Ciencia en tu Escuela

CONICET NORDESTE

FOMENTANDO UNA AGRICULTURA SUSTENTABLE: MICROORGANISMOS BENEFICIOSOS VERSUS PLAGAS

Ciencia en tu Escuela

FOMENTANDO UNA AGRICULTURA SUSTENTABLE: MICROORGANISMOS BENEFICIOSOS VERSUS PLAGAS

Gustavo Ángel Bich

Andrea Liliana Onetto

Tania Tamara Pedrozo

Ileana Julieta Cortese

María Lorena Castrillo
(Coordinadora)

Laboratorio de Biotecnología Molecular
Instituto de Biotecnología Misiones

Ciencia en tu escuela: Fomentando una agricultura sustentable: microorganismos beneficiosos versus plagas / María Lorena Castrillo... [et al.].- 1a ed.- Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Consejo Nacional Investigaciones Científicas Técnicas - CONICET, 2021. Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN **978-950-692-179-8**

1. Agricultura Sustentable. 2. Microorganismo. 3. Microbiología. I. Castrillo, María Lorena.

CDD 631.583

Este trabajo está bajo licencia Creative Commons Atribución -No Comercial- Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

Para ver una copia de esta licencia, visita creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Sede Rivadavia: Av. Rivadavia 1917 (C1033AAJ)
Tel: +5411 5983-1420

Sede GIOL: Godoy Cruz 2290 (C1425FQB)
Tel: +5411 4899-5400

Ciudad Autónoma de Buenos Aires,
República Argentina
info@conicet.gov.ar / conicet.gov.ar

Este libro fue realizado por el **Centro Científico Tecnológico (CCT) Nordeste** del **Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas** en el marco del proyecto de Cultura Científica 2017/2018 ID 230 **"Ciencia en tu escuela"** financiado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Nación a través del Programa de Innovación Tecnológica IV (PIT IV). Este manual puede ser descargado en formato PDF desde: nordeste.conicet.gov.ar/agricultura-sustentable/

Dirección del proyecto de Cultura Científica
Marisa Censabella
(CONICET Nordeste)

Coordinación
Silvana Siviero
(CONICET Nordeste)

Diseño Editorial
María Eugenia Gelemur
(CONICET - DRI)

Revisión de textos
Laura Aguirre

Autorías del texto
Gustavo Ángel Bich, Andrea Liliana Onetto,
Tania Tamara Pedrozo, Ileana Julieta Cortese,
María Lorena Castrillo

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MINCYT)

Programa de Innovación Tecnológica IV (PIT IV) del MINCYT

Programa VocAr del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Dirección de Relaciones Institucionales del CONICET

A las personas e instituciones que apoyaron, colaboraron y fueron parte del proyecto de Cultura Científica “Ciencia en tu escuela”:

CCT CONICET Nordeste

Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE, CONICET - UNNE)

Centro de Ecología Aplicada del Litoral (CECOAL, CONICET - UNNE)

Instituto de Química Básica y Aplicada del Nordeste Argentino (IQUIBA-NEA, CONICET - UNNE)

Instituto de Investigaciones en Procesos Tecnológicos Avanzados (INIPTA, CONICET - UNCAUS)

Instituto de Biología Subtropical (IBS, CONICET - UNAM)

Instituto de Materiales de Misiones (IMAM, CONICET - UNAM))

Instituto de Estudios Sociales y Humanos (IESyH, CONICET - UNAM)

Instituto de Biotecnología Misiones (CONICET - UNAM)

Instituto de Medicina Regional (UNNE)

CONICET documental, productora audiovisual del CONICET

Secretaría privada de Rectorado de la UNNE

Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Misiones

Dirección de Ciencia y Tecnología del Ministerio de Educación de Corrientes

Subsecretaría de Planificación del Sistema Educativo, Ciencia y Tecnología del Ministerio de Educación, Cultura, Ciencia y Tecnología del Chaco

Dirección de Educación Rural del Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología de Misiones

Colegio Secundario Llano de San Luis del Palmar, Corrientes

Unidad de Gestión Local (UGL) 3113 de la localidad de Capioví, Misiones

Escuela de Educación Secundaria (EES) N° 63 “Soldado Juan Pablo Cabral” de Pampa del Infierno, Chaco

Ciencia en tu Escuela

Índice

Presentación — PÁG. 11

Introducción — PÁG. 13

¿Qué es la microbiología? — PÁG. 15

Normas y sugerencias para trabajar en el laboratorio de microbiología agrícola — PÁG. 17

Actividad N° 1: Reconocimiento de planta sana / planta enferma — PÁG. 18

Actividad N° 2: Reconocimiento de agente biocontrolador — PÁG. 24

Actividad N° 3: Aislamiento de bacterias fijadoras de nitrógeno — PÁG. 33

Anexo: Cómo armar tus propios materiales para el laboratorio — PÁG. 43

Glosario técnico — PÁG. 44

Referencias bibliográficas — PÁG. 46

Presentación

Este recurso didáctico es el resultado del proyecto **"Ciencia en tu escuela"** elaborado por el **Centro Científico Tecnológico (CCT) CONICET Nordeste** que consistió en una serie de acciones de difusión de la ciencia y la tecnología a través de formatos novedosos, diseñadas con el objetivo de fortalecer el vínculo entre los grupos de investigación y la sociedad. La propuesta fue seleccionada en una convocatoria de proyectos de **Cultura Científica del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación en el año 2017.**

Con la convicción de que el conocimiento científico debe comprometerse con problemáticas sociales, ambientales y productivas del país para trascender los espacios académicos y científicos, en 2019 grupos de investigadores e investigadoras que se desempeñan en Unidades Ejecutoras del CONICET y en universidades públicas de la región desarrollaron ferias en escuelas rurales de nivel medio de las provincias de Corrientes, Chaco y Misiones. Con propuestas interactivas, talleres, experimentos y charlas, compartieron conceptos relacionados con las cuatro grandes áreas del conocimiento científico y su aplicación tecnológica.

Luego de estas experiencias, elaboramos propuestas didácticas para llevar a las aulas el debate sobre temáticas de interés regional y las escuelas fueron invitadas a utilizar los conceptos y métodos aprendidos en un trabajo de investigación vinculado a su contexto local. Este proceso iba a ser acompañado por los científicos y científicas, quienes tenían previsto volver a las escuelas en 2020 para continuar con el proyecto. La pandemia de la COVID-19 y las medidas de aislamiento preventivo dispuestas por el Estado Nacional obligaron a una adaptación del proyecto. Así surgió la idea de diseñar esta colección de cuatro cuadernillos que aportan propuestas didácticas para aprender y poner en práctica nociones claves estrechamente relacionadas con nuestra región: inundaciones y sequías, agricultura sustentable, historia ambiental y paleontología.

Este proyecto busca promover la actualización disciplinar en el tratamiento de las temáticas científicas y tecnológicas de interés para esta región del país y crear un canal de comunicación con las investigadoras e investigadores del CONICET, con el objetivo de aportar a los procesos de aprendizaje, articular con los contenidos de la currícula educativa y contribuir a la enseñanza de la ciencia en las aulas. Además, tiene como fin motivar a las y los jóvenes a finalizar sus estudios secundarios y continuar con una formación terciaria o universitaria, así como despertar vocaciones científicas.

Los cuadernillos están destinados a las bibliotecas, museos, centros culturales y escuelas secundarias en general y de ámbitos rurales en particular; entendiendo que estos últimos son los que presentan las mayores dificultades de acceso a materiales didácticos actualizados. Tenemos la convicción de que el principio de democratización del conocimiento promueve oportunidades y determina la generación de condiciones de igualdad para aprender, acortando distancias y diferencias socioeconómicas. Por ello, este material es de circulación libre y gratuita, tanto en su versión impresa como digital.

Esperamos que la propuesta sea útil y que nos hagan llegar observaciones, sugerencias y nuevos temas de interés para continuar, a través de otros financiamientos similares, esta colección de materiales de divulgación.

Marisa Censabella
Silvana Siviero

Introducción

La propuesta de este manual de actividades surge a partir de inquietudes planteadas luego de la reunión científica realizada en septiembre del año 2019 en el Colegio Secundario Colonia Llano de la localidad de San Luis del Palmar, provincia de Corrientes. Este evento se realizó como parte de una actividad de extensión del proyecto "Ciencia en tu Escuela"[1], y contó con la participación de distintos grupos de trabajo e investigaciones de la Universidad Nacional del Nordeste, Universidad Nacional de Misiones y CONICET, y 200 estudiantes de ese colegio que cursan la orientación en Agroambiente.

Asimismo, desde hace algunos años, investigadores e investigadoras de Argentina y distintos organismos de gobierno instan a los laboratorios e institutos de las diferentes universidades a participar activamente en eventos científicos sociales y comunales. En este contexto desde el Instituto de Biotecnología Misiones (InBioMis) presentamos al CONICET en el año 2018 el proyecto "Hongos benéficos vs. plagas de la agricultura". En el marco de este, realizamos un taller para capacitar sobre temas relacionados con una tecnología alternativa, innovadora, sustentable y ecoamigable para el control de las plagas que atacan a los cultivos agrícolas de la región.

Las actividades de kermeses científicas, expouniversitarias, ferias, o las exposiciones de la semana de la ciencia, son instancias de diálogo que dan lugar a que los y las estudiantes de doctorado e investigadores de la Universidad Nacional de Misiones difundan los avances de su trabajo en el laboratorio. Así también, son instancias que permiten conocer las inquietudes y necesidades de la sociedad. En este contexto, cada organismo universitario o de ciencia y tecnología puede colaborar en resolver esas inquietudes o necesidades desde un ángulo distinto o con distinta profundidad.

En esta oportunidad, este material didáctico tiene por objetivo difundir nociones básicas sobre agricultura sustentable. En la agricultura tradicional el hombre produce un determinado cultivo implementado

1 Proyecto de la Convocatoria "Proyectos de Cultura Científica 2017" del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Argentina. Resolución número IF-2018-01257584-APN-MCT.

diversas herramientas, maquinarias y tecnologías. Además, para el control de plagas y enfermedades utiliza una gran cantidad de pesticidas y fertilizantes de origen sintético (químico).

En cambio, en una agricultura sustentable, más moderna y consciente, el hombre en la producción de un determinado cultivo busca que no se comprometa la capacidad de las generaciones actuales y/o futuras de satisfacer sus necesidades alimentarias e industriales de la sociedad. Por ello, entre otras metodologías, se busca reducir el uso de pesticidas y fertilizantes químicos en la promoción del crecimiento vegetal y el tratamiento de **plagas** y enfermedades, y se emplean **biofertilizantes** y agentes naturales de control biológico.

Uno de los pilares de la agricultura sustentable es la educación, por ello en este pequeño manual para el "aula-laboratorio" de microbiología agrícola incluimos algunas actividades para ser realizadas preferentemente a campo[2] o viveros escolares y también en los laboratorios escolares. La propuesta está pensada para ser desarrollada por docentes y estudiantes de los niveles primario y secundario de instituciones educativas con orientación en ciencias agrícolas o agroambiente.

Cada una de las actividades posee un título descriptivo, una breve introducción al tema (que puede ser desarrollado y profundizado por la o el docente) y una lista de materiales necesarios. También se indica el nivel de dificultad de la metodología de trabajo y tiempo requerido para llevarlas a cabo. Las actividades pueden ser desarrolladas en pequeños grupos de trabajo de hasta 6 estudiantes

¡Manos a la obra!

2 "Actividad a campo" se refiere, en nuestra especialidad, a todas aquellas actividades de formación en temas de agricultura sostenible no realizadas en el aula como lugar físico. Pueden ser clases realizadas total o parcialmente en alguna huerta escolar, vivero privado, explotación forestal o plantación de algún cultivo agrícola.

¿Qué es la microbiología?

La microbiología es un campo de la ciencia muy amplio, que posee varias áreas de estudio y aplicación en las que se destaca la microbiología agrícola, de alimentos, industrial y ambiental. Cada una de estas posee un objeto de estudio específico que se relaciona con un conjunto de problemas particulares.

La microbiología agrícola busca identificar y diagnosticar al microorganismo patógeno que afecta a un determinado cultivo agrícola de interés para el hombre. También busca identificar, caracterizar y evaluar la posibilidad de aplicación de un microorganismo biocontrolador de esa **plaga** o enfermedad en particular, y que por lo tanto es beneficioso para el hombre.

Entonces, ¿qué son los microorganismos? Los microorganismos son formas de vida diminuta que no pueden ser apreciadas directamente con la vista. Este grupo incluye bacterias, hongos (levaduras y hongos filamentosos), virus, protozoos y algas microscópicas.

Algunos microorganismos son considerados perjudiciales por ser patógenos o causantes de enfermedades al ser humano o a los animales. Aunque también se consideran microorganismos perjudiciales a los que causan enfermedades o deterioro en los cultivos agrícolas.

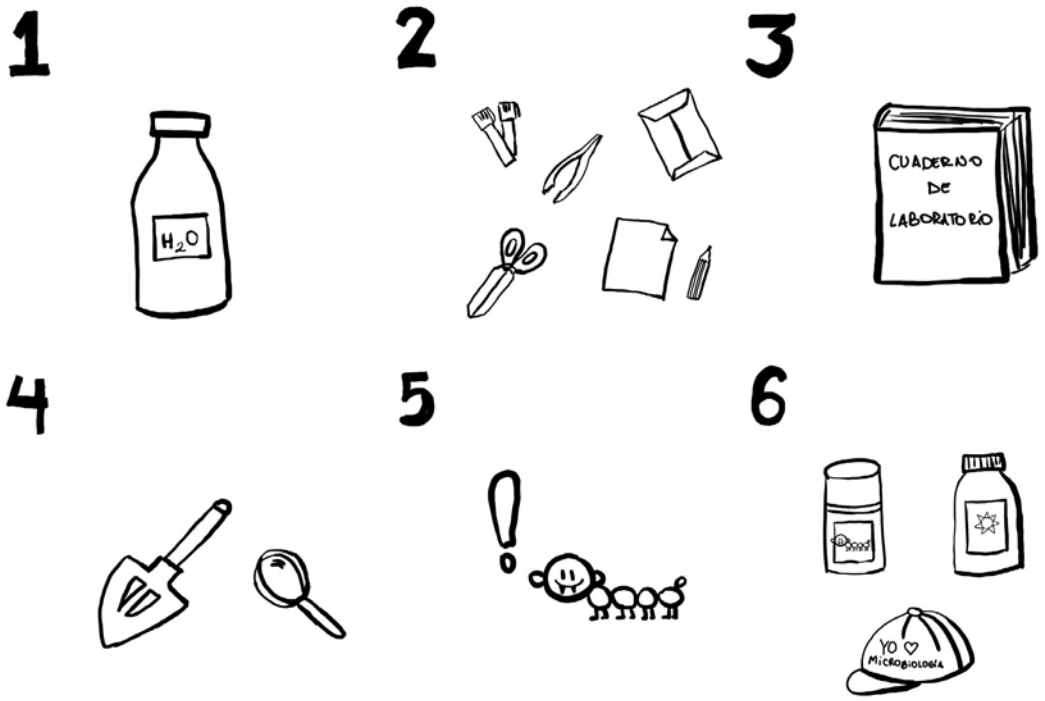
Por otra parte, existen microorganismos beneficiosos para el hombre. Dentro de este grupo ciertos microbios cumplen roles fundamentales en la fotosíntesis, la degradación de detritus, la incorporación de nitrógenos gaseoso en compuestos orgánicos, reciclando así los elementos químicos entre el aire, el suelo, el agua y los seres vivos. Muchos microorganismos poseen aplicaciones comerciales para la síntesis de productos químicos como vitaminas, ácidos orgánicos, enzimas, alcoholes (el conocido “bioetanol”), y numerosas drogas (Tortora y otros, 2012).

En relación con el área de la microbiología agrícola, existen numerosos microorganismos del suelo que constituyen un elemento funcional muy importante en la agricultura, al ser responsables de procesos

relacionadoscon el ciclaje de nutrimentos[3] y la nutrición y salud de las plantas (Laboratorio de microbiología agrícola, 2005).

En el área agrícola, los microbios más ampliamente estudiados y aplicados son las bacterias. Muchos productos biológicos que son formulados y aplicados como **biofertilizantes** son en base a bacterias. Los géneros bacterianos comúnmente utilizados son: *Rhizobium* en leguminosas, *Azospirillum* en gramíneas, y bacterias de vida libre como *Azotobacter, Pseudomonas y Bacillus*, entre otros, en diferentes formulados biofertilizantes.

En segundo lugar, entre los microbios más estudiados y aplicados se encuentran los hongos para el control de plagas y enfermedades. En este grupo de microorganismos benéficos se suele estudiar y aplicar *Gliocladium* y *Trichoderma* como biofertilizantes y biocontroladores de **hongos fitopatógenos**[4]. Así como también se suele considerar hongos beneficiosos multifuncionales a los pertenecientes a los géneros *Metarhizium, Beauveria, Isaria, Lecanicillium*, entre otros[5].



3 El término “ciclaje de nutrimentos” se refiere al movimiento e intercambio de materia orgánica e inorgánica. Involucra procesos como la descomposición de la materia en sus componentes minerales y la reincorporacion de esos nutrientes minerales en la producción de biomasa o aglomerados inorganicos.

4 Vinale y otros, 2008; Infante y otros, 2009.

5 Faria y Wraight, 2007; Lacey y otros, 2015; de Lira y otros, 2020; Subramaniam y otros, 2021.

Normas y sugerencias para trabajar en el laboratorio de microbiología agrícola

Recomendaciones para el trabajo de campo

1. Lleve un recipiente con agua limpia para higienizar manos y material de trabajo a campo.
2. Lleve pequeñas pinzas metálicas, tijeras, rotuladores y sobres de papel. Lleve recipientes plásticos limpios.
3. Lleve un cuaderno para anotaciones.
4. Lleve una palita para cavar y una lupa.
5. No tocar con la mano insectos que no conozca.
6. Además, lleve repelente de insectos, bloqueador solar y una gorrita para el sol.

Recomendaciones para el laboratorio

1. El uso del guardapolvo es indispensable.
2. No se debe comer, ni beber en el laboratorio.
3. Lave sus manos con agua y jabón antes y después de cada práctica.
4. Limpiar y desinfectar la superficie de mesadas antes y después del trabajo del día con una solución de alcohol al 70% o lavandina al 1%.
5. Descarte todo el material usado en recipientes destinados para tal fin. Por ningún motivo elimine este material en los desagües, lavatorios o basureros.

Actividad N° 1: Reconocimiento de planta sana / planta enferma

Introducción

Los cultivos agrícolas son importantes actividades humanas de subsistencia y comerciales, pero se ven afectadas por numerosas plagas y enfermedades. Las **plagas**, utilizando este calificativo para todos los animales, plantas y microorganismos que tienen una acción negativa sobre la agricultura, provocan una importante disminución en la productividad y calidad de los cultivos y reducen considerablemente la rentabilidad de las plantaciones agrícolas y forestales. En cualquier estrategia de control de plagas y enfermedades uno de los primeros pasos es el reconocimiento del agente causante, como ser un insecto o un microorganismo.

El primer paso para reconocer el agente causante es identificar el tipo de cultivo agrícola. El siguiente paso es la búsqueda de signos y síntomas directos e indirectos de algunas plagas y enfermedades de ese cultivo en particular. Uno de los cultivos típicos seleccionados para trabajar es el tomate (*Lycopersicon esculentum*), debido a su presencia casi en todas las huertas familiares y escolares.

Esta guía sirve como una herramienta rápida para detectar posibles síntomas de ataque por insectos, plagas o enfermedades en los cultivos. Si se desea se puede profundizar con los enlaces sugeridos de códigos QR con la finalidad de conocer agentes causales, método de control más adecuado, recomendaciones de manejo del cultivo, etc.

Materiales:

Guía de reconocimiento - Lupa

Tubos de ensayo o frascos limpios - Cuaderno de campo

Celular con aplicación de lector de código QR
si se desea profundizar en el tema.

Dificultad de la actividad: **Fácil.**

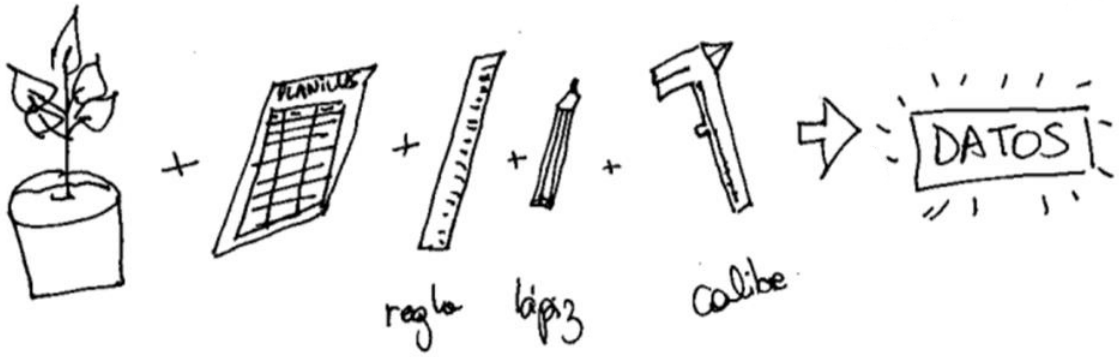
Tiempo requerido para toda la actividad

La actividad consta de una primera instancia de reconocimiento de plagas y enfermedades a campo, con un tiempo propuesto de 2 horas. Si se desea profundizar en el tema, se puede continuar con una segunda actividad de reconocimiento del agente causante en el laboratorio con otras 2 horas de desarrollo. Para se deberían colectar algunas muestras de material vegetal en tubos de ensayo o frascos limpios.

Desarrollo: **Detección de signos y síntomas de lesiones en plantas de tomate por microorganismos o insectos plaga**

Examinar cuidadosamente las plantas de tomate ayudados con una lupa. Examinar hojas en la cara superior e inferior, tallos y frutos.

Recuerde ir tomando notas y haciendo dibujos en su cuaderno de campo. En este cuaderno se registran datos importantes a la hora de analizar la información en el laboratorio de la escuela.



Actividades de reconocimiento de signos y síntomas en plantas

EN HOJAS	
Fotografía	**Signo o síntoma. Explicación**
 Fuente: Fiorco et al., 2012	**Ataque por hongo fitopatógeno.** Se forman lesiones de tejido muerto (necrósis), que se presentan como manchas circulares de color café por lo general rodeadas de un borde amarillo. Posiblemente *Alternaria.* Para profundizar: Fuente: INTA
   Fuente: Fiorco et al., 2012	**Ataque por hongo fitopatógeno.** Se observan manchas circulares de color blanco de aspecto pulverulento, que pueden producir la caída de las hojas. Posiblemente *Oidium.* Para profundizar: Fuente: INTA

Fuente: Mitidieri y Polack, 2012	**Ataque por insecto minador.** Posiblemente polilla del tomate. Para profundizar: Fuente: INTA Ver video: Fuente: INTA
EN TALLOS	
Fuente: Fiorco et al., 2012	**Ataque por hongo fitopatógeno.** Se forman lesiones de tejido muerto (necrósis), que se presentan como manchas circulares de color café por lo general rodeadas de un borde amarillo. Posiblemente *Alternaria*. Para profundizar: Fuente: INTA
Fuente: Fiorco et al., 2012	**Ataque por hongo fitopatógeno.** Se observan plantas marchitas, y al nivel del cuello del plantín se puede observar que presentan un estrangulamiento muy marcado (indicado con una flecha). Posiblemente *Fusarium spp., Phytophthora spp., Rizoctonia spp. y Pytium spp. (Damping off).* Para profundizar: Fuente: INTA

EN FRUTOS	
Fotografía	**Signo o síntoma. Explicación**
    Fuente: Mitidieri y Polack, 2012	**Ataque por insecto conocido como mosca blanca.** Posiblemente por *Bemisia tabaci*. Para profundizar: Fuente: INTA Ver video: Fuente: INTA

Actividad evaluativa

Como cierre de la actividad, los/las estudiantes presentan al docente el registro de observaciones del cuaderno de laboratorio. Luego, en grupos de no más de seis estudiantes, se conversará sobre los registros realizados (en esta instancia el docente podrá orientar la actividad con algunas de las siguientes preguntas). Por último, se socializa y comenta lo observado con el resto del aula.

Responder preguntas como:

¿Encontraron plantas de tomate afectadas por plagas o enfermedades?

¿Qué síntomas encontraron? ¿Estaban mayormente en los frutos, hojas o tallos?

¿Los síntomas se encontraban en toda la planta afectada o solo una parte de ella?

¿Qué proporción de la plantación estaba afectada?
¿Toda la planta, la mitad, menos del 25%, menos del 1%?

¿El suelo de las plantaciones estaba húmedo, seco o encharcado?

¿Había otros cultivos próximos? ¿Estos cultivos estaban afectados por alguna plaga o enfermedad?

¿Se había aplicado recientemente pesticidas químicos o biológicos a esa plantación?

¿Observaron insectos beneficiosos como abejas, vaquita de San Antonio (predador) o mariposas en esa plantación de tomates?

Actividad N° 2: Reconocimiento de agente biocontrolador

Introducción

La forma tradicional para el control de enfermedades que afectan la actividad agropecuaria es la aplicación masiva de productos químicos, pero debido a su composición y uso inadecuado pueden resultar tóxicos e inespecíficos ya que además de eliminar a los organismos plagas o productores de enfermedades en las plantas, pueden terminar eliminando a la microbiota beneficiosa del suelo, como las bacterias y hongos degradadores de materia o biocontroladores[6].

Como alternativa para disminuir la dependencia en el uso exclusivo de químicos sintéticos, comenzó a desarrollarse la tecnología del manejo integrado de plagas (MIP)[7]. Esta tecnología se enmarca en el contexto del desarrollo sustentable. Dentro de las tácticas empleadas en el marco del MIP, la utilización de microorganismos o sus productos metabólicos como agentes de control biológico, se presenta como un método alternativo, innovador, sustentable y ecoamigable[8].

Determinados grupos de hongos pueden atacar y alimentarse de otros organismos como insectos plaga u otros hongos que producen enfermedades en plantas. Además, estos grupos de hongos beneficiosos pueden sobrevivir en distintos ambientes y bajo diversas condiciones de temperatura y acidez del suelo[9]. Pueden parasitar (ver **parásito**) otros organismos como insectos e incluso otros **hongos fitopatógenos**, además de presentar una gran diversidad metabólica y alta eficiencia en la utilización de nutrientes. Estas características hacen que diversos **aislamientos micoparasíticos** de géneros como *Trichoderma,*

6 Vinale y otros, 2008; Lepori y otros, 2013.

7 Alatorre y otros, 2000; Blanco-Metzler, 2004.

8 Kulkarni y otros, 2007.

9 Charnley, 1997; Shah y Pell, 2003; Santos y otros, 2007; Hajek y Delalibera, 2010; Rojas-Gutiérrez y otros, 2017; Aydin y otros, 2018.

Escovopsis y Clonostachys resulten prometedores como agentes biocontroladores.

Todos estos hongos pueden invadir, penetrar y propagarse dentro de sus organismos hospederos y finalmente reproducirse en el exterior del mismo para favorecer ciclos de infección[10].

Estos organismos forman parte del ecosistema natural, por lo que pueden ser recuperados y aislados del suelo. Por eso, su reintroducción en un ambiente modificado –como áreas destinadas a la actividad agropecuaria– llevaría a reestablecer en una pequeña proporción el equilibrio natural que se modifica con la actividad humana.

De esta manera, a partir de muestras de suelo de estas áreas pueden ser aislados hongos nativos que a posteriori podrían tener potencial biocontrolador.

AISLAMIENTO A PARTIR DE MUESTRAS DE SUELO

Materiales[11]

Frascos de vidrio con tapa a rosca - Hisopos

Pipeta Pasteur - Balanza - Placas de Petri

Medio de cultivo para hongos PDA (Agar Papa dextrosa)

Agua destilada estéril - Ansa aguja - Mechero de alcohol

10 Howell, 2003; Harman, 2006; Tian y Feng, 2006; Infante y otros, 2009.

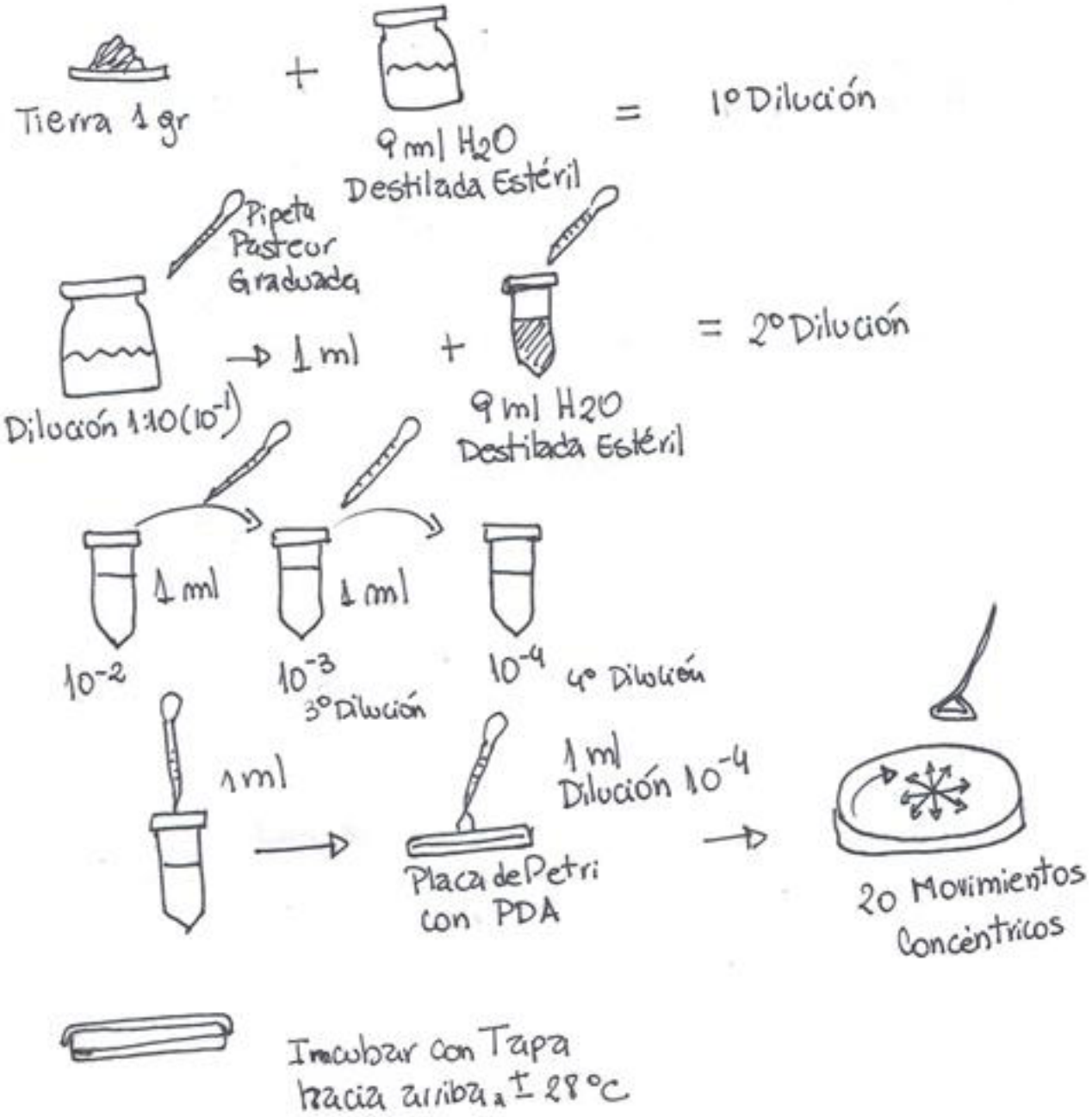
11 En este mismo libro ver Anexo: Cómo armar tus propios materiales para el laboratorio.

Procedimiento

Para obtener los microorganismos (hongos) con posible capacidad biocontroladora (ver **hongo biocontrolador**) de plagas a partir de muestras de suelo, se empleará la técnica de diseminación en superficie, que consiste en distribuir homogéneamente la muestra sobre la superficie del medio de cultivo con la espátula de Drigalsky. La muestra a sembrar debe estar en estado líquido, pero partimos de una muestra sólida, por ello primero debemos realizar diluciones de la misma, de concentración conocida y de forma tal de obtener una solución lo suficientemente diluida que al realizar la siembra y posterior incubación se obtengan colonias aisladas.

Realizaremos 4 diluciones seriadas, es decir cada vez más diluidas o menos concentradas. Para ello partimos de una muestra de un gramo de tierra que será disuelta en 9 ml de agua destilada estéril obteniéndose la primera de las diluciones 10-1, de esta solución se tomará 1 ml, con una **pipeta Pasteur** y se pasará a un tubo o frasco de vidrio con 9 ml de agua destilada estéril para obtener de esta manera la segunda dilución con una concentración de 10-2. Este proceso se repite nuevamente para obtener la tercera dilución, 10-3 , y la cuarta con una concentración de 10-4.

Por último, se toma 1 ml de la solución con concentración 10-4 con una pipeta Pasteur estéril y se deposita en el centro de la **placa de Petri** con medio **PDA**, con una espátula de Drigalsky, hisopo o ansa ojal se distribuye la muestra de manera uniforme sobre la superficie del medio de cultivo contenido en la placa. Se lleva a incubar a estufa a una temperatura de 28°C por 7 días o hasta observar desarrollo de **colonias fúngicas**.


Tierra 1 gr
+
9 ml H_2O
Destilada Estéril
=
1° Dilución
Pipeta
Pasteur
Graduada
Dilución 1:10 (10^{-1})
→ 1 ml
+
9 ml H_2O
Destilada Estéril
= 2° Dilución
1 ml
1 ml
10^{-2}
10^{-3}
3° Dilución
10^{-4}
4° Dilución
1 ml
1 ml
Dilución 10^{-4}
Placa de Petri
con PDA
20 Movimientos
Concéntricos
Incubar con Tapa
hacia arriba a ± 28 °C

IDENTIFICACIÓN DE GÉNEROS FÚNGICOS

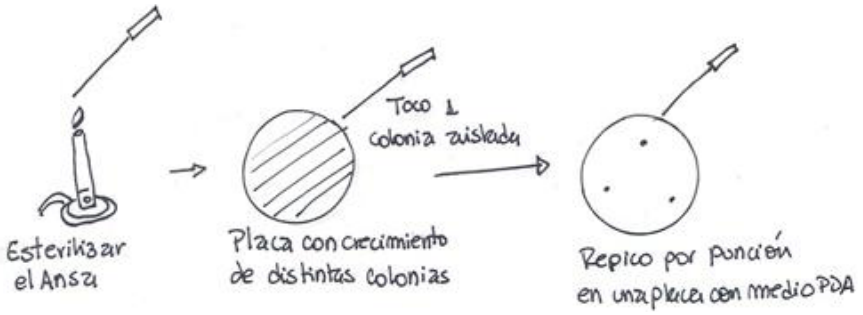
Materiales

Placa de Petri con cultivo fúngico joven - Ansa aguja

Colorante para hongos, Lactofenol Azul de Algodón

Portaobjetos - Microscopio óptico - Cinta adhesiva

Una vez incubada la placa de Petri el tiempo correspondiente se obtienen una serie de colonias diversas que necesitan ser identificadas. Para la identificación seleccionaremos las colonias mejor aisladas y con un ansa aguja se tomará una pequeña porción de la misma que será replicada en otra placa de Petri con medio PDA mediante punción, en tres puntos dibujando un triángulo. Posteriormente se lleva a incubación a 28°C por un lapso de 7 días.



Con la colonia aislada ya crecida procederemos a su identificación. Como primer paso debe realizarse una inspección macroscópica registrando el aspecto (aterciopelado, algodonoso, pulverulento), forma (circular, sin forma definida), tipo de bordes (liso, entero, irregular) y tamaño de la colonia. Además, se debe registrar si presenta rasgos particulares como gotas de secreción. Con estas características y mediante el uso de *claves taxonómicas*[12] podemos presumir a priori de qué género se trata.

12 La "clave taxonómica" es una herramienta o sistema de clasificación que permite identificar a los organismos. Hay claves para determinar animales, plantas, hongos, bacterias, protista, protozoos o cualquier otro ser vivo. Estas claves taxonómicas pueden alcanzar al nivel de especie, género, familia, etc., y están disponibles en bibliotecas del área de biología o en repositorios digitales de las universidades.

Posteriormente se procede a la identificación microscópica de las colonias, para esto se necesitará un colorante, dado que las *estructuras fúngicas*[13] generalmente carecen de coloración. El colorante que se utilizará es el *Lactofenol Azul de Algodón*[14].

Mediante la técnica de la cinta adhesiva tomaremos una pequeña porción de la colonia y la depositaremos en un portaobjetos, limpio y seco, con una gota del colorante Lactofenol Azul de Algodón. Se observará al microscopio óptico comenzando con el objetivo de 10X para posicionar el campo pasando al de 40X para el análisis de las estructuras vegetativas y reproductivas. Mediante el uso de claves taxonómicas se puede llegar a la identificación del género de la **colonia fúngica**.

Técnica de la cinta adhesiva

Se utiliza cinta transparente para hacer preparaciones rápidas no permanentes a partir de crecimientos en medio de cultivo o en estructuras de las plantas (frutos, hojas, tallos). Este método se recomienda para observar las estructuras en su estado y posición normales (cadenas de esporas o conidios pegados al conidióforo)[15].

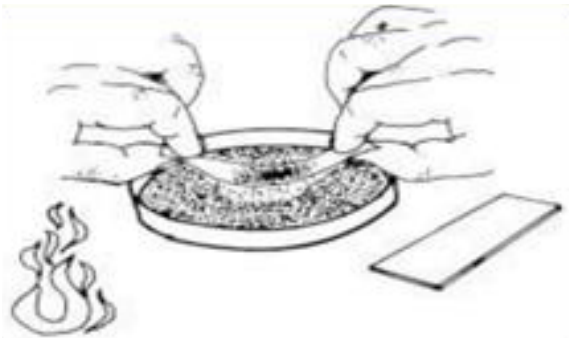
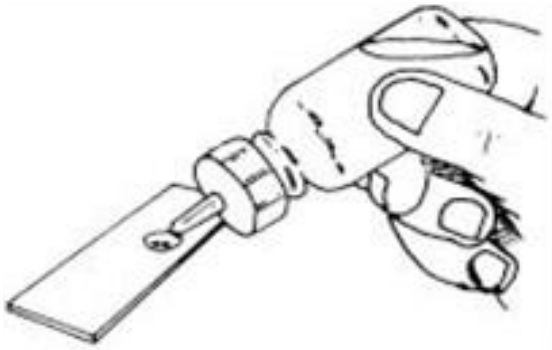
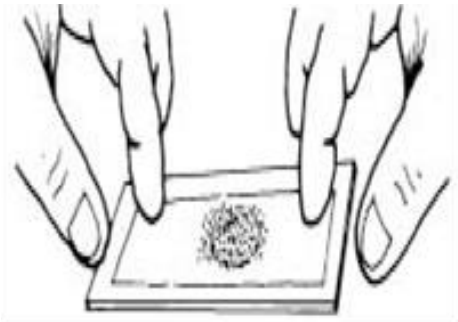
Se debe tomar un pedazo de cinta transparente y, con el lado que tiene el pegamento, tocar ligeramente el cultivo de la caja de Petri, enseguida colocarlo sobre una gota de colorante en un portaobjetos. Se fija la cinta, haciendo presión suave y si es necesario se retira el exceso de colorante con papel secante. Observar al microscopio óptico comenzando con el objetivo de 10X y posteriormente con 40X para analizar las estructuras vegetativas y reproductivas[16].

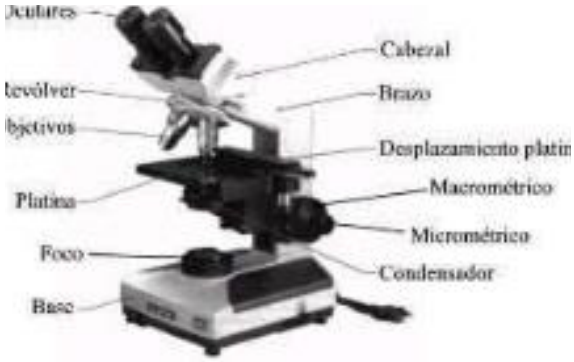
13 Las “estructuras fúngicas” son conformaciones que pueden adquirir los hongos al ser observados al microscopio.

14 Colorante que permite teñir a los hongos de color azul.

15 Las “cadenas de esporas” son conformaciones de los hongos que son vistas al microscopio como largas cadenas de esferas pequeñas. Asimismo, los “conidios pegados al conidioforo” se pueden observar como esferas pequeñas unidas a un cilindro.

16 Las estructuras vegetativas o reproductivas de los hongos son características o particularidades que poseen cada uno de los hongos, y que permiten mediante las claves taxonómicas diferenciar un hongo de otro.

 Fuente: Fotografía tomada de la Guía de trabajos prácticos - Microbiología general - UNaM	Tomar un pedazo de cinta transparente y, con el lado que tiene el pegamento, tocar ligeramente la muestra.
 Fuente: Fotografía tomada de la guía de trabajos prácticos - Microbiología general - UNaM	Colocar la cinta con la muestra o estructuras sobre una gota de colorante en un portaobjetos.
 Fuente: Fotografía tomada de la guía de trabajos prácticos - Microbiología general - UNaM	Fijar la cinta al portaobjetos y retirar el exceso de colorante.

 Fuente: Fotografía tomada de la guía de trabajos prácticos - Microbiología general - UNaM	Observar al microscopio óptico a partir de los aumentos más bajos.

Dificultad de la actividad: **Media.**

Requiere la supervisión de un docente para la guía en cada una de las actividades y evitar accidentes, ya que se utiliza material de laboratorio de vidrio y mecheros de Bunsen.

Tiempo requerido para toda la actividad

Dos clases de 120 min cada una; en la primera clase se realizará el aislamiento de los hongos presentes en el suelo y en la siguiente se realizarán los preparados y su observación al microscopio para identificación.

Actividad evaluativa

Los alumnos deberán realizar esquemas de las observaciones al microscopio óptico registrando las características relevantes de las colonias analizadas, para su identificación morfológica o clasificación según sus tipos de formas vistas al microscopio.

Mediante el uso de claves taxonómicas aproximar el género fúngico aislado.

Repositorios de libros y atlas de identificación de microorganismos beneficiosos para trabajar con las claves taxonómicas

- Morfologías de hongos cultivados y claves taxonómicas en las especies. Capítulo incluido en Atlas de figuras de hongos del suelo y de semillas, de T. Watanabe (2002).

Tesis sobre aislamiento e identificación de hongos: Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestra de suelo de los páramos de guasca y cruz verde, de E. L. Arias y P. A. Piñeros (2008).

Manual de laboratorio para el manejo e identificación de hongos entomopatógenos: Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos, International Potato Center, de T. Ames De Icochea (2004).

Actividad N° 3: Aislamiento de bacterias fijadoras de nitrógeno

Introducción

Las plantas requieren de luz, agua y nutrientes para crecer y desarrollarse. El carbono que necesitan lo captan desde la atmósfera mediante sus hojas. Muchos otros elementos son captados por sus raíces desde el suelo, por lo que este le sirve a la planta no solo como sostén, sino también como fuente de nutrientes y de agua.

El suelo, por tanto, no es un material inerte, sino que se constituye en un ambiente que además permite a la planta interactuar/relacionarse con insectos, con otras plantas, y en particular con microorganismos, tanto beneficiosos como patógenos –es decir, causantes de enfermedades–. Entre todos estos actores se producen diversas interacciones que son de suma importancia para la planta, ya que determinan la disponibilidad de nutrientes.

Dentro de los microorganismos que interactúan con las plantas, existe un grupo de bacterias que se conocen como *promotoras del crecimiento vegetal*. Estas ejercen distintas acciones que favorecen la disponibilidad y captación de los nutrientes. Se estudiaron muchas especies y géneros, y existen actualmente en el mercado productos que están formulados en base a ellas para su aplicación en cultivos de interés comercial, denominados **biofertilizantes**.

Así como las plantas requieren de un ambiente adecuado para su crecimiento, lo mismo ocurre con las **bacterias promotoras del crecimiento vegetal**. La aplicación incorrecta de fertilizantes químicos o pesticidas puede influir en la cantidad y composición de las comunidades microbianas beneficiosas, por lo que el cuidado y correcto manejo del suelo contribuye al crecimiento vegetal al mantener la diversidad de dichos microorganismos. La aplicación de biofertilizantes comerciales busca reforzar la cantidad de bacterias benéficas, así como también las estrategias de aplicación de compost y abonos orgánicos pueden también contribuir a reforzar el estado óptimo del suelo.

Entre las acciones que llevan a cabo las **bacterias promotoras del crecimiento vegetal**, se encuentran: la fijación biológica de nitrógeno[17], la solubilización de fosfatos[18], la síntesis de **sideróforos** y de hormonas estimulantes del crecimiento vegetal (tales como las **auxinas**). El nitrógeno es uno de los principales nutrientes de las plantas, siendo un factor limitante en su crecimiento. Algunas bacterias establecen una relación de **simbiosis** (de beneficio mutuo) con las raíces vegetales, como es en el caso de las leguminosas, produciendo nódulos. Otras son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico, poniéndolo a disponibilidad de las plantas.

Después del nitrógeno, el fósforo es otro nutriente limitante del crecimiento vegetal. Si bien los suelos pueden contener grandes reservas de fósforo, la cantidad disponible para las plantas suele ser una pequeña proporción. Esto se debe a que la mayoría del fósforo se encuentra en formas insolubles para su absorción, además de hallarse unido a materia orgánica del suelo. Las plantas solo pueden aprovechar este mineral en formas solubles, sin embargo, las **bacterias promotoras del crecimiento vegetal** son capaces de solubilizar el fosfato poniéndolo a su disposición a partir de diferentes mecanismos.

Por su parte, el hierro es un nutriente esencial para las plantas ya que actúa en procesos importantes como la respiración, fotosíntesis y la fijación de nitrógeno. Por lo general es muy abundante en suelos, pero se encuentra en forma de ion Fe+3, que reacciona para dar óxidos e hidróxidos que son insolubles y por tanto inaccesibles para las plantas y los microorganismos.

Algunas bacterias son capaces de liberar sustancias **quelantes** que atraen el hierro hacia la rizosfera donde finalmente puede ser absorbido por la planta. Finalmente, las hormonas vegetales son capaces de regular parámetros como el crecimiento, la división celular o el enraizamiento de la planta. Algunas bacterias pueden producir **auxinas** como producto de su metabolismo.

17 Si bien nuestra atmósfera es rica en nitrógeno, se encuentra en una forma no asimilable para las plantas. Por ello es necesaria la actividad de las bacterias para la transformación del nitrógeno a una forma asimilable por las plantas.

18 El fósforo es otro elemento necesario para las plantas para su correcto crecimiento. Dado que puede encontrarse en el suelo en una forma no asimilable por las plantas, es necesario la actividad de las bacterias para la transformación del fósforo a una forma fácilmente asimilable por las plantas.

En esta actividad, proponemos evidenciar la existencia de comunidades microscópicas presentes en el suelo, dentro de las cuales es seguro que algunos microorganismos serán portadores de las distintas propiedades de promoción del crecimiento vegetal mencionado. Se empleará un medio de cultivo muy pobre en nitrógeno, por lo que se espera que desarrollen en el mismo solo aquellas bacterias capaces de captar y utilizar nitrógeno a partir del aire (denominadas **diazótrofos**[19]). Este paso nos permitirá hacer una primera selección de aquellas bacterias candidatas para continuar con el estudio de su capacidad de promoción del crecimiento vegetal.

19 Actividad complementaria de profundización: leer sobre el uso de la bacteria Azospirillum en cultivos de soja de nuestro país.

Materiales[20]

Frascos de vidrio con tapa a rosca. Si son de boca ancha mejor (facilita la observación). Deberán estar bien limpios por dentro, sin restos de alimentos, y se deberá retirar completamente las etiquetas, a fin de facilitar la visualización del interior. Los de poca altura (tipo papilla de bebé o mini mermelada) son ideales. Se recomienda al menos 2 por grupo.

Agar agar (se consigue en dietéticas o supermercados). Un paquetito es más que suficiente para preparar medios para todos los grupos. No emplear gelatina porque tiene nitrógeno en su composición.

Bebida deportiva/isotónica. No importa el sabor, si es de color claro mejor. Con una alcanza para todos los grupos. Observar la información nutricional y verificar que no tengan proteínas, pues las mismas tienen nitrógeno que algunas bacterias pueden utilizar. Pueden emplearse asimismo sales de rehidratación oral (se consiguen en farmacias).

Agua - Olla a presión - Hojas de papel

Banditas elásticas (una por frasco) - Gotero o pajita/sorbete

Bolsas herméticas o frascos y cucharitas de plástico para tomar muestras - Cuaderno de laboratorio

Marcador indeleble para rotular los frascos

Vaso medidor de líquidos - Lupa para observar las colonias (opcional)

20 En este mismo libro ver Anexo: Cómo armar tus propios materiales para el laboratorio.

Dificultad de la actividad: **Media.**

La actividad requiere de un docente que pueda tomar parte en todas las etapas de la actividad, ya que en varias será necesario trabajar con fuego u otras fuentes de calor.

Tiempo requerido para toda la actividad

En total llevará de 2 a 4 días, considerando preparación de materiales, tiempo de incubación de las muestras, y descarte de materiales.

Actividad evaluativa

Los estudiantes presentarán un breve informe donde explicitarán las actividades desarrolladas, los resultados obtenidos y las conclusiones a las que llegaron. Las partes del informe serán: breve introducción, objetivo del trabajo, materiales y métodos (procedimiento), resultados y conclusiones. Además, podrán agregar fotografías o dibujos.

Desarrollo: **Toma de muestras**

En primer lugar, hay que seleccionar diferentes suelos. Les proponemos que tomen muestras (pueden ponerlas en frascos limpios o en bolsitas herméticas) de suelos que sean bien diferentes (color, textura, aspecto); elijan un suelo que consideren que sea poco fértil (sugerimos suelos de aspecto seco, muestreados en caminos o al costado de calles, donde el crecimiento de plantas sea escaso), y otro que consideren que sea fértil (generalmente se puede encontrar en los jardines de las casas; siempre hay un sector donde se descartan cáscaras de frutas y verduras para hacer abono; suele ser característico el color oscuro de estos suelos por la presencia de materia orgánica - humus). También se pueden tomar muestras de suelos utilizados regularmente para cultivos agrícolas comerciales.

Luego de leer la introducción de esta actividad, responder: ¿de cuál suelo esperarían que tenga mayor cantidad y diversidad de bacterias? ¿Por qué? Registren sus hipótesis en su cuaderno de laboratorio a fin de compararlas después con los resultados.

Preparación de materiales

Para estudiar las bacterias en el laboratorio, se recurre a medios de cultivo. Estos son soluciones o preparados sólidos que brindan a los microorganismos todos los nutrientes requeridos para su crecimiento y desarrollo. Proponemos que preparen un medio de cultivo "casero", bien simple, que permita evidenciar la presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno en los suelos de los cuales tomaron las muestras.

En primer lugar, se deberá esterilizar frascos. Esterilizar significa eliminar completamente la viabilidad de los microorganismos que están presentes en un objeto, superficie, muestra, etc. El calor es muy eficiente para esto, por lo que vamos a emplear el generado por una hornalla de cocina. Lavamos bien los frascos a utilizar, les ponemos la tapa a media rosca, los tapamos con un pedazo de papel sujetado con una bandita elástica y los ubicamos en una olla a presión con agua cubriendo solamente ¼ de los frascos. Podemos agregar servilletas de papel o trozos de tela para asegurar que no se golpeen ni se vuelquen. Llevamos la olla a fuego hasta que empiece a salir vapor de forma constante, se baja el fuego de la hornalla, y se hierven los frascos por 15 minutos.

La presión a la que trabaja la olla hace que el tiempo de **esterilización** se acorte; si no se cuenta con olla a presión, puede utilizarse una olla común, pero deberá tenerse en cuenta que el tiempo que se deberá hervir los frascos será mayor (20 a 30 minutos). Se dejan enfriar a fin de poder manipularlos sin riesgo de quemaduras. Si se observa condensación de agua en el interior, pueden llevarse a horno suave hasta que se sequen (sin retirar el papel ni la bandita elástica). Finalmente, se enrosca bien la tapa para conservar el interior completamente estéril.

Para preparar el medio de cultivo "casero" para detección de bacterias fijadoras de nitrógeno en suelos, calentar la bebida isotónica a ebullición (por frasco serán necesarios unos 20/25 ml de esta), agregar el agar agar y disolver. Se puede seguir las instrucciones del paquete, o bien considerar que 15 gramos de agar agar solidifican 1 litro de medio de cultivo. Hervir 10 minutos tapado para evitar la pérdida de volumen y fraccionar en los frascos estériles (con que tengan 1-1,5 cm de profundidad de medio está bien). Tapar los frascos a media rosca para evitar que condensen y dejar solidificar en una superficie plana.

Para fraccionar el medio de cultivo en los frascos, será necesaria un área estéril. Para ello la mesada o superficie en la que trabajarán debe ser

limpiada con una solución de alcohol al 70% (3 partes de agua y 7 partes de alcohol etílico comercial). Además, se utilizará un mechero a gas o de alcohol. Siempre que se abra el frasco, el mismo deberá estar en esta área para evitar la contaminación; se considera que la misma abarca un radio de 15 cm desde la llama.

Siembra de las muestras

Disolver una pequeña cantidad de tierra en agua hervida durante 20 minutos y enfriada, y colocar unas gotas de esta (empleando el gotero o la pajita/sorbete) sobre la superficie del medio de cultivo. Traten de emplear las mismas cantidades para la preparación de todas las diluciones, de esta forma podrán comparar los resultados. Es importante rotular cada frasco para saber qué muestra se sembró en cada uno, y colocar la fecha.

Observar si hay desarrollo en la superficie del medio. Lo más probable es que las primeras colonias aparezcan a partir de las primeras 8 horas, así que tengan paciencia. Por lo general a las 24-48 horas las colonias son evidentes.

Registro y análisis de los resultados

Una vez que logren ver las colonias, traten de contarlas. Indiquen cuántas hay de cada una y describan sus características teniendo en cuenta:

- color
- forma
- textura
- aspecto
- tipos de bordes

Registren lo observado en su cuaderno de laboratorio.

Miren y comparen las diferentes muestras. ¿Hay alguna que tenga muchas más colonias que las otras? ¿Hay alguna que tenga más variedad de colonias que las demás? ¿Coinciden los resultados con las hipótesis que plantearon al inicio? Escriban sus conclusiones en el cuaderno de laboratorio.

Descarte de los materiales utilizados

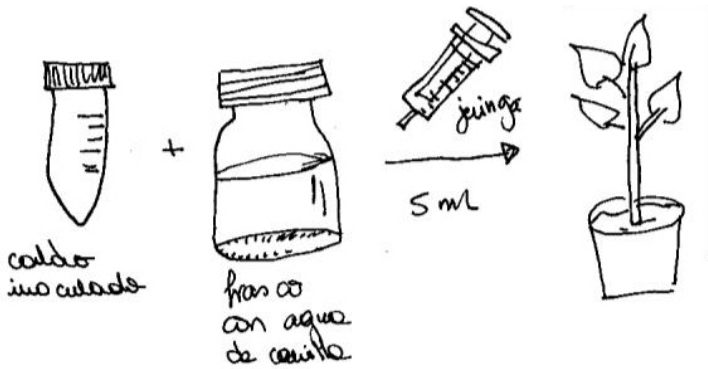
Se procede tal cual se hizo para la **esterilización** de los frascos vacíos (olla a presión). Sugerimos incrementar el tiempo a media hora para asegurar que se eliminen todos los microorganismos y esporas. Es importante aflojar las tapas hasta la mitad de la rosca para permitir que ingrese el vapor y produzca una esterilización adecuada. Una vez realizada la esterilización, se pueden descartar los materiales (tener en cuenta las medidas para el descarte seguro de vidrios), o bien el medio de cultivo y recuperar los frascos.

IMPORTANTE

Recomendamos que no se abran los frascos una vez sembrados con las disoluciones de suelo, ya que este puede contener microorganismos tanto benéficos como potencialmente patógenos, que en el suelo por estar en baja cantidad representarían poco riesgo, pero al crecer en un medio de cultivo aumentan en cantidad y podrían resultar más peligrosos.

PARA AMPLIAR LA TEMÁTICA

Desde la página de la Editorial Universitaria de la UNaM se puede acceder de forma gratuita a las guías de trabajos prácticos de las cátedras de Microbiología, en las cuales se desarrolla con más detalle las técnicas de esterilización y medios de cultivo.



Actividad evaluativa

"Unir con flechas"

Producto a base de microorganismos benéficos que ayudan a su proceso natural de nutrición de las plantas, además de ser regeneradores de suelo.

- **Fitopatógeno**

Utilización de organismos vivos para controlar las poblaciones de otros organismos perjudiciales.

- **Parásito**

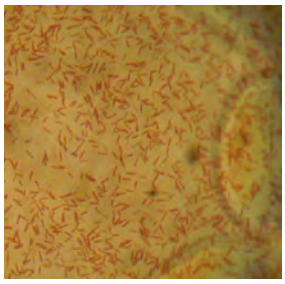
Organismos animales o vegetales que atacan y destruyen los cultivos y las plantas.

- **Plaga**

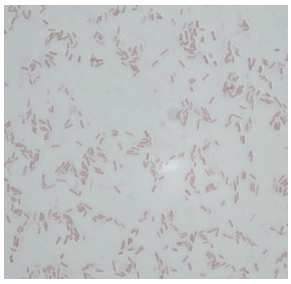
Organismo que genera enfermedades en las plantas.

- **Biocontrol**

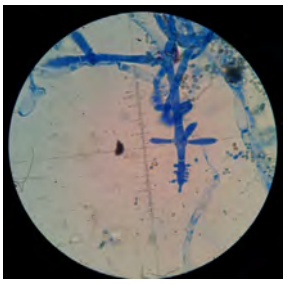
"Reconocer cada una de estas fotografías al microscopio y unir con flechas a su correspondiente nombre científico"



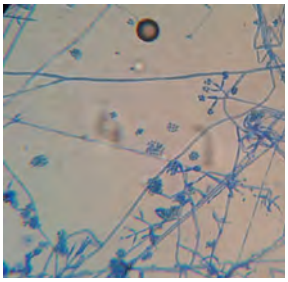
- **Trichoderma sp.**



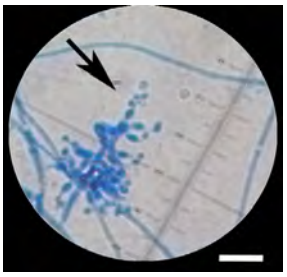
- **Beauveria sp.**



- **Escovopsis sp.**



- **Bacillus sp.**



- **Azospirillum sp.**

Anexo: Cómo armar tus propios materiales para el laboratorio

Muchos elementos de uso cotidiano pueden encontrar utilidad en el laboratorio:

Pinzas: Permiten manipular muestras y especímenes evitando el contacto con la piel. Las de metal son útiles para manipular materiales calientes. Pueden emplearse pincitas de depilar viejas.

Goteros: Son útiles para dispensar y dosificar pequeñas cantidades de líquidos. Pueden obtenerse de frascos de medicamentos viejos y sorbetes de plástico. Se sumerge un extremo en el líquido, se tapa con el dedo índice la abertura del extremo que queda hacia arriba, se ubica el sorbete donde se desea dispensar el líquido y se libera el extremo superior para dejarlo caer.

Mechero de alcohol: Puede elaborarse a partir de frascos de vidrio (por ejemplo de perfume, o las azucareras son ideales). Se elabora una mecha enrollando gasa, se llena el frasco con alcohol de quemar etílico de 96°, se coloca la mecha cuidando que tome contacto con el alcohol y que sobresalgan un par de centímetros sobre el pico del frasco o botella. Se espera unos minutos a que la mecha se empape bien, y ya está listo para usarse. Trabajar siempre con precaución para evitar derrames del alcohol y quemaduras. No emplear en mesas o superficies de madera.

Soluciones para desinfección de superficies: Siempre que vamos a trabajar en el laboratorio es de suma importancia que tanto superficies, elementos y material de trabajo, como así también nuestras manos se encuentren desinfectadas, ya que así evitaremos contaminar nuestro experimento. Para ello en un pulverizador o en una botellita limpia se puede preparar una solución de alcohol al 70%, utilizando 7 partes de alcohol etílico al 96% (el que venden en las farmacias) y 3 partes de agua de canilla. Esta solución se utilizará para limpiar la superficie de trabajo antes y después de realizar nuestros ensayos, como también para limpiar nuestras manos y aquellos elementos que ingresemos a la zona.

Glosario técnico

Aislamiento micoparasítico: Organismo o cepa con capacidad de atacar y alimentarse de un hongo.

Auxina: Hormona de origen vegetal que regula el crecimiento en las plantas.

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: También conocidas como PGPR por sus siglas en inglés (plant growth promoting rhizobacteria), son un grupo de microorganismos que pueden incrementar el crecimiento y la productividad vegetal. Los géneros bacterianos más conocidos y utilizados en la agricultura son: Azotobacter, Azospirillum, Bacillus, Pseudomonas y Rhizobium.

Biofertilizante: Es un producto a base de microorganismos benéficos del suelo, en especial bacterias y/o hongos que viven asociados o en simbiosis con las plantas y ayudan de manera natural a su nutrición y crecimiento, además de ser mejoradores de suelo.

Colonia fúngica: Es un tipo de crecimiento de microorganismos del grupo de los hongos.

Cultivo fúngico: Ver colonia fúngica.

Diazótrofo: Bacteria que fija nitrógeno atmosférico en una forma más disponible como es el amonio. Es un organismo capaz de crecer sin fuentes externas de nitrógeno fijado.

Esterilización: Es la pérdida de viabilidad o la eliminación de todos los microorganismos contenidos en un objeto o sustancia, o su separación de acuerdo con el método empleado. Se entiende por pérdida de viabilidad a la pérdida irreversible de la capacidad de reproducción, sin que esto signifique necesariamente la destrucción o desaparición de la totalidad de las estructuras microbianas o de productos tóxicos derivados de estas. La eliminación se refiere a la separación de las estructuras microbianas presentes en un fluido (por ejemplo, por filtración).

Hongo biocontrolador: Es un hongo con la capacidad natural de repeler, matar o inhibir directa o indirectamente el desarrollo de insectos, ácaros, nematodos y otros hongos.

Hongo fitopatógeno: Microorganismo que origina y desarrolla una enfermedad directa o indirectamente en una planta.

Mechero Bunsen o mechero de alcohol: Son instrumentos utilizados en los laboratorios para calentar o quemar materiales.

Parásito: Organismo que vive sobre un organismo huésped o en su interior y se alimenta a expensas de este.

PDA: Son las siglas correspondeintes al medio de cultivo para hongos Agar Papa dextrosa.

Pipeta Pasteur: Elemento de laboratorio de material plástico utilizado para transferir pequeñas cantidades de líquidos.

Placa de Petri: Recipiente redondo y bajo, que puede ser de vidrio o plástico. Se utiliza para el crecimiento de microorganismos en los laboratorios.

Plaga: Grupo de organismos de origen bacteriano, animal o vegetal, que ataca y destruye los cultivos agrícolas y forestales.

Quelantes: Es una sustancia que capta, adhiere o forma complejos con iones metálicos presentes en la tierra.

Sideróforo: Un sideróforo es un compuesto quelante de hierro producido y liberado al suelo por algunos grupos de microorganismos.

Simbiosis: Asociación íntima de organismos de especies diferentes para beneficiarse mutuamente en su desarrollo vital.

Referencias bibliográficas

Alatorre, R.; Bravo, H.; Leyva, J. y Huerta, A. (2000). Manejo Integrado de Plagas. Secretaría de Agricultura, Ganadería. Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Subsecretaría de Desarrollo Rural, Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural.

Aydin, T.; Branco, M.; Güven, Ö.; Gonçalves, H.; Lima, A.; Karaca, İ .; Butt, T. (2018). Significant mortality of eggs and young larvae of two pine processionary moth species due to the entomopathogenic fungus Metarhizium brunneum. Biocontrol Science and Technology, 28(4), 317-331.

Blanco-Metzler, H. (2004). Las feromonas y sus usos en el manejo integrado de plagas. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología, 71, 112-118.

Charnley, A. K. (1997). Entomopathogenic fungi and their role in pest control. En: Wicklow D. T., Söderström M, editors. The mycota IV-environmental and microbial relationships (pp. 185-201). Berlim Heidelberg: Springer-Verlag.

De Lira, A. C.; Mascarin, G. M. y Júnior, Í. D. (2020). Microsclerotia production of Metarhizium spp. for dual role as plant biostimulant and control of Spodoptera frugiperda through corn seed coating. Fungal Biol. (En prensa.)

Faria, M. R. D. y Wraight, S. P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. Biological Control, 43, 237-256.

Fiorco, C.; Buono, S., y Giorgini, S. (2012). Guía de consulta: Enfermedades de tomate. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Digital.

Guía de trabajos prácticos. Cátedra de Microbiología general. Universidad Nacional de Misiones, Argentina. https://bit.ly/3iKkB9P.

Hajek, A. E. y Delalibera, I. (2010). Fungal pathogens as classical biological control agents against arthropods. BioControl, 55, 147-158.

Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of Trichoderma spp. Phytopathology, 96, 190-194.

Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant disease,87(1), 4-10.

Infante, D.; Martínez, B.; González, N. y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal, 24, 14-21.

Kulkarni, M.; Chaudhari, R. y Chaudhari, A. (2007). Novel tensio-active microbial compounds for biocontrol applicatins. En: Ciancio, A. y Mukerji, K. G. (eds.), General Concepts in Integrated Pest and Disease Management. Springer.

Laboratorio de Microbiología Agrícola. Agronomía Costarricense, 29(3), 143-144. https://bit.ly/3kabJMM.

Lacey, L. A.; Grzywacz, D.; Shapiro-Ilan, D. I.; Frutos, R.; Brownbridge, M. y Goettel, M. S. (2015). Insect pathogens as biological control agents: back to the future, J. Invertebr. Pathol, 132, 1-41.

Lepori, E.; Mitre, G. y Nassetta, M. (2013). Situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 29, 25-43.

Mitidieri, M. S. y Polack, L. A. (2012). Guía de monitoreo y reconocimiento de plagas, enfermedades y enemigos naturales de tomate y pimiento. Ediciones INTA.

Rojas-Gutiérrez, R. L.; Loza-Murguia, M.; Vino-Nina, L. y Serrano-Canaviri, T. (2017). Capacidad biocontroladora de Beauveria brongniartii (Sacc.) y Metarhizium anisopliae (Metsch.) en el control de pulgones Macrosiphum euphorbiae (Hemiptera: Aphididae). Journal of the Selva Andina Research Society, 8(1), 48-68.

Santos, A.; De Oliveira, A. y Samuels, R. (2007). Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of imidacloprid: perspectives for the control of the leaf-cutting ant Atta sexdens rubropilosa Forel (Hymenoptera: Formicidae). Mycopathologia, 163, 233-240.

Shah, P. A. y Pell, J.K. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. Applied Microbiology and Biotechnology, 61, 413-423.

Subramaniam, M. S. R.; Babu, A. y Deka, B. (2021). Lecanicillium lecanii (Zimmermann) Zare & Gams, as an efficient biocontrol agent of tea thrips, Scirtothrips bispinosus Bagnall (Thysanoptera: Thripidae). Egyp. J. Biol. Pest Co., 31, 1-14.

Tian, L. y Feng, M. G. (2006). Evaluation of the time-concentration-mortality responses of Plutella xylostella larvae to the interaction of Beauveria bassiana with a nereistoxin analogue insecticide. Pest Management Sciences, 62, 69-76.

Tortora, G. J.; Funke, B. R. y Case, C. L. (2012). Microbiologia. En: Microbiologia (pp. 934-934). Porto Alegre, Brasil, Artmed.

Vinale, F.; Sivasithamparam, K.; Ghisalberti, E.; Marra, R.; Woo, S. y Lorito, M. (2008). Trichoderma–plant–pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry, 40, 1-10.

ISBN 978-950-692-188-0

CIENCIA
EN TU VIDA

conicet.gov.ar
info@conicet.gov.ar

/CONICETDialoga

CCT Nordeste
nordeste.conicet.gov.ar

CONICET

Ministerio de Ciencia,
Tecnología e Innovación
Argentina