



ORIGINAL

Estimación de la biomasa fúngica en un suelo del sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina) con una tinción directa con blanco de calcoflúor



María B. Vázquez^{a,*}, Martín R. Amodeo^b y María V. Bianchinotti^{a,c}

^a CERZOS-CONICET, CCT-Bahía Blanca, Centro de Recursos Renovables de la Zona Semiárida, Centro Científico Tecnológico Bahía Blanca, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina

^b GEKKO, Grupo de Estudios en Conservación y Manejo, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina

^c Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina

Recibido el 14 de enero de 2016; aceptado el 31 de mayo de 2016

Disponible en Internet el 8 de septiembre de 2016

PALABRAS CLAVE

Biomasa fúngica;
Región pampeana;
Calcoflúor;
Epifluorescencia

Resumen Los microorganismos del suelo son vitales para el correcto funcionamiento de los ecosistemas, principalmente por su papel en el ciclado de nutrientes. La intensificación del uso del suelo y las prácticas agrícolas alteran negativamente la actividad microbiana. La biomasa fúngica es uno de los parámetros más utilizados para estudiar el impacto de las actividades agrícolas en la estructura y el funcionamiento del suelo. El objetivo del presente trabajo fue estimar la biomasa fúngica en un suelo del sudoeste bonaerense con el fin de obtener valores de referencia que permitan usar este parámetro como un indicador de cambios en el ecosistema y, por otro lado, demostrar que la metodología empleada es sensible a las variaciones en las condiciones climáticas. Se colectaron muestras de suelos durante 2 años consecutivos. Se prepararon frotis de suelo y se tiñeron con soluciones de distintas concentraciones de blanco de calcoflúor y luego se estimó la biomasa fúngica observando los frotis con microscopio de epifluorescencia. Los valores de biomasa fúngica estimados variaron entre 2,23 y 26,89 $\mu\text{g } C_{\text{fúngico}}/\text{g}$ de suelo y estuvieron dentro del rango esperable para el tipo de suelo estudiado. La biomasa fúngica mostró una relación positiva con la temperatura y las precipitaciones. La metodología empleada resultó ser confiable, repetible y sensible a cambios en las condiciones climáticas. Los resultados podrían usarse como valores de referencia para estudiar la biomasa fúngica de suelos bajo distintas condiciones y emplearse como indicadores del impacto de las distintas prácticas agrícolas sobre el ecosistema.

© 2016 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mbvazquez@criba.edu.ar (M.B. Vázquez).

KEYWORDS

Fungal biomass;
Argentinean pampas;
Calcofluor;
Epifluorescence

Fungal biomass estimation in soils from southwestern Buenos Aires province (Argentina) using calcofluor white stain

Abstract Soil microorganisms are vital for ecosystem functioning because of the role they play in soil nutrient cycling. Agricultural practices and the intensification of land use have a negative effect on microbial activities and fungal biomass has been widely used as an indicator of soil health. The aim of this study was to analyze fungal biomass in soils from southwestern Buenos Aires province using direct fluorescent staining and to contribute to its use as an indicator of environmental changes in the ecosystem as well as to define its sensitivity to weather conditions. Soil samples were collected during two consecutive years. Soil smears were prepared and stained with two different concentrations of calcofluor, and the fungal biomass was estimated under an epifluorescence microscope. Soil fungal biomass varied between 2.23 and 26.89 μg fungal c/g soil, being these values in the range expected for the studied soil type. The fungal biomass was positively related to temperature and precipitations. The methodology used was reliable, standardized and sensitive to weather conditions. The results of this study contribute information to evaluate fungal biomass in different soil types and support its use as an indicator of soil health for analyzing the impact of different agricultural practices.

© 2016 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Los microorganismos del suelo (bacterias y hongos) son una parte fundamental en ese ecosistema, ya que participan activamente en el ciclado de los nutrientes y en la descomposición de la materia orgánica muerta^{21,24}. Más del 50% de la biomasa microbiana del suelo está constituida por hongos, los cuales, además de su importancia como degradadores, contribuyen al mantenimiento de la estructura y la humedad de ese medio, con lo que se previene su erosión²¹.

La productividad de un sistema agrícola está fuertemente relacionada con la actividad microbiológica del suelo⁴³. A su vez, la intensificación del uso del suelo y las prácticas agrícolas alteran negativamente la actividad microbiana en el suelo^{4,31,41}. Por ende, el estudio de la biomasa y la actividad microbiana del suelo es relevante para comprender el impacto que las actividades agrícolas tienen sobre la estructura y el funcionamiento del ecosistema⁴.

El estudio de los hongos provenientes de muestras medioambientales es complejo, en parte porque las técnicas convencionales basadas en el uso de medios de cultivo son consideradas insuficientes a partir de un análisis exhaustivo de tales muestras. Muchos hongos son incapaces de crecer en condiciones de laboratorio o solo una pequeña fracción, inferior al 1%, es cultivable. Por ello, si bien las técnicas dependientes del cultivo fueron las preferidas en el pasado, en la actualidad se considera que por sí solas son insuficientes, ya que brindan información sesgada sobre la diversidad y biomasa fúngica del suelo²⁶. En consecuencia, la búsqueda de metodologías que permitan lograr estimaciones de biomasa confiables, independizándose del cultivo de los microorganismos, es relevante. Algunas técnicas proponen la cuantificación indirecta estimando parámetros como respiración y actividad enzimática o por medio de técnicas moleculares. Por otro lado, se han desarrollado metodologías basadas en conteo directo de los microorganismos a

partir de suspensiones homogenizadas de muestras de agua y suelo⁸.

La investigación de los hongos en el suelo presenta una dificultad adicional, debido a que pequeñas partículas componentes de suelo, como arcillas o clastos, interfieren en la observación de las muestras. Además de la complejidad inherente al suelo, las hifas tienen una distribución heterogénea en ese ambiente, esto implica que un manejo inadecuado de la muestras puede resultar en estimaciones erróneas²⁴.

La microscopía de fluorescencia se ha usado con éxito para realizar estimaciones de biomasa fúngica y a menudo ha llevado a mejores resultados que otras técnicas^{2,8,24,28}. El principio para realizar las estimaciones de biomasa fúngica en suelo utilizando microscopía de fluorescencia es muy sencillo: un volumen conocido de suspensión de suelo se monta sobre un área conocida de un portaobjetos y luego la muestra se tiñe con un colorante fluorescente seleccionado en función del tipo de muestra y del objetivo del estudio⁸. Existen distintos protocolos para realizar estimaciones de biomasa fúngica en muestras de suelo empleando microscopía de fluorescencia acoplada a tinciones específicas^{8,22,30,35,40}. Entre los colorantes más usados para evidenciar hifas fúngicas está el blanco de calcoflúor (5-[[4-anilino-6-bis(2-hydroxyethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-[(E)-2-[4-[[4-anilino-6-bis(2-hydroxyethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-sulfophenyl]ethenyl]benzenesulfonic acid), conocido comercialmente como Calcofluor White, Fluorescent Brightener 28 o Tinopal. Este fluorocromo tiñe las paredes celulares, haciéndolas lucir de color azul brillante cuando son observadas con epifluorescencia. Debido a que esta metodología es fácilmente aplicable, tiene bajo costo y puede emplearse sobre muestras fijadas, muchos laboratorios han comenzado a utilizarla para la observación y el recuento de hongos a partir de muestras

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4370390>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4370390>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)