

## ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA MICROBIOTA MODIFICADA POR EL USO DEL SUELO EN EL SUDESTE BONAERENSE

Facundo Marcos Valle, Claudia Castellari, Yolanda Andreoli, Alberto Díaz Delfino y Liliana Picone

Unidad Integrada Balcarce (FCA, UNMdP - EEA Balcarce, INTA)

E-mail: marcosvalle.facundo@inta.gob.ar

Recibido: 04/03/2021

Aceptado: 12/08/2021

### RESUMEN

El uso del suelo puede modificar las condiciones abióticas del mismo y afectar la comunidad microbiana, esencial para el funcionamiento de los ecosistemas. Los objetivos del presente trabajo fueron: (i) evaluar el impacto de diferentes usos del suelo sobre la abundancia de la microbiota edáfica cultivable, y (ii) determinar la distribución temporal y espacial de grupos microbianos edáficos para los diferentes usos. Se seleccionaron tres usos del suelo: agricultura continua (AC), monte de *Acacia* spp. (MA) y pastizal natural (PN). Se tomaron muestras de suelo en campos de Balcarce, provincia de Buenos Aires, en invierno y verano, a 0-5 y 5-20 cm de profundidad. Se cuantificó la población de bacterias aerobias totales, actinobacterias y hongos filamentosos, y se determinó el pH del suelo. Los grupos microbianos se clasificaron utilizando técnicas convencionales. El pH del suelo fue afectado por las interacciones uso\*época y uso\*profundidad. El recuento de los grupos microbianos fue afectado por la interacción uso\*época. En AC, el recuento de bacterias aerobias totales y hongos fue menor en el invierno y mayor en el verano comparado con PN y MA. El número de actinobacterias fue mayor en MA que en PN durante el invierno, mientras que en el verano no se observaron diferencias entre usos del suelo. El recuento de los grupos microbianos disminuyó con la profundidad del perfil de suelo. Entre los 5-20 cm, predominaron las bacterias Gram positivas. La estructura de la comunidad de hongos fue dominada por especies pertenecientes a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*.

**Palabras clave:** hongos filamentosos, actinobacterias, agricultura continua, pastizal natural, monte de *Acacia* spp.

## ABUNDANCE AND DISTRIBUTION OF THE MICROBIOTA MODIFIED BY LAND USE IN SOUTHEAST BUENOS AIRES

### SUMMARY

Soil use can modify the abiotic conditions of soil and affect the microbial community, essential for the functioning of the ecosystems. The objectives of the present work were: (i) to evaluate the impact of different soil use on the abundance of cultivable edaphic microbiota, and (ii) to determine the temporal and spatial distribution of microbial groups for different uses. Three soil uses were selected: continuous agriculture (AC), *Acacia* spp. forest (MA) and natural pasture (PN). Soil samples were taken in fields of Balcarce, province of Buenos Aires, in winter and summer, at 0-5 and 5-20 cm deep. Populations of total aerobic bacteria, actinobacteria and filamentous fungi were quantified, and soil pH was determined. The microbial groups were classified using conventional techniques. Soil pH was affected by the interaction between use\*sampling time and by the interaction between use\*soil profile. The count of microbial groups depended on the interaction between use\*sampling time. For total aerobic bacteria and fungi, count in AC was lower in winter and higher in summer, with respect to PN and MA. The number of actinobacteria was higher in MA than in PN during winter while no differences were observed between soil uses in summer. The count of microbial groups decreased with the depth of soil profile. Between 5-20 cm, Gram positive bacteria predominated. The structure of fungal community was dominated by species belonging to genera *Penicillium* and *Aspergillus*.

**Key words:** filamentous fungi, actinobacteria, continuous agriculture, prairie, *Acacia* spp. forest.

## INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los ecosistemas más diversos del planeta, en el cual numerosas especies de microorganismos se desarrollan en microambientes con características físicas y químicas propias que difieren espacial (Ettema y Wardle, 2002) y temporalmente (Bardgett *et al.*, 2005). Los microorganismos del suelo representan una fracción considerable de la biomasa viva ( $10^3$ - $10^4$  kg ha<sup>-1</sup>) en la capa superficial (primeros 30 cm) de la Tierra (Fierer *et al.*, 2007). Estos llevan a cabo funciones esenciales ya que participan en las transformaciones de diferentes compuestos orgánicos y nutrientes (e.g. C, N, P y S), afectando, por lo tanto, la disponibilidad de estos para la nutrición vegetal. Además, contribuyen en la formación de los agregados del suelo (Six *et al.*, 2006), favoreciendo la productividad de los ecosistemas terrestres (Wardle, 1992). En los sistemas agrícolas existen microorganismos que adquieren relevancia a través de la supresión de patógenos específicos que infectan las plantas (Van Elsas *et al.*, 2002), establecen asociaciones simbióticas y no simbióticas con las raíces de plantas, y participan de la degradación de xenobióticos y contaminantes orgánicos introducidos en el suelo (Das *et al.*, 2003). Estas y otras funciones de la microbiota del suelo contribuyen a la resiliencia de los ecosistemas frente al disturbio provocado por factores bióticos y/o abióticos (Brussaard *et al.*, 2007).

El desarrollo de los microorganismos del suelo depende de numerosos factores. Las propiedades del suelo como textura, pH y fertilidad tienen un impacto significativo en la estructura de la comunidad microbiana (Fierer y Jackson, 2006). En relación con el pH del suelo, Bitton *et al.* (1974) indicaron que el mismo incide sobre la densidad de microorganismos edáficos donde la mayor parte de bacterias, y específicamente las actinobacterias, se desarrollan mejor a pH neutro y ligeramente alcalino; en cambio, los hongos se desarrollan a un pH más amplio (Fassbender, 1982). El tipo de labranza y el manejo de los residuos vegetales también afectan la composición de la comunidad microbiana (Mathew *et al.*, 2012). Diversos estudios indican que los microorganismos edáficos son alterados debido a la perturbación física de acuerdo al tipo de labranza, el manejo de residuos vegetales, la presencia de nutrientes en superficie y la humedad del suelo (Rodríguez-Echeverría, 2009; Ceja-Navarro *et al.*, 2010; Mathew *et al.*, 2012; Navarro-Noya *et al.*, 2013; Degruno *et al.*, 2017). Estas variables son, a su vez, influenciadas por las prácticas de manejo y los usos que presenten los suelos. Sin

embargo, existen conclusiones contradictorias y los autores, en general, concluyen que debe analizarse cada condición y zona geográfica en particular.

En este contexto, resulta necesario comprender el efecto de los diferentes usos del suelo sobre la abundancia y diversidad de los grupos microbianos en un establecimiento agrícola-ganadero ubicado en el partido Balcarce, una de las zonas productivas más importantes de la Argentina. Esto permitiría no sólo evaluar el impacto sobre los mismos, sino diseñar prácticas de manejo que propicien el desarrollo de los microorganismos, dado que cumplen un rol importante en el mantenimiento de la calidad del suelo y, por lo tanto, de los sistemas agropecuarios.

Los objetivos del presente trabajo fueron: (i) evaluar el impacto de diferentes usos del suelo sobre la abundancia de microorganismos, (ii) identificar, mediante taxonomía convencional, bacterias aerobias mesófilas totales, hongos filamentosos y actinobacterias, y (iii) determinar la distribución temporal y espacial de dichos grupos microbianos para los diferentes usos del suelo. Para ello, se tomaron muestras en suelos con historias de usos contrastantes: agricultura continua (AC), monte de *Acacia* sp. (MA) y pastizal natural (PN). Con la finalidad de realizar comparaciones, se determinó la humedad y el pH de las muestras de suelo recolectadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Descripción del área de estudio y sitios de muestreo

El estudio se llevó a cabo en 2013/2014 en un establecimiento agrícola-ganadero ubicado en el partido de Balcarce (37°43'59" S; 58°14'30" O; 163 m.s.n.m.), al sudeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. El suelo del área de estudio está clasificado como un complejo de Argiudol típico fino, mixto, térmico (Serie Mar del Plata) y Paleudol petrocálcico fino, illítico, térmico (Serie Balcarce) (INTA, 1979). Las principales limitantes de este tipo de suelo son la susceptibilidad a la erosión hídrica debido a la alta pendiente (< 10%), y la limitada profundidad efectiva por la presencia de tosca cerca de la superficie del suelo (Rodríguez *et al.*, 2015). El clima de la región es mesotermal, subhúmedo húmedo, caracterizado por tener una temperatura media diaria que promedia los 14 °C (Estación Meteorológica - EEA, Balcarce, INTA).

El estudio incluyó tres usos del suelo contrastantes ubicados en el mismo sitio (aptitud mixta y sin diferencias de suelo o microclima): agricultura continua (AC),

monte con predominio de *Acacia* spp. (MA) y pastizal natural (PN). AC incluyó en la secuencia cultivos anuales como girasol (*Helianthus annuus* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), maíz (*Zea mays* L.) y soja (*Glycine max* L.), todos implantados bajo siembra directa (SD) desde mediados de la década de los 90, siendo la rotación de cultivos girasol/trigo/maíz/trigo/soja. El MA se originó por el carácter invasivo de *Acacia melanoxylon* R.Br. que hizo que los ejemplares se propagaran espontáneamente a partir de algunas plantas colocadas al pie de las sierras, aproximadamente en la década de los 40, sin fines comerciales. El PN es un ambiente natural con mínima actividad antrópica, caracterizado por tener especies vegetales propias de una flora principalmente nativa, compuesta por: *Baccharis coridifolia* D.C., *Bothriochloa laguroides* D.C., *Carduus acanthoides* L., *Conyza bonariensis* (L.), *Eryngium floribundum* Cham. y Schltdl., *Glandularia* sp. J.F. Gmel., *Paspalum dilatatum* Poir., *Senecio madagascariensis* Poir., *Stipa* sp. Ruíz y Pav. y *Trifolium pratense* L. (Ispizúa, com. person.).

En cada tratamiento se seleccionó un área homogénea, en base al relieve y pendiente, y los puntos de muestreo fueron georreferenciados con GPS (Etrex Legend H, Garmin®, México) en dos épocas del año (invierno -julio 2013- y verano -febrero 2014-). En cada uso de suelo (tratamiento), se tomaron cuatro muestras compuestas de suelo (repeticiones) de aproximadamente 2 kg cada una. El muestreo dentro de cada sitio se realizó al azar garantizando la representatividad debido a que los mismos eran muy homogéneos dentro de cada uso. Se utilizó un barreno de 2 cm de diámetro. Las submuestras fueron separadas en dos profundidades: 0-5 y 5-20 cm obteniendo un total de 48 muestras. Las muestras se mantuvieron refrigeradas durante el tiempo de muestreo, y mantenidas a 4 °C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Microbiología de Suelos y Alimentos de la Unidad Integrada Balcarce (EEA Balcarce del INTA - FCA, UNMdP).

### Determinaciones fisicoquímicas de laboratorio

A partir de las muestras de suelo de cada tratamiento, época de muestreo (invierno y verano) y profundidad (0-5 y 5-20 cm), se midió humedad mediante el método gravimétrico tomando la muestra de suelo, pesando antes y después de su secado (en estufa a 105 °C) y calculando su contenido de humedad (Hillel, 1998); y pH (Thomas, 1996; utilizando un pHmetro Oakton, modelo Wd-35614-23). Los valores de humedad obtenidos fueron además utilizados para corregir los recuentos

microbianos y expresarlos como unidades formadoras de colonia (UFC g<sup>-1</sup> de suelo seco), ya que el análisis microbiológico se realizó sobre las muestras de suelo con el contenido de humedad original que las muestras tenían a campo.

### Recuento y clasificación de grupos microbianos

Se evaluaron tres grupos microbianos:

**(i) Bacterias Aerobias Mesófilas Totales (BAMT):** el recuento se realizó mediante el método de dilución seriada al décimo en tubos de 14 mm de diámetro y 145 mm de largo (Finegold y Baron, 1989). Se utilizó una solución madre para cada muestra de suelo (n= 48). Estas soluciones fueron obtenidas diluyendo 10 g de suelo fresco en 90 ml de agua peptonada estéril (peptona: 1 g l<sup>-1</sup> Britania®) y homogenizadas en un agitador horizontal durante 20 min a 140 rpm y a partir de las mismas se realizaron las diluciones seriadas en tubo hasta 10<sup>-5</sup>. Se sembró 1 ml de cada dilución por la técnica de placa vertida en placas de Petri (90 mm de diámetro) conteniendo Agar Nutritivo (AN) (Britania®), medio de cultivo no selectivo (APHA, 1981). Las placas se incubaron en forma invertida en estufa a 28 °C durante 24 a 48 h. De las placas de recuento se aislaron aquellas colonias que presentaron diferencias macroscópicas, se purificaron en medio de cultivo AN y se clasificaron a través de la coloración de Gram, morfología y presencia de estructuras de resistencia (Marcos Valle, 2015).

**(ii) Actinobacterias:** para el recuento, 100 µl de las distintas diluciones fueron sembradas en superficie de placas de Petri conteniendo el medio de cultivo específico Kuster (composición por l de agua destilada: 10 g almidón, 0,3 g caseína, 2 g KNO<sub>3</sub>, 2 g ClNa, 2 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 50 mg SO<sub>4</sub>Mg.7H<sub>2</sub>O, 20 mg CaCO<sub>3</sub>, 10 mg FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O y 12 g agar bacteriológico) (Britania®). Las placas se incubaron de forma invertida a 28 °C en estufa durante cinco a siete días, y posteriormente se efectuó el recuento de las colonias.

**(iii) Hongos filamentosos y levaduras:** para la cuantificación de la población fúngica edáfica viable cultivable, se realizaron diluciones seriadas al décimo de cada muestra de suelo (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup>) y se sembraron 100 µl de cada una, por la técnica de siembra en superficie en placas de Petri conteniendo el medio de cultivo Agar Papa Glucosado (APG, Britania®) según Finegold y Baron (1989). Las placas sembradas se incubaron de forma invertida en oscuridad en estufa a 28 °C. Transcurrido cinco a siete días, se realizó el recuento de colonias.

Aquellas colonias que presentaron diferencias macroscópicas de tamaño, color, borde y elevación fueron aisladas y purificadas en el medio APG según el protocolo de Pitt y Hocking (2009). Los aislamientos se conservaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  en una solución de glicerol (BioPack®) al 35% (v/v) hasta su identificación, la cual se realizó empleando claves de taxonomía convencional, a partir de la caracterización en diferentes medios de cultivo incubados a distintas temperaturas. Los medios y temperaturas utilizados fueron: Agar Czapek con Extracto de Levadura (CYA), Agar Nitrato con 25% de Glicerol (G25N) y Agar con Extracto de Malta (MEA) e incubación a 5, 25 y  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante siete días. Para la caracterización de especies de los géneros *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. y *Eurotium* spp. se consideraron las claves taxonómicas de Samson *et al.* (1995), Kirk *et al.* (2001), Samson y Frisvad (2004), Pitt y Hocking (2009) y Visagie *et al.* (2014). Para identificar los aislamientos de *Fusarium* spp. se empleó el manual ilustrado de Nelson *et al.* (1983) y los procedimientos de Summerell *et al.* (2003) que incluyeron la siembra en medio Agar Spezieller Nährstoffarmer (SNA) e incubación a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante siete días, con el objetivo de visualizar en lupa las cadenas de conidios.

### Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se consideró un diseño completo aleatorizado (DCA) con un análisis factorial que contempló los factores uso del suelo, profundidad de muestreo y época del año, a través del ajuste de modelos lineales y del análisis de la varianza (ANOVA). Cuando se detectó la significancia se realizó el test HSD (*Honestly-Significant-Difference*) de Tukey (nivel de significancia 5%) para comparar las medias de los tratamientos. Se empleó el paquete "agricolae" (De Mendiburu, 2013) del programa estadístico R (versión 3.0.0, 2013). Para estabilizar la varianza, los datos fueron previamente transformados logarítmicamente ( $\log_{10}$  UFC  $\text{g}^{-1}$ ) según Clewer y Scarisbrick (2001).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### El pH del suelo

El pH del suelo es una propiedad compleja influenciada por el clima, la vegetación, el manejo y la capacidad buffer del suelo (Nelson y Su, 2010). Los valores de pH de suelo de las muestras analizadas variaron entre 5,81 y 5,93 a 0-5 cm de profundidad, y entre 5,79 y 5,91 a 5-20 cm. Estos valores son similares a los reportados por Rodríguez *et al.* (2015) en el mismo sitio de estudio

(pH entre 5,9 y 6,4) y por Sainz Rosas *et al.* (2011), quienes reportan valores de pH promedio de 6,2 para el sudeste bonaerense.

El pH fue afectado significativamente por la época de muestreo ( $P=0,002$ ), y por las interacciones uso\*época ( $P=0,023$ ) y uso\*profundidad ( $P=0,0004$ ). De igual manera que lo reportado por Rodríguez *et al.* (2015) en el mismo sitio de estudio, no se detectaron diferencias en pH del suelo entre los tres usos del suelo durante el invierno. Sin embargo, el pH del suelo bajo MA resultó significativamente inferior ( $P<0,05$ ) a los dos restantes usos durante el verano (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Variación de pH del suelo bajo distintos usos del suelo: pastizal natural (PN), agricultura continua (AC) y monte de *Acacia* spp. (MA) para dos profundidades (0-5 y 5-20 cm), y dos épocas (invierno y verano) de muestreo.

Uso del suelo	Profundidad de muestreo		Época de muestreo	
	0-5 cm	5-20 cm	Invierno	Verano
PN	5,81 b	5,91 a	5,79 a	5,93 a
AC	5,93 a	5,79 b	5,80 a	5,91 a
MA	5,81 b	5,83 b	5,83 a	5,81 b

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ( $P<0,05$ ) en pH entre usos del suelo para cada profundidad y para cada época de muestreo.

De acuerdo con Richter y Markewitz (1995), la mayor acidez en MA durante el verano (Cuadro 1) podría explicarse por la producción de ácidos orgánicos durante la descomposición de los residuos vegetales y de ácido carbónico como consecuencia de tasas altas de respiración autótrofa. Otra posible fuente de acidez en MA podría ser la acumulación de residuos vegetales en superficie. La exposición de estos tejidos a las altas temperaturas del verano podría haber acelerado su tasa de degradación. Esto sumado a que los árboles pueden almacenar cationes en exceso en la biomasa y en la capa de hojarasca que se equilibra con protones en el suelo (Jobbagy y Jackson, 2003), podría determinar una disminución en los valores del pH del suelo en sintonía con lo registrado en este trabajo.

En el caso de la interacción uso\*profundidad, de 0 a 5 cm, los valores de pH medidos para PN y MA fueron inferiores ( $P<0,05$ ) que para AC (Cuadro 1). De 5 a 20 cm, el pH para MA y AC fue menor que para PN. Esto sugiere que los residuos de gramíneas que caen periódicamente en los pastizales naturales (PN), así como la

capa de hojarasca que se acumula en superficie en MA, al descomponerse generarían ácidos orgánicos, y junto con aquellos ácidos sintetizados por las plantas contribuirían a la disminución del pH en superficie. Por otro lado, la composición de cationes y aniones que están en las hojas de los árboles varía ampliamente entre especies arbóreas, por lo que sería lógico observar diferencias en los valores alcanzados por el pH, de acuerdo con la composición de especies (Noble y Randall, 1999). No obstante, los ácidos orgánicos y sus formas aniónicas dominan la solución de los suelos forestales, en la superficie del perfil (Richter y Markewitz, 1995). Son fuentes de acidez el proceso de nitrificación, la fijación de nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) en algunas leguminosas y la asimilación de amonio por las plantas que excretan protones (Rengel, 2003). Por lo tanto, la dirección y magnitud del pH podrían reflejar el balance entre nitrificación y amonificación, así como diferencias en la absorción de iones por las plantas. De los resultados presentados, se evidencia que a 5-20 cm de profundidad se favorecieron los procesos que generaron mayor acidez en MA y AC (Cuadro 1). Asimismo, en los sistemas agrícolas la acidificación se acelera con la extracción de nutrientes básicos (Ca y Mg) del suelo que van a la planta y los granos (Barbosa Filho *et al.*, 2005). La nitrificación de los fertilizantes nitrogenados aplicados también acelera la acidificación del suelo y la intensidad de dicho proceso depende de la fuente de N, del lavado de nitratos y la asimilación de N por parte del cultivo (Tarkalson *et al.*, 2006).

A pesar de las diferencias estadísticas obtenidas entre los usos del suelo evaluados, la magnitud de las variaciones en los valores de pH no evidencian una alteración considerable que puedan afectar la movilidad de los iones en el suelo, la precipitación y disolución de minerales, las reacciones redox, el intercambio iónico, la actividad microbiana y la disponibilidad de nutrientes para la nutrición vegetal (Osorio-Vega, 2009). Estos resultados coinciden en líneas generales con lo reportado por Rodríguez *et al.* (2015).

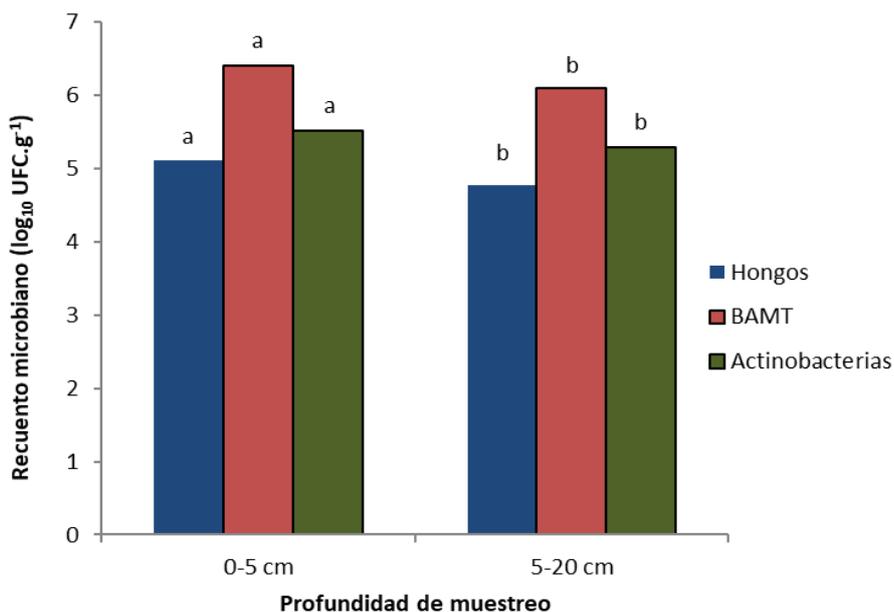
### Recuento de grupos microbianos edáficos cultivables

La abundancia de bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT), actinobacterias y hongos filamentosos fue significativamente afectada por la profundidad de muestreo ( $P= 0,007$ ,  $0,05$  y  $0,001$ , respectivamente), siendo mayor a 0-5 cm que a 5-20 cm (Figura 1). Estos resultados son consistentes con los obtenidos por Krishna *et*

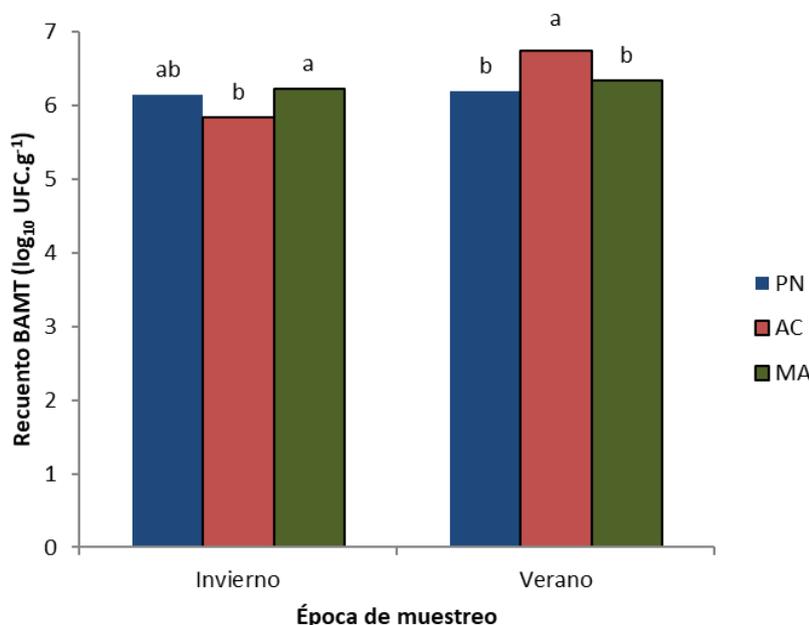
*al.* (2012) en Kerala (República de la India) quienes evaluaron la carga microbiana en los estratos 0-10, 10-20 y 20-30 cm y reportaron también una disminución en la carga de bacterias, actinobacterias y hongos con la profundidad. Debido a que las propiedades fisicoquímicas más importantes de los suelos (temperatura y humedad del suelo, contenido de carbono orgánico y disponibilidad de nutrientes como N, P y K) varían con la profundidad (Krishna *et al.*, 2012) resulta predecible que la composición de la comunidad microbiana cambie a través del perfil del suelo.

La presencia de microorganismos en el suelo es variable, pero sigue la tendencia que a mayor profundidad disminuye el recuento microbiano. Una posible explicación al patrón observado (Figura 1), es que buena parte de los microorganismos que se aíslan en medio de cultivos agarizados son heterótrofos y aeróbicos, y con la profundidad los compuestos carbonados y el  $O_2$  disminuyen (Osorio-Vega, 2009). En consecuencia, una menor disponibilidad de carbono orgánico total (COT) en profundidad limitaría la abundancia de las poblaciones microbianas. El pH del suelo no varió con la profundidad del perfil ( $P > 0,05$ ). Para el mismo sitio de estudio, Rodríguez *et al.* (2015), indicaron cambios en la disponibilidad de C y N con la profundidad del perfil. Estos autores reportaron valores de contenido de carbono orgánico total (COT), de 31,4-54,4 g  $kg^{-1}$  a 0-5 cm de profundidad y de 29,6-35,3 g  $kg^{-1}$  a 5-20 cm de profundidad. Aunque los valores dependieron del uso y manejo del suelo (por ello los rangos), estos datos muestran una disminución significativa del contenido de COT con la profundidad. De igual manera, Rodríguez *et al.* (2015) registraron valores de N potencialmente mineralizable (Nan) a 0-5 cm (entre 80,7 y 235,1 mg  $kg^{-1}$ ) mayores que a 5-20 cm (entre 58,5 y 117,8 mg  $kg^{-1}$ ), sin embargo, en ambos estratos el mayor valor indicado correspondió al PN. Los resultados previamente reportados por Rodríguez *et al.* (2015) para el sitio de estudio del presente trabajo coinciden con la mayor abundancia de BAMT, actinobacterias y hongos filamentosos medidas a 0-5 cm en comparación de lo registrado a 5-20 cm en el presente estudio (Figura 1).

Los recuentos de los tres grupos microbianos fueron también afectados significativamente por la interacción entre el uso del suelo y época de muestreo ( $P= 0,003$ ,  $0,001$  y  $0,0001$ , para BAMT, actinobacterias y hongos filamentosos, respectivamente). En invierno, la abundancia de BAMT fue superior en MA y el menor recuento se registró en AC (Figura 2). En verano, el recuento de



**Figura 1.** Recuento de hongos, bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT) y actinobacterias, expresado como log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, en función de la profundidad de muestreo (0-5 y 5-20 cm). Letras diferentes indican diferencias significativas (P < 0,05) en el recuento de cada grupo microbiano para cada una de las profundidades de muestreo.



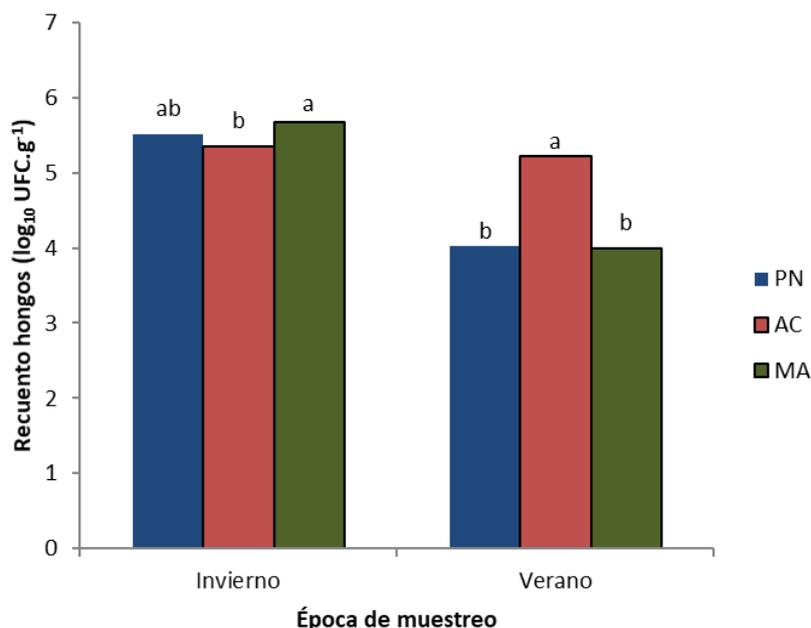
**Figura 2.** Recuento de bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT), expresado como log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, en suelos bajo pastizal natural (PN), agricultura continua (AC) y monte de *Acacia* (MA) durante el invierno y verano. Letras diferentes, sobre cada columna, indican diferencias significativas (P < 0,05) en el recuento de BAMT entre los usos del suelo en cada época de muestreo.

BAMT fue superior en AC, en comparación con PN y MA, las cuales no difirieron entre sí (Figura 2). El recuento de hongos mostró la misma tendencia que el de BAMT, en las dos épocas de muestreo (Figura 3), pero no así el recuento de actinobacterias (Figura 4). En invierno, no se observaron diferencias en el recuento de actinobacterias entre PN y AC ni entre PN y MA, pero el recuento en MA fue superior al obtenido en PN. En verano, la abundancia de actinobacterias no difirió entre los usos PN y MA, pero resultó superior la registrada en AC.

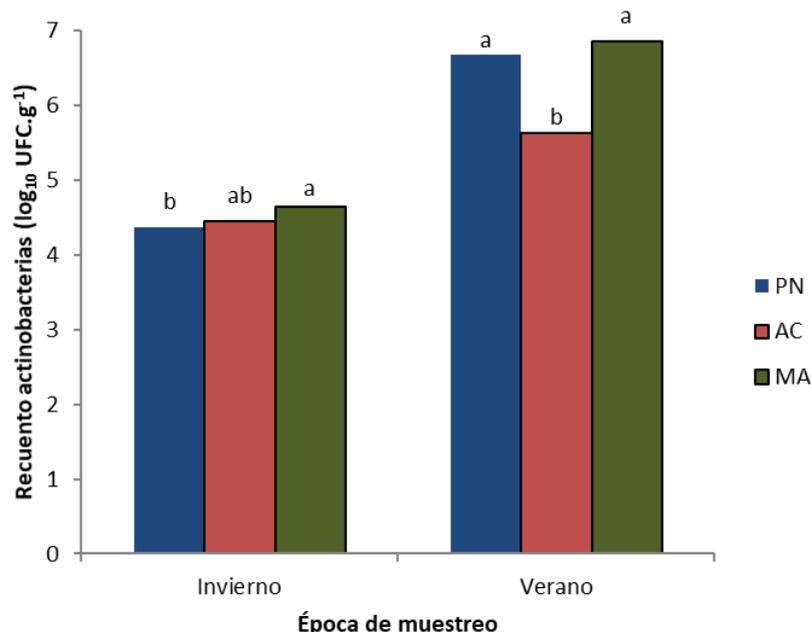
Si bien la vegetación presente en la superficie puede afectar la composición de la comunidad microbiana subyacente (Carney y Matson, 2006), parecería que el tipo de vegetación no fue un factor determinante ya que PN

y MA registraron recuentos similares de bacterias (BAMT), hongos y actinobacterias (Figuras 1, 2 y 3). El MA es un sistema donde la vegetación predominante son árboles mientras que PN se caracteriza por una combinación de especies con fenología similar, megatérmicas (C4) y microtérmicas (C3), que permite el aprovechamiento estivo-otoñal de las primeras e inverno-primaveral de las últimas. La proporción de especies de cada grupo varía con el clima, la condición del pastizal, su utilización y provee de forraje verde todo el año (Martín, 2019).

Los recuentos microbianos tampoco habrían sido afectados por las diferencias en las propiedades edáficas como el contenido de COT y Nan determinados en



**Figura 3.** Recuento de hongos, expresado como  $\log_{10}$  UFC  $g^{-1}$ , en suelos bajo pastizal natural (PN), agricultura continua (AC) y monte de *Acacia* (MA) durante el invierno y verano. Letras diferentes, sobre cada columna, indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el recuento de hongos entre los usos del suelo en cada época de muestreo.



**Figura 4.** Recuento de actinobacterias, expresado como  $\log_{10}$  UFC  $g^{-1}$ , en suelos bajo pastizal natural (PN), agricultura continua (AC) y monte de *Acacia* (MA) durante el invierno y verano. Letras diferentes, sobre cada columna, indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el recuento de actinobacterias entre los usos del suelo en cada época de muestreo.

diferentes usos del suelo por Rodríguez *et al.* (2015) en los mismos sitios de estudio que el presente trabajo. El PN y el MA mantuvieron una misma vegetación y no fueron perturbados durante los últimos 50 años. Estos resultados coincidieron con Jangid *et al.* (2011) quienes observaron que las comunidades microbianas eran similares en el bosque y pastizal de más de 50 años, a pesar de presentar diferencias en las propiedades del suelo y vegetación. Los autores determinaron además que a los 17 años de implantado el bosque después de un cultivo, la composición de la comunidad microbiana fue más similar a la del suelo con uso agrícola que a la de la pastura, a pesar de ser la vegetación muy distinta entre el

bosque y cultivo. Por el contrario, en agricultura continua (AC) el suelo es alterado continuamente por las prácticas agrícolas tales como la secuencia de cultivos, las labranzas, el barbecho, la cobertura de residuos, el riego y la aplicación de agroquímicos. Coincidiendo con Jangid *et al.* (2011), la historia del manejo del suelo parecería tener mayor influencia sobre la composición de la comunidad microbiana que la vegetación presente en superficie y las propiedades del suelo. Por el contrario, Lauber *et al.* (2008) mostraron que la variabilidad en los factores edáficos en un mismo paisaje tenía un efecto significativo en la estructura de la comunidad microbiana, parámetro sugerido como un indicador sensible para

medir el impacto de los diferentes sistemas productivos (Abril, 2003). Además, comparando parámetros químicos como el contenido de materia orgánica de los suelos, aunque está muy relacionado a la actividad biológica edáfica, los parámetros biológicos resultan ser más sensibles ya que el contenido de materia orgánica varía muy lentamente en el tiempo y solo es posible detectar cambios a largo plazo (Lal, 1998; Arshad y Martin, 2002).

### Clasificación de grupos microbianos edáficos

A partir de las muestras analizadas correspondientes a los tres usos del suelo, se obtuvieron 25 aislamientos bacterianos con características macroscópicas de colonias diferentes, correspondiendo el 60% a bacterias Gram positivas y el resto a Gram negativas. Por otro lado, el 88% de los aislamientos presentaron morfología bacilar (40% presentaron endosporas) y solo el 12% de los aislamientos presentó morfología de cocos. La distribución de bacterias Gram positivas y Gram negativas dentro del perfil de suelo, en las tres situaciones evaluadas, fue de igual proporción a 0-5 cm de

profundidad y predominancia de Gram positivas (70%) a 5-20 cm. Estos resultados son similares a los patrones observados en otros suelos (franco arenoso y franco fino mixto del estado de Indiana, EE.UU.), en los cuales la población de bacterias Gram positivas predominan a mayores profundidades (Blume *et al.*, 2002). Esto podría ser explicado por las observaciones de Kramer y Gleixner (2006) quienes demostraron que las bacterias Gram positivas prefieren el carbono derivado de la materia orgánica del suelo mientras que las Gram negativas tienden a depender del carbono de bajo peso molecular como el de los compuestos exudados por las raíces de las plantas.

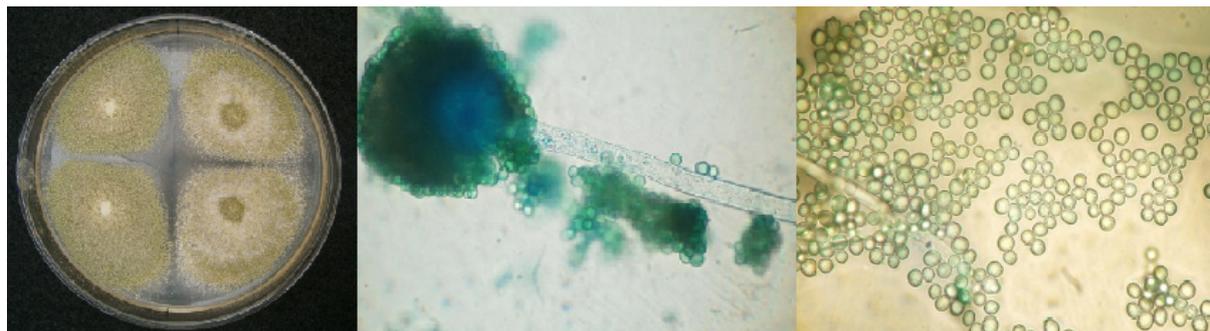
Respecto de los hongos, se obtuvieron 33 aislamientos basados en diferentes características macroscópicas de las colonias y microscópicas de las estructuras somáticas y reproductivas, donde el 66,67% fue aislado del estrato superior (0-5 cm) indicando una mayor diversidad fúngica en los primeros centímetros de profundidad. El metabolismo respiratorio de los hongos filamentosos explicaría la mayor presencia de hongos a escasa profundidad del suelo. Se identificaron ocho géneros de



Figura 6. *Talaromyces funiculosus* crecido en MEA a 25 °C por siete días. De izquierda a derecha: superficie de colonia, reverso de colonia, conidióforos biverticilados y conidios (400X).



Figura 7. *Aspergillus niger* crecido en APG a 25 °C por siete días. De izquierda a derecha: superficie de colonia, reverso de colonia, cabezuelas con conidios (40X y 400X).



**Figura 8.** *Aspergillus flavus* crecido en MEA a 25 °C por siete días. De izquierda a derecha: superficie de colonia, detalle de conidióforo vesiculado, 400X, conidios (1000X).

hongos filamentosos: *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Cladosporium* sp., *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp. y *Eurotium* sp. (*syn. Aspergillus* subgénero *Aspergillus*, Houbraken et al., 2014). El mayor número de especies correspondió a *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp., identificando *Penicillium citrinum* (Figura 5), *Talaromyces funiculosus* (*syn. P. funiculosum*; Yilmaz et al., 2014) (Figura 6), *P. simplicissimum*, *P. olsonii*, *A. niger* (Figura 7), *A. flavus* (Figura 8), *A. ochraceus* y *A. terreus*.

Los resultados no evidenciaron asociaciones entre una o varias especies fúngicas y el uso del suelo. Estas observaciones pueden ser explicadas por el carácter ubicuo de todas las especies aisladas, su ocurrencia y coexistencia en amplios rangos de temperatura, humedad, tensión de O<sub>2</sub> (factores extrínsecos), compuestos usados como fuentes de carbono (factores intrínsecos) y relaciones intra e interespecíficas (factores implícitos) (Castellari, 2017). Esto permitiría que las especies fúngicas en cuestión estén asociadas a estrategias de sobrevivencia y ocupación de nichos en diferentes ambientes (Castellari, 2017).

En resumen, los resultados obtenidos en la presente investigación con variables como la abundancia y/o composición de los grupos microbianos edáficos cultivables en función del uso del suelo evidencian, una vez más, el efecto de la actividad antropogénica sobre la biología del suelo como así también la variación espacial y temporal de los indicadores microbiológicos edáficos.

Estos resultados adquieren mayor relevancia por coincidir con datos reportados por investigaciones similares realizadas en el sudeste bonaerense en los últimos años (Marcos Valle et al., 2014; Aguilar et al., 2018; Iparraquirre et al., 2018; Guangioli et al., 2019; Marcos Valle et al., 2019).

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que el uso del suelo, considerando la época de muestreo, afectó la abundancia de los grupos microbianos edáficos viables cultivables. El recuento de bacterias aerobias mesófilas totales, hongos filamentosos y actinobacterias fue similar entre el pastizal natural y el monte de *Acacia* diferenciándose del suelo bajo agricultura continua, sistema que está sujeto a alteraciones constantes por la intervención antropogénica. Considerando el perfil de suelo, el recuento de los tres grupos microbianos disminuyó con la profundidad.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco de los Proyectos de Investigación denominados "Evaluación de comunidades microbianas como indicadores del uso del suelo" (AGR 429/14) y "Efecto de la agricultura continua sobre las poblaciones microbianas en el sudeste bonaerense" (AGR 487/16), ambos financiados por la Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP).

## BIBLIOGRAFÍA

- Abril, A. (2003). ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecol. Austral*, 13: 195-204.
- Aguilar, J. R., Marcos Valle, F., Videla, C., Castellari, C. y Di Gerónimo, P. (2018). Variables microbiológicas y químicas en diferentes usos del suelo en un agroecosistema del sudeste bonaerense. Jornada de Agroecología. "Primeros pasos... transición hacia la agroecología". 24 de octubre de 2018, Unidad Integrada Balcarce, Balcarce, Argentina.
- American Public Health Association-APHA. (1981). *Standard methods for the examination of Water and wastewater*. 15a ed. (pp. 1286). Washington, DC, Estados Unidos: Federation, Water Environmental, and APH Association.

- Arshad, M. A. y Martin, S. (2002). Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 88: 153-160.
- Barbosa Filho M. P., Fageria N. K. y Pfeilsticker Zimmermann, F. J. (2005). Atributos de fertilidade do solo e produtividade do feijoeiro e da soja influenciados pela calagem em superfície e incorporada. *Cienc Agrotec.*, 29: 507-514.
- Bardgett, R. D., Usher, M. B. y Hopkins, D. W. (2005). *Biological Diversity and Function in Soils*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Bitton, G., Lahav, N. y Henis, Y. (1974). Movement and retention of *Klebsiella aerogenes* in soil columns. *Plant & Soil*, 40: 373-380.
- Blume, E., Bischoff, M., Reichert, J., Moorman, T., Konopka, A. y Turco, R. (2002). Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Appl Soil Ecol.*, 20 (3): 171-181.
- Brussaard, L., de Ruiter, P. C. y Brown, C. G. (2007). Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agr, Ecosyst & Environ.*, 121 (3): 233-244.
- Carney, K. M. y Matson, P. A. (2006). The influence of tropical plant diversity and composition on soil microbial communities. *Microb Ecol.*, 52 (2): 226-238.
- Castellari, C. (2017). Factores determinantes en el desarrollo de poblaciones fúngicas micotoxigénicas en granos de maíz (*Zea mays* L.) almacenados en bolsas plásticas herméticas. Tesis Doctoral. Facultad Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. Argentina. 373 p.
- Ceja-Navarro, J. A., Rivera-Orduna, F. N., Patino-Zuniga, L., Vila-Sanjurjo, A., Crossa, J., Govaerts, B. y Dendooven, L. (2010). Phylogenetic and multivariate analyses to determine the effects of different tillage and residue management practices on soil bacterial communities. *Appl Environ Microbiol.*, 76 (11): 3685-3691.
- Clewer, A. G. y Scarisbrick, D. H. (2001). *Practical statistics and experimental design for plant and crop science*. (pp. 332). Inglaterra: John Wiley y Sons.
- Das, A. C., Debnath, A., Mukherjee, D. (2003). Effect of the herbicides oxadiazon and oxyfluorfen on phosphates solubilizing microorganisms and their persistence in rice fields. *Chemosphere*, 53 (3): 217-221.
- Degrune, F., Theodorakopoulos, N., Colinet, G., Hiel, M. P., Bodson, B., Taminiau, B., Daube, G., Vandenbol, M. y Hartmann, M. (2017). Temporal dynamics of soil microbial communities below the seedbed under two contrasting tillage regimes. *Front in Microbiol.*, 8: 1127. doi: 10.3389/fmicb.2017.01127.
- De Mendiburu, F. (2013). *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package versión 1.1-4. Recuperado de: <http://CRAN.R-project.org/package=agricolae> [octubre 2018].
- Ettema, C. H. y Wardle, D. A. (2002). Spatial soil ecology. *Trends in Ecol & Evol.*, 17 (4): 177-183.
- Fassbender, H. (1982). *Química de Suelos con énfasis en suelos de América Latina*. 3ra reimpresión. (pp. 422). San José, Costa Rica: IICA.
- Fierer, N., Breitbart, M., Nulton, J., Salamon, P., Lozupone, C., Jones, R., Robeson, M., Edwards, R. A., Felts, B., et al. (2007). Metagenomic and small-subunit Rrna analyses reveal the genetic diversity of bacteria, archaea, fungi, and viruses in soil. *Appl Environ Microbiol.*, 73(21): 7059-7066.
- Fierer, N. y Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci*, 103 (3): 626-631.
- Finegold, S. M. y Baron, E. J. (1989). *Bailey/Scott. Diagnóstico Microbiológico*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Guangiroli, M., Marcos Valle, F., Castellari, C., Videla, C. y Casanave Ponti, S. (2019). Impacto de la intensificación del manejo agrícola sobre grupos microbianos edáficos en el sudeste bonaerense, Argentina. XV Congreso Argentino de Microbiología (CAM 2019). 25 a 27 de septiembre de 2019, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Hillel, D. (1998). *Environmental Soil Physics*. Academic Press, San Diego, Londres. 771 p.
- Houbraken, J., de Vries, R. P. y Samson, R. A. (2014). Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Adv Appl Microbiol.*, 86: 199-249.
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-INTA (1979). *Carta de Suelos de la República Argentina*. Hoja: 3757-31, Balcarce. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires, Argentina.
- Iparraguirre, M., Marcos Valle, F., Castellari, C., Gutheim, F., Andreoli, Y. y Llorens, C. (2018). Efecto de la agricultura continua sobre las poblaciones microbianas en suelos del sudeste bonaerense, Argentina. IV Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental. 11, 12 y 13 de abril de 2018, Mar del Plata, Argentina.
- Jangid, K., Williams, M. A., Franzluebbers, A. J., Schmidt, T. M., Coleman, D. C. y Whitman, W. B. (2011). Land-use history has a stronger impact on soil microbial community composition than aboveground vegetation and soil properties. *Soil Biol Biochem*, 43 (10): 2184-2193.
- Jobbagy, E. G. y Jackson, R. B. (2003). Patterns and mechanisms of soil acidification in the conversion of grasslands to forests. *Biogeochemistry*, 64 (2): 205-229.
- Kirk, P. M., Cannon, P. E., David, J. C. y Stalpers, J. A. (2001). *Aninworth and Bisby's dictionary of the fungi*. Egham: CABI Bioscience. Recuperado de: <http://taxonomicon.taxonomy.nl/Reference.aspx?id=3931> [agosto 2019].
- Kramer, C. y Gleixner, G. (2006). Variable use of plant- and soil-derived carbon by microorganisms in agricultural soils. *Soil Biol Biochem.*, 38 (11): 3267-3278.
- Krishna, M. P., Varghese, R. y Mohamed, A. A. (2012). Depth wise variation of microbial load in the soils of midland region of Kerala: a function of important soil physicochemical characteristics and nutrients. *Indian J Edu & Inf Manage*, 1 (3): 126-129.
- Lal, R. (1998). Land use and soil management effects on soil organic carbon dynamics on Alfisols in Western Nigeria. En: Lal, R., Kimble, J. M., Follet, R. F. y Stewart, B. A. (Eds.). *Soil processes and carbon cycle*. (pp. 109-126). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Lauber, C. L., Strickland, M. S., Bradford, M. A. y Fierer, N. (2008). The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biol and Biochem*, 40 (9): 2407-2415.
- Marcos Valle, F., Díaz Delfino, A., Castellari, C., Andreoli, Y. y Picone, L. (2014). Indicadores microbianos: poblaciones fúngicas según el uso del suelo en el sudeste bonaerense. *Visión Rural*. Año XXI, N° 103: 12-14, julio-agosto de 2014. ISSN 0328-7009.

- Marcos Valle, F. (2015). Tasa respiratoria de granos de maíz (*Zea mays*) y su microbiota asociada en almacenamiento hermético. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Agrarias-UNMDP. Balcarce, Argentina. 170 p.
- Marcos Valle, F., Moreno, V., Silvestro, L., Castellari, C., Díaz Delfino, A., Andreoli, Y. y Picone, L. (2019). Diversidad fúngica en suelos con diferentes usos en la región pampeana argentina. *Chilean J. Agric. & Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, 35(2): 163-172. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000301>
- Martín, G. (2019). Estructura y composición del pastizal natural. Recuperado de: <http://ecaths1.s3.amazonaws.com/forrajicultura/SDEstrCompPast.pdf> [noviembre 2019].
- Mathew, R. P., Feng, Y., Githinji, L., Ankumah, R. y Balkcom, K. S. (2012). Impact of no-tillage and conventional tillage systems on soil microbial communities. *Appl Environ Soil Sci.*, Article ID 548620, 10 p.
- Navarro-Noya, Y. E., Gómez-Acata, S., Montoya-Ciriaco, N., Rojas-Valdez, A., Suarez-Arriaga, M. C., Valenzuela-Encinas, C., Jiménez-Bueno, N., Verhulst, N. et al. (2013). Relative impacts of tillage, residue management and crop-rotation on soil bacterial communities in a semi-arid agroecosystem. *Soil Biol and Biochem*, 65: 86-95.
- Nelson, P. y Su, N. (2010). Soil pH buffering capacity: a descriptive function and its application to some acidic tropical soils. *Soil Research*, 48 (3): 201-207.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A. y Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. (pp. 193). Pennsylvania, Estados Unidos: State University Press, University Park.
- Noble, A. D. y Randall, P. J. (1999). Alkalinity effects of different tree litters incubated in an acid soil of N.S.W., Australia. *Agrofor Syst*, 46 (2): 147-160.
- Osoorio-Vega, N. W. (2009). Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad y absorción de nutrientes por las plantas. En: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelos & Centro Nacional de Investigaciones de Café (Eds.). *Materia orgánica biología del suelo y productividad agrícola* (pp. 43-71). Colombia: Canifé-FNC.
- Pitt, J. L. y Hocking, A. D. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. 3a ed. (pp. 519). Nueva York, Estados Unidos: Springer.
- Rengel, Z. (2003). *Handbook of soil acidity*. Nueva York, Estados Unidos: Marcel Dekker, Inc. 479 p.
- Richter, D. D. y Markewitz, D. (1995). How deep is soil? *BioScience*, 45: 600-60.
- Rodríguez-Echeverría, S. (2009). Organismos del suelo: la dimensión invisible de las invasiones por plantas no nativas. *Ecosistemas*, 18: 32-43.
- Rodríguez, S., Videla, C., Zamuner, E. C., Picone, L. I., Pose, N. N. y Maceira, N. O. (2015). Cambios en propiedades químicas de un suelo molisol de la región pampeana argentina con diferente historia de manejo. *Chilean J Agric Anim Sci*, 31: 137-14.
- R versión 3.0.0. 2013. Copyright (C). (2013). The R foundation for foundation for statistical computing.
- Sainz Rozas, H. R., Echeverría, H.E. y Angelini, H. (2011). Niveles de materia orgánica y pH en suelos agrícolas de la Región Pampeana y Extrapampeana Argentina. *Informaciones Agronómicas*, 2: 6-12.
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C. y Filtenborg, O. (1995). *Introduction to food-borne fungi*. 4ed. (pp. 322). Delft, Netherlands: Centra al bureau voor Schimmel cultures.
- Samson, R. A. y Frisvad, J. C. (2004). *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites. *Stud Mycol*, 49: 257.
- Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K. y Batten, K. M. (2006). Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Sci Soc Am J.*, 70 (2): 555-589.
- Summerell, B. A., Salleh, B., y Leslie, J. F. (2003). A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant Dis.*, 87 (2), 117-128.
- Tarkalson, D. D., Hergert, G. W. y Cassman, K. G. (2006). Long-term effects of tillage on soil chemical properties and grain yields of a dryland winter wheat-sorghum/corn-fallow rotation in the great plains. *Agron J.*, 98: 26-33.
- Thomas, G. W. (1996). Soil pH and soil acidity. En: Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Loeppert, R. H., Soltanpour, P. N., Tabatabai, M. A., Johnston, C. T. y Sumner, M. E. (Eds.). *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods*. No 5 (pp. 475-491). Madison, WI, Estados Unidos: Soil Science Society of America Book Series. Soil Science Society of American, Inc.
- Van Elsas, J. D., Garbeva, P. y Salles, J. (2002). Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the suppression of soil-borne plant pathogens. *Biodegradation*, 13: 29-40.
- Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Varga, J., Yaguchi, T. y Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud Mycol*, 78: 343-371.
- Wardle, D. A. (1992). A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 67: 321-358
- Yilmaz, N., Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C. y Samson, R. A. (2014). Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *Stud Mycol*, 78: 175-41.