

Gestión del thatch con lacasas fúngicas

SUDEEP S. SIDHU

Investigador asociado postdoctorado,

QINGGUO JACK HUANG (qhuang@uga.edu)

Profesor asociado

ROBERT N. CARROW Y PAUL L. RAYMER

Profesores del departamento de ciencias del suelo y de las plantas ubicado en el campus Griffin de la Universidad de Georgia.

Tras diversos estudios realizados en invernaderos, diferentes aplicaciones de lacasas fúngicas durante nueve meses redujeron considerablemente el thatch en variedades de *Agrostis* mantenidas en las mismas condiciones de altura que los greens.

Los altos niveles de acumulación de materia orgánica en forma de thatch o colchón es uno de los mayores problemas en la superficie de los greens modernos. El thatch es una capa de materia orgánica que contiene de manera estrechamente mezclada restos de materia vegetal viva y muerta que se acumula entre el perfil del suelo y la capa de césped. Está compuesta de estolones, rizomas, vainas foliares y hojas. La acumulación de thatch causa problemas como el descenso del movimiento de oxígeno a través del thatch o colchón, la disminución de la conductividad hidráulica en saturación y el aumento de la retención de agua (3,6). Estos problemas primarios pueden dar lugar a problemas secundarios como el marchitamiento por exceso de humedad, una superficie de juego blanda, la formación de capa negra y un daño extra e intracelular por congelación (4,8).

Los mayores problemas en el thatch o colchón son la excesiva



Las catas extraídas de capa orgánica, thatch y colchón de cada maceta se testaron para medir, entre otros indicadores, la conductividad hidráulica en saturación. Fotografía realizada por Rashmi Singh.

acumulación de materia orgánica con el tiempo y el cambio rápido que experimenta la estructura natural de la capa de materia orgánica localizada en los tejidos radiculares vivos de la planta en comparación con la materia orgánica desestructurada localizada en los tejidos radiculares muertos. Una alta densidad de raíces vivas cerca de la superficie del suelo puede afectar negativamente a las propiedades físicas del suelo. Sin embargo, un problema más grave es la rápida muerte radicular en verano, que produce una capa gelatinosa de materia orgánica muerta que se hincha en presencia de agua durante la descomposición y que conecta los macroporos del suelo (poros llenos de aire), provocando niveles bajos de oxígeno en dicha zona radicular.

La acumulación de materia orgánica ocurre cuando ésta se degrada más lentamente de la que se acumula. Se cree que la velocidad de degradación de la materia orgánica está relaciona-

da con el contenido de lignina en los residuos orgánicos. La lignina es una fuente abundante de carbono (C_2) sólo para la celulosa y actúa como una matriz física protectora que permite descomponer azúcares celulósicos y hemicelulósicos no disponibles para la degradación microbiana. La lignina es extremadamente resistente a la degradación debido a que tiene una estructura compleja derivada de la unión oxidativa de monómeros de lignina que limita la degradación microbiana de la materia orgánica (7). Por esta razón, las especies de césped con alto contenido de lignina son resistentes a la descomposición (2).

Se ha estudiado el uso de la lacasa fúngica, una enzima lignolítica, para mejorar el grado de degradación de la materia orgánica en el thatch. Enzimas oxidativas como las lacasas, producidas por hongos blancos descomponedores, son reconocidas por su capacidad de atacar

THATCH

La acumulación de thatch causa problemas significativos en los greens de los campos de golf, incluyendo problemas como el descenso del movimiento de oxígeno, la disminución de la conductividad hidráulica en saturación y el incremento de la retención de agua.

Tabla 1. Efectos de la lacasa sobre el espesor de la capa orgánica y la materia orgánica

Treatment	Organic layer thickness		Organic matter (0-5)	
	2 meses	9 meses	2 meses	9 meses
	milímetros		miligramos/gram	
OL (control)	48.4a B [‡]	69.3a A	33.7a B	49.5a A
0.206 L	47.4a B	68.2ab A	34.4a B	47.3a A
0.206 L +G	47.6a B	63.8bc A	34.3a B	49.4a A
2.06 L +G	47.7a B	58.5d A	35.0a B	41.9b A
20,6 L	44.2b	-	36.3a	-
20.6 L +G	45.1a	-	33.9a	-

Tabla 1. Espesor de la capa orgánica y del contenido de materia orgánica (entre 0 y 5 cm de profundidad) después de dos meses y después de nueve meses de diferentes tratamientos aplicados en *Agrostis*. Los valores de materia orgánica están basados en su peso seco. Esta tabla fue publicada previamente en la revista *HortScience* (10). † L, nivel de lacasa; G, la adición de guayacol, un mediador.

‡ Valores medios dentro de una columna seguidos por la misma letra minúscula no se consideran significativamente diferentes. Valores medios dentro de la fila de un parámetro seguidos de la misma letra mayúscula no se consideran significativamente diferentes.

Gráfico 1. Tratamientos enzimáticos

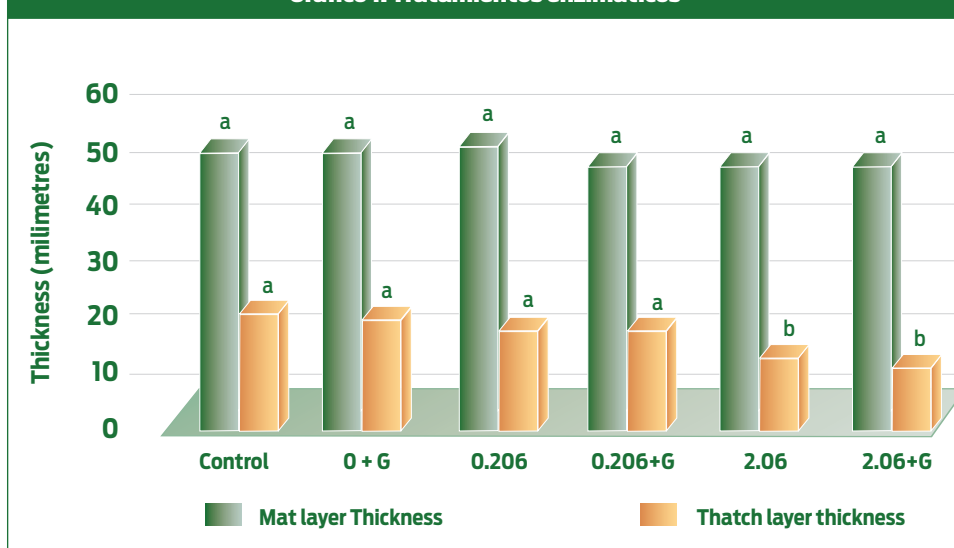


Gráfico 1. Espesor del thatch y del colchón después de nueve meses de tratamiento en *Agrostis* con tres concentraciones diferentes de lacasas (0 [Control], 0,206 y 2,06 unidades/cm²) con y sin el mediador, guayacol (G). Los valores mostrados son la media de cuatro repeticiones, y las barras de error son los errores estándar. Barras con la misma letra no son estadísticamente diferentes. Este gráfico fue publicado previamente en la revista *HortScience* (10).

a los componentes aromáticos de la lignina y dar lugar a su degradación efectiva (1).

MATERIALES Y MÉTODOS

Un estudio experimental en invernadero se estableció en el Campus Griffin de la Universidad de Georgia, con Crenshaw Creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*) suministrado por el East Lake Country Club, en Atlanta. El tepe, que era de aproximadamente 1,18 pulgadas (3 centímetros) de espesor y con presencia de thatch y colchón pero no

de suelo subyacente, fue cortado para ajustarse a las macetas y colocarse sobre una mezcla de suelo 85:15 de arena y materia orgánica. Todas las macetas se regaron a diario, se fertilizaron mensualmente con una solución de 1,7 fl.oz (50 ml) al 0,4% (w/v) de fertilizante Macron 28-7-14 soluble en agua, y se mantuvieron a una altura de corte de 0,24 pulgadas (0,6 cm). La refrigeración del invernadero con aire acondicionado se mantuvo a una temperatura de 77[±]4/64[±]4 °F (25[±]2/18[±]2°C) día/noche.

El diseño experimental se basó en una disposición al azar de bloques completos con cinco repeticiones. El diseño del tratamiento fue de un 4x2 factorial con todas las combinaciones posibles de cuatro concentraciones distintas de lacasas y dos concentraciones de guayacol, un compuesto que potencia la actividad de la lacasa. Las cuatro concentraciones de lacasas fueron 0 (control), 0,206, 2,06 y 20,6 unidades/cm² y las dos concentraciones de guayacol fueron 0 (control) y una solución 0,1 Molar. Después de dos meses, las aplicaciones de 20,6 unidades/cm² se suspendieron. Los tratamientos con lacasas se aplicaron en una solución de 1,35 oz (40 ml) para cada uno de los distintos niveles de actividad, y a los tratamientos de control se aplicó una solución de 1,35 oz de agua destilada. El guayacol se aplicó en una solución de 0,34 oz (10 ml).

ENSAYO DE LA ACTIVIDAD DE LA LACASA

La enzima lacasa utilizada en el ensayo fue extraída del *Trametes versicolor*, un hongo blanco descomponedor (Sigma-Aldrich). La concentración de lacasas se cuantificó mediante un ensayo colorimétrico con un espectrofotómetro de UV/VIS. La cantidad de lacasas que provoca un cambio de absorbancia de 468 nanómetros a una tasa de 1,0 unidad/min en una so-

lución tampón fosfato-citrato de 3,4 ml a pH 3,8 con 1 milimolar de 2,6-dimetoxifenol, corresponde a una unidad de actividad (9).

MEDICIONES

Los parámetros utilizados para determinar la efectividad de los tratamientos fueron el contenido total de materia orgánica en una profundidad de 0-2 pulgadas (0-5 cm), la conductividad hidráulica en saturación, el espesor de la capa orgánica, la extracción libre de lignina soluble en ácido, la lignina insoluble en ácido y el contenido total de lignina después de dos meses de aplicación del tratamiento. El contenido total de lignina se obtuvo por adición de contenidos de lignina soluble e insoluble en ácido. Cuando las muestras fueron analizadas después de nueve meses de tratamiento, el espesor de

la capa orgánica se subdividió en espesor de la capa de thatch y espesor de la capa de colchón, mientras que el contenido total de materia orgánica se subdividió entre 0-1 pulgada (0-2,5 cm) de profundidad y 1-2 pulgadas (2,5-5 cm) de profundidad para reflejar con mayor precisión la eficacia de las lacasas en el grado de espesor del thatch y en la reducción de materia orgánica en la propia capa de thatch.

Contenido de materia orgánica

Dos catas de suelo (0,78 pulgadas [2,0 cm] de diámetro) se secaron en un horno a $212 \pm 9^\circ\text{F}$ ($100 \pm 5^\circ\text{C}$) durante 48 horas, se pesaron y se incineraron en un horno de mufla a $1.112 \pm 18^\circ\text{F}$ ($600 \pm 10^\circ\text{C}$) durante 24 horas y se pesaron de nuevo. El contenido total de materia orgánica fue la diferencia entre las dos

AYUDA
Las enzimas lacasas son conocidas por descomponer la lignina, lo que puede ayudar a descomponer el thatch/colchón, aumentando la conductividad hidráulica en saturación y mejorando la salud del green.

lecturas; el porcentaje total de materia orgánica se calculó.

Conductividad hidráulica en saturación

Catas completas de 2 pulgadas (5 cm) de diámetro y 3 pulgadas (7,6 cm) de profundidad se extrajeron en cilindros metálicos del centro de cada maceta usando un catador de suelos. La conductividad hidráulica en saturación de cada una de las muestras fue medida.

La capa orgánica y el espesor del thatch-colchón

Las plantas fueron extraídas de las macetas y se pudo distinguir claramente las distintas divisiones entre la capa de thatch, el colchón y la interfaz de suelo. La capa orgánica, el thatch y el colchón se midieron desde siete ángulos diferentes al-

Primo Maxx – un césped tan bueno que todos quieren jugar

Mejore la calidad del campo creando un césped más fuerte, más sano, de raíces profundas y mejor tolerancia a la sequía.



rededor de la planta debido a la irregular distribución a lo largo del perfil de los límites que separaban la masa vegetal de la radicular y se calculó la media.

Contenido de lignina de extracción libre

Muestras de la capa de thatch se extrajeron con agua y etanol para retirar las impurezas solubles en agua y alcohol. El Procedimiento Analítico en Laboratorio desarrollado por el National Renewable Laboratory se realizó para determinar el contenido de lignina de extracción libre soluble e insoluble en ácido en el thatch mediante un procedimiento de hidrólisis de ácido sulfúrico en dos fases. Los residuos sólidos insolubles en ácido que quedaron después de la hidrólisis ácida se secaron en un horno a 212 ± 9 °F (100 ± 5

LASCASAS

La aplicación de lacasas activas una vez cada dos semanas durante nueve meses redujo la acumulación de materia orgánica y la formación de thatch en céspedes con un mantenimiento intensivo.

°C) durante 24 horas, se pesaron, se incineraron en un horno de mufla a 1.112 ± 18 °F (600 ± 10 °C) durante 24 horas, y se pesó de nuevo. La diferencia de peso se utilizó para calcular el contenido de lignina insoluble en ácido.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Reducción de la capa orgánica y del thatch

Se observó una ligera reducción (8,7%) en el espesor total de la capa orgánica después de dos meses de tratamiento con un nivel de actividad de lacasas de 20,6 unidades/cm² (Tabla 1). Ningún otro nivel de actividad de lacasas tuvo un efecto significativo sobre el espesor de la capa orgánica. Sin embargo, después de nueve meses de aplicaciones de lacasas, el nivel de actividad de las lacasas a 2,06

unidades/cm² redujo considerablemente el espesor total de la capa orgánica en un 14,5% (con guayaacol) y en un 13,0% (sin guayaacol) en comparación con el tratamiento de control (Tabla 1).

Después de nueve meses de tratamiento, el nivel de actividad de la lacasa a 2,06 unidades/cm² redujo el espesor del thatch en un 45% (con guayaacol) y en un 35% (sin guayaacol) en comparación con el tratamiento de control (Figura 1). No se observó ninguna reducción significativa en el colchón en ninguno de los tratamientos (Figura 1). Igualmente no se observó ningún efecto significativo con el guayaacol o con la interacción entre la lacasa y el guayaacol en el espesor de la capa orgánica, el espesor del thatch y el espesor de colchón. **Sigue →**

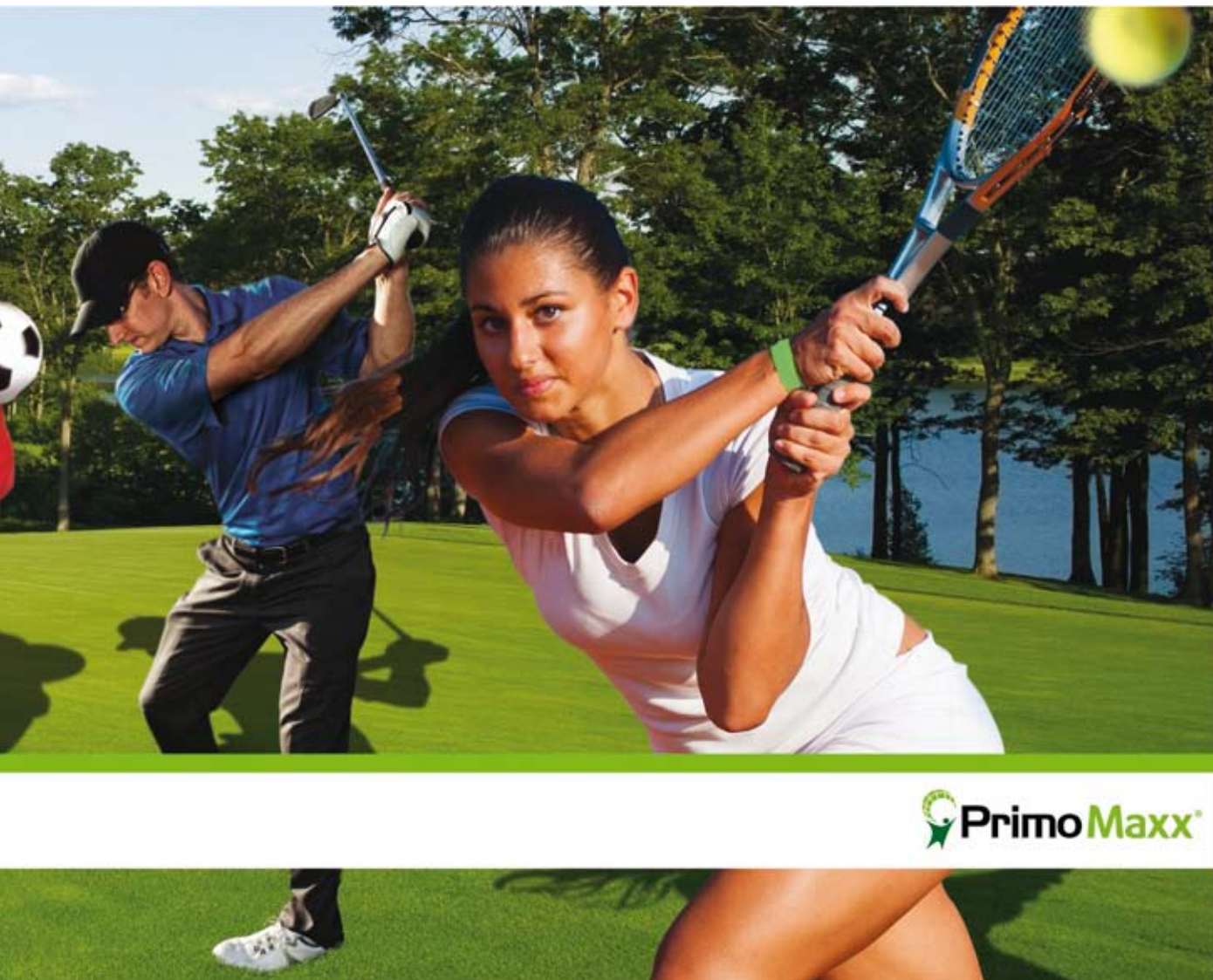


Tabla 2. Contenido de lignina tras los tratamientos

Treatment ⁺	Acid-soluble lignin		Acid-insoluble lignin		Total lignin	
	2 meses	9 meses	2 meses	9 meses	2 meses	9 meses
	miligramos/gram					
OL (control)	43.7ab A ⁺	42.2b A	259.9a A	257.4b A	303.5ab A	299.7b A
0 L + G	43.8ab A	45.8a A	260.1a A	264.8a A	303.9a A	310.6a A
0.206 L	44.1a A	41.4b A	256.9a A	254.5bc A	301ab A	295.9b A
0.206 L +G	43.3abc A	41.4b A	255.4a A	253.9bc A	298.ab A	295.5b A
2.06 L	42.7bc A	37.1c B	254a A	243.4d B	296.7ab A	280.4d B
2.06 L +G	42.3c A	39.5bc B	253.9a A	249.6c A	296.2b A	289c B
20.6 L	38.5d	-	239.4b	-	277.9c	-
20.6 L + G	39.5d	-	241b	-	280.1c	-

Tabla 2. Lignina de extracción libre soluble e insoluble en ácido y contenido total de lignina después de dos y nueve meses de diferentes tratamientos aplicados en *Agrostis*. Los valores de lignina de extracción libre están basados en su peso seco. Esta tabla fue publicada previamente en la revista *HortScience* (10).

[†] L, nivel de lacasa; G, la adición de guayacol, un mediador.

[‡] Valores medios dentro de una columna seguidos por la misma letra minúscula no se consideran significativamente diferentes. Valores medios dentro de la fila de un parámetro seguidos de la misma letra mayúscula no se consideran significativamente diferentes.

Gráfico 2. Tratamientos enzimáticos

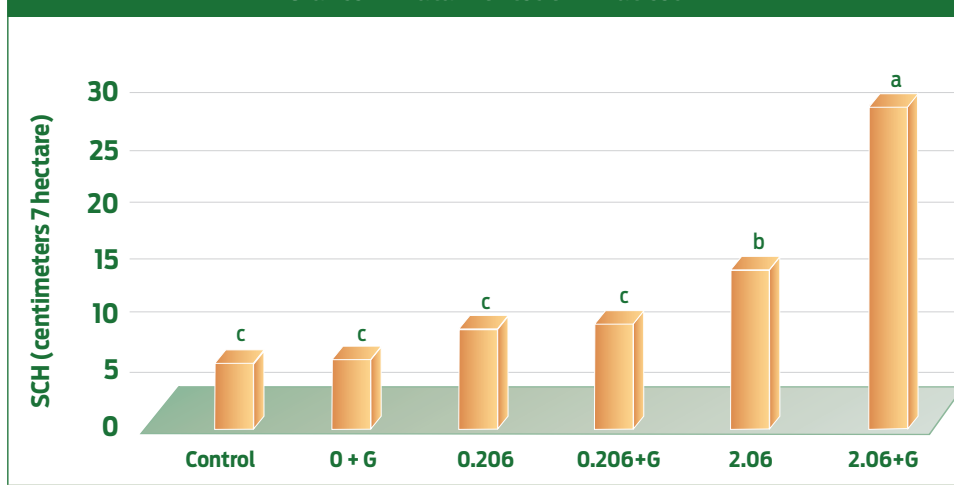


Gráfico 2. Conductividad hidráulica en saturación (SHC) después de nueve meses de tratamientos en *Agrostis* con tres concentraciones diferentes de lacasas (0 [control], 0,206 y 2,06 unidades/cm²) con y sin el mediador, guayacol (G). Los valores mostrados son la media de cuatro repeticiones, y las barras de error son los errores estándar. Las barras con la misma letra no son estadísticamente diferentes. Este gráfico fue publicado previamente en la revista *HortScience* (10).

Sigue →

Contenido total de materia orgánica

En todos los niveles de actividad de la lacasa, el contenido total de materia orgánica (entre 0-2-pulgadas de profundidad) no se redujo significativamente después de dos meses de aplicación de enzimas. Sin embargo, nueve meses de tratamiento con el nivel de actividad de lacasas en 2,06 unidades/cm² redujo considerablemente el contenido total de materia orgánica (entre 0-2

pulgadas de profundidad) en un 15,4% (con guayacol) y en un 15,8% (sin guayacol) en comparación con el tratamiento de control (Tabla 1). Nueve meses de aplicación del mismo tratamiento redujo significativamente el contenido total de materia orgánica a una profundidad inferior (entre 0-1 pulgadas) en un 27,4% (con guayacol) y en un 32,1% (sin guayacol) en comparación con el tratamiento de control (datos no mostrados) (10). Sin embargo, a una profundidad de entre 1-2 pulgadas,

ningún tratamiento con lacasas disminuyó significativamente el contenido total de carbono orgánico en comparación con el tratamiento de control.

Contenido de lignina

Después de dos meses de aplicación de lacasas a un nivel de actividad de 20,6 unidades/cm² sin guayacol, se observaron reducciones significativas en el contenido de lignina soluble en ácido (11,9%), de lignina insoluble en ácido (7,8%) y del contenido total de lignina (8,4%) (Tabla 2). Del mismo modo, tras nueve meses de aplicación de lacasas a un nivel de actividad de 2,06 unidades/cm² sin guayacol se observaron reducciones considerables del 12,2% del contenido de lignina soluble en ácido, del 5,4% para el contenido de lignina insoluble en ácido y del 6,4% para el contenido total de lignina (Tabla 2).

La degradación del thatch y de la capa de materia orgánica mejoró con la presencia de la enzima lacasa debido a la eliminación de la lignina de la capa de biomasa en el thatch, favoreciendo la degradación de la celulosa y la hemicelulosa disponible para la descomposición microbiana.

Conductividad hidráulica en saturación

Después de nueve meses de aplicación de lacasas con guayacol a razón de 2,06 unidades/cm², la conductividad hidráulica en saturación aumentó en un 322% en comparación con el tratamiento de control. El mismo tratamiento sin guayacol aumentó la conductividad hidráulica en saturación en un 94% sobre el tratamiento de control (Figura 2). Este incremento tiene su justificación en que la presencia de un alto contenido de materia orgánica en el thatch (espesor del thatch mayor de 1,3 cm) impide la infiltración del agua. La aplicación de lacasas durante nueve meses redujo el thatch por debajo de este umbral e incrementó de manera significativa la conductividad hidráulica en saturación.

RESUMEN

En este estudio, la aplicación de lacasas en superficies de *Agrostis* con un thatch/colchón existente bajo condiciones favorables en invernadero para el propio desarrollo del thatch/colchón ralentizó el nivel de acumulación de la capa orgánica y el total de materia orgánica producida después de un periodo de entre dos y nueve meses de tratamiento. Aunque en todos los tratamientos se observó una formación generalizada de thatch, la tasa de acumulación de materia orgánica y el espesor de la capa de thatch generado se redujo considerablemente en las diferentes maceas tratadas con la enzima lacasa.

CONCLUSIONES

La aplicación de lacasas una vez cada dos semanas resultó eficaz en la reducción de la acumulación de materia orgánica y en la formación de thatch en céspedes con un mantenimiento intensivo. La duración de las aplicaciones de lacasas tuvo un efecto significativo sobre la gestión del thatch/colchón, con gran-

des resultados después de nueve meses. Sin embargo, bajos niveles de actividad de las lacasas (0,206 unidades/cm²) fueron ineficaces en la reducción de la formación de thatch incluso después de nueve meses de tratamiento.

Estos resultados apuntan a una nueva vía para reducir la materia orgánica en el thatch o colchón y sus problemas asociados en los greens de golf. Este enfoque puede conducir al desarrollo de un nuevo método no disruptivo para la gestión del thatch. Futuros estudios de investigación continúan desarrollándose en condiciones de campo para observar la eficiencia de las lacasas al igual que para optimizar el nivel de actividad de la lacasas y su frecuencia de aplicación. Los resultados de campo hasta la fecha han sido positivos y apoyan los resultados obtenidos en el invernadero.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a la Georgia Golf Environmental Foundation (GGEF) y al Environmental Institute for Golf por financiar este estudio.

EL ESTUDIO RESALTA:

► La acumulación de thatch causa problemas significativos en los greens de los campos de golf, incluyendo problemas como el descenso del movimiento de oxígeno, la disminución de la conductividad hidráulica en saturación y el incremento de la retención de agua.

► La aplicación de lacasas activas una vez cada dos semanas redujo la acumulación de materia orgánica y la formación de thatch en céspedes con un mantenimiento intensivo, observándose buenos resultados después de nueve meses de tratamiento.

► El uso de enzimas lacasas podría llegar a ser un tratamiento no disruptivo para reducir la acumulación de materia orgánica en los greens. ■

ENZIMAS

El uso de enzimas lacasas puede suponer una nueva alternativa no disruptiva para reducir la acumulación de materia orgánica en los greens.

BIBLIOGRAFÍA

- **Baldrian, P. 2006.** Fungal laccases—occurrence and properties. *FEMS Microbiology Reviews* 30:215-242.
- **Beard, J.B. 1973.** *Turfgrass: Science and Culture*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J.
- **Carrow, R.N. 2003.** Surface organic matter in bentgrass greens. *USGA Turfgrass Environmental Research Online* 2(17):1-10.
- **Carrow, R.N. 2004.** Surface organic matter in bentgrass greens. *Golf Course Management* 72(5):96-101.
- **Engel, R.E. 1954.** Thatch on turf and its control. *The Golf Course Reporter* 22 (5):12-14.
- **Hartwiger, C. 2004.** The importance of organic matter dynamics: How research uncovered the primary cause of secondary problems. *USGA Green Section Record* 42(3):9-11.
- **Ledeboer, F.B., and C.R. Skogley. 1967.** Investigations into the nature of thatch and methods for its decomposition. *Agronomy Journal* 59:320-323.
- **O'Brien, P., and C. Hartwiger. 2003.** Aeration and topdressing for the 21st century: Two old concepts are linked together to offer up-to-date recommendations. *USGA Green Section Record* 41(2):1-7.
- **Park, J.W., J. Dec, J.E. Kim and J.M. Bollag. 1999.** Effect of humic constituents on the transformation of chlorinated phenols and anilines in the presence of oxidoreductive enzymes or birnessite. *Environmental Science & Technology* 33:2028-2034.
- **Sidhu, S.S., Q. Huang, R.N. Carrow and P.L. Raymer. 2012.** Use of fungal laccases to facilitate biodeethatching: a new approach. *HortScience* 47(10):1536-1542.