollos, mignon, grissines, torta), 2) mates y leches (mates cocidos, leche y leche con chocolate) 3) guisos (guisos de fideos y sopas), 4) "otros alimentos" (alimentos consumidos con menor frecuencia como piza y asado). Las muestras fueron analizadas por duplicado para cada uno de los tóxicos estudiados (plomo, cadmio, arsénico y boro).

Cuantificación de cadmio, plomo y arsénico

Para realizar la digestión de las muestras, se colocó aproximadamente 0,5 g de muestra sólida y 10 mL de muestra líquida, en un horno microondas (Milestone 1200), posteriormente se adicionaron 6 mL de ácido nítrico concentrado y 1 mL de H₂O₂. La mezcla se digirió en el horno microondas mediante la siguiente rampa: 1 minuto a 250 W; 1 min. a 0 W; 5 min. a 250 W; 5 min. a 400 W; 5 min. a 650 W; 10 min. de enfriamiento. El volumen final de las muestras fue de 10 mL a excepción de las muestras de mate cocido y anchi con un volumen final de 25 mL (Litter y otros 2009).

La cuantificación se realizó por duplicado, mediante espectrometría de emisión atómica plasma de acoplamiento inductivo a través del uso de un equipo Perkin Elmer Óptima 5100 DV, S/N 077C8030702, provisto con un automuestreador: S10, con detector de estado sólido. Se construyó curva de calibrado en el rango de concentraciones de 0,010 a 1,0 mg/L para cada elemento estudiado.

Datos Analíticos y material de referencia

Los alimentos sólidos presentaron un límite de detección (LD) para arsénico = 0,14 µg/g; para plomo = 0,56 µg/g; para cadmio = 0,21 µg/g, para boro = 0,56 µg/g. Para los alimentos líquidos el LD determinado para el método fue LD= 0,01 µg As/g, LD = 0,06 µgPb/g, LD = 0,02 µgB/g. Se utilizó como material de referencia certificado de matriz el

mMRC NIST 1643e “Trace elements in water”, el cual fue adecuado para las muestras de aguas y de alimentos”. Las muestras de alimentos fueron diluidas al menos 1:100, de forma tal que la matriz posterior al ataque químico con la dilución, resulten semejantes al mMRC de NIST antes mencionado (Litter y otros 2009).

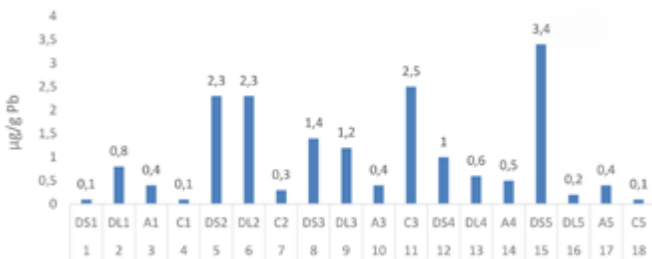
Ingestas semanal (IS) e Ingestas Diarias (ID)

Para el estudio de ingestas totales, se utilizó el método de duplicación de raciones (González-Moreno y otros 2006). Para el cálculo de las ingestas diarias se utilizaron:

- Las cuatro comidas: desayuno, almuerzo, merienda y cena.
- Los pesos de las raciones en base a los datos obtenidos en las encuestas: 100 g para desayuno o merienda sólida, 250 g desayuno o merienda líquida, 300 g almuerzo o cena.
- Un peso corporal de 25 Kg para la población infantil y 70 Kg para la población adulta.
- La concentración de los tóxicos estudiados.

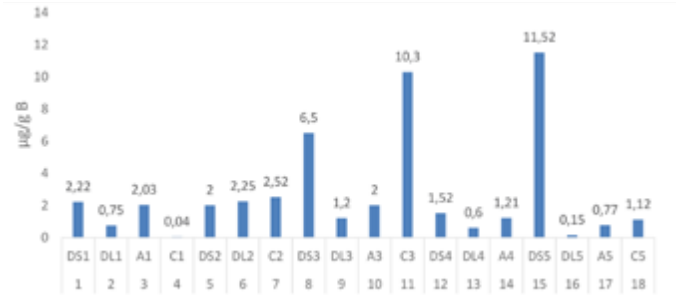
RESULTADOS

En las 18 muestras sólidas y líquidas no se detectó contenido de As y Cd. Pero si se encontró concentraciones de Pb, y B. En la Figura N° 1 y 2 se expresan en µg/g las concentraciones determinadas respectivamente.



DS1: Pan; DL1: Leche con chocolate; A1 y C1: Guiso de fideo; DS2: Torta de vainilla; DL2: mate; C2: Sopa; DS3: Bollo; DL3: Leche con chocolate; A3: Asado vacuno; C3: piza; DS4: grisines; DL4: Lecho con chocolate; A4: Guiso de Fideos; DS5: Pan; DL5: mate; A5: guiso de fideo; C5: sopa.

Figura 1. Concentración de plomo expresado en µg/g determinado en las distintas porciones de alimentos muestreados.



DS1: Pan; DL1: Leche con chocolate; A1 y C1: Guiso de fideo; DS2: Torta de vainilla; DL2: mate; C2: Sopa; DS3: Bollo; DL3: Leche con chocolate; A3: Asado vacuno; C3: piza; DS4: grisines; DL4: Lecho con chocolate; A4: Guiso de Fideos; DS5: Pan; DL5: mate; A5: guiso de fideo; C5: sopa.

Figura 2. Concentración de boro expresado en µg/g determinado en las distintas porciones de alimentos muestreados.

Porcentajes de Plomo, Boro en los Alimentos agrupados

Mediante las medias obtenidas en las distintas agrupaciones de alimentos se calculó el porcentaje de plomo y boro que aporta cada grupo de alimentos, los cuales se detallan en la figura 5 y 6. Se aprecia que los alimentos que mayor aporte de plomo y boro realizan en la dieta son los alimentos incluidos en “otros”.

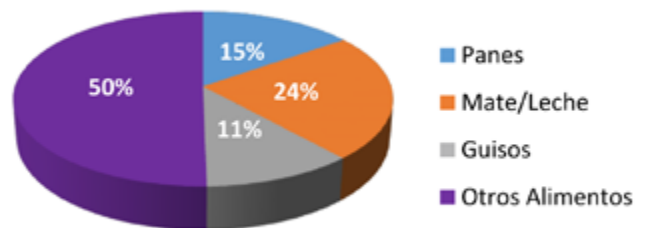


Figura 5. Porcentaje de Plomo aportado por los distintos grupos de alimentos

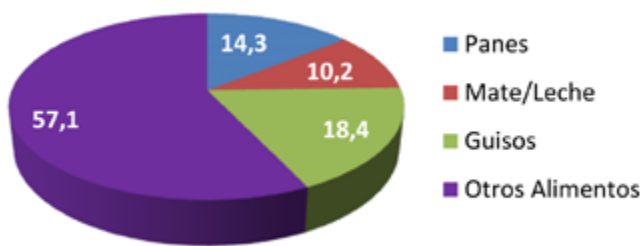


Figura 6. Porcentaje de Boro aportado por los distintos grupos de alimentos

Cálculos de Ingestas en población infantil y adulta

Se calculó la media de Pb y B correspondiente a cada grupo y a partir de esto se calculó la IS para una población infantil (25 Kg) y adulta (70Kg) en el caso del plomo.

La ingesta semanal (IS) de Pb en la población infantil fue de 30,1 $\mu\text{g}/\text{Kgpc}/\text{sem}$ y de 10,8 $\mu\text{g}/\text{Kgpc}/\text{sem}$ en población adulta.

La figura 7 y 8 muestra el cálculo de ingesta semanal parcial realizado a partir de los grupos de alimentos para la población infantil y adulta de Palpalá, mostrando que los grupos de alimentos que aportan más plomo y boro a la ingesta son los alimentos del grupo "otros". La población infantil tiene una mayor ingesta de plomo comparada a los adultos.

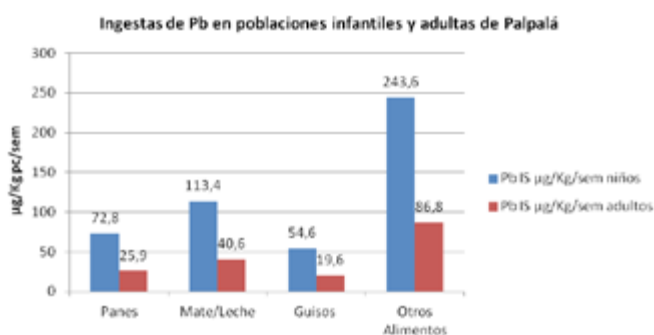


Figura 7. Ingesta semanal parcial de Pb en poblaciones infantiles y adultas de Palpalá por agrupación de alimentos.

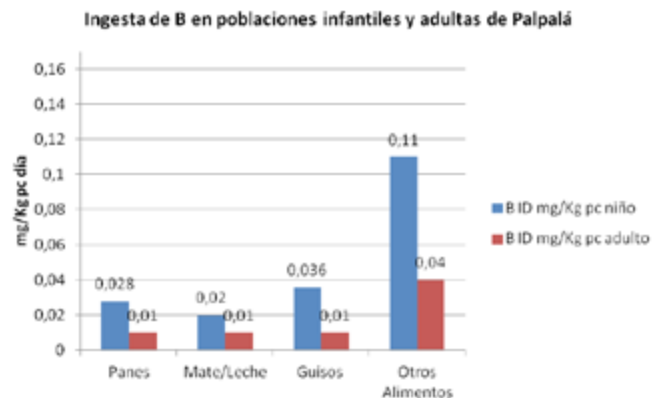


Figura 8. Ingesta semanal parcial de B en poblaciones infantiles y adultas de Palpalá por agrupación de alimentos.

DISCUSIÓN

El plomo osciló entre 0,28 a 3,41 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en todos los alimentos muestreados. Al analizar los alimentos por porciones se observó mayores concentraciones en los desayunos y meriendas sólidas, seguidas de las líquidas y por último los almuerzos y cenas. Un estudio de dieta total realizado por Capar y Cunningham (2000) entre los años 1991–1996 señala niveles de plomo en dieta total menores a los hallados en este trabajo (entre 0,008 y 0,05 $\mu\text{g}/\text{g}$ de alimento).

Se puede observar que en el grupo 1 panes elaborados en hornos de barro, presentan mayor concentración media de plomo. Los valores informados por la Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (2005-2007) de 0,013 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en panes y cereales son quinientas y treinta veces inferior a las obtenidas en este trabajo. Por otro lado la EFSA (2009¹) informa una media de 0,0286 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ valor también inferior. La torta presentó una media de 1,3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, valor muy próximo a los obtenidos en los panes, este resultado muestra que las tortas también realizarían un importante aporte de plomo a la dieta, si se consumieran habitualmente, lo cual no sucede. Esto podría indicar una posible contaminación con plomo atmosférico pudiendo presentarse como sulfato de plomo, carbonato de plomo II y sulfuro de plomo (partículas insolubles), debido a la combustión de carbón, actividad también realizada en este parque industrial (EFSA 2010), se evidencia mediante la bibliografía consultada que el plomo presente no proviene del propio alimento ni del agua con la cual se elabora.

Los alimentos agrupados como 2 mates y leches tienen concentraciones medias mayores de plomo que los almuerzos y cenas incluidas en los grupos 3 y 4, sin embargo, no se encontraron plomo en el agua de bebida que es utilizada para la preparación de los distintos alimentos. Cabe señalar que las familias pueden estar utilizando recipientes vidriados o cerámicos, los cuales aportan plomo a los alimentos, lo cual está respaldado bibliográficamente (Rubio y otros 2004). De todos modos, estos datos son resultados preliminares provenientes de un único muestreo, y se desconoce la posible fuente de contaminación de los alimentos, lo que impone realizar estudios más profundos para tratar de identificar esta problemática.

Los alimentos fueron agrupados en panes, mate/leche, guiso y "otros", para facilitar la discusión de los mismos. Los valores informados por la Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (2005-2007) son de $0,013 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de plomo en panes y cereales. Estos valores son inferiores a los encontrados en Palpala. Por otro lado, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (EFSA 2009^{*1}) informa una media de $0,0286 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ valor también inferior (cincuenta y cinco veces). La torta es un alimentos de bajo consumo y que en este caso fue comprada en venta ambulante, esta presentó una media de $1,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, valores muy próximos a los obtenidos en los panes.

La categoría "otros" alimentos conformado por asados dieron medias superiores a las informadas en carnes ($0,024 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) por la Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (2005-2007) y a las encontradas por EFSA (2009^{*1}) con un valor medio de $0,25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Mientras que la piza mostro concentraciones similares a las obtenidas en los panes analizados en este trabajo.

Los mates/leches presentaron una media superior a las registradas a estudios realizados por EFSA (2009^{*1}) con medias de $0,0089 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en leche y $0,22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en té, café, cacao, que se puede tomar de referencia para el mate cocido por ser infusiones consumidas en los desayunos. Se puede observar que el desayuno realiza un aporte importante de plomo en la dieta.

Los guisos que en su mayoría fueron elaborados con pastas las que fueron comparadas con otros trabajos de investigación en esta matriz, mostrando que los resultados obtenidos en este trabajo superan a las informadas por otros autores, como la Agencia

Catalana de Seguridad Alimentaria (2005-2007) que informa una media de $0,013 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en cereales, materia prima con la que se fabrican las pastas. Por otro lado la EFSA (2009^{*1}) determinó valores medios de $0,0286 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ resultando doce veces inferior a los obtenidos. Es necesario aclarar que los guisos son matrices muy complejas ya que están preparados por varios ingredientes (verduras, carnes, condimentos entre otros), por lo que no puede compararse los contenidos de platos preparados, con los ingredientes que componen en forma individual. Este es el aporte de este trabajo, determinar en platos preparados la concentración de tóxicos a partir del cual se puede calcular la ingesta real.

Por otro lado, el mayor aporte de boro se determinó en los almuerzos (constituidos por los grupos 3 y 4), luego desayunos sólidos (conformados por el grupo 1) y por último los desayunos líquidos (grupo 2). El boro en agua fue no detectable, por lo tanto no se puede justificar que el boro presente en los alimentos sea procedente del agua con el que se elaboran. De los resultados obtenidos se observan valores superiores a los encontrados en otros estudios, donde se analizaron diversos tipos de alimentos, como las hortalizas y cereales con valores que rondan entre los $0,32$ a $4,9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Rainey y otros 1999). Por lo tanto, las dietas analizadas en esta investigación aportan concentraciones de boro importantes, pero deben considerarse como resultados preliminares.

Respecto a las concentraciones media de boro, se encontró que los alimentos agrupados en "otros" son los que realizan el mayor aporte a la dieta. En orden decreciente le siguen los panes con una concentración de $3,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 2,9$ y los mates/leches con $3,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm 2,9$. No se encontró bibliografía que permita realizar discusión sobre los resultados obtenidos, puesto que el boro es un elemento que debe ser aún más estudiado en los alimentos, como así también analizar si el aporte es benéfico o no para los consumidores. Este estudio inicia la investigación en dietas para aportar datos científicos validos sobre el boro en los alimentos.

Cálculos de Ingestas de plomo y boro

La ingesta total diaria de plomo de una población de Arizona-USA osciló entre 11 hasta $107 \mu\text{g} / \text{día}$, con una media de $36 \mu\text{g} / \text{día}$ (O'Rourke otros 1999). Esto se compara con un rango de 15 a $312 \mu\text{g} / \text{día}$ de acuerdo a un informe de la Organización Mundial

de la Salud (OMS 1995).

Los rangos calculados de ingestas de plomo en las muestras de Palpalá fueron de 597 a 1639 $\mu\text{g}\cdot\text{día}^{-1}$, lo que representa una IS de 310 $\mu\text{g}/\text{Kgpc}/\text{sem}$. Estos resultados son superiores a los valores reportados por otros estudios de investigación realizados en Europa, China y Corea, donde el rango encontrado fue de 7 a 574 $\mu\text{g}\cdot\text{día}^{-1}$ (Rubio y otros 2004). Llobety colaboradores (2003) informa ingestas diarias de 23,04 $\mu\text{g}\cdot\text{día}^{-1}$ en España y la Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (2005-2007) de 23,63 $\mu\text{g}\cdot\text{día}^{-1}$, ambos inferiores a las calculadas en Palpalá.

En los cálculos de ingestas de boro el rango encontrado fue de 1,330 – 5,782 $\text{mg}\cdot\text{día}^{-1}$, siendola dosis diaria recomendada (DDR) de 5,6 $\text{mg}/\text{día}$, y la dosis máxima tolerable (DMT) de 17 $\text{mg}/\text{día}$. Los resultados indican que estas dietas aportan boro por debajo de la dosis máxima tolerable. El boro no se encuentra en el agua, por lo que puede inferirse que el aporte de este elemento provenga de los ingredientes con lo que se elabora el alimento, o por contaminación con el polvo ambiental. Estos resultados preliminares no permiten concluir la fuente de contaminación de los alimentos.

CONCLUSIÓN

No se detectó As y Cd en los alimentos analizados pero se determinó altas concentraciones de plomo que no proviene del agua. Al ser un elemento tóxico podría generar efectos adversos en la población. La ingesta semanal de la población infantil es 12 veces superior a la ISTP, mientras que la IS de la población adulta supera 4 veces la ISTP.

Respecto al Boro, se determinó altas concentraciones en las dietas de Palpalá que no superan los límites máximos recomendados pero si la dosis diaria requerida (DDR).

BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. (2005-2007). "Contaminants Químics. Estudi de dieta total a Catalunya".

- ATSDR. (2007). "Agency for Toxi Substances and Disease Registry". Lead. CAS# 7439-92-1.

-Bundschuh, Jochen; Nath, Bibhash; Bhattacharya,

Prosun; Liu, Chen-Wuing; Armienta, María Aurora; Moreno, López Myriam V.; Lopez, Dina L.; Jean, Jiin-Shuh; Cornejo, Lorena; Fagundes, Luciene; Macedo, Lauer; Filho, Alfredo Tenuta. (2012). "Arsenic in the human food chain: the Latin American perspective". *Science of the Total Environment* 429: 92–106.

- C.A.A. Código Alimentario Argentino Capítulo III Actualizado al 10/2012. Art. 156, (Res.1546 17.9.85 y RESOLUCIÓN GMC N° 12/11 Incorporada por Resolución Conjunta SPReI N° 116/2012 y SAGyP N° 356/2012). Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_III.pdf .

- C.A.A. Código Alimentario Argentino. (2010). Capítulo XII, Artículo 982, (Res. Conj. SPRyRS y SAGPyA N° 68/2007. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_XII.pdf

6. Camean Ana Ma.; Repetto, Manuel. (2006). "Toxicología alimentaria" – Díaz de Santos – Madrid – Buenos Aires, pag. 62-74 .

- Capar SG, Cunningham WC. (2000). Element and radionuclide concentrations in food: FDA total diet study 1991-1996. *J AOAC Int* 83(11):157-177.

- Chaney, Rufus L.; Reeves, Philip G.; Ryan, James A.; Simmons, Robert W.; Welch, Ross M. & J. Angle, Scott. (2004). "An improved understanding of soil Cd risk to humans and low cost methods to phytoextract Cd from contaminated soils to prevent soil Cd risks". *BioMetals* 17: 549–553.

- Chuan-yun Wu, Bing Liu, Hui-li Wang, Di-yun Ruan. (2011). "Levothyroxine rescues the lead-induced hypothyroidism and impairment of long-term potentiation in hippocampal CA1 region of the developmental rats". *Toxicology and Applied Pharmacology* 256: 191–197.

- EFSA (2009). Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on Arsenic in Food. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. *EFSA Journal* 7(10): 1351.*1

- EFSA (2009). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. SCIENTIFIC OPINION cadmium in food. (Question No EFSA-Q-2007-138) *The EFSA Journal* 980: 1-139.*2

- EFSA (2010). Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). SCIENTIFIC OPINION

Scientific Opinion on Lead in Food. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. EFSA Journal; 8(4):1570.

- González-Moreno, Mercedes. (2006). "Estimación de la ingesta de nutrientes mediante los estudios de dieta total". *Endocrinol Nutr.* 53(5): 300-8.

- Hunt, Curtiss; Kolschitzkygasse D. (2012). "Dietary boron: Progress in establishing essential roles in human physiology". Artículo en Prensa. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* JTEMB-25365. pp.4.

- Krejcova, Anná; Cernohorsky, Tomás. (2003). "Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section The determination of boron in tea and coffee by ICP-AES method". *Food Chemistry* 82: 303-308.

- Litter, M.I, Armienta, M.A., Farías, S.S. (2009). "Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos". Editado por CYTED ISBN: 978-84-96023-71-0. P. 35-38.

- Llobet, J.M., Falcó, G., Casas, C. Teixidó, A., and Domingo L. (2003). "Concentrations of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead in Common Foods and Estimated Daily Intake by Children, Adolescents, Adults, and Seniors of Catalonia, Spain". *J. Agric. Food Chem.* 51: 838-842.

- Maddison, David; Tala-Luque, Rosa; Pearce, David. (2005). "Valuing the Arsenic Contamination of Groundwater in Bangladesh". *Environmental & Resource Economics* 31: 459-476.

- O'Rourke, M.K., van de Water, P.K., Jin, S., Rogan, S.P., Weiss, A.D., Gordon, S.M., Moschandreas, D.J., Lebowitz, M.D. (1999). Evaluations of primary metals from NHEXAS Arizona: Distributions and preliminary exposures. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 9:435-445.

- OMS (1995) Environmental transport, distribution and transformation. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 60-65.

- Pérez, Adriana Angela; Fajardo, María Angélica; Strobl, Analia Mabel; Pérez, Laura Beatriz; Piñeiro, Adriana; López, Clara Magdalena. (2005). "Contenido de Plomo, Cromo y Cadmio en Moluscos

comestibles del Golfo San Jorge (Argentina)" - *Acta Toxicol. Argent.* 13(1): 20-25.

- Rainey, Charlene J; Nyquist, Leslie A; Chistensen, Robert E; Strong, Philip L; Culver, Dwight; Coughlin, James R. (1999). "Daily boron intake from the American diet". *Journal of the American dietetic Association.* 99: 335-340.

- Rubio, C.; Gutierrez, A.J.; Martín-Izquierdo, R.E.; Revert, C.; Lozano, G. y Hardisson A. (2004). "El plomo como contaminante alimentario". *Rev. Toxicol.* 21: 72-80.

- Shahryar, Abbasi; Kobra, Khodarahmiyan; Freshteh, Abbasi. (2011). "Simultaneous determination of ultra trace amounts of lead and cadmium in food samples by adsorptive stripping voltammetry". *Food Chemistry* 128: 254-257.

- Sigrist, Mirna; Beldoménico, Horacio; Repetti, M. Rosa. (2010). "Evaluación of the influence of arsenical livestock drinking waters on total arsenic levels in cow's raw milk from Argentinean dairy farms". *Food Chemistry* 121: 487-491.

- Simsek, Atila; Korkmaz, Deniz; Velioglu Y. Sedat. (2003). "Methods Determination of boron in hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties by inductively coupled plasma optical emission spectrometry spectrophotometry". *Food Chemistry* 83: 293-296.

- Singh, Nrashant; Kumar, D.; Raisuddin, S.; Sahu, Anand P. (2008). "Genotoxic effects of arsenic: Prevention by functional food-jaggery". *Cancer Letters* 268: 325-330.

- Tschambler, Javier; Pantaleón, Carlos; Saavedra, Noemí; Piñeiro, Adriana; Villamil Lepori, Edda; Bovi Mitre, Graciela. (2010). "Plombemias en niños de Palpalá- Jujuy, Argentina" XXVIII Jornadas Interdisciplinarias de Toxicología, Buenos Aires 22 al 24 de septiembre de 2010. Publicado en el libro de resúmenes p 64.

METABOLITOS SECUNDARIOS DE HONGOS ENDÓFITOS Y FITOPATÓGENOS

SECONDARY METABOLITES OF PLANT PATHOGENS AND ENDOPHYTIC FUNGI

Carrillo L. ¹

RESUMEN

Las plantas parecen totalmente autónomas, sin embargo, tienen hongos asociados en sus hojas y raíces. Estos hongos sintetizan metabolitos secundarios durante la fase estacionaria de su crecimiento, los cuales intervienen activamente en las relaciones mutualistas o patogénicas. Algunos de estos metabolitos son tóxicos para insectos y mamíferos por lo cual son importantes en el ambiente agrario.

Palabras claves: Metabolitos. Hongos. Endófitos. Fitopatógenos.

SUMMARY

Plants seem to be totally autonomous, however, have in their leaves and roots associated fungi. These fungi synthesize secondary metabolites during the stationary phase of growth, which are actively involved in mutualistic or pathogenic relationships. Some of these metabolites are toxic to insects and mammals which are important in the agricultural environment.

Key words: Metabolites. Fungi. Endophytes. Plant pathogens.

INTRODUCCIÓN

Hongos

Los hongos comprenden a microorganismos unicelulares (levaduras) y filamentosos (mohos), así como macroorganismos (setas, bejines y otros). Los filamentos (hifas) presentan septos perforados, o carecen de ellos, lo que permite el movimiento del citoplasma. Las hifas generan un micelio que se extiende radialmente sobre una superficie plana. Los hongos se multiplican por medio de esporas. Las de origen asexual se encuentran dentro de esporangios (esporangiosporas) o se desarrollan sobre las hifas o bien en el ápice de los conidióforos (conidios). Estos últimos en algunos casos están reunidos en un coremio, dentro de un picnidio o sobre una acérvula. Las esporas de origen sexual reciben distintos nombres según el tipo de hongos (ascosporas, basidiosporas, oosporas, zigosporas) y se originan en cuerpos fructíferos de morfología diversa. Los esclerocios son estructuras de resistencia desarrolladas sobre las colonias y las clamidosporas son células modificadas que sobreviven al micelio (Webster y Weber, 2007).

El concepto morfológico de especie (morfoespecie) está basado en la similitud del aspecto y presenta dificultades para definir los límites de la misma porque las pocas características usadas pueden variar por la influencia del ambiente.

El concepto biológico de una especie está definido por el cruzamiento. El primer problema consiste en identificar las barreras entre individuos morfológicamente similares y este concepto no se puede aplicar siempre a los organismos homotáticos y asexuales. Tanto el concepto fisiológico como el ecológico parecen razonables cuando se trata de hongos parásitos o simbióticos y se ha usado con los patógenos vegetales.

Las plantas parecen totalmente autónomas, sin embargo, tienen en sus raíces hongos asociados formando micorrizas, cuya función más importante es absorber los elementos minerales menos móviles del suelo y transferirlos a la planta hospedante, mientras ésta proporciona compuestos carbonados al hongo.

El término endófito describe al microorganismo que pasa toda su vida o parte de ella dentro del tejido

vegetal sin causar signos visibles de infección. Los asociados a las plantas herbáceas causan grandes cambios en el crecimiento y composición química de las mismas.

Los hongos perjudiciales tienen un período endofítico muy corto, aunque algunos patógenos latentes suelen estar asintomáticos durante semanas o meses. Se han encontrado endófitos en cada órgano vegetal, aunque la distribución dentro de la planta es heterogénea (Moore y otros, 2011).

Tabla 1.1. Reinos, divisiones y subdivisiones de los hongos propiamente dichos y organismos relacionados (Moore y otros 2011; Spatafora y otros 2016).

- > **PROTOZOA:** principalmente fagotróficos, sin pared
 - *Myxomycota*: organismos mucosos, plasmodiales o unicelulares, de vida libre
 - *Plasmodiophoromycota*: plasmodio intracelular, zoosporangio, parásito obligado
 - *Acrasiomycota*: ameboides, saprobios

- > **CHROMISTA:** no fagotróficos, flagelos con mastigonemas (tipo pincel), pared con celulosa
 - *Labyrinthulomycota*: células deslizantes dentro de una red tubular, gametas biflageladas
 - *Hyphochytriomycota*: holo o eucárpico, esporangio, zoosporas con un flagelo anterior
 - *Oomycota*: unicelular o micelio sin septos, esporangio, zoosporas con dos flagelos, hifa somática diploide, reproducción oogámica

- > **EUMYCOTA:** osmotróficos, pared con quitina
 - *Chytridiomycota*: unicelular o micelial, zoosporas con solo un flagelo posterior, meiosis zigótica
 - *Neocallimastigomycota*: anaerobios, con hidrogenosomas
 - *Blastocladiomycota*: meiosis en esporas, gametotalo haploide, esporotalo diploide
 - *Microsporidia*: parásito unicelular, mitocondrias muy reducidas
 - *Mucoromycota*: micelio en general sin septos, zigosporas por conjugación gametangial
 - *Mucoromycotina*: saprobios en su mayoría, mitosporas en esporangios
 - *Mortierellomycotina*: esporangios sin columela
 - *Glomeromycota*: agentes de las endomicorrizas arbusculares
 - *Zoopagomycota*: forma esporangios, merosporangios o conidios, zyposporas por

conjugación gametangial

- *Entomophthoromycotina*: parásitos de artrópodos o saprobios
- *Zoopagomycotina*: parásitos
- *Kickxellomycotina*: saprobios, parásitos o simbioses

> Dikarya

- *Ascomycota*: meiosporas dentro de ascas, anamorfos conidiales
 - *Pezizomycotina*: micelio septado, ascas en ascomas diversos
 - *Taphrinomycotina*: parásito, micelio subcuticular o subepidérmico, ascas desnudas
 - *Saccharomycotina*: levaduras brotantes, ascas libres
 - *Basidiomycota*: meiosporas sobre basidios o estructura equivalente, micelio con septos doliporo o levaduras
 - *Agaricomycotina*
 - *Agaricomycetes*: basidioma visible carnoso, coriáceo o duro; hifas con fíbulas; basidio sin septos primarios sobre laminillas, poros o en gasteroma; saprobios (epígeos, hipógeos o lignícolas) o ectomicorrízicos, raramente parásitos
 - *Tremellomycetes*: basidioma visible gelatinoso o ceroso; basidio septado; lignícolas o micoparásitos
 - *Dacrymycetes*: basidioma gelatinoso, basidio bifurcado, parentesoma no perforado
 - *Pucciniomycotina*: meiosporas en soros, micelio sin fíbulas, parásitos obligados de plantas o insectos (royas)
 - *Ustilaginomycotina*: con fase levaduriforme, septo hifal por lo común sin doliporo (carbones)

CRECIMIENTO

Los mohos son organismos saprobios, simbioses o parásitos, que tienen un área superficial amplia para absorber nutrientes y excretan enzimas para digerir parcialmente el sustrato orgánico que los nutre, cuya masa micelial contiene tanto células jóvenes como viejas. La trofófase es la etapa de captación de nutrientes y aumento del peso seco, mientras que la idiofase está asociada con el agotamiento de nutrientes y la síntesis de la mayoría de los metabolitos secundarios (Kale y Bennett, 1992). El área superficial es amplia y la actividad dinámica de esta estructura conduce a una interrelación íntima con el ambiente y los factores extrínsecos (temperatura, pH, actividad del agua, composición química del

sustrato) tienen influencia sobre el crecimiento y la biosíntesis (Moss 1991).

En general requieren una alta disponibilidad de agua, sin embargo algunos son xerófilos, tal es el caso de *Xeromyces bisporus* que puede crecer hasta en ambientes con una actividad de agua (a_w) de 0,62 debido a la presencia intracelular de una alta concentración de solutos compatibles, como glicerol y otros polialcoholes, que contrarrestan el efecto de la pérdida de agua. Entre los mohos contaminantes que crecen en ambientes con a_w entre 0,75 y 0,90 se encuentran especies de *Aspergillus*, *Eurotium*, y *Penicillium* (Carlile y otros, 2001).

Los mohos epífitos requieren para la germinación una a_w de 0,85-0,90, para el crecimiento 0,88-0,92 y para la esporulación 0,90-0,92. Esto equivale a una humedad relativa en equilibrio (HRE) de 85-90, 88-92 y 90-92% o expresado como potencial agua (Ψ) -22,4 a -14,5, -17,6 a -11,5 y -14,5 a -11,5 MPa respectivamente. En cambio, el límite menor de a_w para la esporulación en los patógenos oscila entre 0,90 y 0,98, como es el caso de *Fusarium*.

Los hongos se desarrollan bajo un amplio rango de temperatura entre 0 y 35°C, aunque algunos pueden hacerlo a 40°C o más. Las especies psicrotolerantes crecen a la temperatura de congelación, así el rango de crecimiento en *Penicillium aurantiogriseum* va de -4 a + 35°C, y las termotolerantes por sobre los 40°C, como *Humicola lanuginosa* o *Aspergillus fumigatus* que alcanzan los 55°C, pero las ascosporas de *Neosartorya fischeri* y algunos otros hongos pueden sobrevivir a temperaturas extremas en ambientes secos (Lacey, 1989).

Para la mayoría de las especies el rango de pH más favorable es 5,5 - 6,5 y algunos toleran condiciones muy ácidas.

Los hongos requieren oxígeno para vivir, pero las levaduras y unos pocos mohos también tienen un metabolismo fermentativo. La concentración de O_2 puede bajar hasta 4% antes que se observe un cambio importante en la velocidad de crecimiento de muchas especies. El aumento de la concentración de CO_2 en la atmósfera hasta 5-10% suele estimular el crecimiento de algunas especies cuando el Ψ es alto. La tolerancia de *Penicillium roquefortii* a un alto nivel de CO_2 disminuye con un descenso en la concentración de O_2 y la temperatura.

La luz no parece ser un factor limitante, especialmente en aquellas especies que poseen pigmentación oscura (Carlile y otros 2001). La radiación ultravioleta reduce la viabilidad de las esporas, y la luz azul disminuye la biosíntesis de algunos metabolitos, como es el caso de ocratoxina y citrinina (Schmidt-Heydt y otros, 2012).

Por otra parte, las condiciones bajo las cuales hay un número de hongos mayor son aquéllas en las cuales pueden sobrevivir o competir más frente a otros organismos, no crecer mejor (Carlile y otros 2001).

METABOLISMO SECUNDARIO

El metabolismo secundario consiste en un pequeño número de procesos enzimológicos que convierten a unos compuestos intermediarios del metabolismo primario en otros, los cuales permiten la comunicación intercelular facilitando la defensa y competitividad frente a otros organismos. La mayoría de los metabolitos secundarios tienen su origen en un pequeño número de intermediarios (ver figura 1 al final del artículo).

Tabla 2. Origen biosintético de algunos metabolitos secundarios (Moss, 1987; Mousa y Raizada 2013)

Precusores // Géneros	Productos del metabolismo secundario
Aminoácidos	
<i>Aspergillus</i>	Ácido aspergílico
<i>Penicillium</i>	Gliotoxina
<i>Pithomyces</i>	Esporidesmina
<i>Rhizoctonia</i>	Eslaframina
<i>Trichoderma</i>	Gliotoxina
Mevalonato	
<i>Fusarium</i>	Tricotecenos: desoxinivalenol, neosolaniol, toxina T-2
Acetil y malonil coenzima-A	
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxinas, citrinina, esterigmatocistina
<i>Fusarium</i>	Zearalenona
<i>Penicillium</i>	Ácido penicílico, citreoviridina, citrinina, luteoskirina, patulina, rugulosina

Intermediarios de ácidos tricarbóxicos	
<i>Byssochlamys</i>	Ácido byssoclámico
<i>Penicillium</i>	Ácido glaucánico, rubratoxina
Aminoácidos + mevalonato	
<i>Aspergillus</i>	Ácido ciclopiazónico, fumitremógeno
<i>Claviceps</i>	Alcaloides del ergot
Aminoácidos + policetonas	
<i>Aspergillus</i>	Ocratoxina A
<i>Helminthosporium</i>	Citochalasina

Entre los compuestos policetónicos se encuentran aflatoxina B₁ y citrinina sintetizadas por *Aspergillus*, y la zearalenona formada por *Fusarium*. La ruta del shikimato conduce a una variedad de productos, tal como aminoácidos aromáticos, ácido lisérgico y ergocristina formada por *Claviceps purpurea*. Algunos metabolitos secundarios derivan de péptidos, entre ellos están las penicilinas y cefalosporinas. La modificación de los ácidos grasos conduce a una variedad de metabolitos que incluye, entre otros la brefeldina presente en algunos *Penicillium*. Los terpenos derivan de unidades isoprenoides, los cuales pueden ser de cadena abierta o cíclicos, y la síntesis ocurre por sucesivas condensaciones tal como ocurre con el ácido giberélico (Moore y otros, 2011).

Muchos de los metabolitos secundarios conocidos son producidos por especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Talaromyces*, en comparación *Fusarium* y *Trichoderma* forman pocos metabolitos. Éstos son definidos como pequeñas moléculas producidas durante la diferenciación química y morfológica y que luego son excretadas o depositadas en o sobre la pared celular (Frisvad, 2016). Tales metabolitos favorecen la prevalencia del moho frente a otros microorganismos y parte de ellos son tóxicos para animales y/o plantas (Swanson, 1987).

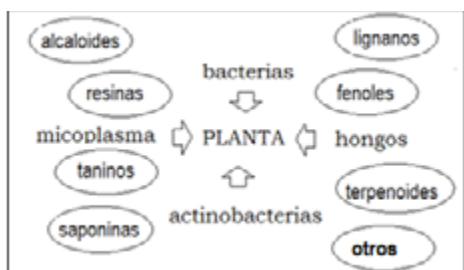
Endófitos

Diversos hongos han sido aislados de los tejidos internos sanos de plantas terrestres y acuáticas. Estos endófitos están presentes en casi todas las partes de la planta: hojas, tallo, raíz, rizoma, y suelen llamarlos patógenos asintomáticos porque bajo ciertas condiciones algunos pueden causar daño y no es claro si todos son mutualistas. Diferentes

factores pueden disparar la transformación del hongo saprobio o mutualista a patógeno. Por otra parte, la comunidad microbiana del filoplano es muy distinta a la endofítica a pesar estar muy próximas (Moore y otros, 2011).

Los hongos permanecen dentro del tejido vegetal a menos que surjan como cuerpos fructíferos. Las hojas son colonizadas por una variedad de hongos a las pocas semanas de su emergencia y las colonias permanecen asintomáticas. Las especies fúngicas predominantes corresponden a los ascomicetos (anamórficos y teleomórficos) aunque también se encuentran algunos basidiomicetos y mucoromicetos (Rodríguez y otros, 1009; Arnold, 2007).

Figura 2. Compuestos bioactivos en la relación endófitos-planta (Gouda y otros, 2016).



En la interacción del endófito fúngico con la planta hospedante, los hongos producen las enzimas necesarias para penetrar y colonizar los órganos aéreos de sus hospedantes, local e intracelularmente, usando solo el fluido apoplástico como medio de crecimiento (Moore y otros, 2011).

La composición de la comunidad endofítica dentro de una planta está determinada tanto por el hongo (genotipo, competitividad, especificidad del tejido, lugar de la infección) como por el hospedante (genotipo, variaciones en la defensa de la planta, ubicación geográfica). La interrelación es dinámica pues la composición fúngica varía a lo largo de las estaciones, con infecciones subsecuentes a la inicial. La transmisión generalmente ocurre por las esporas llevadas por el aire o el agua y las hifas entran por los estomas o directamente en el tejido. En contraste con la colonización micorrícica, la infección endofítica de las partes aéreas es limitada debido a las defensas de la planta, la competencia intra- e interespecífica entre los hongos y otros factores que gobiernan la ocupación del nicho.

Los endófitos colonizan los tejidos del hospedante al menos en parte de su ciclo sin signos patológicos

aparentes, simultáneamente pueden beneficiar al hospedante mejorando su tolerancia al estrés biótico tal como sequía, aumentando la fotosíntesis y transpiración, protegiéndolo contra patógenos mediante la inducción de la resistencia sistémica de la planta y desalentando a los invertebrados fitófagos. Estos beneficios surgen directamente del metabolismo del endófito o indirectamente a través de la producción de compuestos que alteran la fisiología del hospedante (Currie y otros, 2014).

Los endófitos verdaderos son los que se transmiten verticalmente, vía las semillas, de una generación a otra. Estos hongos nunca aparecen fuera de sus hospedantes. También hay muchos endófitos que infectan las plantas mediante las esporas llevadas por el aire y a este tipo de transmisión se la llama horizontal. El número de especies endofíticas verdaderas en las plantas herbáceas es comúnmente bajo, aunque en los árboles y arbustos la diversidad foliar de especies suele ser grande (Braga y otros, 2016).

Tabla 3. Algunos géneros de hongos aislados de hojas de árboles e hierbas (Osono 2014; Bejarano 2016; Currie y otros, 2014)

Géneros	árboles	hierbas
<i>Acremonium</i>	-	+
<i>Alternaria</i>	+	+
<i>Ampelomyces</i>	-	+
<i>Aspergillus</i>	-	+
<i>Arthrinium</i>	+	+
<i>Ascochyta</i>	+	-
<i>Aureobasidium</i>	+	+
<i>Botrytis</i>	-	+
<i>Cenangium</i>	+	-
<i>Chaetomium</i>	-	+
<i>Cladosporium</i>	+	+
<i>Coccomyces</i>	+	-
<i>Colletotrichum</i>	+	+
<i>Coniothyrium</i>	-	+
<i>Drechslera</i>	-	+
<i>Diplococcium</i>	+	-
<i>Discostroma</i>	+	-
<i>Discula</i>	+	-
<i>Epicoccum</i>	-	+
<i>Fusarium</i>	+	+
<i>Geniculosporium</i>	+	+
<i>Guignardia</i>	+	-
<i>Glomerella</i>	+	-
<i>Leptostroma</i>	+	-

Géneros	árboles	hierbas
<i>Lasiodiplodia</i>	+	-
<i>Mycosphaerella</i>	+	-
<i>Mucor</i>	-	+
<i>Nigrospora</i>	+	+
<i>Nodulisporium</i>	+	-
<i>Periconiella</i>	+	-
<i>Pestalotiopsis</i>	+	-
<i>Phialocephala</i>	+	-
<i>Phialophora</i>	-	+
<i>Phoma</i>	-	+
<i>Phomopsis</i>	+	+
<i>Phyllosticta</i>	+	-
<i>Pleospora</i>	-	+
<i>Pseudocercospora</i>	+	-
<i>Stenella</i>	+	-
<i>Surculiseries</i>	+	-
<i>Trichoderma</i>	-	+
<i>Trichothecium</i>	-	+
<i>Tritirachium</i>	+	-
<i>Tubakia</i>	+	-
<i>Undifilium</i>	-	+
<i>Verticillium</i>	-	+
<i>Xylocoremium</i>	+	-
<i>Xylaria</i>	+	-

Además de la transmisión por las semillas, la colonización de la planta comienza por penetración del hongo desde las aberturas naturales como los estomas, o las lesiones causadas por las prácticas agrícolas o los insectos. El aislamiento se hace depositando sobre el medio de cultivo los fragmentos de la planta cuya superficie fue desinfectada para eliminar los organismos epífitos (Gundel y otros, 2012).

Tabla 4. Criterios simbióticos usados para caracterizar los grupos de endófitos fúngicos (Rodríguez y otros, 2009)

Criterios	Clavicipetáceos	
	grupo 1	grupo 2
Rango de hospedantes	estrecho	amplio
Tejidos colonizados	retoños y rizomas	retoños, raíz y rizoma
Colonización <i>in planta</i>	extensiva	extensiva
Biodiversidad <i>in planta</i>	baja	baja
Transmisión	vertical y horizontal	vertical y horizontal
Beneficios	NAH	NAH y AH

Criterios	No- clavicipetáceos	
	grupo 3	grupo 4
Rango de hospedantes	amplio	amplio
Tejidos colonizados	retoños	raíz
Colonización <i>in planta</i>	limitada	extensiva
Biodiversidad <i>in planta</i>	alta	---
Transmisión	horizontal	horizontal
Beneficios	NAH	NAH
NAH (no adaptado al hábitat): tolerancia a la sequedad, incremento del crecimiento		
AH (adaptado al hábitat): pH, salinidad, temperatura		

Los endófitos clavicipetáceos del grupo 1; (ver tabla 4) infectan pastos y los no-clavicipetáceos son recuperados de tejidos asintomáticos de musgos y otras plantas no vasculares, coníferas y angiospermas. La mayoría aumenta la resistencia del hospedante a los insectos y algunos lo protegen de la herbivoría (Rodríguez y otros, 2009; Estrada y otros, 2013).

Los endófitos del grupo 2 (ver tabla 4) son miembros de *Dikaria* y la mayoría pertenece a *Ascomycota* como en el grupo 3, teniendo este último un mayor número de especies. Cada grupo de endófitos domina una línea particular de plantas hospedantes o bioma. Así, los *Leotiomycetes* son aislados con frecuencia en coníferas mientras que los *Sordariomycetes* se encuentran dentro de plantas tropicales leñosas. Algunas especies de *Basidiomycota* y *Oomycetes* están comúnmente asociadas con árboles o arbustos (Currie y otros, 2014).

Algunos endófitos del grupo 2 (ver tabla 4) evitan el estrés del hospedante, tal el caso de *Curvularia protuberata* que al colonizar los tejidos no embrionarios de la planta *Dichanthelium lanuginosum* le permite tolerar temperaturas cercanas a los 65°C. *Leymus mollis* es un pasto de las dunas que al estar colonizado por *Fusarium culmorum* tolera la salinidad del agua de mar (300-500mM NaCl). El grupo 3 (ver tabla 4) incluye una diversidad de hongos asociados a las hojas de los árboles, hierbas, helechos y musgos, mientras que el grupo 4 abarca a especies de ascomicetos que forman estructuras melanizadas en las raíces, tales como hifas inter e intracelulares y microesclerocios, coexistiendo con las micorrizas

(Rodríguez y otros, 2009).

Los hongos producen una gran variedad de metabolitos que no juegan un rol esencial en el crecimiento, desarrollo y reproducción del mismo, sin embargo, tales compuestos son bioactivos y suelen tener una importante función en las interacciones ecológicas. Los endófitos no micorrícicos asociados a las raíces pueden producir fitohormonas como ácido indol-acético y giberelinas promoviendo el crecimiento de la planta (Braga y otros, 2016).

Algunos endófitos protegen a las plantas de los animales herbívoros, como es el caso de *Epichloe typhina* que produce una toxina en la *Festuca arundinacea* hospedante (Vega y otros, 2008). El control de las enfermedades por medio de endófitos antagónicos es una alternativa para ayudar a reducir o eliminar el uso de productos químicos en la agricultura. Además, los mismos endófitos son afectados por las modificaciones antropogénicas (Azevedo y otros, 2000).

Muchos metabolitos están implicados en las relaciones mutualistas y endo-simbióticas del hábitat natural, y a modo de ejemplo se indican algunos casos en las tablas 5 y 6.

Tabla 5. Ejemplos de interacciones (Braga y otros, 2016)

Organismos	Interacción	Compuestos
<i>Moniliophthora roreri</i> - <i>Trichoderma harzianum</i>	Fitopatógeno - endófito	--- butenólido T39, harzianolido sorbicillinol
<i>Trichoderma atroviride</i> - <i>Arabidopsis</i> sp.	Endófito - planta	ácido indol-acético y relacionados ---
<i>Stachybotrys elegans</i> - <i>Rhizoctonia solani</i>	Micoparásito - hospedante	trichotecenos, atranonas ---

Tabla 6. Actividad de metabolitos de algunos hongos endófitos (Mousa y Raizada, 2013; Harris y otros, 1988)

Endófito	Metabolito	Inhibe/ afecta a
diterpenos		
<i>Periconia</i>	periconicinas A y B	<i>Bacillus subtilis</i>
triterpenos		
<i>Pichia guilliermondii</i>	ácido helvólico	<i>Magnapothe oryzae</i>
sesquiterpenos		
<i>Trichoderma harzianum</i>	trichodermina*	<i>Alternaria solani</i> <i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Xylaria</i>	phomenona*	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>C. sphaerospermum</i>
<i>Phomopsis</i> sp.	cycloepoxylactona	<i>Microbotryum violaceum</i> <i>Bacillus megaterium</i>
<i>Phomopsis cassiae</i>	3,12-dihidroxicadalenol	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>C. sphaerospermum</i>
<i>Microdiplodia</i>	phomadecalina E	<i>Pseudomonas</i>
<i>Phoma</i>	phomadecalina C	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Phyllosticta</i> sp.	ácido heptelídico	<i>Choristoneura fumiferana**</i>
<i>Epichloe typhina</i>	chokols	<i>Cladosporium phlei</i>
derivados isocumarínicos		
<i>Pezicula livida</i>	R-mellein	<i>Ustilago violacea</i>
alcaloides		
<i>Acremonium lolii</i>	peramina	gorgojo del tallo
<i>Epichloe</i> , <i>Neotyphodium</i>	ergovalina y otros	ganado
<i>Cryptosporiopsis quercina</i>	cryptocin	<i>Pyricularia oryzae</i>
<i>Pestalotiopsis adusta</i>	pestalachloride A	<i>Fusarium culmorum</i> <i>Gibberella zeae</i> <i>Verticillium albo-atrum</i>
<i>Neotyphodium uncinatum</i>	loine	insectos áfidos
<i>Rhizoctonia leguminicola</i> <i>Metarhizium anisopliae</i>	swainsonina	<i>Spodoptera</i> sp.** ganado
esteroides		
<i>Colletotrichum</i>	3β,5α-dihidroxi-6β-acetoxi-ergostan-7,22-dieno y otros	<i>Phytophthora capsici</i> <i>Gaeumannomyces graminis</i> <i>Rhizoctonia cereales</i> <i>Helminthosporium sativum</i>
compuestos fenólicos		
<i>Colletotrichum gloeosporoides</i>	ácido colletotrico	<i>Helminthosporium sativum</i>
policetónicos		
<i>Penicillium rugulosum</i> <i>Hormonema dematoides</i> <i>Aschersonia samoensis</i>	rugulosin	<i>Drosophila melanogaster</i> <i>Spodoptera frugiperda**</i>
<i>Nodulisporium</i> sp.	nodulisporinas	<i>Microbotryum violaceum</i>
<i>Acremonium zeae</i>	pyrrocidinas A y B	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Fusarium verticilloides</i> <i>Fusarium graminearum</i> <i>Nigrospora oryzae</i> <i>Rhizoctonia zeae</i>
		<i>Stenocarpella maydis</i> <i>Bacillus mojavensis</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Poecilomorpha adusta</i>	pestalachloride B	<i>Fusarium culmorum</i> <i>Gibberella zeae</i> <i>Verticillium albo-atrum</i>
péptidos		
<i>Acremonium</i>	leucinostatin A	<i>Pythium ultimum</i>
<i>Cryptosporiopsis</i> cf. <i>quercina</i>	cryptocandín A	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
*también tienen un efecto fitotóxico frente a algunas especies vegetales		
**larvas		

Entomopatógenos

La expresión de los fenotipos metabólicos en los hongos es un estricto proceso gobernado por las fuerzas de la selección natural, asegurando la supervivencia bajo condiciones ecológicas alteradas. Los metabolitos secundarios permiten a los hongos sobrevivir y competir en un ambiente ecológico cambiante, debido a la presencia de organismos competidores, nutrientes limitados o protección contra insectos fungívoros (Singh y otros, 2016).

Los hongos simbióticos endofíticos incluyen a todos aquellos que habitan las partes internas de los tejidos vegetales sin dañar a los hospedantes. Se los suele dividir en dos grupos: aquéllos que no generan estructuras externas y los que forman micorrizas. Los primeros tienen un rol importante en la protección frente a predadores y patógenos. El control de insectos por el uso de entomopatógenos es una alternativa para ayudar a reducir o eliminar el uso de productos químicos en la agricultura, pues éstos además de controlar plagas y microorganismos fitopatógenos, eliminan especies de insectos que a su vez afectan a otras plagas y microorganismos inhibidores del crecimiento y la multiplicación de otros que son dañinos (Strobel y Daisy, 2003).

Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de enemigos naturales de muchas variedades de insectos y también arácnidos. Comprenden unas 750 especies correspondientes a 90 géneros, distribuidos en el suelo, sobre y dentro de las plantas, y los mismos insectos. Las especies fúngicas actúan sobre la planta hospedante a través de sus interacciones (antagonismo, parasitismo o mutualismo) efectuando la producción de metabolitos funcionales, así las especies de *Beauveria*, *Lecanicillium* y *Trichoderma* inducen una resistencia sistémica adquirida en su hospedante (Singh y otros, 2016).

Entre los factores abióticos que afectan la viabilidad y la persistencia de los hongos entomopatógenos en el campo están los rayos ultravioletas, la temperatura, la humedad relativa y los fungicidas. La relación con los hospedantes depende de los nutrientes presentes en los insectos, que son el medio para la propagación, dispersión y persistencia de los hongos. A diferencia de otros agentes, la infección puede ocurrir por el contacto y la adhesión de las esporas a las partes bucales, membranas intersegmentales

o a través de los espiráculos (Pucheta-Díaz y otros, 2006). El desarrollo de la infección comienza por la adhesión del conidio, continúa con la penetración del apresorio en la cutícula del insecto y el desarrollo del micelio con la intervención de enzimas (proteasas, quitinasas, lipasas, lipooxigenasas) (Sánchez-Pérez y otros, 2014). Una vez que entra en el insecto, crece un propágulo que daña mecánicamente el hemocele y luego libera una batería de metabolitos entomotóxicos, principalmente péptidos no ribosómicos, alcaloides, terpenos y policetónicos.

Tabla 7. Principales grupos fúngicos con miembros entomopatógenos, metabolitos y hospedantes (Singh y otros, 2016; Moore y otros, 2011).

Filum/subfilum	Géneros	Metabolitos	Hospedantes
Ascomycota *teleomorfo, ** anamorfo	<i>Cordyceps</i> *	cordycepinas	larvas de lepidópteros
	<i>Hypocrella</i> *	ergosterol,	moscas blancas, cocidoes,
	<i>Aschersonia</i> **	dustanin, hipocrellina, 3- hopane- triterpenos	nemátodos
	<i>Beauveria</i> **	beauvericina, bassianina, oosporeina, bassianólido	lepidópteros, coleópteros, hemípteros, homópteros, himenópteros
	<i>Metarhizium</i> **	swainsonina, dextrinas	coleópteros, hemípteros, isópteros, homópteros, heterópteros, lepidópteros, dípteros (mosquitos), himenópteros, sifonápteros
	<i>Isaria</i> ** (ex <i>Paecilomyces</i>)	beauvericina, beauverólidos, ácido dipicolínico	hemípteros
	<i>Verticillium</i> **	ácido hidroxicarboxílico, ciclosporina, ácido dipicolínico, bassianólido	hemípteros, tysanópteros (trips)
	<i>Tolyposcladium</i> **	efrapeptinas, tolypin, dicetopiperazinas	dípteros (mosquitos), phemeropteros (efímeras)
	<i>Hirsutiella</i> **	hirsutielina A y B	ácaros (<i>Phylloprueta oleivora</i>), lepidópteros (<i>Galleria melonella</i>)
	<i>Nomuraea rileyi</i> **	ergosterol peróxido	lepidópteros, coleópteros, hemípteros
<i>Torribiella</i> *	Torribielin B	hemípteros (coccidoes)	
Pucciniomycotina	<i>Septobasidium</i>	...	hemípteros (coccidoes)
Entomophthoromycotina	<i>Entomophaga</i>	...	ortópteros (saltamontes), coleópteros
	<i>Erynia</i>	...	hemípteros (áfidos)
	<i>Entomophthora</i>	...	tysanópteros (trips), dípteros (moscas)
	<i>Zoophthora</i>	...	coleópteros, dípteros, hemípteros, himenópteros, lepidópteros, ortópteros, tricópteros
Blastocladiomycota	<i>Coelomyces</i>	...	dípteros (moscas negras)
	<i>Myiophagus</i>	...	dípteros
Oomycota	<i>Lagenidium</i>	...	dípteros (larvas de mosquitos)
	<i>Leptolegnia</i>	...	
	<i>Pythium</i>	...	

La mayoría de los hongos asociados con insectos pertenecen al orden *Entomophthorales* (filum *Zoopagomycota*) y al orden *Hypocreales* (filum *Ascomycota*), en cuyo ciclo de vida existe una fase sexual (teleomorfo) o una asexual (anamorfo) o ambas simultáneamente (holomorfo) (Singh y otros, 2016). Los más significativos son *Beauveria*, *Lecanicillium* e *Isaria*, anamorfos del género *Cordyceps*. Otros son *Hirsutella* y *Metarhizium*, anamorfos de *Metacordyceps* y *Ophiocordyceps* respectivamente (Sung y otros, 2007).

Los primeros ácidos nudilospóricos, que exhiben potentes propiedades insecticidas frente a las larvas de *Sarcophaga carnaria*, fueron aislados de *Nodulisporium* sp., endófito de la planta *Bontia daphnoides*. Dos compuestos, 5-hidroxi-2-(1'-hidroxi-5'-metil4'-hexenil) benzofurano y 5-hidroxi-2-(1'-oxo-5'-metil4'-hexenil) benzofurano, que muestran toxicidad frente *Choristoneura occidentalis* fueron obtenidos de un endófito de *Gaultheria procumbens*. Otro endófito, *Muscodor vitigens*, aislado de la liana *Paullina paullinoides* produce naftaleno, un repelente de *Cephus cinctus* y otros insectos (Strobel y Daisy, 2003). Los metabolitos de *Beauveria bassiana* controlan al barrenador *Ostrinia nubilalis* (6) y la efraptina de *Beauveria nivea* muestra actividad tóxica sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Borges y otros, 2010).

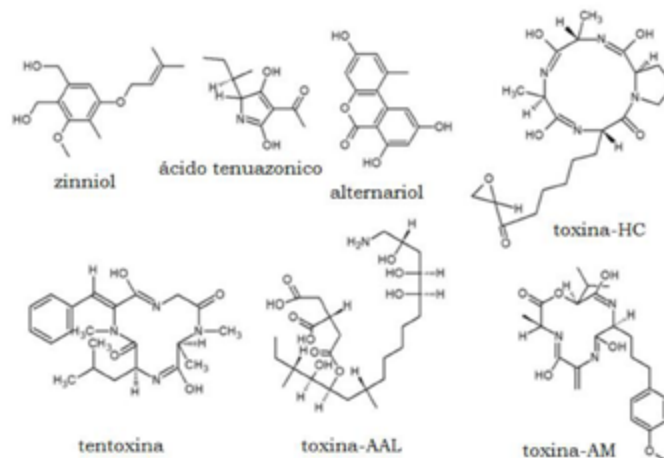
Fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos que son clasificados en necrótrofos, hemibiótrofos u biótrofos, causan alteraciones durante todo el desarrollo de las plantas incluyendo el estado post-cosecha y difieren en las estrategias usadas para adquirir nutrientes.

Los necrótrofos tiene un amplio rango de hospedantes y producen enzimas que degradan las paredes celulares y toxinas selectivas que pueden ser péptidos o metabolitos secundarios. En contraste, los biótrofos obligados dependen enteramente del tejido de la planta viva y está caracterizado por estructuras de infección tales como apresorios, hifas de penetración e infección y haustorios que les permiten suprimir las respuestas defensivas de la planta y acceder a los nutrientes. La síntesis de sideróforos es importante para la virulencia de algunos mohos (v.g. *Cochliobolus heterostrophus*, *Fusarium graminearum*, *Alternaria brassicicola*) (Pusztahelyi y otros, 2015).

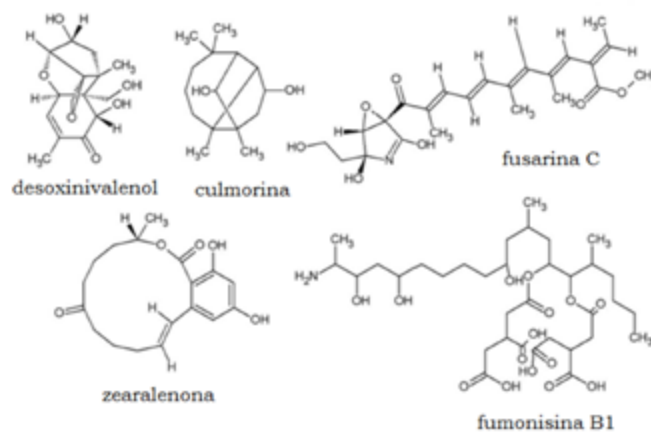
En muchos casos la invasión comienza tan pronto como las hojas son expuestas al aire y los hongos continúan desarrollándose a lo largo de todo el crecimiento de la planta, especialmente en la senescencia y la maduración de las semillas (Lacey, 1989).

Figura 3. Metabolitos secundarios de *Alternaria* spp. (Pusztahelyi y otros, 2015)



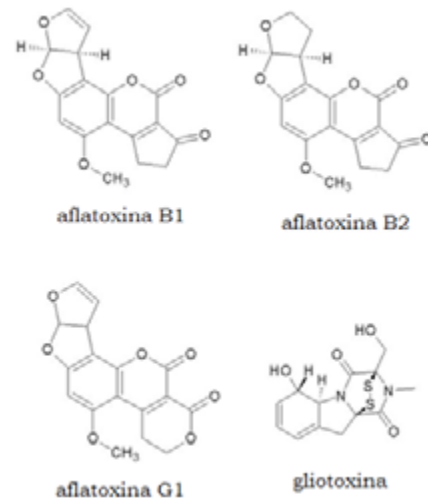
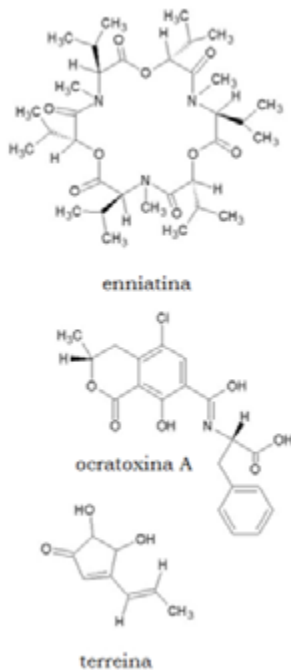
Las fuentes de estrés abiótico como la sequedad y el calor afectan las interacciones. Algunos metabolitos secundarios fúngicos, tales como pigmentos, polioles y micosporinas, están asociados con la patogenicidad y/o tolerancia del hongo factores de estrés, incluyendo la temperatura y la luz UV. También la limitación de nitrógeno parece ser un estímulo esencial para la activación de la virulencia induciendo en *Fusarium graminearum* la síntesis de desoxinivalenol, en *Cochliobolus heterostrophus* la de T-toxina y en *Alternaria alternata* la del péptido cíclico AM-toxina.

Figura 4. Metabolitos secundarios de *Fusarium* spp. (Pusztahelyi y otros, 2015)



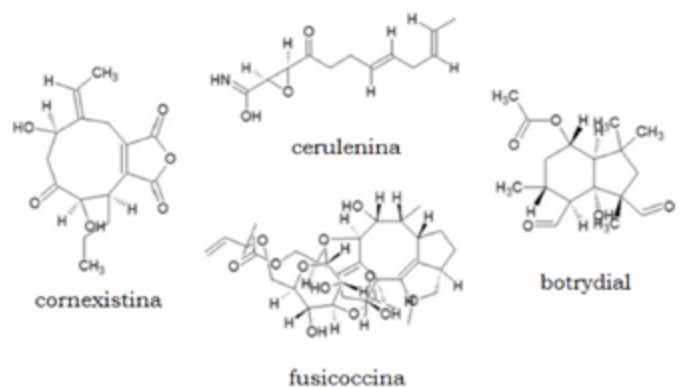
Las fitotoxinas fúngicas se suelen dividir en huésped-selectivas (HST) y no selectivas (NHST). Las HST son activas solamente hacia la planta hospedante, con un único modo de acción y toxicidad para la misma y es esencial para la virulencia del hongo. Casi todas las HST conocidas son producidas por patógenos netrótrfos del orden *Pleosporales*, dentro de la clase *Dothideomycetes* y especialmente las especies de *Alternaria* y *Cochliobolus*. Estas HST toxinas son tanto compuestos de bajo peso molecular como péptidos cíclicos. Por el contrario, las toxinas NHT no son esenciales para la patogenicidad, aunque pueden contribuir a la virulencia. Otros compuestos fitotóxicos son la cornexistina de *Paecilomyces variotii*, el tetrapéptido cíclico tentoxina y la AA-toxina de *A. alternata*, la fumonisina B1 de *Fusarium spp.*, la fusicoccina de *Fusicoccum amygdali*, el alternariol de *Nimbya* y *Alternaria*, la cerulenina de *Cephalosporium cerulens*, y el zinniol de *Alternaria sp.* y *Phoma sp.* (Pusztahelyi y otros, 2015).

Figura 5. Metabolitos secundarios de *Aspergillus* (Pusztahelyi y otros, 2015)



Se suele denominar exometabolitos a los metabolitos secundarios pues estas moléculas son excretada o depositadas en o sobre la pared celular y acumuladas, en contraste con los metabolitos primarios. La naturaleza química de las toxinas de los hongos patógenos está relacionada con el grupo taxonómico de los mismos y pueden ser producidas solamente en ciertos estados de ciclo de vida del hospedante o del ciclo de la enfermedad fúngica (Frisvad, 2015).

Figura 6. Metabolitos de *Paecilomyces variotii* (cornexistina), *Fusicoccum amygdali* (fusicoccina), *Cephalosporium caerulens* (ceruleina), *Botrytis cinerea* (botrydial) (Pusztahelyi y otros, 2015)



Productos agrícolas

El deterioro de estos productos es debido a un amplio rango de hongos que difieren mucho en sus

determinantes ecológicas. Va desde patógenos vegetales, endófitos y saprobios superficiales que dañan los productos antes de la cosecha, hasta los mohos que causan pérdidas post-cosecha. Algunos producen metabolitos tóxicos para los animales y humanos.

La cosecha perturba el ecosistema y marca la transición desde la variabilidad del ambiente de campo a las condiciones relativamente estables del almacenamiento. El crecimiento de los mohos antes y después de la cosecha está determinado por el ambiente (especialmente la disponibilidad de agua, la temperatura y la composición gaseosa) y las interacciones con otros microorganismos (pro- y eucariotas) y artrópodos, además de las medidas tomadas para su control (Lacey, 1989).

El almacenamiento es un estado anormal de las plantas, donde se amontonan grandes masas de vegetales en espacios limitados, pues los frutos, las hortalizas y los granos almacenados están vivos. Las especies fúngicas del campo requieren un alto contenido de humedad e invaden las plantas antes de la recolección de los granos y en el acopio predominan las que son capaces de crecer con bajo contenido de humedad y alta presión osmótica (ver figura 7 al final del artículo).

Los factores que influyen sobre la selección de los hongos son intrínsecos (composición del sustrato, a_w , pH), extrínsecos (temperatura, humedad, O_2 , luz), tecnológicos (tratamiento térmico y químico), e implícitos (interrelaciones microbianas) (Sanchis y otros, 2007).

Los hongos rara vez están puros sino que, con frecuencia, hay un grupo de mohos, bacterias e insectos interactuando en los micronichos. Las variaciones de temperatura, a_w y composición gaseosa pueden originar cambios en las especies predominantes (Lacey, 1989).

Metabolitos tóxicos

Aunque hay aproximadamente unos 400 exometabolitos considerados tóxicos, desde el punto de vista de la salud humana o animal, los más importantes son aflatoxinas, ocratoxina A, fumonisinas, zearalenona, desoxinivalenol y otros tricotecenos. Estas sustancias pueden ser consecuencia de un almacenamiento inadecuado,

pero suelen estar presentes antes del acopio.

Alternaria, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium* actúan como patógenos pre o post-cosecha de los granos y elaboran metabolitos tóxicos. Aunque *Aspergillus* y *Penicillium* son considerados con frecuencia como hongos del almacenamiento e incapaces de formar toxinas antes de la cosecha, los *Aspergillus* sección *Flavi* pueden colonizar las plantas de maní durante el ciclo de crecimiento y cuando la planta experimenta estrés por sequía, próximo al tiempo de cosecha, comienzan a formar aflatoxinas en los granos. Lo mismo ocurre con maíz y algodón. *A. flavus* y especies relacionadas crecen bien con a_w reducida (0,80) y las aflatoxinas se producen aproximadamente con $a_w = 0,85$ (Hocking, 2003).

Las especies de *Aspergillus* toxigénicas presentes en Argentina son *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. arachidicola*, *A. minisclerotigenes*, *A. pseudocaelatus*, *A. pseudotamarii* y *A. nomius* (Varga y otros, 2011). La aflatoxina B1 es hepatotóxica y cuando la exposición a la misma está combinada con hepatitis B ó C el riesgo de un cáncer hepatocelular primario es muy alto (Peraica, 2016).

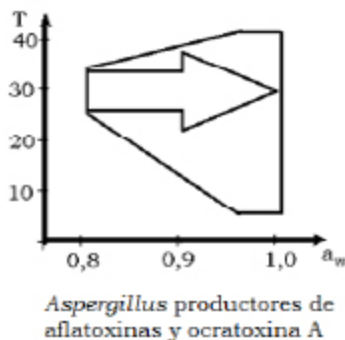
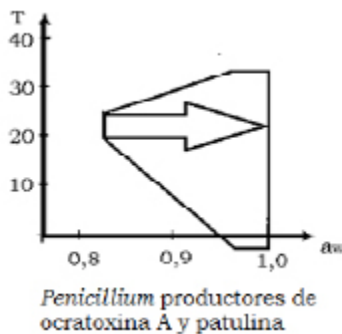
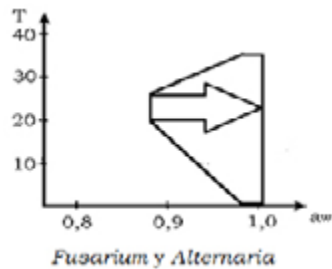
Penicillium verrucosum crece en climas fríos, contamina granos tales como trigo y cebada durante o inmediatamente después de la cosecha a través de la cosechadora, los secaderos y silos, es relativamente xerófilo pues crece con $a_w = 0,80$ y produce ocratoxina A por sobre $a_w = 0,86$. *Aspergillus ochraceus*, contaminante del maíz, produce la misma toxina que provoca una enfermedad renal en cerdos y humanos (Hocking, 2003).

Las ocratoxinas también son generadas por *Penicillium nordicum* y otras especies de *Aspergillus* (*A. alliaceus*, *A. auricomus*, *A. carbonarius*, *A. glaucus*, *A. melleus*, *A. niger*) (Peraica, 2016).

Los granos no son los únicos productos afectados por la contaminación fúngica antes de la cosecha. Las esporas de *A. flavus* llegan a los higos en maduración a través de los insectos. Cuando las frutas son secadas al sol, la temperatura cálida y una a_w relativamente reducida favorece el crecimiento del hongo y la subsecuente formación de aflatoxinas. Los higos también pueden contener ocratoxina A si son colonizados en la fase tardía de maduración por *A. niger*, *A. carbonarius* o *A. ochraceus*.

Las uvas pueden ser contaminadas justo antes de la cosecha por especies de *Aspergillus* negros productores de ocratoxina A (*A. carbonarius* y otros), especialmente si son dañadas por la lluvia.

Figura 8. Niveles combinados de temperatura (°C) y a_w que permiten el desarrollo de mohos toxigénicos. La flecha indica la zona de crecimiento óptimo. (Sanchis y otros, 2007)



Los mohos xerófilos no suelen ser detectados en los granos recién cosechados pues están en muy pequeño número, y la contaminación ocurre durante el transporte y el almacenamiento. Cuando crecen modifican su microambiente elevando la temperatura y humedad. *Aspergillus penicilloides* suele ser el pionero junto a *Eurotium* y *Wallemia*, seguidos por *A. candidus*. Una vez que la humedad aumentó ($a_w = 0,80-0,82$) pueden desarrollar *A. flavus*, *A. ochraceus*, y *A. versicolor* (productores de aflatoxinas, ocratoxinas y esterigmatocistina respectivamente), así como algunas especies de

Penicillium, pero son incapaces de generar toxinas por debajo de $a_w = 0,85$ (Hocking, 2003).

Alternaria y *Fusarium* no compiten mucho a baja a_w y no forman toxinas cuando el grano está seco o durante el acopio. *F. culmorum* predomina con $a_w > 0,95$.

F. graminearum y *F. culmorum* causan enfermedades en diversos cereales, el primero predomina en climas templados y el otro en regiones más frías, y la toxina más importante formada por estas especies es el tricoteceno desoxinivalenol. Una humedad alta favorece la producción de la toxina estrogénica zearalenona (Popovski y Celar, 2013).

Otros hongos productores de tricotecenos son *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Myrothecium* y *Stachybotrys*. Estos dos últimos, al igual que *F. acuminatum*, producen el tricoteceno T-2 que causa lesiones necróticas y hemorragias (Peraica, 2016).

F. verticilloides y *F. proliferatum* forman fumonisinas responsables de la enfermedad del maíz amohosado o leucoencefalomalacia en los caballos (6). Las fumonisinas, análogos de la esfinganina, constituyen un grupo de 15 metabolitos cuyo miembro más frecuente es la B1 que interfiere en el metabolismo de los esfingolípidos y está clasificada como posible agente cancerígeno (Popovski y Celar, 2013). También *Alternaria alternata* produce toxinas análogas de la esfinganina llamadas AAL-toxinas (Mansfield y otros, 2007).

Prevención

Las opciones posibles en el campo son varias: la utilización de fungicidas, el cultivo de variedades resistentes, la modificación genética de las plantas o la aplicación de estrategias biocompetitivas. Aunque hay evidencia limitada y contradictoria sobre el efecto de los fungicidas, se emplean con éxito cepas atoxigénicas de *Aspergillus* sección Flavi competidoras de las toxigénicas y semillas genéticamente modificadas para el control de insectos vectores.

Después de la cosecha se puede actuar directamente mediante tratamientos que limiten el crecimiento: variación de la a_w y temperatura, modificación de la atmósfera, aplicación de

antimicrobianos (Sanchis y otros, 2007).

Tabla 8. Aplicación del sistema de análisis de peligros y control de puntos críticos en productos agrícolas (Park y otros, 2008)

Punto de control crítico	Acción correctiva
Pre-cosecha	Utilizar variedades resistentes Aplicar un programa de control de insectos efectivo Mantener una irrigación adecuada Hacer una buena labranza, rotación de cultivos, práctica de control de malezas, etc.
Cosecha	Cosecha en el momento apropiado Si es posible, mantener a baja temperatura Remover los materiales extraños Secar rápidamente por debajo de 10% de humedad
Post-cosecha y almacenamiento	Proteger los productos almacenados de la humedad, los insectos, otros factores ambientales, etc. Almacenar sobre superficies limpias y secas
Procesamiento y manufactura	Analizar todos los ingredientes añadidos Controlar las operaciones de procesamiento/manufactura para mantener una alta calidad del producto Seguir las buenas prácticas de manufactura

Detoxificación

Las prácticas para descontaminar o inactivar los alimentos y forrajes contaminados con toxinas fúngicas comprenden separación física, inactivación térmica, irradiación, el uso de compuestos adsorbentes inorgánicos y la degradación biológica.

La limpieza por flotación permite reducir el contenido de aflatoxinas en un lote de maníes de 300 a 20 µg/kg. También se logra reducir un 25% el contenido de desoxinivalenol en harina de trigo por limpieza y pulido de los granos y la cantidad de patulina en manzanas disminuye 93-99% separando las porciones alteradas.

La distribución de toxinas en gluten, germen, fibras y almidón es variable, alcanzando un valor mínimo en el almidón producido por molienda húmeda. Por contrario, el salvado resultante de la molienda seca es la más contaminada.

El tratamiento de forrajes con amoníaco reduce el contenido de aflatoxinas en casi 99%. Los materiales adsorbentes, como el carbón activado, las zeolitas y las arcillas, disminuyen el contenido de aflatoxinas

pero no de zearalenona.

Por otra parte, el control biológico es un medio para prevenir la producción de toxinas (Doko y Park, 2008).

Muestreo

La muestra es una pequeña porción obtenida de una gran cantidad de material y su distribución puede ser uniforme, selectiva o azarosa. Cuando el lote no es uniforme el muestreo al azar es la técnica apropiada. Se recolectan pequeñas porciones en diferentes áreas o secciones de manera que todos los componentes individuales tengan la misma probabilidad de formar parte de la muestra (Njapau, 2008).

La concentración de un metabolito en un lote es estimada por la medición en una pequeña porción del mismo, para luego decidir la calidad de dicho lote. Por tal motivo, hay planes de muestreo para minimizar la clasificación errónea del lote a la hora de decidir si es aceptable o no.

Tabla 9. Protocolo para la recolección de mazorcas (Njapau, 2008).

Producto	Muestreo
Campo, 2 a 5 ha	Dividir el campo en secciones de ½ ha. Recoger 3 mazorcas en cada una. Desgranar y reducir a una muestra de 5 kg
Campo, mayor a 5 ha	Recolectar 2 mazorcas cada ½ ha.
Depósito en hogar	Estimar la cantidad total, tomar las mazorcas de zonas accesibles, desgranar y mezclar. Obtener 1 kg/100 kg de granos.
Camión o vagón	Tomar 10 muestras y mezclar (mínimo total 5 kg).
Supermercado	Tomar 10 envases de 0,5 kg.
Alimento preparado	Un plato es toda la muestra

El procedimiento utilizado para la toma de la muestra es extremadamente importante. Si el lote ha sido cuidadosamente mezclado, las partículas contaminadas están probablemente distribuidas de manera uniforme. En este caso poco importa de cual lugar se toma la muestra. Sin embargo, si la muestra tiene grumos, causados por la humedad u otra razón, dichas partículas estarán repartidas irregularmente (Zeng y otros, 2006). En las tablas 9 y 10 se dan ejemplos del tamaño de las muestras.

En general, la FAO recomienda tomar 200 g de muestra cada 200 kg del producto a analizar. Cuando el lote es muy grande, la muestra también lo es, y en este caso debe ser mezclada y molida antes de obtener la sub-muestra representativa para el análisis. Cuando un gran lote está contenido

en bolsas o cajas, se deben tomar varias de éstas dispersas en el mismo. Por otra parte, para tomar la muestra de un lote que se desplaza, tal como una corriente de granos, se debe hacer a intervalos periódicos (Njapau, 2008).

Suponiendo que el muestreador (figura 9) tiene

Tabla 10. Tamaño de la muestra según el producto (Whitaker, 2008)

Producto	Envase	Nº unidades de muestra	Tamaño de la unidad (kg)	Muestra total (kg)
maníes	consumidor y a granel	50	0,5	25
nueces	consumidor a granel	10 50	0,5 0,5	5 25
maíz	consumidor y a granel	10	0,5	5
leche	consumidor y a granel	10	1	10
frutas secas	consumidor y a granel	50	0,5	25

Figura 9. Muestreador automático (Whitaker, 2008)

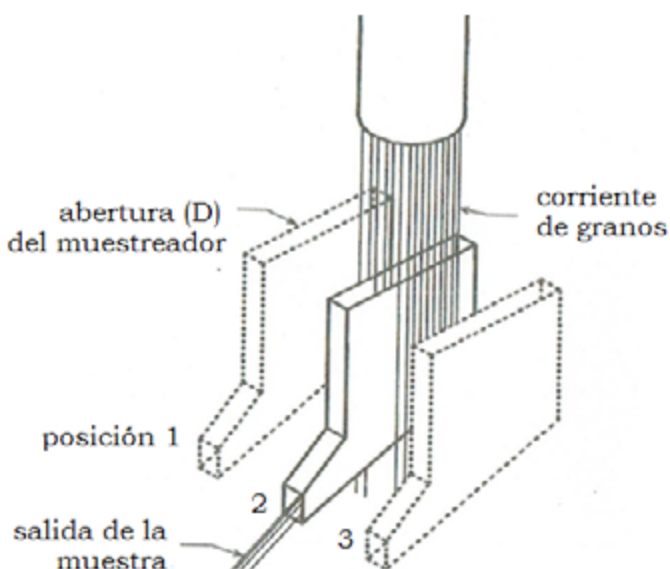
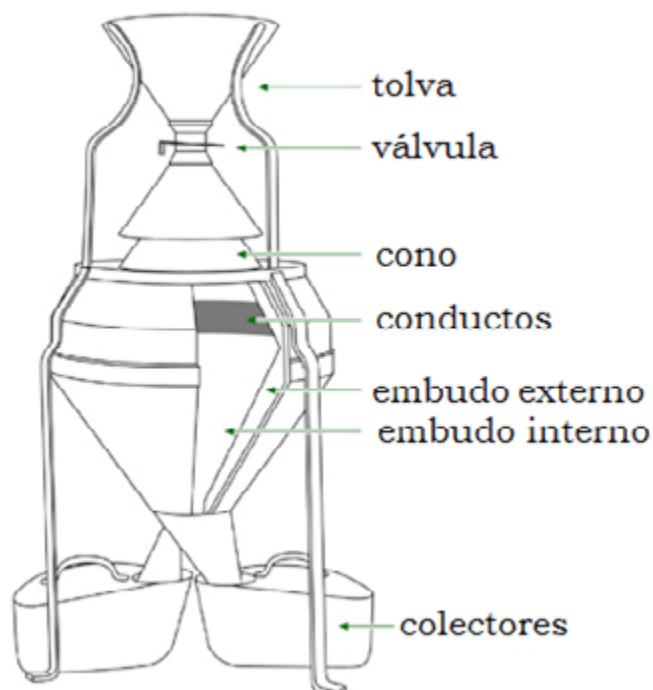


Figura 10. Cuarteador del material para análisis



una abertura de 6 cm, se mueve a una velocidad de 30 cm/seg y se quiere obtener 10 kg de un lote a granel de 30.000 kg, el tiempo entre cada toma está dado por la ecuación siguiente:

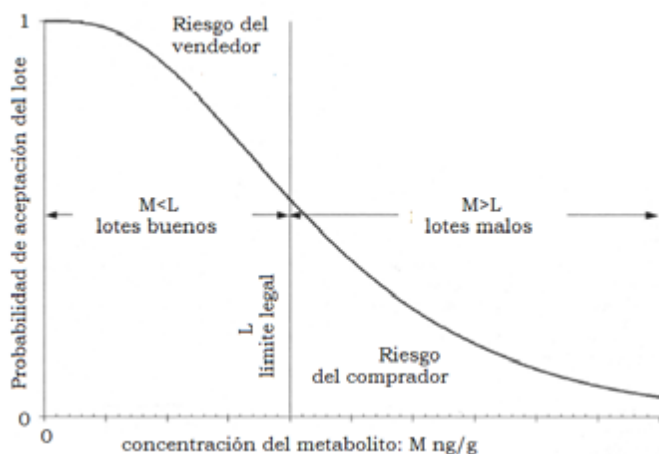
$$T = (6 \text{ cm} \times 30.000 \text{ kg}) / (10 \text{ kg} \times 30 \text{ cm/seg}) = 10 \text{ minutos}$$

Cuando la muestra total es homogénea y mucho mayor que la de análisis se suele usar un separador como el de la figura 10 u otro, y se hace un cuarteado o sea, una de las dos muestras recogidas se vierte nuevamente en la tolva y otra vez es dividida, luego se repite el proceso hasta obtener dos alícuotas de unos 200 g, una de las cuales es molida y utilizada para el análisis. En el caso de material no homogéneo, tal como nueces, la muestra total se somete a molienda y luego se obtiene la alícuota analítica (Whitaker, 2008).

Curvas de operación

Dos tipos de errores están asociados con cualquier programa de muestreo (figura 11): lotes buenos pueden ser rechazados (riesgo del vendedor) y lotes malos pueden ser aceptados (riesgo del comprador). Sin embargo, hay métodos para predecir tales riesgos, el número de lotes aceptados y rechazados, y la cantidad de metabolito en ambos lotes, lo que permite elaborar un plan aceptable de investigación de un metabolito en un producto determinado.

Figura 11. Forma típica de una curva característica de operación [RV, riesgo del vendedor; RC, riesgo del comprador; L, límite de aceptación; M, concentración del metabolito] (Whitaker, 2008)



Aun cuando se empleen procedimientos de

muestreo, preparación de la muestra y técnicas analíticas aceptados, hay errores asociados con cada uno de estos pasos. Aumentando el tamaño de la muestra, el de la sub-muestra, el grado de molienda, el número de alícuotas analizadas y usando un método analítico más preciso, se puede reducir la variabilidad del resultado como se observa en las figuras 12 y 13 (Whitaker, 2008).

Figura 12. Ejemplo del efecto del tamaño de muestra sobre los riesgos asociados (Whitaker, 2008)

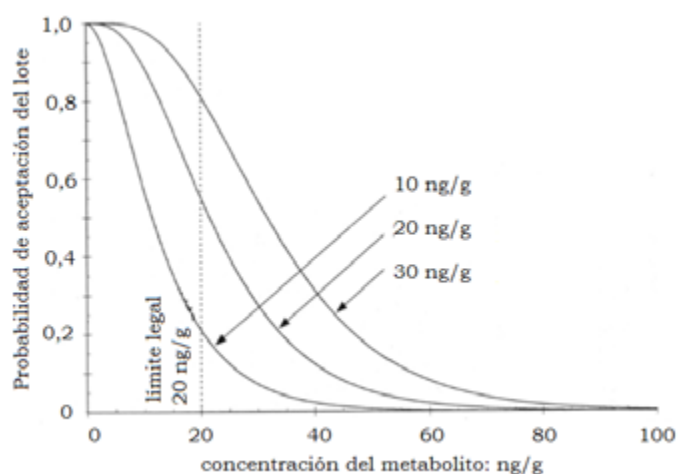
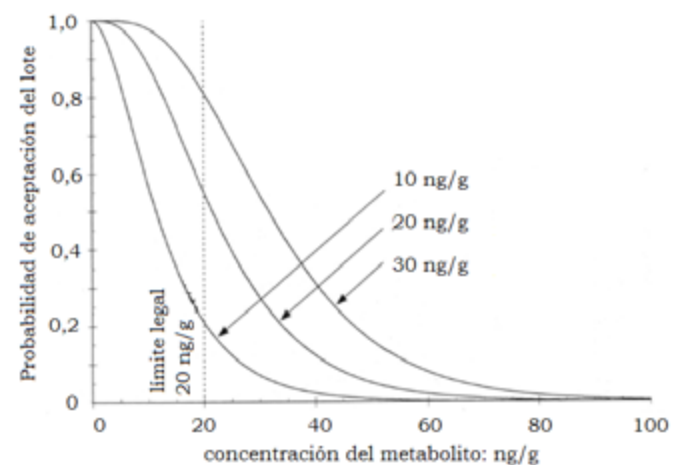


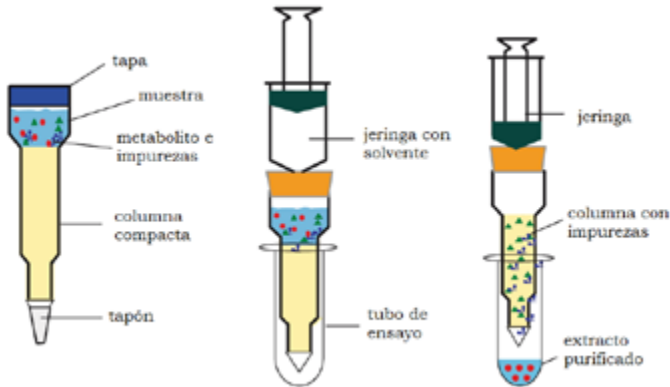
Figura 13. Ejemplo del efecto del límite de aceptación/rechazo (Whitaker, 2008)



Extracción de metabolitos

Las diversas técnicas usadas para el análisis de los metabolitos incluyen molienda, extracción con una mezcla disolvente, purificación y detección. La complejidad del sustrato y el método para la detección influyen sobre el tratamiento que se aplica.

Figura 14. Columna de extracción en fase sólida (Zeng y otros, 2006)

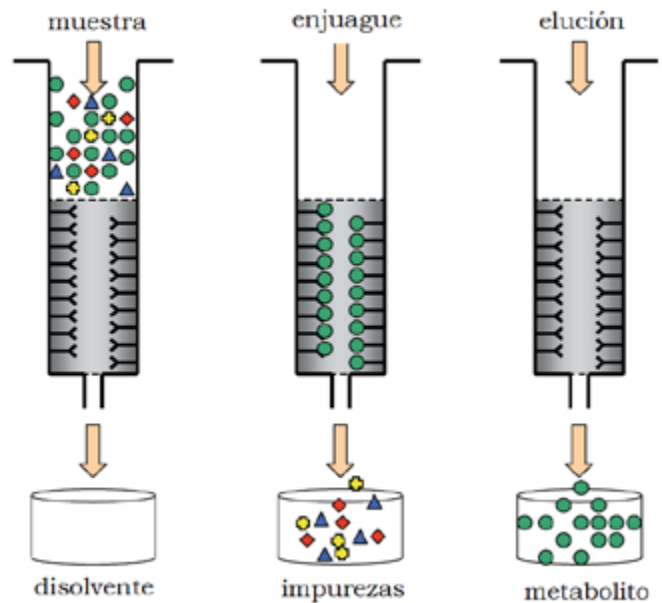


En la extracción se emplean diversos solventes orgánicos y sus mezclas, principalmente acetonitrilo, metanol, acetona y acetato de etilo, así como agua, según las propiedades físicoquímicas del metabolito y la matriz del producto analizado. Las mezclas acetonitrilo-agua (84:16 v/v), acetonitrilo-metanol-agua (25:25:50 v/v/v) y acetona-agua (70:30 v/v; 60:40 v/v) son usadas para la extracción simultánea de aflatoxinas, ocratoxinas, desoxinivalenol, trichotecenos, zearalenona y fumonisinas presentes en cereales o harinas, pero la eficiencia de la misma depende de la naturaleza del sustrato. La mezcla más conveniente para la determinación de aflatoxina B1 en granos es metanol-agua (80-20 v/v). Comúnmente se agita el producto molido con la mezcla disolvente, pero se suelen emplear otras técnicas que usan temperatura, ultrasonido, presión o fluidos supercríticos (Trombete y otros, 2013). El siguiente paso es la purificación o limpieza del extracto y el enriquecimiento del o los metabolitos a analizar.

Las columnas de purificación por extracción en fase sólida (figura 14) contienen gel de sílice, florisil o resinas de intercambio iónico para retener al metabolito sobre el adsorbente, el que luego es eluído con la mezcla disolvente (Zeng y otros, 2006).

La columna de purificación por inmunoafinidad (figura 15) contiene un anticuerpo específico inmovilizado sobre un soporte sólido y al agregar el extracto de la muestra, el metabolito se une al mismo dejando pasar el disolvente. Luego se agrega agua para eliminar las impurezas y finalmente se añade un eluyente para recuperar el metabolito purificado.

Figura 15. Columna de inmunoafinidad para purificar la muestra (Zeng y otros, 2006)



ANÁLISIS

La identificación de los metabolitos presentes en el eluato de la columna de purificación se hace mediante técnicas inmunológicas, o cromatográficas: capa fina (hoy, poco usada), líquida de alta resolución (HPLC) o gaseosa. La cuantificación, directa o previa derivatización, se lleva a cabo por detección de fluorescencia, espectroscopía en el infrarrojo cercano, espectrometría de masas u otra, alcanzando un límite menor que 1 ng/g en algunos casos (Trombete y otros, 2013). Por otra parte, el uso de la columna de inmunoafinidad (figura 15) es un método selectivo y eficiente para la recuperación de un metabolito, el que puede ser cuantificado por espectrometría o fluorimetría, considerando la variación de la concentración del mismo durante el proceso.

El término “método rápido” se refiere a un método más simple, desde el punto de vista operativo, que las respectivas técnicas de referencia. Algunos pueden desarrollarse en menos de 30 minutos con la muestra pre-molida, y por lo tanto son útiles en el campo.

El inmunoensayo de flujo lateral o ‘método de las tiras’ está basado en la técnica de la inmunocromatografía. La tira de una membrana transportadora contiene los reactivos secos que son activados al aplicar la solución de la muestra. Cada

tira está compuesta por varias almohadillas como se observa en la figura 16 (ver al final del artículo). Cuando se deposita el extracto, la zona destinada a la muestra se satura y llega por capilaridad a la almohadilla del conjugado que contiene el reactivo específico para la detección (anticuerpo anti-metabolito conjugado con un marcador) y luego migra a lo largo de la membrana hacia la zona de prueba y control (Zeng y otros, 2006). Hay dos tipos de formato, en el sandwich el color indica la presencia del metabolito.

En cambio, en el formato competitivo el color es inversamente proporcional a la concentración del metabolito y la zona de prueba será invisible con una muestra de concentración mayor o igual al nivel de corte previsto, mientras que la zona de control siempre estará invisible indicando la validez del ensayo (Yu y otros, 2015). Sin embargo, es más bien una técnica de presencia/ausencia antes que una cuantitativa rigurosa.

El método ELISA está basado en la capacidad de un anticuerpo específico para distinguir la estructura tridimensional de un metabolito específico. La técnica ELISA clásica usa una placa de microtitulación y requiere 1-2 horas para el equilibrio de la reacción antígeno-anticuerpo, pero los equipos comerciales corrientes trabajan con la fase cinética de dicha reacción reduciendo el tiempo de incubación a minutos, y aunque hay alguna pérdida de sensibilidad el resultado es exacto y reproducible (Zeng y otros, 2006). Hay dos formas de ELISA, competitivo y no competitivo, y en cada caso puede ser directo o indirecto. Con el ensayo competitivo se obtiene la máxima sensibilidad con una mínima cantidad de anticuerpo (Niapau, 2008).

mezclada con el conjugado; (b) mezcla agregada al pocillo revestido con el anticuerpo; (c) unión del metabolito (libre o conjugado) al anticuerpo; (d) lavado para eliminar material sobrante; (e) se añade sustrato para desarrollar color; (f) se detiene la reacción y se hace la lectura (Zeng y otros, 2006).

En el método de ELISA competitivo, directo y cuantitativo (figura 17), el pocillo de la placa está recubierto con un anticuerpo que reconoce al metabolito. Se agrega una mezcla del extracto de la muestra y una enzima conjugada con el metabolito. Este conjugado compite con el metabolito libre presente en la muestra, por la unión con el anticuerpo. El exceso de reactantes se lava y se añade el sustrato de la enzima, entonces se desarrolla un color azul. La reacción se detiene por agregado de una solución ácida y la lectura se hace bajo luz de 450 nm con un límite de detección de 2,5 µg/kg. La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración del metabolito en la muestra.

Una vez conocida la concentración del metabolito en la muestra, el valor es comparado con el límite aceptación/rechazo predefinido por las normas legales en el caso de sustancias tóxicas para humanos, ganado y animales de granja (Whitaker, 2008).

Determinación de la exposición

La OMS define la exposición dietaria como una valoración cuali y/o cuantitativa de la ingesta probable de agentes físicos, químicos o biológicos a través de los alimentos. Otra definición establece que corresponde al proceso dirigido a estimar o medir la extensión, frecuencia, y tiempo de exposición a un agente según las características de la población expuesta, y describe las fuentes, rutas e incertidumbres en la determinación. Es importante obtener información segura de la concentración de los metabolitos en los alimentos y del consumo de los mismos.

$$\text{Exposición (ng/kg) /día} = [\text{concentración} \times \text{consumo}] / \text{peso corporal}$$

Los datos de toxicidad y estimación de la exposición a un biomarcador particular ayudan a interpretar e interrelacionar los efectos adversos para la salud. Los biomarcadores o sus metabolitos se pueden medir en los tejidos o fluidos corporales (ver tabla 11 al final del artículo. Para ser funcional deben estar correlacionados con la ingesta, tener

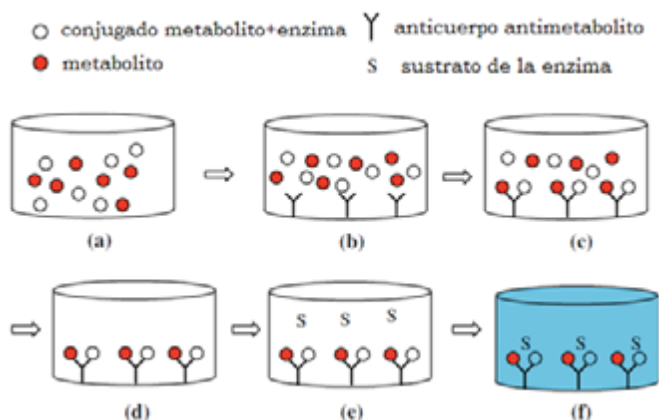


Figura 17. Principio de ELISA competitivo: (a) muestra

una vida media de días y poder ser medido con la precisión y especificidad necesarias.

La exposición a metabolitos tóxicos de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (ver tabla 12 al final del artículo) representa un peligro para la salud y una preocupación sanitaria pues inevitablemente se encuentran en cereales y oleaginosas (Brera y otros, 2016).

La concentración sin efecto adverso observable (NOAEL) y el nivel menor al cual se observan (LOEL) pueden ser determinados experimentalmente bajo condiciones controladas y sirven para determinar la exposición diaria tolerable (TDA). Para agentes sin nivel de umbral (genotóxicos) se calculan unos parámetros que permiten predecir el nivel de riesgo asociado a la exposición.

En la determinación de riesgos se consideran los grupos vulnerables: niños, ancianos, con deficiencias metabólicas u otros. Para poder extrapolar los resultados obtenidos en animales al hombre, se consideran las diferencias cuali- y cuantitativas en la respuesta a la sustancia tóxica, y además las que surgen de resultados obtenidos en períodos cortos cuando se aplican a situaciones de exposición crónica (Ruiz y Font, 2007).

Las aflatoxinas están entre las más importantes sustancias genotóxicas pero aún no se ha fijado el valor de la ingesta diaria tolerable. Se hallan en granos y productos alimenticios en concentraciones que van desde 1 µg/kg a 1 mg/kg (Brera y otros, 2016).

Tabla 13. Ingesta diaria tolerable en la Unión Europea (Vettorazzi y López, 2016)

Metabolitos	Ingesta tolerable /kg peso corporal	Año
Ocratoxina A	120 ng semanal	2006
Patulina	0,4 µg máx diario	2000
Desoxinivalenol	1 µg diario	1999
Fumonisinias	2 µg diario	2003
Zearalenona	0,25 µg diario	2011
T-2 y HT-2	0,1 µg diario	2011
Nivalenol	1,2 µg diario	2013
Alcal. ergot	0,6 µg diario	2012

Tabla 14. Niveles máximos permitidos en alimentos en la Unión Europea (Vettorazzi y López, 2016)

Aflatoxinas	Nivel máximo (µg/kg)		
	total	B1	M1
Productos			
Maníes, nueces y otros	4-15	2-12	-
Frutas desecadas	4-10	2-5	-
Leche	-	-	0,050
Maíz y arroz	10	5	-
Cereales y derivados	4	2	-
Alimentos para niños	-	0,1	-
Lácteos para bebés	-	-	0,025
Alimentos dietéticos	-	0,1	0,025
Espicias	10	5	-
Licores de raíces	20-80	-	-

Toxinas	Productos	Nivel máximo µg/kg
Ocratoxinas	Cereales y derivados	3
	Alimentos para niños	0,50
	Vino y jugo de uva	2
	Frutas desecadas	10
	Café	5
	Café soluble	10
Desoxinivalenol	Cereales	750-1750
	Alimento para niños	200
	Pastas secas	750
	Pan y bizcochos	500
Patulina	Jugo frutas concentrado	50
	Puré manzanas	25
	Jugos para niños	10
Zearalenona	Cereales	75-350
	Aceite maíz	400
	Alimento niños	20
Fumonisinias	Maíz	1000-4000
	Cereales para desayuno	800
	Alimento niños	200

CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

Bioaerosol es una colección de virus, bacterias, esporas fúngicas y otros microorganismos, viables o no, transportados por el aire cuyo tamaño varía de 0,02 a 100 µm, que pueden estar adheridos a las partículas de polvo y gotas. Las fuentes incluyen la actividad agrícola, el tratamiento de aguas cloacales y la deposición de residuos municipales, entre otras.

El transporte de bioaerosoles puede ser definido en términos de tiempo y distancia. La microescala implica corto tiempo (< 10 minutos) y corta distancia (< 100 m) y es común en los espacios cerrados. El transporte a mesoescala dura entre 10 minutos y 1 hora, alcanzando desde 100 m a 1 km. La macroescala se refiere a días y distancias de hasta 100 km. La difusión o disipación responde al gradiente de concentración y la gravedad, ayudada por el flujo de aire y la turbulencia atmosférica. Finalmente se depositan por gravedad, difusión descendente, impacto, lluvia o fuerzas electrostáticas. Los factores ambientales más importantes que influyen en la supervivencia son la humedad relativa, la temperatura y la radiación UV.

La atmósfera es un ambiente inadecuado para los microorganismos, sin embargo, las esporas fúngicas, cuyo tamaño varía entre 0,5 a 30 µm, resisten al estrés ambiental y están adaptados al transporte por el aire. La inhalación de las mismas puede causar enfermedades alérgicas o infecciosas, así como intoxicación. Numerosos patógenos vegetales, así como patógenos animales, son diseminados por aerosoles (Pepper y Gerba, 2015).

Exposición ocupacional

Las rutas típicas de exposición ocupacional a los metabolitos fúngicos son la inhalación y el contacto dérmico (Mayer y otros, 2008). Una característica de esta exposición es la manipulación de productos y materiales a escala industrial generando grandes cantidades de polvo. Así la concentración de toxinas fúngicas en el aire de un granero suele llegar a ser 15 veces mayor que la presente en el material embolsado (Straumfors y otros, 2008).

Para que haya exposición a los metabolitos debe haber condiciones favorables para el desarrollo fúngico: nutrientes, humedad, temperatura, pH y a veces luz (Magan y Aldred, 2007). Si se conocen las especies fúngicas que predominan en una zona se pueden predecir los problemas, sin embargo, no es necesario que haya mohos visibles pues un grano limpio puede transportar 103-104 esporas y la fricción con otros granos los libera al aire (Halstensen y otros, 2013).

Más obvia es la presencia de mohos sobre residuos y materiales orgánicos húmedos, tal como macetas de cartón reciclado donde crece fácilmente

Stachybotrys chartarum (Dill y otros, 1997).

Tabla 15. Metabolitos en diferentes ambientes (WHO, 2009; Mayer, 2016)

Lugar	Concentración del metabolito
Molino de manies	250-410 ng AfB1 /g polvo
	0,9-72 ng AfB1/m ³ aire
Zona de descarado de manies	0,4-7,6 ng AfB1/m ³ aire
Elevador de granos	2-128 ng OTA/g polvo
	2-600 pg OTA/m ³ aire
	0,07-690 pg OTA/m ³ aire
	0,2-720 ng DON/m ³ aire
Cosecha de granos	0,1-501 ng ZEA/m ³ aire
	0,4-2,8 ng OTA/g polvo
	0,1-239 ng DON/g polvo
Manipulación de trigo a granel	4-339 ng NIV/ g polvo
Manipulación de maíz a granel	36 ng OTA/m ³ aire
Porqueriza	127 pg fumonisinas/m ³ aire
Establo	5-421 ng AfB1/m ³ aire
Gallinero	0,2-70ng OTA/g polvo
Interior (alfombra)	0,08 ng AfB1/m ³ aire
Interior	2-4 ng esterigmatocistina/g polvo
	<10- >1300 pg tricotecenos/m ³ aire
	0,25 ng satratoxina G/m ³ aire
	0,43 ng satratoxina H/m ³ aire
Tratamiento de residuos	0,009-4 ng roquefortina C/m ³ aire
	1,1-6,1 pg AfB1/m ³ aire
	3,3-31 pg OTA/ m ³ aire

AfB1: aflatoxina B1; OTA: ocratoxina A; DON: desoxinivalenol; NIV: nivalenol; ZEA: zearalenona

Para determinar el riesgo potencial en la exposición ocupacional a metabolitos fúngicos hay que considerar no solo la concentración de los mismos sino también la duración y frecuencia de la exposición, así como el volumen de aire respirado por hora en las condiciones del trabajo, y que no todo el metabolito inhalado es absorbido (Bünger y otros, 2004). Además, algunos metabolitos lipofílicos de bajo peso molecular pueden penetrar la piel humana (Boonen y otros, 2012).

La humedad es el principal factor el desarrollo fúngico en los interiores y éstos pueden producir compuestos orgánicos volátiles (ácidos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, fenoles, hidrocarburos, lactonas, terpenoides) durante su metabolismo primario y secundario. El patrón de emisión de las especies de *Aspergillus* incluye 2-heptanona, 2-hexanona, 3-octanol y α-terpineol. Entre los mohos que requieren una humedad

relativa en equilibrio superior a 80% se encuentran especies de: *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Sporobolomyces*, *Alternaria*, *Exophiala*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Ulocladium*, *Rhodotorula* y *Stachybotrys*. Sin embargo, otros se desarrollan a valores menores, tal como especies de *Aspergillus* y *Penicillium* (Mayer, 2016).

BIBLIOGRAFÍA

- Arnold AE. 2007. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi. *Fungal Biology Reviews* 21: 51-66.
- Azevedo JL, W Maccheroni, JO Pereira, WL de Araujo. 2000. Endophytic microorganisms. *Electron. J. Biotechnol.* 3 (1): 15-16.
- Bejarano NV, L Carrillo. 2016. Fungal endophytes in sweet orange *Citrus sinensis* in Jujuy-Argentina. *Asian J. of Agriculture and Food Science* 4 (1): 54-59.
- Bing LA, LC Lewis. 1993. Occurrence of the entomopathogenic *Beauveria bassiana* in different tillage regimes in *Zea mays* and virulence towards *Ostrinia nubilalis*. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 45: 147-156.
- Boonen J, SV Malysheva, L Taevernier, JD Di Mavungu, S De Sager, Bart De Spiegeleer. 2012. Human skin penetration of selected model mycotoxins. *Toxicology* 301: 21-32.
- Borges D, AO Díaz, AN San-Juan, E Gómez. 2010. Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógenos. *ICIDCA* 44 (3): 49-55.
- Braga RM, MN Dourado, WL Araújo. 2016. Microbial interactions: ecology in a molecular perspective. *Brazilian Journal of Microbiology* 47: 86-98.
- Brera C, F Debegnach, E Gregori, S Colicchia, S Soricelli, B Miano, B De Santis, 2016. Dietary exposure assessment of European population to mycotoxins. Pp. 223-260 en: *Environmental Mycology in Public Health*. C Viegas, AC Pinheiro, R Sabino, S Viegas, J Brandao, C Verissimo, eds. Academic Press-Elsevier, Amsterdam.
- Büniger J, G Westphal, A Mönnich, B Hinnendahl, E Hallier, M Müller. 2004. Citotoxicity of occupationally and environmentally relevant mycotoxins. *Toxicology* 202 (3): 199-211.
- Carlile MJ, SC Watkinson, GW Gooday. 2001. Fungal cells and vegetative growth. Pp. 85-184 en: *The Fungi*, Academic Press, San Diego.
- Currie AF, J Wearn, S Hogson, H Wendt, S Broughton, L Jin. 2014. Foliar fungal endophytes in herbaceous plants. Pp. 61-84 en: *Advances in Endophytic Research*. VC Verma, AC Gange, eds. Springer, India.
- Dill I, C Trautmann, R Szewzyk. 1997. Mass development of *Stachybotrys chartarum* on compostable plants pots made from recycled paper. *Mycoses* 40 Suppl 1: 110-114.
- Doko B, Park DL. 2008. Mycotoxin reduction and decontamination. Pp. 231-243 en: *Mycotoxin contamination and control*. H Njapau, S Trujillo, AE Pohland, DL Park, eds. Author House, Bloomington.
- Estrada C, WT Wcislo, SA Van Bael. 2013. Symbiotic fungi alter plant chemistry that discourages leaf-cutting ants. *New Phytologist* 198 (1): 241-251.
- Frisvad JC. 2015. Taxonomy, chemodiversity, and chemoconsistency of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces*. *Frontiers in Microbiology* 5: artículo 773.
- Gouda S, G Das, SK Sen, HS Shin, JK Patra. 2016. Endophytes: a treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. *Frontiers in Microbiology* 7: artículo 1538.
- Gundel PE, MA Martínez-Ghersa, M Omacini, R Cuyeu, E Pagano, R Ríos, CM Ghersa. 2012. Mutualism effectiveness and vertical transmission of symbiotic fungal endophytes in response to host genetic background. *Evolutionary Applications* 5 (8): 838-849.
- Halstensen AS, KK Heldal, IM Wouters, M Skogstad, DG Ellingsen, W Eduard. 2013. Exposure to grain dust and microbial components in the Norwegian grain and compound feed industry. *Ann. Occup. Hyg.* 57 (9): 1105-1114.
- Harris CM, BC Campbell, RJ Molyneux, TH

- Harris. 1988. Biosynthesis of swainsonine in the diablo locoweed (*Astragalus oxyphyrus*) *Tetrahedron Letters* 29(38): 4815-4818.
- Hocking AD. 2003. Microbial facts and fictions in grain storage. Pp. 55-58 en: *Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference*, Canberra.
 - Kale S, JW Bennett. 1992. Strain instability in filamentous fungi. Pp. 311-331 en: *Handbook of Applied Mycology*, vol. 5. D Bhatnagar, EB Lillehoj, DK Arora, eds. M. Dekker, New York.
 - Lacey J. 1989. Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *J. Appl. Bact. Symp. Suppl.* 11S-25S, 1989
 - Magan N, Aldred D. 2007. Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain. *Int J Food Microbiol* 119(1-2): 131-139.
 - Mansfield MA, DD Archibald, AD Jones, GA Kuldau. 2007. Relationship of sphinganine analog mycotoxin contamination in maize silage to seasonal weather conditions and to agronomic and ensiling practices. *Phytopathology* 97: 504-511.
 - Mayer S. 2016. Occupational exposure to mycotoxins and preventive measures. Pp. 325-342 en: *Environmental Mycology in Public Health*. C Viegas, AC Pinheiro, R Sabino, S Viegas, J Brandao, C Verissimo, eds. Academic Press-Elsevier, Amsterdam.
 - Mayer S, S Engelhart, A Kolk, H Blome. 2008. The significance of mycotoxins in the framework of assessing workplace related risks. *Mycotoxin Research* 24 (3): 151-164.
 - Moore D, GD Robson, APJ Trinci. 2011. Nature and origins of fungi, pp. 3-17; Fungi as saprotrophs, symbionts and pathogens pp. 325-366; Outline classification of fungi pp. 575-588. En: *21st Century Guidebook to Fungi*. Cambridge University Press, New York.
 - Moss MO. 1987. Food mycology. Pp. 3-30 en: *Mycotoxins in Foods*. P. Krogh, ed. Academic Press, San Diego.
 - Moss MO. 1991. Los factores ambientales que controlan la formación de micotoxinas. Pp. 37-56 en: *Mycotoxins and animal foods*. JE Smith, HS Henderson, eds. CRC Press, Boca Raton.
 - Mousa WK, MN Raizada. 2013. The diversity of anti-microbial secondary metabolites produced by fungal endophytes. *Frontiers in Microbiology* 4: artículo 65.
 - Njapau H. 2008. Sampling village corn for aflatoxin analysis, pp. 113-132; Immunoassay procedures for screening food commodities for mycotoxins, pp. 181-191. En: *Mycotoxin Contamination and Control*. H Njapau, S Trujillo, AE Pohland, DL Park, eds. Author House, Bloomington.
 - Osono T. 2014. Diversity and ecology of endophytic and epiphytic fungi of tree leaves. Pp. 3-26 en: *Advances in Endophytic Research*. VC Verma, AC Gange, eds. Springer, India.
 - Park DL, H Njapau, E Boutrif. 2008. The HACCP concept and mycotoxins. Pp. 275-289 en: *Mycotoxin Contamination and Control*. H Njapau, S Trujillo, AE Pohland, DL Park, eds. Author House, Bloomington.
 - Peraica M. 2016. Mycotoxicoses. Pp. 45-52 en: *Environmental Mycology in Public Health*. C Viegas, AC Pinheiro, R Sabino, S Viegas, J Brandao, C Verissimo, eds. Elsevier, Amsterdam.
 - Pepper IL, CP Gerba. 2015. Aeromicrobiology. Pp. 89-110 en: *Environmental Microbiology*. 3ª ed. IL Pepper IL, CP Gerba, TJ Gentry, eds. Academic Press-Elsevier, Amsterdam.
 - Popovski S, FA Celar. 2013. The impact of environmental factors on the infection of cereals with *Fusarium* species and mycotoxin production. *Acta agriculturae Slovenica* 101 (1) 105-116.
 - Pucheta Diaz MP, AF Macías, SR Navarro, M de la Torre. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia* 31 (12): 856-860.
 - Pusztahelyi T, IJ Holb, I Pócsi. 2015. Secondary metabolites in fungus-plant interactions. *Frontiers in Plant Science* 6: artículo 573.
 - Rodriguez RJ, JE White, AE Arnold, RS Redman. 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist* 182 (2): 314-330.

- Ruiz MJ, G Font. 2007. Toxicidad y evaluación de riesgos. Pp.15-27 en: Soriano del Castillo JM, ed. *Micotoxinas en Alimentos*. Diaz de Santos, España, 2007.
- Samson RA. 2016. Cellular constitution, water and nutritional needs, and secondary metabolites. Pp. 5-16 en: *Environmental Mycology in Public Health*. C Viegas, AC Pinheiro, R Sabino, S Viegas, J Brandao, C Verissimo, eds. Elsevier, Amsterdam.
- Sánchez-Pérez LC, JE Barranco, S Rodríguez, y otros. 2014. Enzymes of entomopathogenic fungi. *Adv. Enzyme Res.* 2: 65-76.
- Sanchis V, S Marin, AJ Ramos. 2007. Factores determinantes en la producción de micotoxinas. Pp.63-89 en: *Micotoxinas en Alimentos*. Soriano del Castillo JM, ed. Diaz de Santos, España.
- Schmidt-Heydt M, B Cramer, I Graf, S Lerch, HU Humpt, R Geisen. 2012. Wavelength-dependent degradation of ochratoxin and citrinin by light in vitro and in vivo and its implications on *Penicillium*. *Toxins* 4: 1535-1551, 2012.
- Singh D, SY Soon, CH Lee. 2016. Perplexing metabolomes in fungal-insect trophic interactions. *Frontiers in Microbiology* 7: artículo 1678.
- Spatafora JW, Y Chang, GL Benny, K Lazarus, ME Smith, ML Berbee, G Bonito, N Corradi, I Grigoriev, A Gryganskyi, TY James, K O'Donnell, RW Roberson, TN Taylor, J Uehling, R Vilgalys, MM White. 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108 (5): 1028-1046.
- Straumfors A, KC Nordby, P Kristensen, W Eduard. 2008. Mycotoxins in grain dust. *Stewart Postharvest Review* 4 (6): 1-9.
- Strobel G, Daisy B. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67(4): 491-502, 2003.
- Sung GH, NL Hywel-Jones, JM Sung, J Luangsaard, B Shrestha, JW Spatafora. 2007. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Studies in Mycology* 57: 5-59.
- Swanson BG. 1987. Mycotoxins on fruits and vegetables. *Acta Horticulturae* 207: 49-61.
- Tesson SVM, CA Skjoth, T Santi-Temkiv, J Londahi. 2016. Airborne microalgae: insights, opportunities and challenges. *Appl. Environ. Microbiol.* 82: 1978-1991.
- Trombete FM, T Saldanha, GM Direito, ME Fraga. 2013. Aflatoxinas y tricotecenos en trigo y derivados. *Revista Chilena de Nutrición* 40 (2): 181-188.
- Varga J, JC Frisvad, RA Samson. 2011. Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Studies in Mycology* 69: 57-80.
- Vega FE, F Posada, MC Aime, M Pava-Ripoll, F Infante. 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control* 46: 72-82.
- Vettorazzi A, Lopez de Cerain A. 2016. Mycotoxins as food carcinogens. Pp. 261-290 en: *Environmental Mycology in Public Health*. C Viegas, AC Pinheiro, R Sabino, S Viegas, J Brandao, C Verissimo, eds. Elsevier, Amsterdam.
- Webster J, RWS Weber. 2007. Introduction. Pp. 1-40 en: *Introduction to fungi*. Cambridge University Press, New York.
- Whitaker TB. 2008. Mycotoxins sampling plans. Pp. 89-112 en: *Mycotoxin Contamination and Control*. H Njapau, S Trujillo, AE Pohland, DL Park, eds. Author House, Bloomington.
- WHO. Pp. 2 y 12 en: *Guidelines for indoor air quality: dampness and mould*. 2009.
- Yu HW, MJ Halonen, IL Pepper. 2015. Immunological methods. Pp. 245-270 en: *Environmental Microbiology*. 3ª ed. IL Pepper IL, CP Gerba, TJ Gentry, eds. Academic Press-Elsevier, Amsterdam.
- Zeng MZ, JL Richard, J Binder. 2006. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia* 161: 261-273, 2006

MIRMECOFAUNA DE SUELO CON ANTIGUA EXTRACCIÓN FORESTAL DE LA SELVA DE TRANCISIÓN DE LAS YUNGAS (JUJUY, ARGENTINA)

MYRMECOFAUNA OF SOIL WITH OLD FOREST EXTRACTION OF THE TRANSITION FOREST OF THE YUNGAS (JUJUY, ARGENTINA)

Baca V. A., Muruaga de L' Argentier L. S., Luján Rudek C. N. y Vilte H.

RESUMEN

Las hormigas son los insectos con mayor diversidad específica y ecológica, útiles como bioindicadores. El objetivo es caracterizar la comunidad de hormigas presentes en un área con previo aprovechamiento forestal de la selva de Transición de las Yungas. Se trazaron tres transectas, cada una con diez trampas de caída distribuidas cada 20 m, activas durante un mínimo de 48 hs en cada muestreo mensual. Se identificaron las especies de hormigas, se calculó la proporción de las subfamilias y se determinaron los grupos funcionales presentes. Se analizaron 260 registros de hormigas pertenecientes a 6 subfamilias, 14 géneros y 28 especies, donde Myrmicinae fue la subfamilia más abundante y diversa, seguida por la subfamilia Proceratiinae con un mayor número de registros y Formicinae con mayor número de especies. El resto de las subfamilias se registraron con menos del 2%. Se identificaron cinco grupos funcionales, donde las Generalistas Myrmicinae y Especialistas Predadoras presentaron el mayor número de registros, seguidos por las Subordinadas Camponitini y las Especialistas de Climas Tropicales, las Dominantes Dolichoderinae representaron sólo el 4% de registros. Esta caracterización a través de grupos funcionales permite comparar distintas zonas de la Selva de Transición, en plazos de tiempo más cortos.

Palabras claves: Formicidae. Grupos funcionales. Bioindicadores. Ecotono.

SUMMARY

Ants are insects with greater specific and ecological diversity, useful as bioindicators. The objective is to characterize the community of ants present in an area with previous forest use of the Transition forest of the Yungas. Three transects were drawn, each with ten drop traps distributed every 20 m, for a minimum of 48 hours in each monthly sampling. Ant species were identified, the proportion of the subfamilies was calculated and the functional groups present were determined. We analyzed 260 records of ants belonging to 6 subfamilies, 14 genera and 28 species, where Myrmicinae was the most abundant and diverse subfamily, followed by the subfamily Proceratiinae with a larger number of records and Formicinae with more species. The remaining subfamilies were recorded with less than 2%. Five functional groups were identified, where the Generalized Myrmicinae and Specialists Predator presented the highest number of records, followed by the Subordinate Camponitini and the Tropical Climates Specialists, Dominant Dolichoderinae accounted for only 4% of records. This characterization through functional groups allows to compare different zones of the Transition Forest, in shorter time periods.

Key words: Formicidae. Functional groups. Bioindicators. Ecotone.

INTRODUCCIÓN

Las hormigas (Hymenoptera, Formicidae) son insectos eusociales que forman colonias perennes con diferentes castas de hembras ápteras (obreras), hembras (reinas) con alas deciduas que se pierden después del apareamiento, y machos siempre alados (Bolton y otros, 2003). Este elevado grado de organización social y el desarrollo de una glándula fungicida y bactericida, ha contribuido a su éxito ecológico. Constituyen uno de los grupos de insectos con mayor diversidad específica y ecológica en las latitudes tropicales, y representan alrededor del 15% de la biomasa animal total. Utilizan distintos estratos para nidificar y se asocian con numerosas especies de plantas y animales (Della Lucia, 2003; Villareal y otros, 2004).

Muchos autores han propuesto a este grupo como herramienta para la toma de decisiones en programas de manejo y monitoreo ambiental debido a su gran abundancia en distintos ambientes, facilidad de muestreo, resolución taxonómica relativamente buena, poca estacionalidad, sensibilidad a los cambios ambientales, y a las interacciones que establecen con otros organismos en todos los niveles tróficos (Andersen, 1997; Alonso y Agosti, 2000; Wilson, 2003).

Los resultados de diversos estudios para la identificación de especies indicadoras de insectos son controvertidos, debido a que cada una se establece como específica para las condiciones de cada estudio, lo que desvirtúa el propósito inicial del uso de indicadores (Arcila y Lozano-Zambrano, 2003). Por ello, en el caso de las hormigas, se propone el empleo de grupos funcionales, definidos por los comportamientos ecológicos similares que poseen. Andersen (2000) agrupa a las hormigas que responden al estrés y disturbios en distintos ambientes de Australia y el Nuevo Mundo, en siete grupos representativos que se clasifican de acuerdo con la forma de vida, morfología, conducta reproductiva y capacidad de colonización.

Argentina posee el 24% de las hormigas del mundo y el 60% de las neotropicales, debido a la gran variedad de nichos presentes como consecuencia de su posición geográfica. Predominan los géneros de Myrmicinae, Dolichoderinae y Ponerinae. La diversidad de hormigas de muchas regiones de la Argentina ha sido de interés en los últimos años

porque era prácticamente desconocida, como sucede en la región del Chaco y Mesopotamia (Cuezzo, 1998; Fuster, 2008; Vittar, 2008).

La selva pedemontana de las Yungas (400 - 700 m s.n.m.), es uno de los sectores más empobrecidos y fragmentados, pero ofrece un ecosistema altamente estratificado, rico en endemismos y con una gran cantidad de nichos y recursos alimenticios para las hormigas (Cuezzo y otros, 2007). En esta área, Cuezzo y González Campero (2009), caracterizaron la comunidad de hormigas a través de 10 gremios, cada uno compuesto por un conjunto de especies que utilizan una porción de los recursos alimenticios, espaciales y temporales de manera diferencial. Asimismo, Cuezzo y otros (2007) y Navarro y otros (2009), establecieron que los formícidos, junto con familias de Diptera y Lepidoptera, presentan 23 especies que son útiles como herramientas para detectar áreas de endemismos en las Yungas.

En la provincia de Jujuy, los únicos antecedentes sobre la diversidad de formícidos se deben a Cuezzo (1998) quien informa la presencia de 63 especies, diez de ellas se encuentran registradas solo en Jujuy, distribuidas en las subfamilias Cerapachyinae, Ecitoninae, Formicinae, Myrmicinae y Pseudomyrmecinae. También se destacan las contribuciones de Agostini y Muruaga (1987) sobre la presencia de *Atta saltensis* Forel, *Linepithema humile* (Mayr) y *Acromirmex lundii* (Guérin), asociadas a citrus y otros cultivos de la provincia; y Neder y otros (2004) sobre formícidos de la Quebrada de Humahuaca.

Hacia el este de la provincia de Jujuy, la selva pedemontana se denomina selva de Transición, por presentar un ecotono de vegetación chaqueña con elementos de las Yungas, a causa del incremento regional de precipitaciones (Cabrera, 1976; Brown y otros, 2002). Como resultado de muestreos realizados con el fin de caracterizar las comunidades de insectos de sectores definidos de la selva de Transición (Baca y otros, 2017), se recolectaron numerosos especímenes de Formicidae representando una de las familias más abundantes y diversas.

Debido a la gran diversidad específica, facilidad de muestreo y a la utilidad de esta familia como grupo bioindicador, el objetivo de este trabajo es caracterizar la comunidad de hormigas presentes en un área con previo aprovechamiento forestal de la selva de Transición de las Yungas de Jujuy, a través de

su riqueza, composición y grupos funcionales que abarcan.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se ubicó en la Reserva Provincial Las Lancitas (RPLL) (24° 7' 17" S; 64° 22' 18,13" W), distrito El Fuerte, departamento Santa Bárbara. Presenta una superficie de 9.536 hectáreas, entre las Sierras de Santa Bárbara y las del Centinela. Esta reserva se creó en el año 2002 con el fin de conservar un sector de ecosistema transicional entre las Yungas y los Bosques Chaqueños. La vegetación está dominada por especies típicas de los bosques xerófilos, caducifolios, algunas de ellas de interés forestal como *Anadenanthera colubrina* Brenan "cebil colorado", *Calycophyllum multiflorum* Grisebach "palo blanco", *Phyllostylon rhamnoides* Poisson "palo amarillo", *Astronium urundeuva* Allemano "urundel", *Cordia trichotoma* Vellozo "afata", *Pterogyne nitens* Tulasne "tipa colorada" y *Acacia visco* Grisebach "arca" (Saravia y Lizárraga, 2013).

Los muestreos se realizaron mensualmente durante el periodo septiembre 2014- mayo 2015, en una zona anexa a la casa del guardaparque, caracterizada por signos de antigua extracción forestal. En cada fecha de muestreo se trazaron tres transectas separadas 300 m entre sí, cada una con diez trampas de caída distribuidas cada 20 m. Estas consistían en vasos plásticos de un litro perforados a la mitad, conteniendo una mezcla de agua, alcohol y unas gotas de detergente hasta las 1/3 partes. Las trampas permanecieron activas durante 48 hs a 72 hs en cada muestreo.

Los insectos recolectados se trasladaron en bolsas de polietileno herméticas etiquetadas, con alcohol 70%, para su análisis en el laboratorio de la Cátedra de Biología Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy (FCA-UNJu).

Las muestras se procesaron bajo lupa binocular (Arcano 10X). Las hormigas fueron extraídas del resto de los insectos capturados y conservadas en frascos con alcohol 70%, etiquetados. La identificación a nivel de género se logró mediante las claves de Palacio y Fernández (2003), las especies se identificaron con la colaboración de la Dra. Fabiana Cuezco (Inst. Miguel Lillo, UNT) y el resto se le asignó la categoría

de morfoespecies.

Debido al carácter social de las hormigas se registró la presencia (1) o ausencia (0) de la especie/morfoespecie en la trampa de caída, y se calculó la abundancia como la suma de la frecuencias de captura de cada especie, dentro de la unidad muestral (transecta) (Sarmiento, 2003). Se calculó la proporción de las subfamilias en relación al número de registros y al número de especies identificadas.

Para la determinación de los grupos funcionales, se utilizó la clasificación propuesta por Andersen (2000), referencias bibliográficas y observaciones *in situ* (Brown, 2000; Cuezco y González Campero, 2009).

El material identificado se encuentra depositado en la colección entomológica de la cátedra de Biología Animal (FCA-UNJu).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo de muestreo se identificaron 260 registros de hormigas pertenecientes a seis subfamilias, 14 géneros, con una riqueza total de 28 especies (Tabla N°1). Esta riqueza representa una cifra elevada para un área previamente inexplorada en estudios mirmecológicos con una misma formación vegetal, ya que en estudios realizados en otras zonas forestales, como el Chaco Semiárido, se registró un total de 33 especies en diferentes ambientes dentro del área de estudio (Fuster, 2008).

Subfamilias	Tribus	Especies/morfoespecies	Registros	Grupo Funcional
Dolichoderinae	Dolichoderini	<i>Linopithema</i> sp	1	DD
Ecitoninae	Ecitonini	<i>Labidus</i> sp.	1	TCS
		<i>Neivamyrmex pseudops</i>	3	TCS
Ectatomminae	Ectatommini	<i>Gnamptogenys</i> sp	4	TCS
Formicinae	Camponotini	<i>Camponotus mus</i>	21	SC
		<i>Camponotus substitutus</i>	21	SC
		<i>Camponotus</i> sp	3	SC
		<i>Camponotus</i> sp2	1	SC
Myrmicinae	Melophorini	<i>Lasiophanes</i> sp	2	TCS
		Attini	<i>Acromyrmex heyeri</i>	6
Myrmicinae	Attini	<i>Apterostigma</i> sp	1	DD
		Pheidolini	<i>Pheidole cf. obscurithorax</i>	17
	Pheidolini	<i>Pheidole radoszkowskii</i>	9	GM
		<i>Pheidole</i> sp	39	GM
		<i>Pheidole</i> sp4	6	GM
		<i>Pheidole</i> sp2	7	GM
		<i>Pheidole</i> sp3	1	GM
	Solenopsidini	<i>Solenopsis</i> sp	20	TCS
		<i>Solenopsis</i> sp2	2	TCS
		<i>Solenopsis</i> sp3	1	TCS
		<i>Solenopsis</i> sp4	1	TCS
		<i>Oxyepocus</i> sp	2	DD
	Blepharidatini	<i>Wasmania</i> sp2	2	TCS
		<i>Wasmania</i> sp	1	TCS
	Crematogastrini	<i>Wasmania auropunctata</i>	11	TCS
<i>Crematogaster corticicola</i>		1	GM	
Crematogastrini	<i>Crematogaster crinosa</i>	1	GM	
	Proceratiinae	Proceratiini	<i>Pachycondyla striata</i>	75
TOTAL		28 especies	260	

Tabla 1. Lista sistemática y grupos funcionales de los formicidos capturados mediante trampas de caída en la Reserva Provincial Las Lancitas (Jujuy, Argentina) entre setiembre de 2014 y mayo de 2015. Referencias: (DD) Dominante Dolichoderinae, (TCS) Especialista de Climas Tropicales, (SC) Subordinadas Camponitini, (GM) Generalista Myrmicinae, (SP) Especialistas Predadoras (según Andersen, 2000).

Myrmicinae fue la subfamilia más abundante y diversa, seguida por Proceratiinae con un mayor número de registros pertenecientes solamente a *Pachycondyla striata* Smith, mientras que Formicinae fue la segunda subfamilia más diversa pero con menor número de registros. Ecitoninae, Ectatomminae y Dolichoderinae se presentaron con menos del 2% del total de registros con una o dos especies (Figura N° 1).

Estos resultados son esperables ya que Myrmicinae es una de las subfamilias más abundantes en bosques lluviosos tropicales de América del Sur, incluye al género *Pheidole* considerado como hiperdiverso y dominante en número de obreras,

colonias y biomasa (Wilson, 2003). Además se identificaron especies de importancia económica como, *Acromyrmex heyeri* Forel, hormiga cortadora que utiliza vegetales frescos para cultivar el hongo del que se alimenta; *Solenopsis* sp. "hormiga de fuego"; *Wasmania auropunctata* Roger, polífaga y oportunista considerada como plaga urbana, invasora de cultivos y competidora interespecífica de la fauna local, y *Crematogaster corticicola* Mayr y *C. crinosa* Mayr, forrajeras generalistas asociadas a la vegetación como (Della Lucia, 2003; Fernández, 2003a).

Formicinae es la que sigue en riqueza de especies por la presencia *Camponotus*, también considerado como un grupo hiperdiverso pero con obreras más pequeñas y con colonias más difíciles de encontrar (Wilson, 2003).

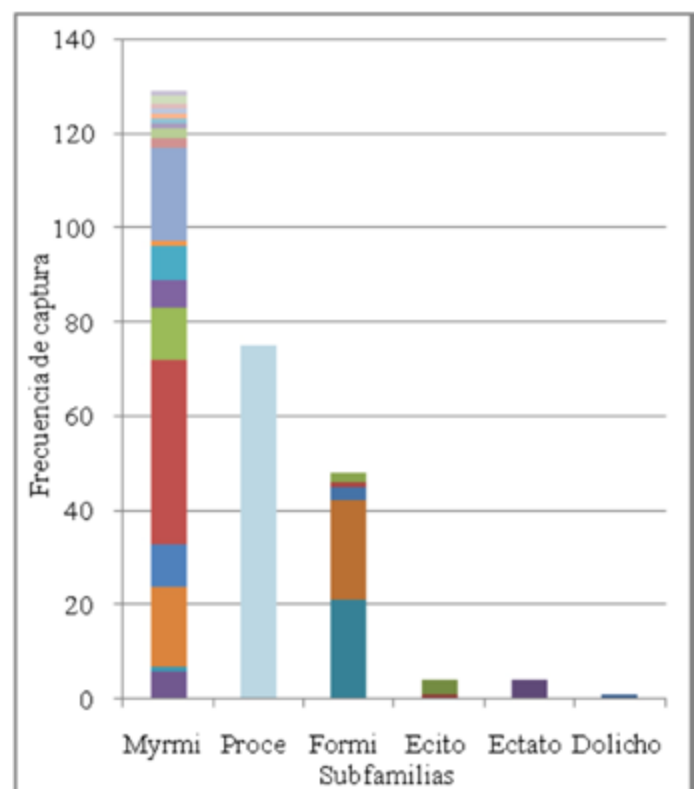


Figura 1. Proporción de las subfamilias de Formicidae capturadas mediante trampas de caída en la Reserva Provincial Las Lancitas (Jujuy, Argentina) entre setiembre de 2014 y mayo de 2015. Referencias: (Myrmi) Myrmicinae; (Proce) Proceratiinae; (Formi) Formicinae; (Ecito) Ecitoninae; (Ectato) Ectatomminae y (Dolicho) Dolichoderinae.

El resto de las subfamilias se representaron con pocas especies, como *Linepithema* sp. (Dolichoderinae) forrajera generalista que nidifica en el suelo bajo troncos caídos; *Labidus* sp. (Ecitoninae) de amplia distribución y gran número de obreras depredadoras; *Neivamyrmex pseudops* Forel (Ecitoninae) depredadora, también denominada hormiga legionaria, y *Gnamptogenys* sp. (Ectatomminae) depredadora de bosques húmedos, donde anidan en madera descompuesta, tierra o en raíces de epífitas (Cuezzo, 1998).

En la RPLL se identificaron cinco grupos funcionales, de acuerdo con la clasificación de Andersen (2000). Las Generalistas Myrmicinae (GM) y Especialistas Predadoras (SP) presentaron el mayor número de registros, las Subordinadas Camponitini (SC) y las Especialistas de Climas Tropicales (TCS), le siguieron con un 17-21% de registros, mientras que las Dominantes Dolichoderinae (DD), con menos del 2% de registros (Figura N° 2).

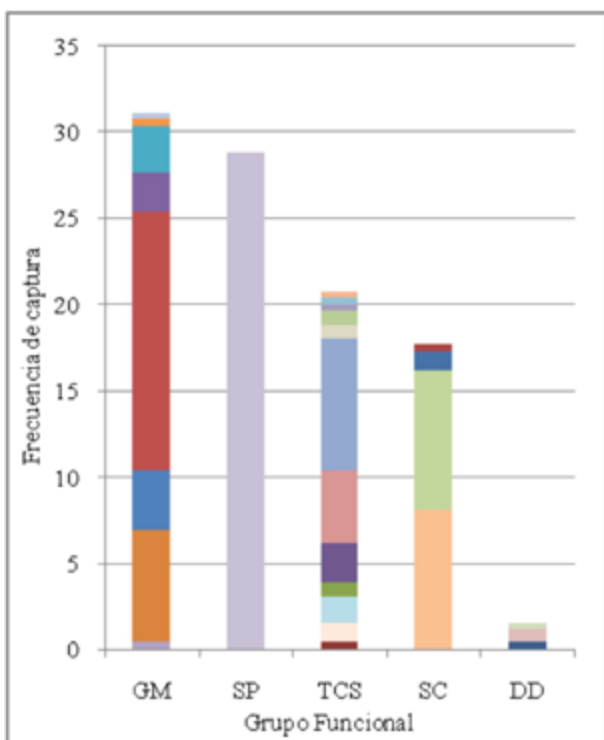


Figura 2. Proporción de grupos funcionales de Formicidae capturados mediante trampas de caída en la Reserva Provincial Las Lancitas (Jujuy, Argentina) entre septiembre de 2014 y mayo de 2015. Referencias: (GM) Generalista Myrmicinae; (SP) Especialista Predadoras; (TCS) Especialista de Climas Tropicales; (SC) Subordinadas Camponitini y (DD) Dominante Dolichoderinae, (según Andersen, 2000).

El grupo de las Generalistas Myrmicinae incluye especies cosmopolitas y abundantes, como *Pheidole*, resistentes al disturbio y estrés ambiental tendiendo a predominar moderadamente en estos ambientes (Andersen, 2000). Es considerado como indicador negativo, relacionado con la perturbación humana (Arcila y Lozano-Zambrano, 2003). Las Especialistas Predadoras, compuestas principalmente por *P. striata*, cazadora solitaria de otros artrópodos, se la puede encontrar en bosque húmedos y secos (Lattke, 2003). Construye sus nidos en el suelo, hojarasca o madera por lo que es muy sensible a los claros del bosque (Andersen, 2000). Predomina en zonas donde la vegetación tiene varios estratos, como en la zona de muestreo que evidencia la fisonomía de un bosque secundario con estratos herbáceos y arbustivos (Saravia y Lizárraga, 2013).

Las Subordinadas Camponitini (SC), incluye a *Camponotus*, género muy diverso y abundante, de hábitos omnívoros, que forma colonias en el suelo, bases o copas de los árboles (Fernández, 2003 b), al igual que las Especialistas de Climas Tropicales (TCS), que incluyeron a *Solenopsis*, *Neyvamyrmex*, *Acromyrmex* y *Wasmania*, suelen ser tolerantes al estrés. Ambos grupos se presentaron en proporciones similares y suelen estar presentes cuando las Dolichoderinae no son abundantes (Andersen, 2000).

Tener en cuenta los grupos funcionales permite obtener resultados ecológicos en plazos de tiempo más cortos ya que admite trabajar a nivel genérico. A su vez, esto influye en la toma de decisiones para la conservación, dado que las hormigas pueden ser utilizadas como bioindicadores de disturbio antrópico e indicadores de biodiversidad (Arcila y Lozano-Zambrano, 2003; Vittar, 2008).

CONCLUSIÓN

Los muestreos realizados permitieron caracterizar la comunidad de hormigas del suelo de un sector de antigua explotación forestal de la selva de Transición de las Yungas, donde la prevalencia de grupos funcionales resistentes al disturbio ambiental, permiten corroborar que son buen grupo bioindicador, útiles para comparar con otras zonas de la Selva de Transición.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Secretaria de Gestión Ambiental de la Provincia de Jujuy por permitir las tareas de recolección dentro de la Reserva Provincial Las Lancitas. A la Dra. Fabiana Cuezco por la colaboración en la identificación de los especímenes de Formicidae.

Este trabajo fue financiado por subsidios otorgados por la Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Jujuy SECTER con el proyecto (A/0159) "Diversidad de insectos asociados a plantaciones forestales nativas de la Selva Pedemontana de las Yungas y sus roles tróficos (Provincia de Jujuy, Argentina)", y enmarcado en el proyecto de Unidad Ejecutora INECO-CONICET "Análisis espacio-temporal de problemáticas socio-ambientales actuales y emergentes en las ecorregiones de Jujuy. Un enfoque multidisciplinario".

BIBLIOGRAFÍA

- Agostini de Manero, E. y S. Muruaga de L'Argentier. 1987. Catálogo de organismos animales perjudiciales en cultivos del noroeste argentino (I). Ciencias Agrarias, Serie Técnica N°5, 58 pp
- Alonso, L.E. y D. Agosti. 2000. Chapter 1. Biodiversity Studies, Monitoring, and Ants: An Overview. 1-8. In: Ants. Standard methods for measuring and monitoring biodiversity. Agosti, D., J. Majer, L. Alonso y T. Schultz (eds). Smithsonian Institution Press. Washington and London.
- Andersen, A. N. 1997. Using ants as bioindicators: Multiscale issues in Ant community ecology. In: Conservation Ecology. 1(1): 8. www.consecol.org/vol1/iss1/art8/. Fecha de consulta: junio 2017
- Andersen, A. N. 2000. Chapter 3. A global ecology of rainforest ants: Functional groups in relation to environmental stress and disturbance. 25-34. In: Ants. Standard methods for measuring and monitoring biodiversity. Agosti, D., J. Majer, L. Alonso y T. Schultz (eds). Smithsonian Institution Press, Washington and London.
- Arcila, A.M. y F.H. Lozano- Zambrano. 2003. Capítulo 9. Hormigas como herramientas para la bioindicación y el monitoreo. 159-166. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Baca V.A., L. S. Muruaga de L' Argentier, C.N. Luján Rudek, H.A. Vilte. 2017. Entomofauna epigea asociada a un área de la Selva de Transición de las Yungas (Jujuy, argentina). Acta zoológica lilloana 61 (1): 65-73.
- Bolton B., E. E. Palacio y F. Fernández. 2003. Capítulo 14. Morfología y glosario. 221-232. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Brown, Jr. W. L. 2000. Chapter 5. Diversity of Ants. 45-79. In: Ants. Standard methods for measuring and monitoring biodiversity. Agosti, D., J. Majer, L. Alonso y T. Schultz (eds). Smithsonian Institution Press. Washington and London.
- Brown A.D., A. Grau, T. Lomáscolo, N.I. Gasparri. 2002. Una estrategia de conservación para las selvas subtropicales de montaña (Yungas) de Argentina. Sociedad Venezolana de Ecología. Ecotrópicos 15(2):147-159
- Cabrera A. 1976. Regiones Fitogeográficas Argentinas. En: Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Editorial Acme S.A.C.I. Buenos Aires, Argentina:3-10.
- Cuezco, F. 1998. Capítulo 42. Formicidae. 452-462. En: Biodiversidad de artrópodos argentinos, una perspectiva biotaxonomía. Coscaron, S. y J.J. Morrone (eds). Ediciones Sur, La Plata, Argentina.
- Cuezco F., M. Lizarralde de Grosso, F. R. Navarro, C. Szumik. 2007. Endemic insects from the Yungas of Argentina. Zootaxa 1576: 63-67.
- Cuezco F. y C. González Campero. 2009. Invertebrados en la Selva Pedemontana austral. El caso de Formicidae como ejemplo de comunidades de insectos. 149-167. En: Selva Pedemontana de las Yungas. Historia natural, Ecología y manejo de un ecosistema en peligro. Brown, A., P.G. Blendinger, T. Lomáscolo y P. Garcia Bes (eds). Ediciones del Subtrópico.
- Della Lucia, T.M.C. 2003. Capítulo 24. Hormigas de importancia económica en la región Neotropical.

337-350. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.

- Fernández, F. 2003 a. Capítulo 22. Subfamilia Myrmicinae. 307-330. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.

- Fernández, F. 2003 b. Capítulo 21. Subfamilia Formicinae. 299-306. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.

- Fuster, A. 2008. Hormigas (Hymenoptera: Formicidae), indicadoras de perturbación en ecosistemas forestales, del Chaco Semiárido Argentino. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Santiago del Estero. En: <http://fcf.unse.edu.ar/archivos/biblioteca/Trabajo%20final%20-%20Andrea%20Fuster.pdf>. Fecha de consulta: junio 2017.

- Lattke, J.E. 2003. Capítulo 16. Subfamilia Ponerinae. 261-276. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.

- Navarro F. R., F. Cuezco, P.A. Goloboff, C. Szumik, M. Lizarralde de Grosso, M.G. Quintana. 2009. Can insect data be used to infer areas of endemism? An example from the Yungas of Argentina. *Revista chilena de historia natural*, 82 (4): 507-522.

- Neder de Román, L.E.; Arce de Hamity, M. G.; Cuezco, F. Zamar, M. I.; Montero, T.E; Ortíz, F. y Quispe, R. 2004. Diversidad y distribución de Formicidae (Insecta Hymenoptera) en la Quebrada de Humahuaca, Jujuy, Argentina. Congreso Nacional de Conservación de la Biodiversidad Temaiken, Escobar, Buenos Aires, 16 al 19 de noviembre de 2004.

- Palacio E.E. y F. Fernández. 2003. Capítulo 15. Clave para las subfamilias y géneros. Págs. 233-260. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von

Humboldt.

- Saravia M. y L. Lizárraga. 2013. Unidades de vegetación de la Reserva Provincial Las Lancitas. Informe Final. Dirección de Biodiversidad. Secretaria de Ambiente de la Nación. Jujuy, Argentina. 110 pp.

- Sarmiento, M.C.E. 2003. Capítulo 12. Metodología de capturas y estudio de las hormigas. 201-210. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.

- Villareal H., M. Álvarez, S. Córdoba, F. Escobar, G. Fagua, F. Gast, H. Mendoza, M. Ospina y A.M. Umaña. 2004. Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. Programa de Inventarios de Biodiversidad. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá. Colombia.

- Vittar, F. 2008. Hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de la Mesopotamia Argentina. *INSUGEO, Miscelánea*, 17(2): 447-466.

- Wilson, E.O. 2003. La hiperdiversidad como fenómeno real: el caso de Pheidole. 363-358. En: Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.

ÍNDICE

TRABAJOS

Páginas 4-20:

DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES HÍDRICAS PARA LAS PROVINCIAS DE JUJUY Y SALTA, A NIVEL DE ASOCIACIÓN DE SUELOS

Alabar F., Hurtado R., Arias P., Mayo H., Hormigo D., Moreno C., Portal M., Valdiviezo Corte M., Spescha L. y Riquelme A.

Páginas 21-28:

SELECCIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. TOLERANTES AL ARSÉNICO Y CON CAPACIDAD DE REMOCIÓN EN MEDIO LÍQUIDO

Yañez L. M., Alfaro J. A., Bovi Mitre G.

Páginas 29-33:

NEMATODOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE POROTO EN EL DEPARTAMENTO PALPALA (PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA)

Gallardo C., Quintana de Quinteros, S., Cap G. y Nico A.

Páginas 34-37

INHIBICIÓN DE *Bacillus circulans* POR UNA LEVADURA

Benítez-Ahrendts M.R., Carrillo L.

Páginas 38-42

ESTABLECIMIENTO DE UNA COLECCIÓN BASE DE *Fusarium* spp. DEL ÁREA TABACALERA DE LA PROVINCIA DE JUJUY

Sivila N., Jurado E., Bejarano N., Catacata J.

Páginas 43-48

PRODUCCIÓN ARTESANAL DE *Trichoderma* spp. UTILIZANDO DIFERENTES SUSTRATOS Y CONTENEDORES

Sivila N. F., Álvarez S. E., Catacata J. R. y Bonillo M. C.

Páginas 49-53

ANTAGONISMO DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. PROVENIENTES DE SUELOS DE JUJUY, SOBRE LOS FITOPATÓGENOS *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. Y *Rhizoctonia solani*

Sivila N. F., Álvarez S. E., Catacata J. R. y Bonillo M. C.

Páginas 54-63

CLAVE PARA LA DETERMINACIÓN DE 21 ESPECIES DE ÁRBOLES CARACTERÍSTICOS DE YUNGAS Y BOSQUE CHAQUEÑO, AL ESTADO DE PLÁNTULA

Humano C., Martín C., Huanuco A. y Durán A.

Páginas 64-71

TÓXICOS INORGÁNICOS Y CALCULOS DE INGESTASEN UNA POBLACIÓN PROXIMA AL PARQUE INDUSTRIAL DE PALPALA, JUJUY

Avila Carreras, N. , Bovi Mitre, M. G.

Páginas 72-93

TRABAJO DE REVISIÓN: METABOLITOS SECUNDARIOS DE HONGOS ENDÓFITOS Y FITOPATÓGENOS

Carrillo L.

Páginas 94-100

MIRMECOFAUNA DE SUELO CON ANTIGUA EXTRACCIÓN FORESTAL DE LA SELVA DE TRANCISIÓN DE LAS YUNGAS (JUJUY, ARGENTINA)

Baca, V.A., Muruaga de L' Argentier, L. S., Luján Rudek, C. N. y Vilte H.

INDEX

WOKS

Páginas 4-20:

WATER CONSTANTS DETERMINATION AT SOIL ASSOCIATION LEVEL IN JUJUY AND SALTA PROVINCES

Alabar F., Hurtado R., Arias P., Mayo H., Hormigo D., Moreno C., Portal M., Valdiviezo Corte M., Spescha L. y Riquelme, A

Páginas 21-28:

SELECTION OF STRAINS OF *Trichoderma* spp. TOLERANT TO ARSENIC AND CAPABLE OF REMOVAL IN LIQUID MEDIUM

Yañez L. M., Alfaro J. A., Bovi Mitre G.

Páginas 29-33:

NEMATODES ASSOCIATED WITH BEAN CROP IN PALPALA DEPARTMENT (JUJUY PROVINCE, ARGENTINA)

Gallardo C., Quintana de Quinteros S., Cap G. y Nico A.

Páginas 34-37

***Bacillus circulans* INHIBITED BY A YEAST**

Benítez-Ahrendts M.R., Carrillo L.

Páginas 38-42

ESTABLISHMENT OF A BASE COLLECTION OF *Fusarium* spp. OF THE TOBACCO AREA OF JUJUY PROVINCE

Sivila N., Jurado, E., N. Bejarano, Catacata J.

Páginas 43-48

TRADITIONAL PRODUCTION OF *Trichoderma* spp. USING DIFFERENT SUBSTRATES AND CONTAINERS

Sivila N. F., Álvarez S. E., Catacata J. R. y Bonillo M. C.

Páginas 49-53

ANTAGONISM OF *Trichoderma* spp. FROM SOILS OF JUJUY, ON PHYTOPATHOGENS *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. AND *Rhizoctonia solani*

Sivila N. F., Álvarez S. E., Catacata J. R. y Bonillo M. C.

Páginas 54-63

KEY FOR THE DETERMINATION OF 21 SPECIES OF TREES OF YUNGAS AND BOSQUE CHAQUEÑO, TO THE SEEDLING STAGE

Humano C., Martín C., Huanuco A. y Durán A.

Páginas 64-71

INORGÁNIC TOXICOS AND CALCULOS DE INGESTASEN A NEXT POPULATION TO THE INDUSTRIAL PARK OF PALPALA, JUJUY

Avila Carreras, N., Bovi Mitre, M. G.

Páginas 72-93

REVIEW WORK: SECONDARY METABOLITES OF PLANT PATHOGENS AND ENDOPHYTIC FUNGI

Carrillo L.

Páginas 94-100

MYRMECOFAUNA OF SOIL WITH OLD FOREST EXTRACTION OF THE TRANSITION FOREST OF THE YUNGAS (JUJUY, ARGENTINA)

Baca, V.A., Muruaga de L' Argentier, L. S., Luján Rudek, C. N. y Vilte H.