

201  
57



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**



**EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA**

# MICOSTASIS

TRABAJO MONOGRAFICO  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**  
P R E S E N T A :

TERESA HERNANDEZ GARIBAY



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# INDICE

	Páginas
INTRODUCCION	1
I.- GENERALIDADES	
A.- Importancia económica de los hongos del suelo.	3
B.- Importancia ecológica de los hongos del suelo.	3
C.- Interacción hongo-suelo y hongo-hospedero.	4
D.- Capacidad colonizadora de los hongos.	4
E.- Índice teórico de colonización.	5
F.- Hongos que son afectados por la micostasis.	8
G.- Distribución de la micostasis.	9
H.- Tipos de micostasis.	9
1. Microbiana	
2. Residual	
I.- Distribución y características de la micostasis.	11
II.- FACTORES FISICOS QUE AFECTAN LA MICOSTASIS.	
A.- Humedad y aereación.	16
B.- Distribución vertical.	18
C.- Distribución horizontal.	21
D.- Efecto del pH.	21
E.- Potencial redox.	23
F.- Esterilización.	24

	Páginas
G.- Congelación y deshielo.	26
H.- Efecto de las cargas eléctricas.	28
I.- Fertilizantes.	28
J.- Textura del suelo.	29
K.- Presencia de la Micostasis en los diferentes suelos.	29
 III.- FACTORES QUIMICOS QUE AFECTAN LA MICOSTASIS.	
A.- Relación Carbono/Nitrógeno e inhibidores vo- látiles.	32
B.- Efecto de algunos compuestos orgánicos volá- tiles y no volátiles.	37
C.- Efectos de algunos compuestos inorgánicos.	40
 IV .- FACTORES BIOLOGICOS QUE AFECTAN LA MICOSTASIS.	
A.- Rizosfera.	48
B.- Espermosfera.	52
C.- Abono orgánico.	53
D.- Poblaciones microbianas.	55
E.- Papel de los antibióticos.	59
 V .- OTROS FACTORES QUE AFECTAN LA MICOSTASIS.	
A.- Sensibilidad de las esporas a la micostasis.	64
B.- Efecto de los exudados de las esporas.	72

	Páginas
C.- Nutrición de las esporas.	75
D.- Tropismo.	81
E.- Variación estacional.	82
VI .- HIPOTESIS QUE EXPLICAN LA NATURALEZA DE LA MICOS <u>T</u> TASIS.	
A.- Hipótesis del principio micostático o hipóte <u>s</u> sis inhibidora.	84
B.- Hipótesis nutricional.	88
C.- Hipótesis de los inhibidores y estimuladores.	90
VII .- METODOLOGIAS PARA EVALUAR LA MICOSTASIS.	
A.- Método del Disco Agar.	92
B.- Método directo.	95
C.- Método del Disco de agar-celofán modificado.	96
D.- Método de Difusión en agar-nucleopore esté-- ril.	98
E.- Método de difusión postgerminación en agar - nucleopore.	99
F.- Método de difusión en agar celofán estéril.	100
G.- Método para determinar el papel de los hon-- gos en la micostasis.	101
H.- Método para determinar los efectos de algu-- nos hongos de siete días de crecimiento, so <u>o</u> bre la micostasis del suelo.	101

I.- Método para evaluar el efecto de algunos <u>mi</u> <u>croorganismos</u> sobre la micostasis, mediante el empleo de suelo estéril.	102
J.- Método para determinar el efecto del filtra do de un cultivo de hongos, sobre la micos- tasis del suelo.	103
K.- Método para determinar la existencia de sus- tancias difusibles inhibidoras, en el suelo natural o en el suelo contaminado.	104
L.- Método empleado para la detección del VFF y evaluación de su desprendimiento en agar -- suelo.	105
M.- Método empleado para evaluar el uso del car- bono en el estudio de la micostasis del sue- lo.	106
N.- Método empleado para evaluar la micostasis- en relación con la temperatura y presión.	107
Ñ.- Evaluación de la micostasis, en relación -- con el período de incubación.	108
O.- Método empleado para evaluar la micostasis, en relación con la edad de las esporas.	108
P.- Método empleado para explicar la naturaleza de la micostasis.	110

CONCLUSIONES 120

BIBLIOGRAFIA. 122

## I N T R O D U C C I O N

Aunque existen numerosos estudios sobre la micostasis del suelo; aun falta mucho por conocer acerca de la verdadera naturaleza de ésta y de su posible papel en la ecología del suelo.

Durante los últimos 50 años, los trabajos han sido enfocados a dilucidar el origen y los factores que contribuyen a la presentación de la micostasis en la mayoría de los suelos del mundo, así como sus posibles efectos benéficos y dañinos para las plantas y animales en general.

Considerando que la micostasis afecta la participación ecológica de los hongos en el suelo; y que estos desempeñan un importante papel en la descomposición de la materia orgánica; en el aporte de nutrientes a las plantas y en su manifiesta toxicidad y patogenicidad, representada en miles de millones de dólares que se pierden anualmente en daños a las cosechas (Charles, 1975) y a los animales (Sharapv, 1984); cualquier conocimiento sobre dicho fenómeno, contribuirá a la solución de este problema.

En 1976, Lockwood realizó una revisión bibliográfica con el fin de dilucidar la naturaleza de la micostasis, así como los factores que la afectan. En la presente investigación se hace la revisión documental actualizada sobre la naturaleza



y propiedades de la micostasis y algunos de sus efectos que se relacionan con el mantenimiento del equilibrio ecológico del suelo, dada la importancia del tema.

## G E N E R A L I D A D E S

## I

## A.- IMPORTANCIA ECONOMICA DE LOS HONGOS DEL SUELO.

En 1942, se realizaron en Wisconsin diversos estudios sobre los cultivos del chícharo, afectados por el hongo Aphanomices sp; agente causal de la podredumbre de las raíces de esa planta, el cual causó un 10% de pérdida en la cosecha... En aquel año, el conjunto de las enfermedades, incluyendo -- otras causadas por otros agentes infecciosos, ocasionaron una pérdida de ingresos a los agricultores de alrededor de - - - 1,500,000 dólares, debidos a daños en una sola cosecha y en - un solo estado (Charles, 1975).

Como se aprecia, los hongos han demostrado gran importancia económica, ya sea por los desastres o beneficios que - han proporcionado a la humanidad. Entre los géneros de hon-- gos patógenos que habitan en el suelo, tenemos los siguientes: Mucor, Cunningamela, Ustilago, Puccinia, Aspergillus, Penici-- llium, Phaecilomyces, Gliocladium, Mycrothecium, Fusarium, -- Cladosporium y Helminthosporium entre otros (Jackson, 1958).

## B.- IMPORTANCIA ECOLOGICA DE LOS HONGOS DEL SUELO:

En el suelo, habitan normalmente los géneros Mucor, -- Rhizopus, Aspergillus, Fusarium, Cladosporium, Trichoderma, --

etc., y muchos géneros de levaduras. Su presencia se encuentra relacionada con la composición del suelo y la cantidad de materia orgánica; de tal manera que mantienen una relación -- C:N (Carbono a Nitrógeno) igual a 10. Estos hongos desarrollan funciones celulolíticas, aminolíticas y de reserva de nutrientes en el suelo. (Jackson, 1950).

#### C.- INTERACCION HONGO-SUELO Y HONGO-HOSPEDERO.

Reiking y Man (citados por Bisby, 1971), han agrupado a los hongos del suelo de la manera siguiente:

- 1.- Los que tienen una amplia distribución (habitantes del suelo),
- 2.- Los que tienen una distribución limitada (invasores del suelo), entre los cuales se encuentran incluidos los que afectan las plantas superiores (invasores de la raíz).

La capacidad del hongo para invadir la superficie del huésped depende de la etapa de germinación de su espora, y en cierta forma de su grado de crecimiento; a su vez, ambos dependen de la humedad, la temperatura, los requerimientos nutricionales y de las sustancias que difunden del hospedero -- (Burcan), 1974.

#### D.- CAPACIDAD COLONIZADORA DE LOS HONGOS.

Existe una fuerte competencia entre los microorganismos

mos del suelo, por los nutrientes que se encuentran en este ambiente. La sobrevivencia de un microorganismo en el suelo, depende de su capacidad para sobreponerse a esta competencia y, de su capacidad para migrar a mayor velocidad (Johri y cols., 1975).

#### E.- INDICE TEORICO DE COLONIZACION.

En 1975, Dix y Mitchell, propusieron para las esporas de los hongos los parámetros de germinación siguientes:

1.- Porcentaje final de germinación; 2.- Velocidad de germinación; 3.- Período latente de germinación y; 4.- Velocidad de crecimiento de los tubos germinales.

En relación con la reducción en el período latente de germinación, este se correlacionó positivamente con la reducción en el período final de germinación y la velocidad de crecimiento en los tubos germinales.

Estos autores, postularon también que la micostasis se encontraba fuertemente influenciada, por el Índice Teórico de colonización (TCI). Este índice refleja la capacidad que tiene la población de las esporas para crecer y colonizar un sustrato en el suelo.

Si el TCI es una medida válida del crecimiento que refleja la actividad saprofitica competitiva de un hongo bajo -

condiciones antagónicas, es de esperarse que el número de esporas que germinan en una población debe ser un factor significativo para determinar si procede o no la colonización de un sustrato.

El cálculo del TCI se realiza tomando el producto del porcentaje de germinación con el promedio de la longitud de los tubos germinales, al mismo tiempo.

En la tabla No. I se presenta el TCI de cada muestra, expresado como el porcentaje de reducción basado sobre la misma población en comparación con el control.

TABLA I .- MEDIDA DEL PORCENTAJE DE GERMINACION, VELOCIDAD DE GERMINACION, PERIODO LATENTE DE GERMINACION Y TCI (Mitchell y Dix, 1975).

Hongo prueba	% de germinación final.	Período latente de germinación.	Velocidad de germinación (como coef. de regresión).	% de reducción	TCI
Valor experimental					
T. hamatum					
15	39.6	24.9	-0.1443	91.3	524.8
T. harzianum				-	
1	66.6	9.2	-0.2215	50.0	4092.4
T. kominzii	36.6	21.8	-0.1229	81.5	201.1
T. longibranchiatum	36.5	19.0	-0.1416	67.2	258.8

T.pseudokonin- gii.	43.3	19.8	-0.0817	95.6	422.8
T.saturnispora	53.6	12.3	-0.1537	57.6	1175.4
T.viride (2)	35.2	23.5	-0.1344	57.3	230.6
(54)	51.0	16.3	-0.0986	50.0	45.2

---

Como puede observarse en esta tabla, el porcentaje de reducción en el TCI tiene una relación positiva en el porcentaje de reducción en la velocidad de germinación de los hongos y, el periodo latente de germinación de estos hongos.

En la misma tabla, se aprecia una gran variación en el TCI de los diferentes aislados del T. viride. El TCI para este hongo fué de 45.2, valor en el que el hongo muestra un mínimo de crecimiento; mientras que para el T. harzianum con un TCI de 4092.4 presenta un crecimiento mucho mayor, bajo condiciones antagónicas.

En dicha tabla, se aprecia que la velocidad de crecimiento de los tubos germinales para los diferentes aislados, se dan como coeficientes de regresión, el cual representa un promedio de las longitudes de los tubos germinales para un tiempo dado.

En 1974, Dix y cols. propusieron que cuando la germinación tiene lugar ésta tiene efecto sobre la velocidad de crecimiento de los tubos germinales para un tiempo dado.

En 1974, Dix y cols. propusieron que cuando la germinación tiene lugar ésta tiene efecto sobre la velocidad de crecimiento de los tubos germinales, en una población dada.

#### F. HONGOS QUE SON AFECTADOS POR LA MICOSTASIS

Al realizar estudios sobre los diferentes tipos de hongos que son afectados por la micostasis, Lockwood (1964), encontró que de las 116 especies estudiadas, cerca del 50% fueron parásitas de las plantas y el 50% restante estaba formado, principalmente por saprófitos que incluyen a muchos hongos comúnmente aislados por el método de las diluciones en placa. Entre los hongos parásitos de las plantas se incluyen los infectantes de las raíces, los patógenos de las hojas, los mohos y hongos nativos, así como los que pudren la madera.

Entre los propágulos que son afectados por la micostasis, se incluyen las esporas asexuales, tizones, esporidias, letiosporas y ascosporas de muchas especies de hongos.

Las únicas esporas que germinaron sin restricción cuando se pusieron sobre el suelo natural, fueron las ascosporas de Neurospora tetrasperma. Las conidias del Fusarium sp., parecen ser menos sensibles a la micostasis que la mayoría de los hongos; por ejemplo, el Puccinia-rubigo-vera germinó en un 40%, en tanto que el Puccinia-graminis, no germinó (Lingappa y Lockwood, 1962).

Mankon (1962), detectó en el suelo la presencia de un factor nicostático que afecta las conidias de tres de las especies de hongos nematófagos: Athrobotrys arthrobotryoides, A. dactyloides y Doctyella ellipsospora. Se observó que las esporas que fueron expuestas a diferentes campos, mostraron un valor de germinación de 0.5 a 704%. Ellos encontraron en el suelo un efecto de antibiótico que afecta a las micorrizas.

#### G. DISTRIBUCION DE LA MICOSTASIS

El fenómeno de la micostasis se encuentra ampliamente distribuido en el mundo y, ocurre aparentemente en los suelos que mantienen cierta actividad microbiana. Se ha reportado - en: U.S.A.; Canadá; Nigeria y Honduras (Lockwood, 1964); India (Dwivedi, 1963); Pakistán (Mallik, 1966); Japón (Kurukari y - Takagi, 1973); Australia (Smith, 1973); Alemania (Weltzien, 1963); Suiza (Schuep y Frei, 1969); Malasia (Criffiths, 1964), Hawai (Ko y Hora, 1972); Sudáfrica (Kriger, 1969); Islandia (Locke, 1967); Egipto (Jackson, 1958) y Francia (Pochon y Barjac, 1952) (Autores citados por Lockwood, 1976).

#### H. TIPOS DE MICOSTASIS:

En 1965, Dobbs clasificó la micostasis en dos tipos:

- 1.- Micostasis microbiana y; 2.- Micostasis residual

La micostasis microbiana se debe a la presencia de mi-



croorganismos en el suelo y se caracteriza por lo siguiente:

Se elimina después de la esterilización del suelo; se encuentra ausente bajo condiciones de esterilidad; está ausente en los subsuelos estériles o próximos a la esterilidad; es termolábil y asociada a la presencia de microorganismos; presenta enmascaramiento temporal a la adición o presencia de ciertos nutrientes tales como azúcares, abonos orgánicos y sustancias orgánicas (incluyen las liberadas mediante la liberación parcial). Es de aclarar, sin embargo, que aun no se han aislado las sustancias micostáticas en los filtrados o extractos de suelos estériles; o bien, en los discos de agar estériles.

La micostasis residual se caracteriza, porque permanece después de la esterilización no es termolábil no sensible al azúcar, no es afectada por el lavado con agua (40 veces su volumen (arena) con agua caliente) una vez que ha sido esterilizada con el calor. Se ha encontrado que la arena esterilizada con el calor, muestra una micostasis similar a la previamente considerada.

En vista de lo antes expuesto, Dobbs y Gash (1965) han afirmado: "la micostasis encontrada en la arena no se debe a la presencia del azúcar, sales u otros componentes de la arena, solubles en el agua".

## I.- DEFINICION Y CARACTERISTICAS DE LA MICOSTASIS:

Estando de acuerdo con Bangor (1959), Lockwood en 1963, definió a la micostasis como una "falla en la germinación de las esporas de los hongos, cuando estos se ponen en contacto con el suelo bajo ciertas condiciones en que se esperaba que geminaran. Este autor concluye en sus investigaciones, que la micostasis está muy extendida y es casi universal en la superficie de los suelos.

Dobbs y Hinson (1953), consideran que el suelo es un medio antagónico para los hongos, pues dicen que está formado -- por especie de islas, donde puede ocurrir cierta actividad temporal. Sus conclusiones fueron logradas al observar las conidias del Fusarium culmorum sobre portaobjetos en agar agua y, las clamidosporas del F. solani observadas directamente en el suelo (autores citados por Lockwood, 1976).

En 1938, Kubiena afirmó que la micostasis se debe a los cambios que ocurren continuamente en el suelo; esto es, el secado y humedecido, la congelación y el deshielo; así como la evaporación de la superficie del suelo, y todo esto aunado al bajo movimiento del protoplasma de los hongos, por lo que ocurre una germinación restringida de sus esporas y su resultado lisis.

Se ha sugerido que los hongos nativos del suelo, suelen adaptarse mejor que los hongos que no son habitantes de éste ,

a los cambios que ocurren en este medio; sin embargo las esporas de ambos grupos, suelen lisarse en el suelo (Parks, 1955 y 1957, citados por Lockwood, 1976).

Cochrane (1956), ha dicho que "una de las desventajas ecológicas que inciden sobre los hongos del suelo, es de que éstos requieren de nutrientes externos". El investigador sugirió que en un sustrato adecuado pueden crecer los hongos;-- sin embargo, si el sustrato es limitado o inadecuado, el hongo se lisará a menos que primero se formen las esporas resistentes; en tal caso, la población de los hongos puede disminuir (Chinn, 1953; Bresalis, 1962; Chinn, 1961).

Puede mejorarse la sobrevivencia de los hongos, aprovechando la capacidad que tienen para germinar cuando se exponen a los nutrientes difusibles de raíces de plantas susceptibles y de residuo de cosecha (Scroth, 1961).

En 1972, Watson y sus cols., definieron a la micostasis, como el "fenómeno que está constituido por propágulos de hongos viables (que no pueden vivir, bajo la influencia de latencia endógena o constitutiva) que no germinan en el suelo bajo condiciones favorables de temperatura y humedad, o cuyo crecimiento de sus hifas es retardado o determinado por otras condiciones del ambiente del suelo. Como se aprecia, en esta definición se considera la inhibición y estimulación de la germinación; el crecimiento y desarrollo de los hongos; así como

la formación de las clamidosporas (Ford, Gold y Snyder, 1970; citados por Watson, 1972).

Este fenómeno, también puede ser atribuido a una latencia exógena (Sussman y Halvorson, 1966); cuando el desarrollo del hongo se ve afectado por las condiciones desfavorables de naturaleza física o química, presente en el ambiente externo.

En 1972, Watson, afirmó que la micostasis es un fenómeno dinámico que se puede dividir en tres estadios: la inducción, el mantenimiento y la liberación de la micostasis. Cada estadio puede controlarse mediante el balance de los compuestos estimuladores e inhibidores de naturaleza móvil, efímera y estrechamente asociados en el tiempo o en el espacio con los microhabitats particulares de los sustratos; y los cuales probablemente tienen una acción específica para los diferentes hongos.

En las investigaciones hechas hasta hoy sobre la micostasis, se han puntualizado las siguientes características:

1.- La micostasis se encuentra presente en todos los suelos naturales (Jackson, 1958). Así mismo, Sharapov (1984), encontró que todos los suelos del horizonte  $A_1$ , inhibieron la germinación de las esporas de los hongos zoopatogénicos en el suelo.

2.- El factor micostático, es soluble en el agua, es difusible y

específico, además de que afecta a la mayoría de las especies de hongos analizados (Jacson, 1958), excepto las que se encuentran en la vecindad de la materia orgánica sin descomponer o en la rizosfera (Griffin, 1972).

3.- La micostasis (Microbiana) puede ser restaurada en el suelo estéril, mediante la reinoculación con microorganismos más o menos específicos, productores y no productores de antibióticos (Gash, 1965).

4.- Ocurre neutralización del efecto micostático, mediante el empleo de nutrientes ricos en energía (Abiad e Ismail, 1974).

5.- En algunos suelos persiste la micostasis, después de la esterilización (Micostasis residual) (Dobbs y cols., 1965).

6.- Se puede estimular la micostasis, mediante diversos factores ambientales que estimulan o inhiben el rango de energía (temperatura, contenido de agua, concentración iónica, concentración de sustrato soluble, concentración de metales pesados, etc. (Lockwood, 1976).

7.- Ocurre baja actividad micostática, en los pantanos y suelos anegados, en donde hay disminución en la producción de material inhibitor, bajo condiciones anaerobias parciales o por la pérdida del factor resultante, por lixiviado prolongado.

8.- Se ha detectado cierta coexistencia, entre la micostasis

y la actividad microbiana.

9.- La respuesta a la micostasis, es un proceso vital en el ciclo de vida de cualquier hongo del suelo (Watson y cols., 1972)

10.- La rizosfera de las plantas influencia diferencialmente la germinación de las esporas de los hongos. (Sharapov y cols., 1984).

## I I FACTORES FISICOS QUE AFECTAN LA M I C O S T A S I S

### A.- HUMEDAD Y AEREACION:

En una investigación detallada del efecto de la humedad del suelo sobre la micostasis, Balis y Kouyeas (1963), ajustaron los bloques de cuatro diferentes suelos, en un rango de tensiones de humedad de aproximadamente 0.4-3.5 atmósferas. A continuación los bloques se abandonaron durante cuatro días antes de analizarse el contenido de las esporas de *Arthrospora oligospora*. Se encontró que independientemente de la temperatura de germinación de la prueba, la tensión de humedad del suelo, denominada P óptima a la cual ocurre la máxima inhibición, tiende a permanecer constante, y ésta tiene un valor de 0.35 atmósferas. La germinación fué menor a 0.85 atmósferas y se incrementó por arriba de este valor. Ellos consideran que no tiene lugar la restauración de la micostasis en los suelos secos rehumedecidos y que la velocidad de formación y pérdida del probable factor micostático volátil depende de la tensión de humedad siguiendo una ecuación de primer grado.

Estos hallazgos concuerdan con otros trabajos realizados (Agnihotri y Vartaaja, 1967; Hashmi y Mallik, 1967; Tsao, 1969).

De los datos que se presentan en la figura i, parece -

aeróbicas o bien queda enmascarado por diversos productos del metabolismo anaeróbico microbiano, que han sido liberados en el suelo.

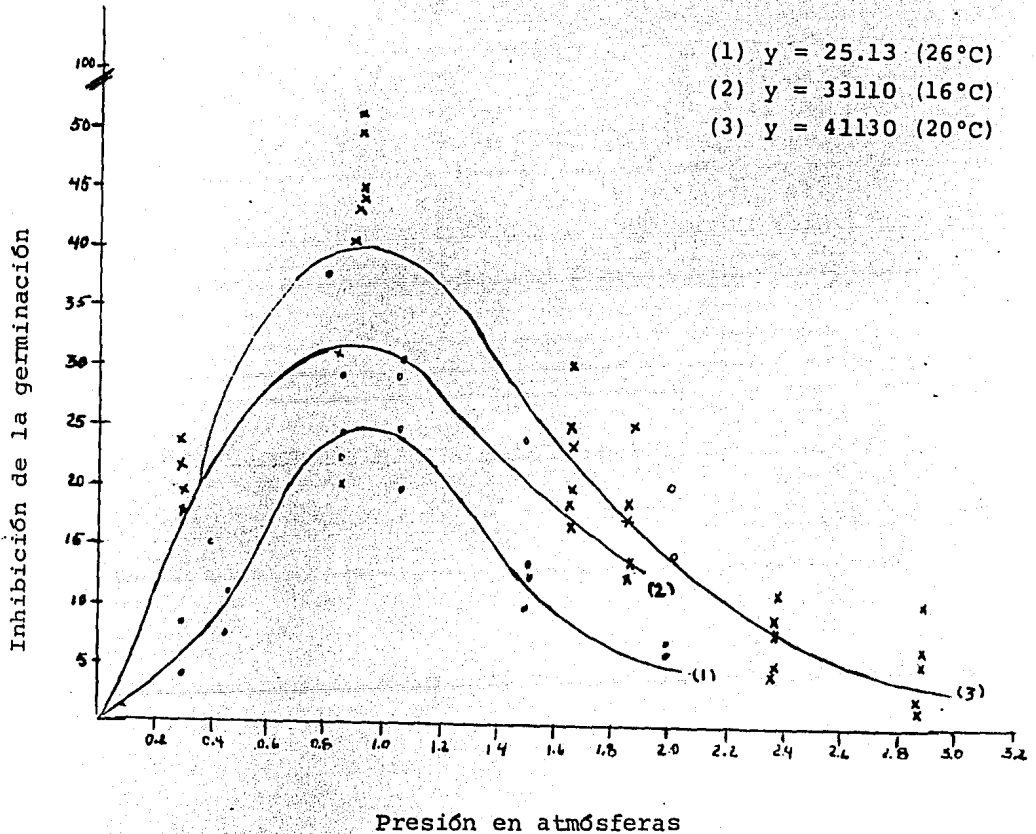


Figura 1.- Influencia de la temperatura de germinación sobre la expresión de la micostasis sobre las conidias de *A. oligospora*. La figura muestra que independientemente de la temperatura de germinación, la mayor micostasis se alcanza y es constante a 0.85 atmósferas.



Lockwood (1977), demostró que generalmente la micostasis es más fuerte en los suelos que retienen suficiente humedad, que en los suelos saturados de agua.

Al trabajar Roth y Griffin (1980), con las conidias del Cylindrocladium scoparium en suelos no estériles, encontraron mayor germinación en suelos húmedos (33-58%) que en suelos rehumedecidos (18-26%). Previamente Seidel en 1965, observó una supresión en la germinación de tres hongos incubados en discos de agar conteniendo 100% de humedad, y una menor supresión -- cuando la humedad fué de 30-60%.

#### B.- DISTRIBUCION VERTICAL.

En 1943, Newman y Norman analizaron diversos suelos americanos encontrando inhibición de la germinación de las esporas, a una profundidad de 1.20 metros. Jackson (1958), al examinar en Nigeria, dos perfiles del suelo a una profundidad de 1.83 metros, observó que la germinación del Penicillium frequentans sufría inhibición a una profundidad de 40 centímetros, -- mientras que en las capas más profundas no ocurría inhibición (Griffiths, 1966).

En Gran Bretaña, Dobbs y sus cols. (1960), analizaron la sensibilidad de las esporas del Penicillium frequentans, encontrando que la inhibición decrece sucesivamente con la profundidad hasta desaparecer a los 2.15 metros. Ellos notaron -

que los niveles a los cuales la micostasis puede controlarse, se halla más allá de la influencia de la raíz y frecuentemente dentro del cuadro de agua. Al comparar suelos secos con húmedos, vieron que en los primeros, ocurre una inhibición -- completa a mayor profundidad que en los segundos. En su reporte sugieren que "la inhibición se difunde a una profundidad mayor que en los suelos de clima tropical. (Citados por Griffiths, 1966).

Se ha encontrado, que los suelos secos muestran mayor inhibición, que los suelos anegados cuando la profundidad es de 3.60 metros (Griffiths, 1965, 1966). Este investigador sugirió que la actividad micostática se extiende solo cuando la profundidad es de 1.20-1.50 metros mientras que en las capas más profundas, existe un factor micostático de naturaleza no biológica, en virtud de la incapacidad del suelo para permitir la germinación de las esporas. Esto ocurrió con suelos esterilizados o bien por adición excesiva de nutrientes.

Abyad e Ismail (1974) encontraron que la inhibición -- disminuye al aumentar la profundidad del suelo hasta alcanzar un mínimo de 0.80-1.20 metros de profundidad.

Al examinar las propiedades micostáticas de 18 muestras de suelo coleccionadas de una sección vertical de 0.85 m. de profundidad, Kanaujia (1978), observó que la mayor micostasis ocurre en las primeras capas, zona donde la población de hon-

gos se redujo a cero como puede apreciarse en la tabla 2.

TABLA 2.- GERMINACION DE LAS ESPORAS DE MUCOR RAMANNIA-NUS SOBRE UNA CAPA DE CELULOSA EN SUELOS TRATADOS Y NO TRATADOS A VARIAS PROFUNDIDADES DE VARIOS PERFILES DE SUELO:

Muestra de	Suelos con agua destilada		Suelo con 1% de Glucosa	
	No. de esporas contadas	No. de esporas germinadas	No. de esporas contadas	No. de esporas germinadas
0.30 m	1328	13	1421	115
0.60 m	1640	17	1381	166
0.90 m	1882	16	992	101
1.20 m	1421	11	1071	33
1.50 m	1104	4	1521	123
1.80 m	1421	9	1300	150
2.10 m	1145	539	1107	576
2.40 m	919	379	1008	494

Durante los estudios realizados por Dutta y sus cols. - (1982), acerca de la actividad micostática del Verticillium dahliae, en relación con la profundidad del suelo; se concluyó - que el efecto se reduce al aumentar la profundidad del suelo, - después de relacionar este dato con la escasez de la materia - orgánica y microflora, coincidiendo el mayor efecto micostático con la producción de etileno.

### C. DISTRIBUCION HORIZONTAL.

La conclusión a que llegaron, Dobbs y Hinson en 1953, es de que la micostasis se expande en la superficie de los suelos debido a la acción de los inhibidores solubles en agua, y es de origen biológico.

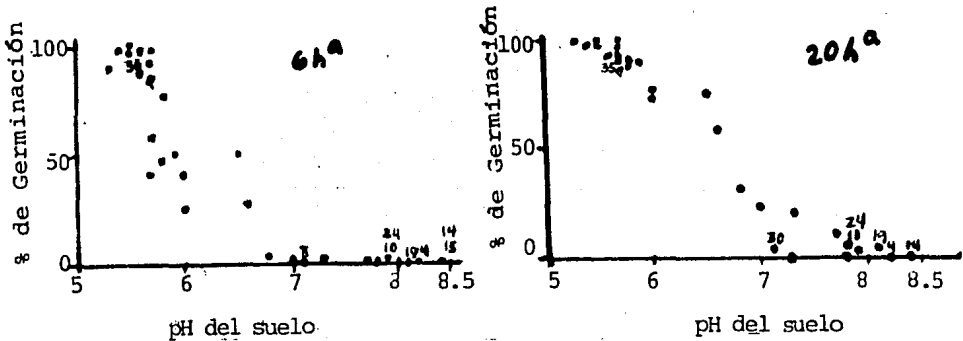
### D. EFECTO DEL pH;

Al acidificar paja de trigo, Joyces (1956), obtuvo una buena producción del antibiótico gliotoxina por Trichoderma viride, en tanto que al alcalinizarla no hubo producción; basado en estos hallazgos, sugiere que el pH del suelo ejerce un profundo efecto sobre la producción de antibióticos.

Shuep y Green (1963), al comparar varias muestras de suelo colectadas de los siete primeros centímetros del suelo, de diferentes campos cultivados en Indiana, U.S.A., encontraron una disminución en la micostasis del suelo al aumentar su acidez. Correlaciones similares fueron encontradas por Jackson en 1958, al usar a Penicillium citrinum como el hongo prueba, demostrando que en los suelos con pH de 2,8 a 4,9, no ocurría inhibición en la germinación de las esporas. Sin embargo Lingappa y Lockwood (1963), no concordaron con esta conclusión.

Schuep y Frei (1969), al comparar diferentes muestras de suelo, encontraron que el pH es la característica que más-

correlación tiene con la micostasis. En sus hallazgos, observaron que la germinación de las esporas de varios hongos es inhibida fuertemente, cuando las muestras de suelos alcalinos, se encuentran aproximadamente a un metro de profundidad. Ver tabla 3 y figura 2.



a \* Horas de preactivación de los discos de agar sobre papel celofán en el suelo antes de inocularlos con las esporas prueba.

Figura 2.- % de Germinación de las conidias de Trichoderma Koning sobre discos de agar- agua.

TABLA 3.- LISTA DE MUESTRAS DE SUELO PERTENECIENTES A LA FIGURA 2

No. de suelo	pH	Profundidad	Horizonte
4	8.2	1.03 m	AgC
10	7.9	0.88 m	pC
14	8.4	1.00 m	AgC
19	8.1	0.98 m	Cgg
24	7.9	0.90 m	BgC
30	7.1	1.00 m	AggC
35	5.5	0.88 m	BgC

Existe evidencia de que la sobrevivencia de los propágulos del Verticillium dahliae y las infecciones de la raíz de Datura stramonium, se reducen drásticamente mediante la acidificación del suelo. Tal disminución fué real cuando el pH del suelo fué alcalinizado al agregar hidróxido de calcio hasta -- llegar a un valor de 5. Al bajar el pH mediante la adición de Sulfato de aluminio y ácido sulfúrico se estableció el mismo-

efecto, disminuyendo los propángulos, este hecho fué debido a la toxicidad originada por el Aluminio<sup>3+</sup> (Baard y Pauer, 1982).

Los hallazgos previos de Griffiths en 1966, se relaciona de lo anteriormente expuesto cuando se presenta una marcada inhibición del Mucor ramannianus, en suelos ligeramente ácidos.

#### E.- POTENCIAL REDÓX:

Como se observa en la tabla 4, la adición de pequeñas cantidades de nutrientes al suelo no anula la micostasis a pesar de la disminución del potencial redox. (cuando se empleó suelo estéril, fué anulada la micostasis, presentándose una leve disminución en el potencial redox. De lo antes mencionado, se concluye que las condiciones redox no tienen efecto sobre la micostasis del suelo.

TABLA 4.-RELACION ENTRE EL POTENCIAL REDOX DEL SUELO Y LA MICOSTASIS.

Sustrato	Potencial	% de germinación
Suelo natural de textura limoso	216	-
Suelo esterilizado	198	+
Abono natural	192	-
Abono esterilizado	176	+
limo + 0.5% de peptona	-120	-
Abono natural + 0.5% de peptona	-36	-
agar-agua	276	+
Agar-agua con un día de contacto con el suelo.	276	-

NOTA: Los ensayos del suelo se hicieron con las conidias de los hongos de G. cingulata, E. oxysporum y P. fraquentans

+ = 20 -100% de germinación;

- = 0-19% de germinación.

#### F.- ESTERILIZACION:

1.- Calor seco: La esterilización con calor seco, o bien un secado prolongado anula la micostasis (Lockwood, 1964).

En muestras de suelo cultivados con Cajanus cajan y Lathyrus sativus, Mishra y Pandey (1978), señalaron que el calentamiento por encima de los 80°C durante 15 minutos anula por completo la micostasis.

2.- Calor húmedo: Mishra y Pandey (1978), después de someter a tratamiento al autoclave, durante 15 minutos a 15 libras de presión, suelo, descubrieron la anulación completa de la micostasis. Es de notarse que conclusiones similares fueron obtenidas por Dobbs, 1953; Lockwood, 1964, Shin y Takagi, 1973.

En oposición a lo anterior Ko y Hora (1971), no encontraron tal hallazgo cuando utilizaron conidias de T. viride, M. remannianus, A. fumigatus y ascosporas de N. tetrasperma.

3.- Fumigantes: La micostasis se anula cuando se aplican fumigantes (Lockwood, 1964). Sin embargo Ko y Hora (1971), no encontraron esto cuando emplearon como fumigante al óxido de propileno; Kutxera y Hoffmann (1976) al trabajar con los hongos Fusarium avenaceum, Fusarium oxysporum y F. solani (insensibles-

a la micostasis) encontraron que el bromuro demetilo aumentó - débilmente la micostasis; además encontraron que el efecto de este fumigante fué menor al disminuir la temperatura.

4.- Radiaciones gama: Las esporas germinaron en suelo esterilizado con radiaciones gama, cuando la temperatura máxi- ma del suelo durante el tratamiento fué de 40°C. De estos da- tos (Ver tabla No. 5) se deduce que la actividad micostática no es causada por la alta temperatura del autoclave, ni que la micostasis sea debida a sustancias termolábiles presentes en - el suelo.

TABLA 5.- EFECTO DE LAS RADIACIONES GAMA SOBRE EL CRECIMIENTO DE LOS HONGOS Y BACTERIAS DEL SUELO:

Suelo	Número de microorganismos/gramo de suelo seco	
	Hongos X 10 <sup>4</sup>	Bacterias 10 <sup>6</sup>
Suelo tratado con radiaciones gama	0	0
Suelo natural	101	74
Suelo sometido al autoclave	0	0

La tabla anterior nos indica, que una intensidad de ra- diación de  $5.1 \times 10^6$  roetgens, es dosis suficiente para des- truir todos los hongos y bacterias del suelo. Esto facilita - el cultivo de hongos prueba para su posterior estudio (Kusaka- ri y cols., 1973).

5.- Filtración: Existen diversos reportes que indican la



inhibición de la germinación de los hongos en extractos acuosos del suelo (Stover, 1958; Jackson, 1958; Dobbs y Griffiths, 1969; Dobbs y cols., 1960 y Griffin, 1962). Cuando extractos de diferentes suelos se hicieron pasar a través de filtros, - hubo eliminación del efecto inhibitorio (Park, 1956; Stover, 1958; Jackson, 1958; y Griffin, 1962).

En contraste con lo antes descrito, Dobbs y Griffiths- (1960), hallaron cierta inhibición en la germinación de las esporas de un extracto de suelo, cuando este fué filtrado (a través de un filtro Seitz) bajo condiciones reducidas de aire. - Sin embargo, estos autores consideran que los extractos del -- suelo filtrados o sin filtrar no inhiben la germinación de las esporas en presencia del aire.

Contrariamente a lo reportado por los investigadores anteriores Dobbs y cols., Hack y Williams (1960); Lingappa y --- Loelwood (1961); señalan en sus trabajos que los extractos del suelo no presentan cualidades inhibitorias ni estimulantes.

#### G.- CONGELACION Y DESHIELO:

Los estudios hechos por Cooke en 1967, indican que la - micostasis es más intensa en las zonas con abundante vegeta--- ción que en las zonas en donde la vegetación es escasa; ello - ocurrió a pesar de que en el centro del suelo testigo habia es casa población microbiana cuya fuente de nutrientes y micro-- flora era pequeña. De esto se deduce, que posiblemente no se-

formaron en el suelo testigo concentraciones de metabilitos tóxicos para los hongos.

TABLA 6.- PORCENTAJE PROMEDIO DE GERMINACION PARA LAS CONIDIAS DEL P. FREQUENTANS: LA POBLACION DE HONGOS Y LA PERDIDA DE IGNICION DEL SUELO MUESTRA:

	Distancia del hielo en metros					
	400 margen centro	400 margen centro	800 margen centro	800 margen centro	1000 margen centro	1000 margen centro
Hongo/ gramo de suelo seco en cientos	291	45	74	72	115	18
Porcentaje de germinación de las conidias.	12.6	0	32	0	11.3	3.6
Porcentaje de pérdida de ignición.	4.3	2.6	4.2	4.1	5.4	3.1

En 1982, Bayley y cols., recolectaron varios exudados de raíces de trigo que habían sido congeladas y descongeladas previamente. Ellos notaron que los exudados incrementaron la germinación de las esporas con rompimiento de las hifas y conidiogénesis de Cephalosporium gramineum; hecho que no ocurrió con los exudados de la raíz no congelados. Basándose en el hecho anterior, estos investigadores propusieron que la acción de la congelación puede ser un factor importante que afecta la predisposición de las plantas del trigo a la penetración activa y la infección por C. gramineum.

#### H.- EFECTO DE LAS CARGAS ELECTRICAS:

Las clamidosporas de Fusarium oxysporum f. sp. lini (patógeno de lino) germinaron en agua destilada, deionizada y en extractos de suelo obtenidos por filtración a través de una membrana (milipore); pero no lo hicieron en suelos de cultivo o en extractos de suelo en agua.

Los efectos micostáticos del suelo con efecto supresivo fueron de dos a tres veces mayores, que los de suelo natural. (Chiou y Yang, 1979).

#### I.- FERTILIZANTES:

Las propiedades micostáticas de los suelos fertilizados con urea, sulfato de amonio, abono orgánico y hojas frescas de Ipomea fistulosa, fueron superiores a las encontradas en suelos no abonados, cuando se sometieron a prueba diez hongos (Kanaujia, 1977). Resultados similares fueron obtenidos por Pandey (1976), con muestras del suelo recolectadas en la superficie de las raíces de cultivos de Cajanus cajan y Lathyrus sativus a las cuales se les adiciono diversas soluciones de urea, sulfato de amonio y superfosfato al 1.0, 1.5 y 2.0%, respectivamente, más un abono orgánico. Los hongos estudiados, manifestaron una considerable variación hacia la micostasis, cuando se incrementó la concentración de los fertilizantes.

Mirchink y sus cols. en 1981, observaron que la población de P.funiculosum (nativo de los suelos podzólicos-sódicos), cambiaron más rápido a un estado de micelio activo en un suelo fertilizado con puro nitrógeno que en un suelo fertilizado con nitrógeno y sodio. En el segundo tipo de suelo, se observó un retardo en la germinación de las esporas. Lo que indica, que en este tipo de suelos también se presenta la micostasis.

#### J.- TEXTURA DEL SUELO.

Se ha visto que ocurre la menor inhibición, en los suelos con el más bajo contenido de arcilla y la más elevada inhibición en los suelos limo-arcillosos (38,9- 39% de arcilla) -- (Maureen y Baker, 1972).

En 1981, Epstein y Lockwood comprobaron que los suelos de textura pesada (arcillo-limosa) requieren de más nutrientes para la germinación de las esporas, que los suelos de textura arenosa.

#### K.- PRESENCIA DE LA MICOSTASIS EN LOS DIFERENTES SUELOS.

En 1953, Dobbs y Hinson, reportaron en la Gran Bretaña una inhibición completa en la germinación de las esporas -- del Penicillium frequentans observada en los siguientes tipos de suelos: 5 forestales; 5 grasos incluyendo los suelos ácidos

y calcáreos; 3 de jardín con diferente grado de fertilidad y 3 suelos inundados. En los años de 1941, Neilson y Brian; 1945, Homing y Cowan y en 1955, Jeffery y Hemming, publicaron que en los suelos ácidos de matorrales existe muy pobre desarrollo de hongos y de bacterias. Antes Hessayon (1953), encontró un factor inhibidor del crecimiento de *Trichoderma roseum*, el cual estuvo presente en cantidades mayores en los suelos arcillosos que en los suelos arenosos (autores citados por Jakson, 1958).

Al estudiar Park, (1955, 1956) la arcilla de un suelo de jardín, observó la existencia de cierta lisis en las esporas de los hongos que se encontraban en contacto con este suelo.

En Alemania, Winter, (1940, 1955) aisló de los extractos de suelo, el hongo *Ophiobolus graminis*; encontrando además que en los extractos de las capas del mantillo de pino, existían diversas sustancias con propiedades antibióticas.

Existe evidencia en América, de la presencia de material inhibidor en la superficie de los suelos (Newman y Norman, 1943).

Recientes estudios realizados por Jackson (1953) sobre la micostasis, en suelos de cultivo, subsuelos, suelos vírgenes con pocas cantidades de residuos de plantas, suelos tropicales, subtropicales y templados, indican una marcada inhibición de cada uno de estos suelos para *Penicillium frequentans*

(Watson y Ford, 1972).

### III FACTORES QUIMICOS QUE AFECTAN LA MICOSTASIS

#### A.- RELACION C: N E INHIBIDORES VOLATILES:

Griffin consideró en 1972, que una combinación en los efectos inhibidores e inductores de la germinación, tiene lugar - si ocurre ésta en la propágulos de la rizosgera de las plantas adyacentes a los residuos orgánicos, o en otros ambientes similares donde los sustratos de Carbono y Nitrogeno están disponibles.

Ver Fig. 3.

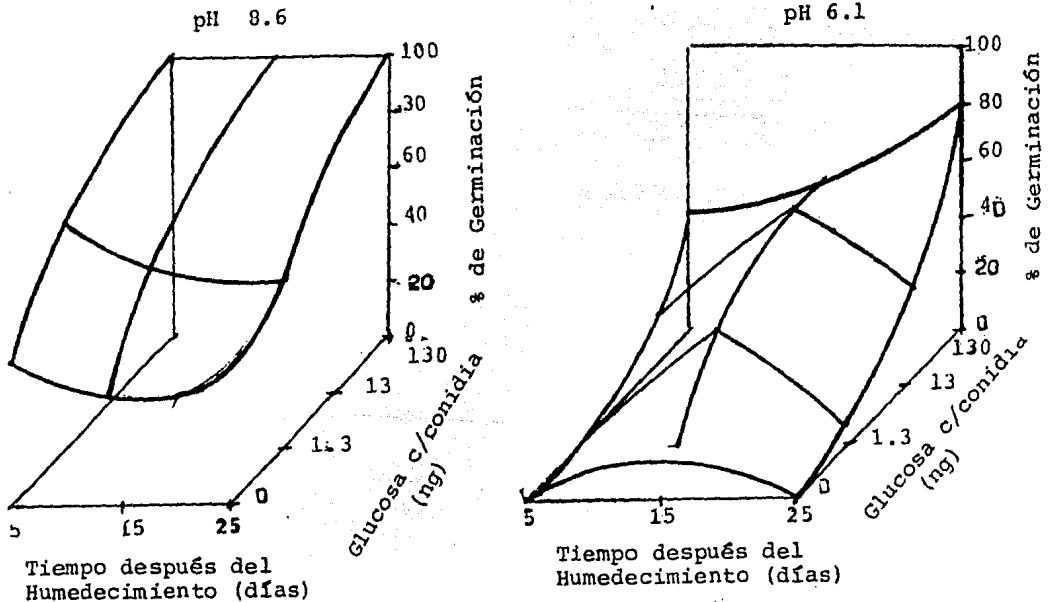


Figura 3.- Germinación de las macroconidias de *Fusarium Solani* f. sp. phaseoli en discos de agar lavados en respuesta a los volátiles de seis diferentes suelos en presencia y ausencia de tres concentraciones de glucosa más cloruro de amonio (0.065 ng de Nitrógeno por ng de Carbono). La incubación tuvo una duración de 16 horas a 25°C. La germinación se basó sobre una cuenta de 600 conidias (200 por disco). La germinación en los controles sin suelo fué de 95 a 100% en abos casos.

Como se presenta en la figura No. 3 las sustancias volátiles del suelo, inhiben la germinación de las esporas cuando el pH es de 7.5 o más, así mismo se nota que la combinación de la glucosa con el cloruro de amonio, aumentan el porcentaje de germinación en presencia de los volátiles del suelo.

Sin embargo en 1975, Griffin observó que los cultivos axénicos de las conidias de Fusarium solani f. sp. phaseoli; Aspergillus flavus y Verticillium albo-atrum sufren inhibición cuando son lavados y colocados sobre discos de agar conteniendo una solución inorgánica a diferentes concentraciones de Carbono y Nitrógeno y son expuestos a volátiles de diferentes suelos - (pH 5.1-8.5) principalmente cuando el pH es elevado (7.0-8.6). También se encontró que los niveles altos de glucosa y cloruro de amonio, invierten esta inhibición; mientras que una mezcla de aminoácidos anuló dicha inhibición; además notó que los inhibidores volátiles de otros suelos estimularon la germinación de A. flavus.

Cuando se realizaron pruebas para determinar algunas propiedades de los inhibidores volátiles al A. flavus, utilizando la extracción del Bióxido de Carbono del aire en suelos con pH de 5.1, se advirtió que era un compuesto soluble en hidróxido de potasio (autor citado anteriormente).

La germinación de las conidias de Verticillium albo-atrum es estimulada por los volátiles pero no se afectó por la presencia de Bióxido de Carbono. Estos volátiles del suelo --



pueden aumentar los requerimientos nutricionales para la germinación de las esporas de algunos hongos (Griffin, 1975).

Robinson y Park (1966), indican que al mismo tiempo -- que se forman esporas, se encuentran presentes en el ambiente original sustancias que inhiben la germinación de las esporas -- las cuales son capaces de disminuir el nivel o la actividad de los volátiles responsables de la esporostasis in vitro. Ellos reportaron que bajo condiciones de almacenamiento las fracciones no disminuyen su actividad por un periodo de seis semanas. Parece ser que la germinación de la espora es la responsable de la disminución en la actividad de dicha fracción volátil.

Estudios realizados con F. oxysporum y R. stolonifer, sometidos a cultivo y filtración, así como su posterior análisis por cromatografía de gases, demostraron que los aldehídos inducen la micostasis de sí mismos y de otros hongos en forma diferencial (Robinson y Park, 1966).

En 1972, Hora y Baker afirmaron que la inhibición debida a los volátiles, persiste después de la esterilización, especialmente en suelos con pH alto o neutro. En su reporte señalan que los inhibidores volátiles inhiben la germinación de F. solani, f. sp. phaseoli así como a las ascosporas de Neurospora tetrasperma (considerada insensible a la micostasis) en un suelo pantanoso, y esto lo atribuyeron al efecto que ejerce

el pH. Romine y Baker (1972), no detectaron inhibición debida a sustancias volátiles en discos sin lavar (con nutrientes). - Dichos investigadores proponen la existencia de un factor micostático volátil en el suelo, quien puede ser anulado con nutrientes apropiados, las razones de esta suposición son las siguientes:

1.- El compuesto (factor) fungistático volátil (VFF) se presenta en los suelos solamente bajo circunstancias especiales (por ejem. inmediatamente después de humedecer suelos alcalinos secos) para mantener la homeostasis en el suelo.

2.- El VFF se halla frecuentemente en algunos suelos so lo que a veces las técnicas no son las apropiadas para detectar lo.

Ko, Hora y Herlicska (1974), identificaron al amonio co mo un factor micostático, presente en suelos alcalinos. Smith-reporta al etileno como una sustancia activa que se encuentra comunmente en suelos australianos. Romine y Baker (1972), detectaron además inhibidores volátiles en suelos ácidos; no obstante, Lockwood en 1975 no encontró este inhibidor en el suelo limoso de serie Conover (pH 6.7). Ver tabla No. 7.

TABLA No. 7.- CONTRIBUCION DE LOS INHIBIDORES VOLATILES A LOS-SUELOS ACIDOS (Textura limoso y areno-limoso, pH 5.9).

Hongo	% de Germinación de las esporas			
	limo serie Conover		areno-limoso	
	con aereación	sin aereación	con aereación	sin aereación
<i>Bipolaris maydis</i>	6	2	4	12
<i>Exserophilum rostratum</i>	34	37	14	15

Si los inhibidores volátiles son la principal causa de la micostasis del suelo, se espera que los hongos sensibles a los inhibidores volátiles germinen libremente en el suelo. Smith, 1973, reportó que *E. rostratum* y *A. solani* (insensibles a los inhibidores volátiles no germinaron en los suelos prueba, sin embargo tres hongos sensibles no germinaron en presencia de 0,5 gramos de suelo. Se observó que una aereación prolongada (para quitar los inhibidores volátiles), no aumentó la germinación de las esporas. Bristow y Lockwood (1975) introdujeron aire seco por períodos prolongados al suelo y no observaron que ocurriera germinación de las conidias de *Cochliobolus victoriae*, de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*; así como de esporas nativas del suelo. Esto contrasta con los resultados de Smith, (1973), quien afirma que la micostasis en suelos australianos se anula por un tratamiento similar; propone que los inhibidores volátiles son un factor secundario al impuesto por la micostasis para los hongos sensibles a ellos.

Ko y Hora afirmaron en 1975, la factibilidad de que en muchos suelos alcalinos no exista amonio. (inhibidor volátil).

Harman y cols. (1979) afirman que los organismos que viven sobre las plantas tienen cierta desventaja ecológica, debido a que los volátiles producidos por las plantas, estimulan la germinación de las esporas mediante sus exudados.

#### B.- EFECTO DE ALGUNOS COMPUESTOS ORGANICOS VOLATILES:

Filonow y Lockwood (1981), encontraron que los esclerocios de M. phaseolina perdieron más Carbono<sup>14</sup>, en el suelo tratado con urea, que en los suelos testigos.

Al someter varios discos inoculados con conidias de Arthrobotrys oligospora a incubación en atmósferas que contienen un 50% de etileno (volumen/volumen). Encontraron que la germinación en todos los casos ocurrió sin restricción e igualó a aquellos que se encontraban libres de etileno. Sin embargo cuando se emplearon discos similares a los anteriores pero ahora colocados en cajas de petri divididas en dos partes e invertidas sobre la superficie de una muestra de suelo contenido dentro de frascos de vidrio con un papel filtro plegado e impregnado de una solución de nitrato de plata, en estos discos se presentó el fenómeno de la micostasis.

Se detectó la formación de varias sustancias volátiles entre ellas el alcohol etílico, en cantidad suficiente para igualar la actividad micostática de los suelos tratados con etileno. En las pruebas preliminares, los vapores que se hi--

cieron difundir de la solución de alcohol etílico y ácido acrílico ejercieron una actividad micostática para los suelos que habían sido tratados con etileno, pero su efecto se redujo -- cuando se usó nitrato de plata. La germinación de los esporas de A. oligospora sufrió reducción al 13% cuando se empleó alcohol etílico (4 ppm) y de 96 a 7% por el ácido acrílico (1 000-ppm); debido a que este compuesto tiene velocidad de difusión-reducida, lo que se indica por su baja actividad micostática.- De lo antes mencionado, se concluye que dentro de cierto límite de concentración, la actividad de ambos compuestos, depende de la especie de hongo y del nivel de nutrientes empleados. -- Sin embargo, no se presentó daño en la actividad de la espora durante un tiempo considerable. Todos los resultados concuerdan con trabajos previos que indican que el etileno es un factor micostático, lo mismo que el ácido acrílico, el alcohol -- alílico y otros posibles volátiles aun no identificados (Balis, 1976).

Ko y Hora, reportaron en 1975 que ciertos volátiles - del suelo estimularon la germinación de las conidas de V. albo-atrum y A. flavus; Hora y Baker (1975), concluyen que el bióxido de carbono participa en parte en la estimulación de los volátiles del suelo sobre A. flavus. Sin embargo, la remoción - del bióxido de carbono no modifica el efecto estimulador de los volátiles del suelo sobre V. albo-atrum (Griffin, Hora y - Baker, 1975. Estos autores mencionan que algunas sustancias - difusibles en agua presentes en varios suelos que presentan el fenómeno de la micostasis estimularon la germinación de las co

nidias de V. albo-atrum. Parece ser que este hongo posee propiedades fisiológicas diferentes a los demás hongos estudiados. Estas observaciones concuerdan con las notas sugeridas por Watson y Ford en 1972, de que los inhibidores y estimuladores suelen ser específicos en sus efectos. Vaartaja (1974), encontró diversas sustancias estimuladoras a Pythium ultimum, en fracciones de extractos de suelo, después de haber empleado una separación molecular por cromatografía. Este investigador propone que otros compuestos volátiles solubles en hidróxido de potasio presentes en el suelo tales como compuestos fenólicos o ácidos grasos, son de carácter micostático (autores citados por Ko y Hora, 1975).

Harman y cols. (1979), estudiaron el efecto de los ácidos grasos y sus productos de oxidación que son volátiles sobre la estimulación de la germinación de las esporas de los hongos. Observaron que con solo 200 ppb de 2,4 hexadienal en solución etérea, se estimuló la germinación de las conidias de Alternaria alternata en suelos donde se ha inducido la latencia de las esporas. Este compuesto además del 2-hexeno-1-ol y ácido palmítico, estimularon la germinación de las esporas de Fusarium solani f. sp. También aldehídos así como algunos aldehídos y ácidos grasos de 16 a 18 carbonos, estimularon la germinación de las esporas de F. solani de 10 a 100 veces. La germinación de las clamidosporas de F. solani f. sp. pisi, fue estimulada con Heptanal Cetanal, nonanal, trans-2-4-monodienal, undecanal a concentraciones de 20 000 a 200 000 ppb en el aire, pero esto no ocurrió a concentraciones menores. Otros compues

tos, similares a los anteriores, estimularon la germinación de las conidias e inhibieron la esporulación de las clamidosporas de A. alternata cuando las concentraciones fueron tan bajas - como de 800 ppb.

Recientemente han sido detectados etileno y metano en tres tipos de suelo, por medio de cromatografía de gases. Al estudiar la superficie del suelo rica en materia orgánica y microflora, se ha encontrado mayor efecto micostático, así como la formación de grandes cantidades de etileno. Las cantidades de hidrocarburos formados fueron diferentes al variar la temperatura y las estaciones del año. Además se ha detectado que el etileno y el metano son productos metabólicos de los microorganismos del suelo, lo que indica su posible papel en la micostasis del suelo.

Se han realizado investigaciones para ver si el ethrel (ácido fosfórico 2 cloroetano), un generador de etileno en solución acuosa, induce la micostasis en suelo esterilizado. Se halló que éste inhibe la germinación de las esporas del suelo y además afecta la actividad de los microorganismos del suelo a bajas concentraciones (1 mUI/l). Así mismo se halló que la germinación de las esporas aumentó al suplementar el suelo con glucosa (1 a 10%). (Dutta y Deb. 1984).

#### C.- EFECTO DE ALGUNOS COMPUESTOS INORGANICOS:

Se ha considerado que diversas sustancias como caoli-

na, alúmina, capa de cenizas y arena calcárea, disminuyen la germinación de las esporas de los hongos. Ver tabla No. 8.

TABLA No. 8.- EFECTOS MICOSTATICOS PARA DIFERENTES SUELOS Y --  
SUBSTRATOS:

Suelo o Sustento		% Promedio de germinación de la Coni--- días de <i>G. cingulata</i> .	
		Método directo	Método indirecto
Suelo de textura limoso serie Conover	Natural	0	0
	Esterilizado	100	100
Abono	Natural	0	12
	Esterilizado	96	100
Suelo forestal	Natural	0	0
	Estéril	96	95
Arena	Natural	4	16
	Estéril	40	100
Fibra de vidrio	Estéril	0	90
Papel filtro de celulosa	Estéril	0	90
Carbón	Estéril	0	10
Bentonita, celita y talco	Estéril	0	90

Como se nota, todos los suelos y sustratos tuvieron efectos micostáticos similares para los hongos: *P. frequentans*, *F. oxysporum* y *F. lycopersici*.

Las sustancias micostáticas aparentemente no fueron difusibles a través de todas las sustancias probadas, a excepción de la arena y el carbón, la micostasis puede ser elimina-



da por esterilización.

Al realizar estudios, sobre la liberación del inhibidor volátil con ácido clorhídrico, Ko y Hora (1971), observaron -- que los suelos colorados de Oahoy y Haway contenían 11.0, 21.7 y 10.5 de Carbonato de Calcio, respectivamente; no encontrándose correlación alguna entre el inhibidor volátil y la concentración de carbonatos en los suelos. No se detectaron inhibidores volátiles al remover los carbonatos del suelo por tratamiento con ácido clorhídrico. De aquí que se sugiere que el inhibidor volátil se inactivó o se escapó junto con el bióxido de carbono. Ver tabla No. 9.

TABLA No. 9.- GERMINACION DE LAS CONIDIAS DE HONGOS SOBRE DISCOS DE AGAR COLOCADOS EN MUESTRAS DE SUELO CONTENIENDO CARBONATOS CON Y SIN TRATAMIENTO CON ACIDO-  
CLORHIDRICO:

Suelo tratado con	% de Germinación	
	P. frequentans	T. viride
H <sub>2</sub> O	0	13
HCl <sup>c</sup>	99	98
Control agua destilada	99	95

c el suelo tratado tuvo un pH de 3.9

Se ha notado que tanto la solución de Pfeffer y la --  
amortiguadora de fosfato 0.025 M, son tan efectivas como el --

agua, para suprimir la germinación de las conidias de C. victorieae no lavadas en el sistema de lixiviación. De esto podemos deducir que la presencia de las sales minerales no parece ser un factor limitante en la germinación de las esporas en el sistema sometido a lixiviación. Ver tabla No. 10. (Bristow y Lockwood, 1975).

TABLA No. 10.- % DE GERMINACION DE LAS CONIDIAS DE C. VICTORIEAE NO LAVADAS, INCUBADAS DURANTE 12 HORAS EN ARENA SATURADA CON LOS MISMOS MEDIOS NO LIXIVIADOS COLOCADOS SOBRE SUELO DE TEXTURA LIMOSA O SOBRE MEDIO PDA:

Medio	Lixiviado*	% de Germinación**
Agua destilada	±	27
		77
Amortiguador de Fosfato	+	20
	-	70
Solución de Pfeffer	+	29
	-	80
Extracto del tratamiento del suelo	+	40
	-	81
Suelo de textura limosa		12
Dextrosa papa agar		83

+, Con lixiviado - , sin lixiviar \* Velocidad de flujo 75 ml/h

\*\* ISD (P=0.05) =16

Se ha encontrado que en algunas ocasiones se necesitan únicamente sales minerales para estimular la germinación de las

conidias de B. cinerea (nutriente dependiente) mediante un -  
previo lixiviado Szhjnberg y Blakeman, 1973).

Pandey en 1976 realizó investigaciones sobre el efecto de varias sustancias químicas en la actividad micostática del-suelo usando dos hongos prueba: Curvularia lunata y Fusarium oxysporum. Se observó que la adición de permanganato de Pota-sio ( $KMnO_4$ ) y sulfato de cobre ( $CuSO_4$ ) a los suelos incrementó la micostasis de ambas especies, observándose la siguiente ten-dencia de inhigición, para el caso de Curvularia lunata:  $KI > NaCl > NH_4Cl > K_2HPO_4 > KNO_3 > KH_2PO_4 > MgSO_4 > Cl$ ; mien-tras que en el caso de Fusarium oxysporum la tendencia de in-hibición fué como sigue:  $KI > NaCl > Cl > NH_4Cl > KH_2PO_4 > KNO_3 > MgSO_4$ .

Estos resultados evidencian que los diferentes agentes químicos agregados al suelo, afectaron el grado de la micosta-sis (Pandey, 1976). Ver tabla No. 11.

TABLA No. 11.- MICOSTASIS DE MUESTRAS DE SUELO ADICIONADAS CON DIVERENTES COMPUESTOS QUIMICOS:

Compuestos químicos usados	H O N G O P R U E B A	
	Curvularia lunata	Fusarium oxysporum
KCl	9	25.9
KI	79.3	74.3
$KH_2PO_4$	14.6	21.6
$K_2HPO_4$	18.6	17.9

KMnO <sub>4</sub>	100.0	100.0
KNO <sub>3</sub>	16.0	11.0
MgSO <sub>4</sub>	11.9	10.3
CuSO <sub>4</sub>	100.0	100.0
NaCl	40.3	55.3
NH <sub>4</sub> Cl	25.0	24.0
Suelo esterilizado	0.9	1.0
Suelo control	0.3	0.0

---

NOTA.- Los resultados demuestran la tendencia que tienen de inhibir la germinación de las esporas de los hongos prueba, los diferentes compuestos químicos expresada en por ciento.

Se ha observado que el cobre induce la micostasis de -- los microesclerocios del Verticillium albu-atrum, influyendo esto en que se presentara la infección del algodón en el campo del Valle de San Joaquín, California, U.S. A. Se encontró que se disminuye con tratamiento con NaCl, al reducirse la eficiencia del inóculo del Verticillium sobre el algodón. (Anshwort y cols. 1976).

Al investigarse el papel del hierro y del potasio sobre la micostasis del suelo; Ismail (1978) usó seis tipos de suelo que fueron divididos en dos partes: en una de ellas las muestras fueron esterilizadas; en tanto que las otras muestras se usaron sin esterilizar. Al analizar el efecto del suelo sobre

las conidias y la ocurrencia de una enfermedad en semillas de cuatro cultivos de trigo, encontraron que la germinación de las conidias se presentaba en suelos cultivados con trigo o maíz con mínima inhibición; y que la más alta inhibición en suelos cultivados con alfalfa y trébol.

En todos los suelos examinados hubo actividad micostática típica, la cual fué eliminada por esterilización. En el suelo con alto contenido de humus, hierro y potasio y esterilizado, causó una disminución significativa de la germinación de las conidias.

Filonow y Lockwood en 1981, marcaron las esporangiosporas de P. ultimum, las conidias de C. victoriae y los esclerocios de M. phaeolina con Carbono<sup>14</sup>. Las incubaron sobre arena lixiviada y a continuación las trataron durante dos y tres horas con las concentraciones de amonio siguientes:  $10^2$ ,  $10^3$  y  $10^4$  microgramos por mililitro.

Se hizo notable una pérdida repentina del Carbono<sup>14</sup>, cuando las células se murieron. Cuando se usó una concentración subletal de amonio y posteriormente las esporas fueron transferidas al medio papa-dextrosa agar (PDA), se indujo la pérdida del Carbono<sup>14</sup>, con el subsecuente retardo en el crecimiento de las hifas y en la esporulación de los propágulos. Estos resultados sugieren que el amonio es un agente micostático, que puede inducir la liberación de nutrientes endógenos presentes en los propágulos y así servir como sustrato para

los microorganismos del suelo.

Se han realizado investigaciones con extractos clorofórmicos de suelo para ver si contiene el o los compuestos que afectan la germinación de los hongos Dendryphiella salina (organismo acuático salino facultativo) y Curvularia sp. (terrestres). De este extracto, se aisló a la oponina, la cual ---- estimulo al hongo D. salina en todas las concentraciones probadas, mientras que a Curvularia lunata, la estimuló a la más alta concentración usada, pero la inhibió a bajas concentraciones. La edad del cultivo no alteró la sensibilidad de ambos hongos hacia la aponina; pero el porcentaje de germinación de Curvularia sp si fué afectada por la edad del cultivo. (Halvorson y cols., 1984).

#### IV FACTORES BIOLÓGICOS QUE AFECTAN LA MICOSTASIS.

##### A.- RIZOSFERA:

Existe evidencia de que en la zona de la rizosfera de muchas plantas de la selva, no tiene efecto la micostasis; por ello Griffiths en 1965 propuso que los exudados de la raíz interfieren en la liberación de un factor tóxico de carácter biológico.

Watson y Wong dicen que los exudados de la raíz de Mikania cordata, no solo disminuyen el crecimiento de los árboles de caucho, sino que también tienen un efecto sobre la extensión de las hifas de los hongos Fomes annosum y Ganoderma sp. (datos no publicados por el Instituto del Hule, Kuala Lumpur (citado por Griffiths, 1965).

Se ha dicho que las plantas producen gran variedad de exudados que posiblemente estimulan la germinación de las esporas. Los trabajos realizados por Harman (1978) y Menzies (1977); indican que los exudados volátiles tienen la capacidad de acelerar la germinación de las esporas, hecho que no ocurre en el suelo. En las esporas de los mohos y del Penicillium, se puede estimular su germinación mediante la aereación con compuestos similares a los volátiles (French, 1961, 1975, 1977 y 1978). (Citados por Harman 1979). Ellos reportan que el proceso de -

formación de estructuras infectantes, se debe a la estimulación por carbonilos volátiles.

Algunos tejidos de plantas hospederas contienen ácidos grasos insaturados, así como sus tejidos rotos como consecuencia de la infección y peroxidación. De esta manera un sitio recientemente infectado tendrá ácidos grasos insaturados y sus productos de peroxidación; sustancias que inhiben la formación de las esporas y estimulan la germinación de diversos hongos que ya se han adaptado a estos compuestos y así pueden permanecer en estado vegetativo (Harman, 1979).

El citado autor concluye... "si las esporas de los hongos germinan en ausencia de un hospedero apropiado o no esporulan cuando el abasto de energía está agotado, es improbable -- que sobrevivan. Al parecer, es posible controlar la patogenicidad de algunos hongos mediante el empleo de compuestos lipídicos volátiles..."

Al estudiar el efecto de las excreciones de las raíces del algodón, tabaco, alfalfa, peonía y trigo, Karimv (1980) observó que la germinación de las clamidosporas y endocondidas de las cepas de T. basícola fueron afectadas de manera significativa. Las excreciones radiculares del trigo (planta resistente a la pudrición negra de la raíz), estimularon la germinación de los gérmenes patógenos. Además este investigador encontró cierta competencia debida a la velocidad de crecimiento



de la cepas de T. basícola del algodón, tabaco y peonias, solo cuando se usaron estas plantas hospederas.

Coley y Smith (1980), señalaron que las esclerocias de S. gladioli permanecen latentes y sin dañarse en ausencia de ciertas plantas hospederas. También encontraron que las semillas inducen la germinación de los esclerocios únicamente en respuesta a la planta hospedera. Bajo condiciones asépticas los esclerocios germinaron libremente y sin respuesta específica a los extractos de plantas y a las soluciones nutrientes usadas. También se ha observado que los esclerocios están sujetos al fenómeno de la micostasis.

Krigsvold y sus cols. (1982), al trabajar con los microesclerocios de C. crotalariae, encontraron que éstos germinaron en mayor grado en la rizosfera del cacahuete sensible a dicho patógeno que en la rizosfera del cacahuete resistente. Los microesclerocios germinaron en respuesta a los exudados de la raíz. Se requirió agregar mayores cantidades de Carbono al exudado de raíz del cacahuete resistente (Argentina) que el exudado de raíz del susceptible (VA-72-R). Para cada cultivo, el porcentaje de germinación de los microesclerocios se relacionó directamente con los niveles del carbono en los exudados de las raíces; además se encontró que cada uno de los componentes químicos del exudado (azúcares, Aminoácidos y ácidos orgánicos) estimularon la germinación de los microesclerocios.

En 1977, Bhalta y Samaddar reportaron que la germinación de las conidias del Pyricularia oryzae y Helminthosporium oryzae, fueron estimuladas por los exudados de la raíz de las plantas hospederas (arroz) y no hospederas. Ver tabla 12.

TABLA 12. EFECTO DE LOS EXUDADOS RADICULARES Y DE SISTEMAS DE RAIZ INTACTOS DE LAS SEMILLAS DE TRIGO Y TOMATE SOBRE LA GERMINACION DE LOS MICROESCLEROCIOS DE VERTICILLIUM ALBO-ATRUM, INOCULADOS EN EL SUELO: (Scriber y Green, 1963).

Tratamiento	Porcentaje promedio de la germinación de los microesclerocios
Suelo sin cultivo	6.4
Microesclerocio en contacto con la raíz del trigo	36.1
Microesclerocio en contacto con la raíz del tomate	89.7
Exudado de la raíz, ausente	5.8
Adición de exudado de la raíz del trigo	10.7
Adición de exudado de la raíz del tomate	75.2

Como se observa en la tabla, las semillas de trigo y -

tomate aumentaron la germinación en un promedio de 29.7 y 83.3%, respectivamente; mientras que los exudados de la raíz de estas plantas, adicionados a los microesclerocios, aumentaron la germinación en un promedio de 4.3% y 68.8% respectivamente. Esto sugiere que el (o los) constituyente (s) de las raíces de las semillas de trigo y tomate son los responsables de enmascarar la micostasis, y que diferencias en respuesta a los exudados se deben a diferencia en la concentración de estos materiales -- (Screiber y Green 1963).

#### B.- ESPERMOSFERA:

Se sabe que las semillas de frijol pinto estimulan la germinación de F. solany y F. phaseoli en un 60% en el suelo; presentándose la lisis durante el crecimiento ectotrópico de los tubos germinales, este fenómeno parece relacionarse con la presencia de cierto tipo de nutrientes en los exudados, ya que no ocurre con los exudados hipocotíleos (Cook y Snyder, 1965).

Harman y Mattick (1976); Harman y cols. (1979), han demostrado que los exudados volátiles que proceden de semillas de chícharo viejos, estimulan la germinación de las esporas en un suelo inundado; ellos encontraron compuestos carbonilo en gran cantidad en las semillas estimuladas, hecho que se relaciona con el envejecimiento de las semillas y la peroxidación de sus lípidos.

Mattick y sus cols. (1969); Vick y sus cols. (1976), - reportaron que los hidroperóxidos de las semillas viejas se -- convierten en radicales libres, los cuales al transformarse -- dan lugar a aldehídos y cetonas, muchos de los cuales son de - carácter volátil.

En sus estudios, Harman (1969) afirma que los lípidos- volátiles juegan un papel importante como factores que contro- lan el crecimiento y la diferenciación de los hongos. Estos - compuestos volátiles estimulan la germinación de los mohos y - las esporas del Pencillium, (French y cols., 1961; 1975; 1972; 1977 y 1978); estimulando también el crecimiento y la respira- ción de varios microorganismos del suelo (Menzies y Gilbert, - 1967); así como la germinación de los esclerocios de Sclero--- tium rolfsii. Se ha observado que los ritmos circadianos de - la Neurospora crassa, por pequeñas cantidades de ácidos di y - trienoícos. En ambos géneros (Sclerotium y Neurospora), las - esporas no requieren de nutrientes para germinar y se estimula- ron por 4 nanolitros/caja ( $2 \times 10^{-9}$  M). Esta concentración es- suficientemente baja como para afectar el pronunciado efecto - nutritivo. Estas sustancias son reguladoras activas del creci- miento de los hongos (Harman y cols., 1979).

#### C.- ABONO ORGANICO:

En 1962, Markan señaló que la alfalfa picada aumentaba la germinación de las esporas de los hongos más eficazmente. -

Considera que después de 236 días, se alcanza el nivel de antagonismo, equivalente al que prevalecía en el suelo original; de donde concluyó que los agregados orgánicos alteran temporalmente las propiedades inhibitoras del suelo.

La lisis e inhibición de la germinación de las conidias, disminuye al agregarle varios nutrientes al suelo. En los suelos sin abonar las conidias del hongo Pyricularia oryzae se lisaron completamente en el intervalo de 20 días, pero un 2% de dichas conidias se recuperaron después de 400 días de haber sido inoculadas al suelo (Bhalta y Samaddar, 1977).

Beresleiskii y Kravchinko (1982), investigaron el efecto de los productos volátiles formados al descomponerse los residuos de plantas, tales como el chícharo, lupino, trigo y maíz; así como la relación entre la composición cuali y cuantitativa de estos compuestos y su efecto sobre los hongos del suelo. En su trabajo descubrieron que cuando ocurría la más intensa liberación de productos volátiles provenientes de la descomposición del lupino y maíz, se presentaba una inhibición completa de la germinación de las esporas del V. dahliae. No observaron interacciones similares con los demás hongos, lo cual posiblemente se debió a las diferencias fisiológicas entre ellos.

De lo anterior se concluye, que el efecto específico de los productos volátiles de la descomposición de los residuos

vegetales de las esporas de los hongos en el suelo, puede relacionarse con las diferencias cuali y cuantitativas en la -- composición de los constituyentes de cada hongo. De lo anterior se infiere el efecto positivo que tienen los abonos verdes, sobre las propiedades micostáticas del suelo (autor citado anteriormente).

#### D.- POBLACIONES MICROBIANAS.

Varios investigadores, tales como Kalanasundaram, -- 1958; Subramanian, 1946, 1950; Park, 1955; Chinn, 1953; Stover, 1958; sostienen que los microorganismos del suelo en la cercanía o sobre las estructuras de los hongos, se encuentran relacionadas con la fungitoxicidad. Parece ser que la lisis de los hongos es el resultado de las actividades microbianas en la vecindad de las esporas y de los micelios (autores citados por Lingappa, 1961). Sin embargo, Lingappa (1961), no detectó crecimiento de microorganismos en la superficie de las conidias de los hongos, P. frequentans, F. oxysporum y F. lycopersici, cuando fueron incubados durante 3,6 y 9 días en -- suelo natural; no obstante tuvo lugar la germinación de las esporas en el suelo esterilizado.

Se ha demostrado, que el consumo de Oxígeno en el suelo seco rehumedecido, es más grande que el del suelo natural; aumentando su consumo casi inmediatamente después de haberse humedecido. El incremento en la actividad metabólica de los microorganismos

del suelo es atribuido a buenas condiciones de humedad.

Existe la sospecha del posible papel que tengan las -- bacterias y actinomicetos en la micostasis. Park (1956), la-- relacionó con las bacterias, en tanto que Stevenson (1956) y-- Lockwood (1959), con los actinomicetos Dobbs y Hinson (1960),-- restablecieron la micostasis en arena lavada con cromo, median-- te la inyección de aire contaminado e inoculado con arena o -- suelo natural. Al hacer el análisis microbiológico se encon-- traron solo tres bacilos Gram negativos y cuatro Gram positi-- vos, que no presentaban actividad micostática (Lingappa y cols. 1961).

Se ha observado cierta inhibición en la germinación de las esporas de los hongos en presencia de cultivos puros de -- bacterias y mezclados con estreptomicetos. Es probable que -- las bacterias estén más involucradas que los estreptomicetos - en la micostasis debido a su corto período de generación y fá-- cil multiplicación en la vecindad de las esporas. Sin embargo al experimentar con suelos secos (rehumedecidos) y esteriliza-- dos sucedió lo contrario. Muchos investigadores atribuyen es-- ta inhibición, a la presencia de algunos productos microbianos o a la deficiencia de los nutrientes necesarios en la vecindad de las esporas, para que éstas germinen (Lingappa y Lickwood,- 1963).

Del suelo han sido aisladas varias bacterias antagonis-- tas a los siguientes hongos: Fusarium graminearum, F. monili-- forme, Helminthosporium sativum, Rhizoctonia solani, Cylindro-

cladium scoparium y Phymatotrichum omnivorum.

Al inocular bacterias en un suelo estéril se observó una fragmentación de las hifas e inhibición de la germinación de las esporas. No se detectaron inhibidores solo metabolitos bacterianos que se adsorbieron en carbón mineral, y en una resina de intercambio iónico.

En otro trabajo hecho por Old (1965), determinó el efecto que ejercen las bacterias sobre algunos hongos, principalmente sobre Helminthosporium sativum. Ver tabla 13.

TABLA 13.- EFECTO DEL SUELO NATURAL, SUELO ESTERILIZADO Y SUELO INOCULADO CON BACTERIAS SOBRE LA GERMINACION DE LAS ESPORAS Y, EL CRECIMIENTO DE LOS FRAGMENTOS DE HIFA DE HELMINTHOSPORIUM SATIVUM INTRODUCIDAS A LOS SUELOS.

Tratamiento del suelo	% de germinación	
	Esporas	Hifas
Natural	1	26
Esterilizado	65	48
Inoculado con bacilos Gram negativos no esporulados, móviles y no pigmentados	8	19
Inoculado con bacilos Gram negativos no esporulados, móviles y no pigmentados	11	18



Inoculado con bacilos Gram positivos  
móviles, formadores de esporas

1

2

---

Como se aprecia en la tabla, el suelo natural y las bacterias Gram positivas inhibieron más la germinación de las esporas. El crecimiento de las hifas fué menos afectado por todos los tratamientos del suelo, excepto pro las bacterias Gram positivas.

Este autor afirma que si los metabolitos producidos por la microflora contribuyen a la naturaleza micostática de los suelos, estos deben ser formados a concentraciones para inhibir la germinación de las esporas a pesar de las propiedades adsorbentes del suelo. Sin embargo Old (1965) concluye de sus observaciones basadas en la preparación de una mezcla del cultivo de H. sativum con bacterias (por goteo), que las bacterias no afectan la germinación de las esporas, además -- afirma que no ocurre colonización de las esporas por las bacterias, antes de que estas germinen.

Varios investigadores señalan que los hongos individualmente o combinados son capaces de inducir la micostasis. El Aspergillus sp. fué el más eficaz para inhibir la germinación de las esporas de otros hongos. Además se ha encontrado que el filtrado del cultivo de diferentes hongos induce la micostasis, siendo el de Aspergillus flavurs el más efectivo; -

en tanto que el Rizopus nigricans y el Mucor hiemalis fueron menos activos (Johri, 1975; Mishra y Pandey, 1978).

Halvorson y sus cols., (1984) al efectuar estudios acerca del efecto del extracto acuoso del alga Nannochloris sp. sobre -- los hongos Dendryphiella salina y Curyularia sp.; hallaron que el extracto presentó un efecto inhibitor para ambos hongos; - de esto se deduce que el alga puede jugar un papel importante en el océano.

#### E.- PEPSEL DE LOS ANTIBIOTICOS.

En 1957, Lockwood manifestó que la inoculación de diversos Streptomyces sp. al suelo restablece su fungitoxicidad, previamente eliminada por esterilización. Sin embargo, Brian (1960), señaló que la producción de antibióticos no parece aumentar la micostasis en el suelo; mencionó en 1966, que la - sobrevivencia de un microorganismo en el suelo, se encuentra fuertemente influenciada por el potencial del inóculo y la colonización saprófita del sustrato, en una población mixta.

Grossbard (1952), cuantificó la patulina producida -- por Penicillium patulum en el mismo año Bainer observó que es to sucedía solamente cuando el suelo esterilizado era suple-- mentado con glucosa al 0.3%; sin embargo Gregory pudo detec-- tar la presencia de trazas de este antibiótico en el suelo --

sin esterilizar (autores citados por Griffin , 1962).

Laborando con suelos adicionados de Glucosa e incubados durante dos semanas, Griffin (1962) descubrió que los organismos productores de antibióticos son más efectivos en la producción del efecto funfistático que la mayoría de los organismos que no son antagonistas. Ver Tabla No. 14.

TABLA No. 14.- EFECTO DEL SUELO CON Y SIN GLUCOSA E INFECTADA CON VARIOS MICROORGANISMOS, Y SU EVALUACION SOBRE LA GERMINACION DE LAS CONIDIAS Y EL CRECIMIENTO DE LAS HIFAS DEL GLIOCLADIUM FIMBRIATUM.

Organismo prueba	SUELO		
	Añadido con 0.25% de glucosa		Sin glucosa
	Dos semana de incubación	un mes de incubación	Un mes de incubación
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	+	0	0
<i>Penicillium patulum</i>	0		0
<i>Streptomices griseus</i>	0		0 +
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	0 +	+
<i>F. solani</i>	+	+	+
<i>A. Terreus</i>	+	0 +	0 +
<i>Rhizopus nigricans</i>	+	0	0
<i>Arthrobacter globiformis</i>	+	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+
<i>B. megatherium</i>	+	+	+
Suelo control esterilizado	+		+

Suelo control natural	0	0
-----------------------	---	---

---

## Clave:

0 = Menos del 5% de germinación

0 + = Menos del 30% de germinación

+ = Más del 30% de germinación pero con limitada formación de tubos germinales.

+ + a + + + + = Cantidades mayores de crecimiento de las hifas.

Como se observa en la tabla anterior, algunos microorganismos causaron mayor inhibición que otros, pero ésta no se relacionó con su grupo taxonómico. Algunos microorganismos no antagonistas causaron una inhibición semejante a la del suelo natural. De donde Griffin pudo asegurar que el efecto micostático del suelo es un resultado de las actividades saprofitas, de los metabolitos tóxicos y antibióticos específicos de los microorganismos del suelo.

Lingappa (1961), notó una disminución en la micostasis del suelo del suelo adicionando diversos antibióticos. Observó que la micostasis se presentaba a pesar de la presencia de microorganismos resistentes a los antibióticos. Sus preparaciones revelaron una extensa colonización de bacterias después de 8 horas de haber puesto un disco de agar agua o agar peptona o papel celofán sobre la superficie de un suelo húmedo y actinomicetos después de 24 horas. De aquí concluyó que la micostasis se debe al crecimiento de microorganismos en el medio

de ensayo. Ver tabla No. 18.

TABLA No. 15. EFECTO DE LOS ANTIBIOTICOS ANTIBACTERIANOS SOBRE-LA MICOSTASIS EVALUADA EN AGAR PEPTONA O EN DISCOS DE AGAR-AGUA

Antibiótico	% de germinación de las conidias de <i>G. cingulata</i>		
	Discos de agar agua	Discos de Agar peptona	Discos de agar agua (sin suelo).
Penicilina G	40	90	98
Sulfato de Estreptomina.	90	20	95
Neomicina	67	25	100
Vancomicina	70	90	92
Cloramfenicol	30	75	96
Control (sin antibiótico).	12	0	-

Adams y cols. (167), encontraron que la adición de --- antibióticos al suelo húmedo, disminuye la micostasis del suelo control y del adicionado de celulosa. Así mismo aseveró que si la micostasis es causada por materiales tóxicos en el suelo, - entonces la adición de antibióticos no debería alterar el nivel de la micostasis, a menos que las células muertas liberen materiales nutritivos que tengan el efecto de los materiales - tóxicos, o bien puede suceder que los antibióticos inhiban a - los microorganismos productores de dichos materiales tóxicos.

La nistatina, antibiótica producido por Streptomyces--  
noussei, también llamado micostatina, es activo contra hongos-  
y levaduras pero no contra bacterias y virus; causa una micos-  
tasis completa en *Cándida albicana* y la adición de Calcio no -  
la protege contra este efecto (Pugj y Cawson, 1980).

## V OTROS FACTORES QUE AFECTAN LA MICOSTASIS

### A.- SENSIBILIDAD DE LAS ESPORAS A LA MICOSTASIS:

Las diferencias en la sensibilidad de las esporas hacia la micostasis fueron determinadas por Lockwood (1964, 1967) mediante el uso de diferentes mezclas de suelo estéril y suelo natural. El consideró que el suelo natural proporciona los microorganismos capaces de utilizar rápidamente los nutrientes presentes en el suelo estéril (autores citados por Steiner y cols, 1968).

Dix (1967) y Jackson (1958), enunciaron que para que germinen las esporas se requiere de un contacto prolongado con los nutrientes. Ellos encontraron que los microorganismos del suelo consumen rápidamente los nutrientes del suelo impidiendo la germinación de las esporas; sobre todo cuando el abasto de nutrientes es limitado. Así, las esporas que requieren para germinar un gran tiempo de contacto con los nutrientes, los encuentran cada vez menos disponibles, volviéndose con ello más sensibles a la micostasis.

Dix (1966), clasificó a las esporas en cuatro clases:

a) las insensibles; b) las débilmente sensibles; c) las altamente sensibles y d) las completamente inhibidas.

En relación a lo anterior, Steiner y cols. (1968), encontraron tres clases de esporas: a) las conidias insensibles de E. graminis f.sp. tritici; las ascosporas de N. tetrasperma y las uredosporas de P. reconditas; b) entre las macroconidias relativamente insensibles a la micostasis mencionan a las conidias de F. solani, las de H. victoriae y las de Gliocladium sp. Se encontró que entre los hongos que manifiestan sensibilidad intermedia se hallan G. cingulata, M. verrucaria y G. cucumericum; entre los hongos que tienen el más alto índice de sensibilidad figuran: A. terreus, A. fumigatus y B. cinerea.

Se determinó que *Penicillium* mostró un índice de sensibilidad de 20, el más alto entre los hongos estudiados; al germinar en un 90-100% en suelo estéril y en un 20% en suelo estéril: suelo natural. Ver tabla 16.



TABLA No. 16 VOLUMEN, TIEMPO DE GERMINACION Y SENSIBILIDAD DE LAS ESPORAS DE VARIOS HONGOS A LA MICOSTASIS:

HONGO	Tipo de espora	Volumen de la espora- (Micras <sup>3</sup> )	Area super ficial <sup>2</sup> (Micras <sup>2</sup> )	Tiempo de germina- ción (ho- ras)	Indice de sen sibili- dad.
Helminthosporium sativum	Conidia	10 537	2889	2.5	2.5
Helminthosporium victoirae	Conidia	6 333	2167	1.5	0.5
Neurospora tetrasperma	Ascospora	3 839	1292	2.0	0
Alternaria tenuis	Conidia	1 772	777	4.0	3.8
Curvularia lunata	Conidia	1 025	680	1.3	1.5
Fusarium solani f. sp. phaseoli	Macroconidia	568	693	4.5	0.2
Fusarium solani f. sp. pisi	Macroconidia	427	411	4.0	0.1
F. solani f. sp. phaseoli	Clamidosporas	309	225	7.0	0.8
F. oxysporum f. sp. melonis	Clasmidosporas	220	136	4.5	1.4
Thielaviopsis basicola	Conidia	212	221	5.0	6.2
Botrytis cinerea	Conidia	182	169	4.0	11.5
Trichoderma viride	Conidia	45	63	17.0	9.1
Vorticillium albo-atrum	Conidia	22	39	12.0	7.5
Penicillium frequentans	Conidia	19	34	7.0	20.0
Penicillium variabile	Conidia	14	28	14.0	20.0
A. terreus	Conidia	8	20	15.0	23.0

Park (1955, 1957, citado por Lockwood, 1969), observó una sensibilidad diferencial entre grupos de hongos. También -- desmostro que seis hongos habitantes del suelo germinaron y crecieron en suelo parcialmente esterilizado mientras que seis hongos no propios del suelo permanecieron quiescentes. Ningún grupo -- de ellos germinó en suelo natural.

1.- Sensibilidad de las esporas, en relación al tiempo de germinación y tamaño de la espora.

Steiner y cols. (1968), determinaron la sensibilidad de las esporas de 17 hongos sensibles a la micostasis y la correlacionaron con el tiempo de germinación en suelo estéril y al tamaño de la espora. Encontraron una correlación inversa entre el tiempo de germinación y el tamaño de la espora incluyendo varias especies de hongos prueba y el Fusarium. Observaron que -- las clamidosporas, macro y microconidias de tres especies de -- Fusarium fueron relativamente insensibles a la micostasis; mientras que su tiempo de germinación y el tamaño de sus esporas fué -- intermedia, de esta manera Fusarium se manifestó como la excepción a estas correlaciones. De similar manera, se halló que el tiempo de germinación en suelo esterilizado y la sensibilidad -- a la micostasis se redujo por preincubación en una solución nutriente a 24°C, pero no a 1°C; y que además la micostasis no se redujo en agua destilada a ninguna temperatura.

En 1968, Steiner y Lockwood encontraron que las esporas

grandes que tienden a germinar rápidamente presentan baja sensibilidad a la micostasis del suelo y alcanzan un alto índice relativo ( $r$ ). Lo opuesto ocurrió con especies que tienen esporas pequeñas. La razón de esto, se debe a que las esporas grandes tienden a completar rápidamente su proceso de germinación; aún antes de que disminuya la concentración de nutrientes por los microorganismos del suelo.

La germinación relativa de las esporas en los sitios donde el nivel de nutrientes es bajo, depende principalmente del tiempo de germinación o la etapa en la cual se encuentra la espora en el proceso de germinación (Lockwood, 1968).

Mitchell y sus cols. (1975), consideran que una espora ha germinado cuando es posible observarle su tubo germinal. Por comparación con otros hongos, el tiempo de germinación es aquél requerido para que germinen el 50% de las esporas. Dicho investigador afirma que el tiempo de germinación es un factor que determina la capacidad relativa de los hongos para germinar en el suelo y, consideró que esto no tiene importancia en los sitios donde existe una concentración constante y alta de nutrientes tal como ocurre en la rizosfera.

## 2.- Sensibilidad de las esporas en relación a la edad:

Adams y sus cols. (1967) observaron que la capacidad de

los hongos para crecer en un suelo adicionado de nutrientes, no tiene relación con la edad de las hifas en el suelo natural.

En 1968, Steiner y cols. concluyeron que la edad de las esporas juega un papel importante en la micostasis. Detectaron la existencia de una relación positiva entre la edad de las esporas y la micostasis hasta los 30 días de edad, para varios -- hongos incubados en agar inclinado durante 1,3, 5 y 9 semanas; -- tiempo en el cual los hongos no cambiaron su sensibilidad. Sin embargo, encontraron que después de 9 a 13 semanas, el porcen-- taje de la germinación disminuyó. Además vieron que G. cingulata tuvo un índice de sensibilidad de 200 a la semana y de 21 a las 9 semanas.

Fué observado por Adams (1967), que la germinación en -- los suelos control (sin glucosa), se incrementó cuando las clami-- dosporas se incubaron durante tres horas antes de enterrarlas -- en el suelo. El autor, además determinó la existencia de cierto efecto ejercido por el período de incubación de las clamidosporas y su germinación en suelo natural. Ver tabla 17.

TABLA No. 17.- EFECTO DE LA LONGITUD DEL PERIODO DE INCUBACION Y PREVIA INCUBACION (durante 24 horas) SOBRE LAS CLAMIDOSPORAS-DE FUSARIUM SOLANI F. SP. PHASEOLI, a 25°C, EN SUELO NATURAL.

Periodo de incubación en horas	% Germinación de las Clamidosporas*	
	Previa incubación	Durante incubación
24	69	-
0	0	0
1	0	4
2	0	25
4	0	25

\* = Suelo humedecido 30 días antes de la prueba.

Hora y cols. (1976); Schuep y cols. (1969) notaron una reducción de la germinación de P. chrysogenum en todos los periodos de incubación.

Mishra y Pandey (1978), notaron que la máxima micostasis ocurre en muestras que se incuban por 15 días a 25°C. Además observaron una correlación positiva cuando la edad de las esporas pasó de los 30 días.

En investigaciones realizadas por Roth y Griffin (1980) para determinar la germinación de las conidias de C. scoparium. inoculadas en un medio selectivo a 26°C e incubadas durante --

una semana a cuatro meses, notaron que ésta disminuyó progresivamente; sin que se recobrase ninguna conidia viable, después de dos meses de incubación.

### 3.- Comparación de las sensibilidades entre las esporas hifas y micelios.

Cuando Old (1965) y Hessayon (1953), determinaron las diferencias en sensibilidad entre las conidias de Helminthosporium sativum y las hifas de Trichothecium roseum; encontraron que las hifas son más resistentes a la inhibición que las conidias cuando son colocadas directamente en el suelo. Sin embargo en extractos de suelo no estéril, las hifas de F. oxysporum f. sp. cubense se inhibieron más que las macroconidias (Stover, -- 1958, citado por Steiner, 1960).

El citado autor también observó que las esporas son más susceptibles a la inhibición que los fragmentos de hifas de H. sativum; por lo que este hecho tiene gran significado para la sobrevivencia de los hongos cuando están en la forma de propágulos, debido a que aquellos que no logren germinar sobrevivirán en el estado latente en el suelo, más tiempo que los hongos que inmediatamente germinen. Steiner y Lockwood, apoyan la proposición anterior en vista de que las hifas no requieren de un tiempo de germinación como lo necesitan las esporas; además de que la extensión de las hifas comienza inmediatamente después de -- que ellas son expuestas a los nutrientes.

## B.- INFLUENCIA DE LOS EXUDADOS DE LAS ESPORAS:

Las siguientes conclusiones, fueron obtenidas en 1961 por Lingappa y Lookwood: 1) Los exudados de las esporas fúngicas estimulan la actividad de los microorganismos del suelo; -- 2) La estimulación de la actividad metabólica de los microorganismos, ocurre inmediatamente después de colocar las esporas en el suelo y: 3) El grado de inhibición de las esporas se relaciona con el grado de estimulación microbiana (micostasis).

Ko y Lookwood (1967), propusieron que los exudados de los propágulos nutriente-independientes hacia la germinación -- pueden volverse dependientes a través de una continua utilización microbiana. Esto dá por resultado la presencia de la micostasis.

Ellos han demostrado que la capacidad de los diferentes hongos para germinar después de someterlos a un lixiviado con agua destilada o a una solución amortiguadora de fosfato 0.01M -- (pH 5.9), es la misma que después de su exposición al suelo natural. El dicho lixiviado de detectaron 6.9 mg de carbohidratos (equivalentes de glucosa) y 3.2 mg de Aminoácidos (equivalentes de glicina) por gramo de espora. De esto se deduce que la característica más común entre el extracto lixiviado y el suelo natural, es la existencia de una fuente irreversible de nutrientes. Así, la supresión de la germinación de las conidias de Cochilium

bolus victoriae, fué similar durante su incubación en arena ---  
lixiviada más agua y en arena lixiviada con solución salina. --  
Estos autores hallaron que las conidias de C. victoriae, Thiela  
viopsis basícola, C. lunata y los esclerocios de Esclerothium -  
cepivorum, exudaron más Carbono <sup>14</sup> al ser lixiviados con amor--  
tiguadores de fosfato, que cuando se colocaron sobre una arena-  
saturada con amortiguadores y ésta no fué lixiviada.

Bristow y Lockwood (1975), al investigar las conidias -  
de C. victoriae y Cochliobolus sativus notaron que al disminuir  
la viabilidad de las esporas, estas llegaron a ser dependientes  
de los nutrientes exógenos después de siete días de incubación-  
en el suelo. Estos resultados confirman que la germinación de -  
los propágulos nutriente-independientes es suprimida cuando el-  
gradiente de difusión fuera de ellos es grande de tal manera --  
que la mayoría de sus exudados se pierden rápidamente. En 1973-  
Jackson y Knight (citados por Bristow y cols. 1975), reportaron  
una pérdida similar de glucosa de las conidias de C. sativus al  
ser lixiviadas.

Al trabajar Tsao y Hawtorne en 1970 (citado por Bristow  
y cols. 1975), con las clamidosporas de T. basícola, vieron que  
éstas permanecieron nutrientes independientes después de ser so-  
metidas a una lixiviación intensa o a una prolongada incubación  
en el suelo. Lockwood (1975), propuso que quizá esto se debe a-  
que las conidias formaron clamidosporas resistentes, con lo que



se retardó la pérdida de nutrientes y la viabilidad de los propágulos. Sin embargo, las conidias de C. victoriae, C. sativum, Neurospora tetrasperma y Botrytis cinerea (originalmente nutriente-independientes), se volvieron nutriente-independiente tras una -- larga exposición al suelo o a una lixiviación, lo que sugiera que las reservas endógenas no fueron suficientes para permitir la germinación. Ver tabla No. 18. Además este investigador afirmó: " el tiempo necesario para la conversión de las conidias a nutriente-- dependientes, depende del tipo de propágulo, la cantidad de reser-- vas endógenas que deben ser gastadas y la intensidad de los nu--- trientes contenidos.

TABLA No. 18.- GERMINACION DE LAS CONIDIAS DE C. VICTORIAE NO.LAVADAS INCUBADAS DURANTE 12 HORAS EN ARENA Y QUE HAN SIDO SOMETI-- DAS A LA PERCOLACION CON VARIOS MEDIOS O EN ARENA SATURADA CON -- LOS MISMOS MEDIOS SIN PERCOLACION EN UN SUELO DE TEXTURA LIMOSA O EN MEDIO PDA:

Medio	lixiviación *	% de Germinación **
Agua destilada	+	27
	-	77
Bofer de fosfato	+	20
	-	70
Solución Pfeffers	+	29
	-	80
Extracto de subsuelo	+	40
	-	81
Suelo limoso		12
Agar dextrosa-papa		83

\* La velocidad del flujo fué de 75ml/h; + = con lixiviación;  
- = sin lixiviación.

\*\* = LSD (P = 0.05) = 16

### C.- NUTRICION DE LAS ESPORAS:

Al analizar las conidias de Trichoderna viride, Emmatty y Green (1966), observaron que solo el 3% de ellas germinaron; sin embargo hubo más del 90% de germinación cuando estas conidias fueron incubadas en el medio de agar agua, el cual previamente se lavó con agua para eliminar trazas de nutrientes, ya que estas pueden desencadenar la germinación posiblemente. Estos investigadores notaron además un aumento en la germinación de las conidias de *T. viride*, cuando está en presencia de suelo conteniendo cinco de los 16 aminoácidos probados. La germinación de las esporas aumentó de 2 a 4 veces con Alanina, Acido aspártico y ácido Glutámico cuando el pH se ajustó a un valor de 1.3 a 1.4 y de 5.5 a 6.5. A pesar de lo antes mencionado, Lingappa y Lockwood (1961), reportaron que la peptona anula la micostasis pero no los aminoácidos (Steiner y cols., 1968).

Schroth y cols. han identificado algunos de los aminoácidos que están presentes en los exudados de las semillas de frijol germinadas, y en sus raíces, y los señalan como los posibles factores que anulan la micostasis de las clamidosporas de *Fusarium solani*. También se ha encontrado que una fracción de los exudados de la raíz del tomate, que crecieron en condiciones asépticas contenían muchos aminoácidos, así como otros compuestos nitrogenados que estimulaban la germinación de los microesclerocios del Verticillium albo-atrum. Ver tabla No. 19. (Citados por Screiber y Green, 1963).

TABLA NO. 19.- EFECTOS DE LOS AZUCARES EN LOS EXUDADOS RADICULARES QUE INTERVIENEN EN EL ESTABLECIMIENTO DE LA MICOSTASIS-DE LAS CONIDIAS DE TRICHODERMA VIRIDE:

Azúcar	Concentración 0.5% (peso/volumen)	Por ciento de germinación
<u>Monosacáridos</u>		
L-arabinosa	"	4
D-xilulosa	"	13
D-manosa	"	13
D-glucosa	"	13
L-sorbosa	"	12
D-levulosa	"	2
<u>Disacáridos</u>		
Maltosa	"	11
Lactosa	"	2
<u>Trisacáridos</u>		
Rafinosa	"	7
Control	-	4
Discos lavados de agar- agua y colocados sobre portaobjetos con papel húmedo.	-	92

Cook y sus cols. (1965), demostraron que la adición de compuestos nutritivos con suficientes cantidades de Carbono y Nitrógeno (glucosa o sacarosa suplementada con Nitrógeno), estimulan la germinación de las esporas por arriba del 40% en 16 ho

ras; tiempo en que ocurrió la lisis de los tubos germinales. -- Ellos observaron que la lisis se aceleraba cuando se aplicó al suelo extracto de levadura, D-glucosa y L-asparagina; en tanto que la germinación cesó entre nueve y diez horas después de --- aplicar esta mezcla; de tal manera que muchos tubos germinales se habian lisado en las primeras 24 horas y la población de hongos se redujo al 40%.

Ko y Lockwood (1967), demostraron que la mayoría de -- los hongos requieren de nutrientes exógenos para germinar, no lo hacen en el suelo. (Ver tabla No. 20), tampoco encontraron efecto micostático para la mayoría de los hongos nutriente-independientes, aunque ocurrieron algunas excepciones.

TABLA No. 20.- GERMINACION DE LAS ESPORAS NUTRIENTES-INDEPEN--- DIENTES, SOBRE FILTROS MILIPORE PUESTOS SOBRE EL SUELO Y SU SUB SECUENTE GERMINACION EN AGUA DESTILADA O SOLUCION SALINA:

Tratamiento	% de Germinación <sup>a</sup>		
	Mucor ramanianus	Penicilium frequentans	Aspergillus fumigatus
1. Filtros milipore sobre el suelo.	0	0	0
2. Esporas del punto (1) puestas en -- agua destilada.	1	6	10
3. Esporas del punto (1) puestas en -- soln. peptona-- glucosa al 0.1.	99	98	70
4. Control (Filtro - milipore solo)	100	99	67

a Se contaron 200 esporas en cada experimento para cada tratamiento. b Las esporas se suspendieron en una soln. de glucosa--peptonal al 0.5% antes colocarlas en el filtro millipore.

En los extractos de suelo adicionados de cebada, las cantidades de carbohidratos y aminoácidos fueron similares a los del extracto del suelo sin adicionarles algunas. Ver tabla No. 21; sin embargo el extracto de suelo adicionado de alfalfa contenía cerca de 10 veces más carbohidratos y aminoácidos que el extracto anterior; esto significa que posiblemente el extracto acumuló suficientes nutrientes de las partículas de la materia orgánica, del suelo sin descomponer.

TABLA No. 21.- EFECTO DE LA ADICION DE RESIDUOS DE PLANTAS SOBRE LA GERMINACION DE LAS ESPORAS DE ASPERGILLUS FUMIGATUS, EN SUELO NATURAL Y EN EXTRACTO DE SUELO ACUOSO:

	Suelo con alfalfa	Suelo con cebada	Suelo solo
	% de GERMINACION <sup>a</sup>		
Cerca de los residuos (< 1mm)	85	0	0
Lejos de los residuos (> 1mm)	0	0	0
Extracto de suelo	88	22	28
	NUTRIENTE (Microgramos/ml)		
Carbohidratos <sup>b</sup>	52	6	4
Aminoácidos <sup>c</sup>	3.4	0.7	0.3

a En cada experimento se contaron 200 esporas

b Equivalente a glucosa

c Equivalente a glicina

Nota.- Si se adiciona alfalfa con residuos orgánicos al suelo, ocurre la germinación; pero si el suelo es separado de los residuos, acontece la micostasis; cuando a los extractos de suelo le es agregado solo alfalfa, las esporas de A. fumigatus germinan.

En 1971, Ko y Hora reportaron que las conidias de los hongos germinan de 0 a 13% en una solución nutriente que contenga 0.1% de glucosa y 0.1% de peptona; pero esta germinación es de cero a 10% cuando se usan discos de agar expuestos a dichos nutrientes. Ver tabla No. 22.

TABLA No. 22.- GERMINACION DE ALGUNAS ESPORAS FUNGICAS COLOCADAS EN SUELO NATURAL, SUELO ESTERILIZADO O SUELO ADICIONADO DE NUTRIENTES, O EN DISCOS DE AGAR EXPUESTOS DIRECTAMENTE AL AIRE EN SUELOS TRATADOS Y SIN TRATAR;

Material	% de Germinación							
	N.tetrasperma *		M.ramannianus *		A.fumigatus*		P.frequentans*	
	Suelo	Agar	Suelo	Agar	Suelo	Agar	Suelo	Agar
-Suelo natural	0	0	0	0	0	2	0	0
-Suelo estéril	0	0	0	0	8	13	0	29
-Suelo adicionado de nutrientes			0	0	0	10	0	0
-Control (agua destilada)		94		93		95		71

\* *Trichoderma viride*, *Mucor ramannianus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium frequentans*, *Neurospora tetrasperma*.

Bristow y Lockwood (1975), observaron que existe una estimulación cuando las esporas se lixivian con una solución diluida de glucosa y aminoácidos, pero no de sales minerales; de esto se deduce que los estimulantes de la germinación pueden --

ser nutrientes productores de energía. Resultados similares fueron obtenidos por Ko y Lockwood (1967) y Szlenyberg-Blake man (1973). Estos últimos autores encontraron que en algunas ocasiones solo se necesitan sales minerales para estimular la germinación de las conidias de B. cinerea, hongo que se convirtió en nutriente-dependiente por previo lixiviado con solución salina.

Estudios realizados con 16 muestras de diferentes suelos egipcios; a los que se les agregó glucosa al 0.5% (peso/volumen) indicaron que se eliminó significativamente la inhibición de las esporas, y que los tubos germinales tuvieron una ramificación alta (Abyad, 1974).

Se determinó a diferentes tiempos, la cantidad de glucosa residual y la germinación de las conidias de H. sativum en la superficie del subsuelo después de agregarle glucosa e inocularlo con microorganismos. La disminución de los niveles de glucosa en el suelo inoculado se correlacionó positivamente ( $r=0.87$ ,  $p$  menor de 5%) mediante la disminución de la germinación de las esporas de H. sativum.

Nayar (1962), encontró tres monoscáridos en suelos del Brasil. Dobbs (1963), realizó investigaciones en suelos británicos postulando que la micostasis se reduce y finalmente se enmascara por la adición creciente de glucosa.

En 1966 Emmatty y Green, no reconocieron diferencia al

guna en la germinación de las esporas cuando se añadieron mono, di y trisacáridos al suelo.

Dobbs (1961) y Hinson (1953), aseveran que la adición de glucosa al suelo anula la micostasis. Además Dobbs dice que la variación estacional en la actividad micostática, corresponde a un nivel bajo de sustancias reductoras y viceversa. Las sustancias reductoras fueron estimadas como glucosa (autores citados por Dobbs, 1963).

#### D. TROPISMO:

Al investigarse la relación existente entre la actividad micostática y fracción mecánica de los suelos usados; Kouyeas y Balis (1968), notaron los tubos germinales de las esporas que germinan dentro de la masa de la fracción coloidal (obtenida por centrifugación de una suspensión suelo-agua) tuvieron cierta tendencia a orientarse hacia la superficie del suelo. Al realizar pruebas similares con suelo seco y suelo esterilizado no se presentó esta tendencia. En base a lo anterior, se ha considerado que este tropismo pudo ser causado por un gradiente a lo largo de una fase gaseosa; o bien puede ser debido a un gradiente por liberación de una sustancia inhibitoria al aire. Estos autores consideran que no puede ser excluido como causa del tropismo, la alta concentración de bióxido de carbono o una baja concentración de oxígeno.



### E. VARIACION ESTACIONAL:

Se efectuaron estudios en suelos diferentes durante --- tres años; se analizó la germinación de Mucor ramannianus en las capas de mantillo, humus y mineral, mensualmente por el método de celofán, encontrándose lo siguiente: escasa germinación en los meses de verano; aumentó en la época de otoño; germinación durante el invierno y disminución de ella en la primavera. El valor medio máximo (invierno), rara vez exedió del 50% del control de celofán húmedo cuyo valor estuvo por arriba del 50 y 95%. Se observó que la germinación en la muestra de mantillo - fué más elevada que las de humus o capas minerales durante todas las estaciones del año.

El aumento de la germinación durante el invierno se debió a que los microorganismos no formaron sustancias micostáticas (Watson y cols., 1972).

Se investigó la variación estacional de la micostasis del suelo en muestras recolectadas mensualmente en Giza (Egipto), usando esporas y macroconidias de Aspergillus fumigatus y Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum. Fué encontrado que la germinación de las conidias de A. fumigatus fué significativamente inhibida durante los meses de abril a julio, pero la longitud de los tubos germinales de F. oxysporum f. sp. vasinfectum solo se inhibió parcialmente. En el mes de agosto, ambos hongos presentaron el más alto porcentaje de germinación. Los

resultados obtenidos de la cuenta microbiana sugiere la ausencia de una correlación entre el nivel de micostasis y la variación estacional, contrario a lo sugerido por Watson y cols. en 1972. Durante el período de tiempo estudiado, se aislaron 24 especies de hongos, representantes de cuatro géneros que fueron: A. niger, Fusarium spp., Rhizopus nigricans y Mucor fragilis -- (Abyad e Ismail, 1976).

Mishra y cols. (1981), determinaron las propiedades micostáticas de diferentes muestras de suelo coleccionadas a diferentes períodos de tiempo. Sus resultados fueron similares a los de Watson, ya que observaron una variación de la germinación de todos los hongos prueba en todos los períodos de tiempo. En C; janus cajan y Lathyrus satiyus, la máxima inhibición de la germinación de las esporas se observó durante los meses de diciembre y enero esto lo atribuyeron a que la microflora de la rizosfera en este tiempo se encontraba al máximo de su desarrollo.

En 1984, Sharapov y Kalvish realizando estudios en suelos Chermozem (ricos en humus), encontraron que la germinación de las esporas de los hongos M. bassiana; P. fumoso-reseus y P. farinosus se veía disminuída en un 43.4% en el invierno y 99% en el verano; en tanto que en suelos podzólico sódicos solo se inhibía su germinación en un 16.4% en el invierno y 87.4% en el verano.

## VI HIPOTESIS QUE EXPLICAN LA NATURALEZA DE LA MICOSTASIS

Durante los últimos 50 años, se han propuesto tres hipótesis para explicar la naturaleza de la micostasis en el suelo:

La hipótesis denominada del "Principio micostático", la cual ha considerado la existencia de diversas sustancias químicas difusibles en el suelo, como responsables de la micostasis (Dobbs, 1960).

La denominada hipótesis "Nutricional" la cual atribuye el fracaso de la germinación de las esporas, a la ausencia en el suelo de los nutrientes esenciales en la vecindad de la espora (Ko y Lockwood, 1967).

Por último la hipótesis "inhibidor Estimulador" que propone que una combinación de los efectos de los sustratos inhibidores e inductores de la germinación, determinan la posible ocurrencia de la germinación de los propágulos en la rizosfera de las plantas adyacentes a los residuos orgánicos, o bien en otros ambientes similares donde los sustratos de Carbono y Nitrógeno están disponibles (Griffin, 1972).

### A. - HIPOTESIS DEL PRINCIPIO MICOSTATICO O HIPOTESIS - INHIBIDORA:

Sobre la superficie o en la vecindad de las esporas de

los hongos individuales, ocurre estimulación del crecimiento de las bacterias u otros microorganismos, al servir estos ambientes como microsubstratos en el suelo. Estas bacterias - pueden liberar metabolitos inhibidores de la germinación de las esporas en concentraciones suficientes.

Al llevarse a cabo lavados de esporas fúngicas, se observó un mejoramiento de la actividad respiratoria y el crecimiento de los microorganismos, hecho que ha sugerido que ciertas esporas contienen materiales fácilmente extraíbles - por los microorganismos. Así mismo, se notó que las esporas continuaron eliminando exudados después del lavado (Lingappa - y Lockwood, 1961, 1963). En 1936, Callan y Wilcoxon. Richardson y Thorn, (citados por Lingappa, 1963), aislaron algunos aminoácidos y ácidos orgánicos en extractos acuosos de esporas que son fácilmente utilizadas por los microorganismos.

Existe evidencia de que muchos productos microbianos, pueden inhibir la germinación de las esporas o lisis sus micelios (Dobbs, 1960).

Jansen (1965), afirmó que diversos microorganismos elaboran hidrocarburos, que inhiben la germinación de las esporas del moho comensal de la espiga del trigo. En tal caso, la formación del inhibidor solo ocurre en presencia de un metabolismo aerobio activo. En 1966, Batistich reportó - la presencia de varios hidrocarburos de origen biológico,

en varios suelos (Citados por Shuep y Frei, 1969).

Se ha notado que la actividad micostática acumulada en discos de celofán, que son colocados sobre suelo durante varias horas, pierde considerablemente su actividad. Este hecho fué relacionado, tanto con el organismo pureba, como con la longitud y el tiempo de preactivación. Shuep y Frei, (1969), sugieren para este hecho, la posible vaporización o el rompimiento de algún factor inhibidor.

Watson (1972), considera que la micostasis tiene origen microbiano; debido a que los factores que reducen la actividad biológica del suelo, reducen la micostasis; así mismo, este autor distingue a una micostasis microbiana, sensible -- tanto a los azúcares como al calor y una micostasis residual, resistente al azúcar y al calor.

Otros autores como Bristow y Lockwood (1975), reportan que la inhibición de la germinación de los propágulos incubados en arena sometida a una lixiviación con agua; se debe a -- una fuerza de difusión similar a la que impone la actividad -- microbiana en el suelo.

Pandey en 1976, observó que la inoculación de microorganismos productores o no de antibióticos al suelo, origina -- una actividad micostática. Mishra y Kanaujia (1970), sugirieron que dicha actividad se debe a la elaboración de productos metabólicos de origen microbiano. La micostasis es producto -- de las actividades microbianas debido a que puede ser ---

anulada por esterilización, fumigación o secado prolongado. Cuando se disminuyen las actividades microbianas se reduce la micostasis, y ésta es restablecida cuando los suelos esterilizados se inoculan con suelo natural, organismos específicos o residuos vegetales.

Al investigarse la relación que existe entre la actividad micostática contra Verticillium dahliae y la profundidad u otros factores del suelo; fué encontrado que el efecto micostático se reduce, al incrementar la profundidad. Este hecho fué relacionado con el bajo contenido de la materia orgánica del suelo, el alto contenido en humedad o la escasa actividad de los microorganismos (Dutta y cols., 1982).

Al estudiarse la presencia de ciertos inhibidores volátiles en algunos suelos alcalinos, secos y rehumedecidos. Se demostró la ausencia de germinación tanto de hongos sensibles a la micostasis (T. viride, M. ramannianus, A. fumigatus y P. frequentans) como de no sensibles (Ascospora del N. tetrasperma). Lo anterior sugiere que el espectro de inhibición para el inhibidor volátil, es diferente al que causa la micostasis (Balis y col., 1968; Hora y cols., 1970).

En varios de los suelos de Hawai, se ha aislado una fungitoxina que contiene el ión aluminio, que es estable al calor; presenta características muy similares a las del inhibidor volátil; con la excepción de ser fungicida y no ser activa a pH de 7.0. De lo antes mencionado se concluye que -

dicha toxina pudiera ser un factor adicional presente en los suelos ácidos o en los alcalinos (Ko y Lockwood 1967).

#### B.- HIPOTESIS NUTRICIONAL:

La micostasis se debe a la escasez de los nutrientes - en el estatus del suelo natural. Esto significa que las esporas necesitan de los nutrientes para germinar (Lockwood, 1964).

Marshall y Alexander en 1960, consideran que la competencia por el Nitrógeno entre las bacterias del suelo, es la causa principal de la supresión del F. oxysporum f. sp. cubense. Cook y Schroth (1965), han apoyado dicha hipótesis ya que en sus hallazgos vieron que las clamidosporas de Fusarium solani f. sp. phaseoli requieren de Carbono y nitrógeno para -- germinar (citados por Ko y Lockwood, 1967).

Parece ser, que la mayoría de las esporas de los hongos requieren nutrientes exógenos para germinar y que estos son proporcionados en pequeña cantidad por la masa del suelo. Entre los hechos que estan a favor de esta proposición, se encuentra la buena germinación de las conidias del P. frequentans (nutriente dependiente), en los extractos acuosos del -- suelo esterilizado y reinoculado (Ko y Lockwood, 1967).

Entre las evidencias que apoyan la existencia de una # deficiencia nutricional en la vecindad de las esporas fúngicas (Wenhsung y Lockwood, 1967), estan las siguientes:

1.- A 24°C (temperatura favorable para la actividad microbiana) tanto las sustancias coloridas como los nutrientes difunden más rápido de los discos de agar al suelo. Es de notar que este hecho no ocurre a 1°C.

2.- Cuando las esporas que son nutricionalmente dependientes se ponen a germinar en el suelo, en presencia de suficientes nutrientes, éstos últimos se pierden rápidamente, por lo que las esporas no germinan.

3.- Se ha observado por medio de la electroforesis en gel, que la migración es hacia el ánodo de la sustancia inhibidora en agar micostático, ello significa que es muy probable que migren hacia este polo negativo los nutrientes esenciales; o bien que se acumulen los electrolitos tóxicos (Weltzien, -- 1953).

Se ha mencionado que en la ausencia de una población microbiana, un suelo estéril no micostático puede convertirse en micostático por medio de la extracción aséptica con agua de los nutrientes del suelo (Adams y cols., 1967).

A fin de llevar a cabo la germinación del 5% de las esporas de Cochliobolus sativum, hubo necesidad de proporcionar varios nutrientes a la dilución de suelo retenida en sílica gel (libre de nutrientes), (Chinn, 1967).

Griffin señaló en 1972, que por medio de la micosta--



sis del suelo, es posible elevar los requerimientos nutricionales de las esporas de los hongos, para su germinación.

En 1975, Bristow y Lockwood, concluyeron que la micostasis del suelo limoso de Conover se debe principalmente a su escaséz de nutrientes.

### C.- HIPOTESIS DE LOS INHIBIDORES Y ESTIMULADORES.

Al parecer, ambas hipótesis previamente propuestas son válidas para Watson y Ford (1972), quienes basándose en observaciones previas, proponen una tercera hipótesis, la cual afirma que "la inhibición se debe a la combinación de ambas, - sustancias inhibitoras y deficiencia nutricional". Previamente Ko y Lockwood en 1967 llegaron a conclusiones similares ya que observaron una disminución en la germinación sobre algunos discos de agar expuestos al suelo y aún después de que estos se quitaron del suelo, esto lo atribuyeron al flujo de sustancias inhibitoras o bien a la pérdida de nutrientes.

En el mismo año, Griffin (1972) descubrió que la adición de compuestos productores de energía al suelo en diferentes concentraciones dió respuestas de germinación similares a las obtenidas después de agregar suelo estéril a las esporas en lugar de Glucosa; de esto pudo concluir que ocurrió una combinación de los efectos de los sustratos inhibitorios e inductores de la germinación, lo que en última instancia permitió la germinación (en pequeñas cantidades).

Se han encontrado algunos inhibidores volátiles en -- los suelos limoso serie Conover y limo arenoso; sobre estos -- suelos se pusieron a incubar las esporas de Exerophilum ros-- tratum (*Setosphaeria rostrata*) y Alternaria solani, insensi-- bles a los volátiles, y se observó que éstos no germinaron.

Los resultados obtenidos por Hora y cols., (1977) apo-- yan la hipótesis anterior de que la naturaleza de la micosta -- sis del suelo, se debe a la interacción que existe entre los inhibidores y estimuladores.

## VII METODOLOGIAS PARA EVALUAR LA MICOSTASIS

A continuación se presentan varias técnicas que existen para evaluar la micostasis del suelo.

En 1958, Jackson afirmó que las técnicas que permiten detectar la presencia del "factor inhibidor" del suelo, dependen de la capacidad que tiene el material micostático para difundir dentro del agar. El método que empleó el autor, fué el del disco de agar; el cual previamente fué empleado por Nielson-Jones, 1941; Hessayon, 1953; Jefferys y Hemming, 1953 y Withamp Starkey, 1956. Un método similar al mencionado; pero utilizando una capa de celulosa, fué el usado por Dobbs y Hinson, 1953.

### A.- METODO DEL DISCO DE AGAR (Jackson, 1958):

#### 1.- Preparación de las muestras del suelo:

a) Tamizar una muestra del suelo (2 mm) inmediatamente después de recolectarla o de secarla durante 12 horas a temperatura ambiente.

b) Poner 60 gramos del suelo en una caja de petri, y agregarle agua destilada hasta aproximadamente 60% de su capacidad de retención.

#### 2.- Preparación de los discos:

a) Colocar 9 ml del medio de cultivo de agar-agua destilada al 2% (peso/volumen), dentro de un recipiente de 85 mm de diámetro.

b) Ponga una caja de petri al nivel de la superficie de una mesa.

c) Agregue el medio de agar-agua a la placa hasta formar una capa de 1.5 mm de grosor.

d) Una vez que la capa haya endurecido y estando cerca de la flama, retire la película de agar contenido en la caja mediante un escapelo.

e) Para cada disco de agar, hacer una horadación de 7.5 mm de diámetro.

f) Remueva el disco de agar con la punta de un escapelo.

### 3. Técnica de evaluación:

a) Colocar para cada prueba, cuatro cuadros de papel filtro de un centímetro por lado, sobre la superficie del suelo contenido en una caja de petri.

b) Incubar las cajas durante una a cuatro horas.

c) Inmediatamente después, colocar un disco de agar sobre cada cuadro de papel filtro. De esta manera se permitirá la difusión de las sustancias inhibidoras del suelo hacia los discos de agar.

d) Con una pipeta inocúlese la superficie de cada disco, con una suspensión de esporas en agua destilada.

e) Inocular los discos control con la misma suspensión de esporas.

NOTA.- No es necesaria la estandarización.

f) Preparar en forma similar, los discos control. En este se saturan los discos de agar con agua destilada, empleando cajas de petri sin suelo.

g) Tapar las cajas de petri e incubarlas a temperaturas ambiente (20-27°C) o a 25°C, el tiempo necesario para la germinación.

NOTA.- El tiempo mínimo necesario para que se obtenga una buena germinación de las esporas, es de 16 horas para Penicillium citrinum.

h) Quite los discos y colóquelos en un portaobjetos limpio.

i) Agregue a los discos una gota de lactofenol y cubralos con un cubreobjeto.

j) Hacer un recuento directo de las esporas que germinan, en cada uno de los discos de agar, mediante observación en los campos microscópicos.

NOTA.- La amplificación usada, depende del tamaño, densidad y distribución de las esporas. Se sabe que las esporas han germinado, cuando han formado un tubo germinal, de longitud del diámetro de una espora o más.

Los resultados se expresan como el porciento del número total de las esporas que hayan germinado.

B.- METODO DIRECTO (Lingappa y Lockwood, 1963):

1. Tamizar 20 gramos de suelo, y compactarlos firmemente en una caja de petri hasta obtener una capa de suelo de 4 a 5 mm de grosor.
2. Agregar la suspensión del suelo con una espátula, con el objeto de asegurar lo siguiente: buen contacto de las esporas con el suelo, uniforme distribución de las esporas, retención de las esporas con la superficie del suelo y mínima remoción, al recobrar las esporas.
4. Aplicar una suspensión uniforme de esporas sobre la superficie del suelo (0.2 ml de la suspensión de esporas a una concentración de  $2 \times 10^6$  / ml, equivalen a aproximadamente 5 o 6 gotas).
5. Inocular simultáneamente las esporas sobre las placas de agar-agua con el fin de usarlas como referencia.
6. Incube las placas el tiempo necesario.
7. A la superficie del suelo, agregar de 2 a 3 gotas de una solución de rosa de bengala, fenolada. Esta solución tiñe y mata, tanto a las esporas como a los tubos germinales; sin embargo no logra teñir las partículas del suelo.
8. Para poder recobrar las esporas, es necesario agregar al suelo, una o más gotas de colodión, dejando que éste se extienda y seque.
9. Observar al microscopio, usando los objetivos seco débil (10X), seco fuerte e inmersión (40X y 100X).

NOTA.- Con este procedimiento fué posible que el autor lograse recobrar del 46 al 80% de las esporas germinadas y no germinadas de cada hongo. Esta técnica es útil para estudiar tanto el destino de los propágulos, como los micelios presentes en el suelo, sin embargo no es útil para todas las especies de hongos, ya que no permite el recobro de todas las esporas, ni logra que todas se tiñan.

TABLA No. 23.-% DE ASCOSPORAS RECOBRADAS Y GERMINADAS DEL HONGO NEUROSPORA TETRASPERMA, MEDIANTE SUCESSIVAS RASPADURAS DEL COLODION COLOCADO SOBRE LA SUPERFICIE DEL SUELO:

Prueba	Raspadura	%recobrado	%de germinación
1	1	52	23
	2	20	24
	3	6	33
	Total	78	
	Control de agar-agua		27
2	1	57	18
	2	32	24
	3	6	22
	Total	95	
	Control de agar-agua		23

C.- METODO DEL DISCO DE AGARCELOFAN MODIFICADO (Schüep y Green 1964):

1. Tamize el suelo y ajústelo a un contenido de 60% de humedad.
2. Llene una caja de petri con suelo y sostengala en un anillo

de aluminio.

3. Hervir un disco de papel celofán de 12.5 cm de diámetro, - quitando su cubierta superior.
4. Esterilice el disco y colóquelo sobre el suelo.
5. Lave el disco de agar-agua y colóquelo sobre el suelo cubierto con el papel celofán.
6. Incubar a 26° o a 28°C, durante 12 a 18 horas.
7. Dejar reposar durante 24 horas.
8. Aplicar una gota de la suspensión de esporas de cada uno - de los hongos estudiados sobre los discos de agar-agua.
9. Para evaluar la actividad micostática, haga un recuento al azar de 100 esporas para cada disco de agar y determine mediante varios métodos si existe la germinación de las esporas.
10. Preparación de las conidias (esporas asexuales):

a) Inocular un tubo de cultivo conteniendo el medio de papa dextrosado-agar con el hongo Trichoderma viridae, incubando en la estufa y bajo luz continua durante 6 a 14 horas.

b) Hacer una suspensión acuosa de esporas y filtrar a través de una lana de vidrio estéril, con el objeto de extraer - los fragmentos de los micelios.

c) Diluir la suspensión de las conidias hasta 300 y 400 - por mililitro haciendo uso de un objetivo seco débil (10X), para observarlas.

CONTROL. Las pruebas para conocer la germinación de los hongos, deben efectuarse empleando un control sobre el disco de agar-agua y el método del portaobjeto anteriormente citado.



D.- METODO DE DIFUSION EN AGAR-NUCLEOPORE ESTERIL, PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE LOS NITRIENTES EN EL SUELO -- (SNAD, Hora, Baker y Griffin, 1976).

1.- Colocar los discos de agar-agua lavados con agua, sobre un filtro de membrana nucleopore, y en contacto con la muestra de suelo humedecido.

2.- Incubar los discos en cajas de petri, durante 1,5, 15 y 30 días.

3.- Antes de poner los discos de agar sobre los filtros, sature con agua todas las muestras del suelo, con el objeto de facilitar la difusión de la solución del suelo, dentro de los discos.

4.- Remover asépticamente los discos de agar y colocarlos en un portaobjeto que se encuentre dentro de una caja de petri, y que contenga un papel filtro humedecido con agua destilada.

5.- Incubar la placa, a una temperatura de 25°C, durante 24 horas.

6.- Aplicar la suspensión acuosa de las conidias de los hongos prueba sobre la superficie de los discos.

7.- Incube los discos durante 20 a 27 horas a una temperatura de 24 a 29°C.

E.- METODO DE DIFUSION POSTGERMINACION EN AGAR-NUCLEO-  
PORE (SNAD, Rcmine y Bakder, 1972)

1.- Preparación de las muestras de suelo:

- a).- Dejar secar al aire el suelo.
- b).- Restaurar la humedad hasta un 50 a 60% de su capacidad de humedad.
- c).- El suelo húmedo, incubarlo en frascos Erlemeyer o cajas petri dentro de bolsas de plástico a una temperatura aproximada de 22°C.

2.- Preparación de los discos de agar:

- a).- Lavar los discos de agar-agua con agua natural o agua destilada con el fin de evitar un posible enmascaramiento de la micostasis causada por los nutrientes.

3.- Poner discos de agar sin contener conidias sobre filtros nucleopore y colocarlos encima del suelo, manteniéndolos así durante 24 horas.

4.- Con el objeto de lograr la germinación de las esporas, una gota de la suspensión de éstas, es añadida a los discos de agar una vez que han sido quitados del suelo.

5.- Colocar el disco en una cámara húmeda y en la obscuridad a 22°C, durante 12 a 15 horas.

6.- Evaluar la micostasis por el Método de Jackson o Lockwood (1958 y 1963 respectivamente).

### 7.- Preparación del control:

- a).- En una caja de petri (sin suelo), colocar un filtro Nucleopore o un disco de agar.
- b).- Inocular el papel filtro o el disco de agar -- con una suspensión de conidias
- c).- Someter el control bajo las mismas condiciones que la muestra problema.

NOTA.- Esta técnica ha sido empleada para detectar la presencia de sustancias inhibitoras en el suelo, siendo una prueba muy sensible.

F.- METODO DE DIFUSION EN AGAR-CELOFAN ESTERIL (SCAD, - Baker, 1970).

1.- Realice los mismos pasos del Método modificado -- del disco de agar-celofán (schüep y Green, 1964) hasta el número 7.

2.- Aplicar una gota de la suspensión de esporas de cada uno de los hongos estudiados sobre filtros de membrana - milipore.

3.- Colocar estos filtros sobre el suelo cubierto del disco de celofán e incubarlos a una temperatura de 26 a 28°C, durante 12 a 18 horas.

4.- Evaluar la micostasis mediante la técnica de Jackson o de Lockwood (1958 y 1963 respectivamente).

Un método directo ha sido empleado por Baker en 1970, - el cual consiste en impregnar conidias sobre filtros membrana cubiertos con suelo.

G.- METODO PARA DETERMINAR EL PAPEL DE LOS HONGOS EN - LA MICOSTASIS.

1.- Colocar 30 gramos de suelo esterilizado por calor en una caja de petri.

2.- Inocular las cajas con las esporas de los hongos - a estudiar, e incubarlas a 28°C, durante 10 días.

3.- El nivel micostático, se determina mediante la técnica del disco de agar-celofán (Shüep y Green, 1964).

H.- METODO PARA DETERMINAR LOS EFECTOS DE ALGUNOS HONGOS DE SIETE DIAS DE CRECIMIENTO, SOBRE LA MICOSTASIS DEL SUELO (Mishra y Pandey, 1978).

1.- Incubar varios bloques de agar, inoculados con cada uno de los hongos estudiados durante seite días.

2.- Mezcle cada uno de los hongos con 50 gramos de suelo estéril.

3.- Incubar las cajas de petri a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , durante 15 días.

4.- Evaluar la micostasis mediante el método de Lockwood (1963).

5.- Los hongos que presenten crecimiento de manera similar, son mezclados en diferentes combinaciones, como a continuación se describe:

A. niger + A. flavus; A. flavus + A. tenuis; A. niger + H. sativum; A. tenuis + P. oxysporum y A. tenuis + H. sativum.

6.- Incube las cajas como se describió en el paso 3.

7.- Evalué la micostasis, empleando como referencia -- suelo estéril.

I.- METODO PARA EVALUAR EL EFECTO DE ALGUNOS MICRORGANISMOS SOBRE LA MICOSTASIS, MEDIANTE EL EMPLEO DE SUELO ESTÉRIL (Steiner y Lockwood, 1969).

1.- Sembrar varias cajas de petri que contengan el medio de agar dextrosa-papa, con las conidias de hongos, las esporas y micelios de actinomicetos o con células de bacterias.

2.- Incube las cajas a temperatura ambiente.

3.- Lave con agua destilada estéril de sus respectivas cajas de petri las conidias, esporas, micelios o células bacterianas.

4.- Lávelas dos veces con agua destilada estéril por centrifugación.

5.- Tamizar 200 gramos de suelo de textura arcilloso, y de un suelo extraído a 75 cm. de profundidad.

6.- Esterilizar estas muestras, dentro de un matraz - Erlemeyer de un litro, durante 1.5 horas en el autoclave.

7.- Inocule el suelo con F. solani f. sp. phaseoli, P. frequentans, V. albo-atrum, las dos bacterias y los dos estrep tomicetos; o bien con un gramo de suelo natural.

8.- Ajuste el contenido de humedad, cercano al 15% en peso seco.

9.- Adicione al subsuelo estéril 0.8 ml de solución de glocosa al 10% y 4 ml. de sales estériles de Czapek; de tal - manera que la concentración final de glucuosa, sea de 400 micogramos/ g de subuelo seco.

10.- Otra parte del suelo estéril, es inoculado con -- Streptomices sp. y con Verticillium albo-atrum o una pequeña cantidad de suelo natural, ajustando su humedad al 10%.

11.- Incube los tres suelos a 24°C, durante 14 días.

12.- Agitar diariamente los matraces, para asegurar la completa colonización del suelo.

13.- Usar el método de Lingappa y Lockwood, para poder observar la germinación de las esporas en el suelo.

14.- Efectúe el recuento de 200 esporas, para cada tratamiento.

J.- METODO PARA DETERMINAR EL EFECTO DEL FILTRADO DE -

UN CULTIVO DE HONGOS, SOBRE LA MICOSTASIS DEL SUELO (Pandey, - 1978).

1.- Coloque en nueve frascos con medio de cultivo líquido de Czapak, los hongos siguientes: M. hiemalis; A. niger; A. flavus; A. sydowi; P. oxalicum; A. tenuis, H. sativum y F. oxysporum, respectivamente.

2.- Incubar los frascos a 25°C, durante 15 días.

3.- Agite los frascos a intervalos cortos de tiempo, durante el período de incubación.

4.- Filtrar el medio de cultivo, a través de un papel Whatman No. 1.

5.- Vuelva a filtrar a través de un papel Milipore (0.22 micras), el filtrado del cultivo.

6.- El filtrado del cultivo, mézclelo con suelo estéril en la proporción de un ml/10 g. de suelo.

7.- Evaluar la micostasis mediante el método de Jackson (pág. 93-95.).

K.- METODO PARA DETERMINAR LA EXISTENCIA DE LAS SUSTANCIAS DIFUSIBLES INHIBIDORAS, EN EL SUELO NATURAL O EN EL SUELO CONTAMINADO (Old, 1975).

1.- Colocar el suelo prueba, en un matraz estéril de 25 ml.

2.- Ponga en la boca del matraz, una membrana de acetato de celulosa de tres centímetros de diámetro y de 0.67 mm. de grosor, aproximadamente, cuyo poro sea de 0.5 - 1 micra de diámetro.

3.- Agregue a la membrana, una gota de la suspensión de las esporas en agua destilada, y déjela secar.

4.- Sostenga la membrana con una capa de metal horadada y, una liga lavada.

5.- Invertir, inmediatamente el frasco para que la humedad del suelo se ponga en contacto con la membrana.

6.- Incubar el frasco durante 5 o 6 horas.

7.- Cortar una parte de la membrana y colocarla en un portaobjeto.

8.- Teñir esta parte, con el azul de algodón lactofenol y,

9.- Observar las esporas.

L.- METODO EMPLEADO PARA LA DETECCION DEL VFF (Factor-fungistático volátil) Y EVALUACION DE SU DESPRENDIMIENTO EN AGAR SUELO. (SEA, Baker, 1972).

1.- Se preparan discos de agar de 6 a 7 mm de diámetro y de 2 a 3 mm. de grosor en una tapa de una caja de petri.



2.- Colocar los discos en una caja de petri que contenga 40 gramos de suelo.

3.- Incubar la caja durante 4 horas a 25 - 27°C.

4.- Agregar una gota de la suspensión de las conidias al disco y tapar la caja de petri con su tapa.

5.- Dejar la caja en reposo durante 15 a 18 horas.

6.- Contar 100 conidias de cada uno de los dos duplicados de los discos (que hayan germinado).

7.- Los controles consisten en filtro membrana milipore impregnados de conidias (por el método directo) o con suspensión de esporas (por el método SEA) y colocados en cámaras húmedas estériles sin suelo pero bajo condiciones idénticas.

M.- METODO EMPLEADO PARA EVALUAR EL USO DEL CARBONO, EN EL ESTUDIO DE LA MICOSTASIS DEL SUELO (Ko y Hora, 1975):

1.- Lavar el carbón, con etanol al 95% y filtrarlo en papel Whatman No. 1.

2.- Dejarlo reposar durante 24 horas, a temperatura ambiente.

3.- Lavar el carbón 5 veces, con 1,500 ml de agua destilada y secarlo en un horno durante 2 horas a 100°C.

4.- Adicionar aproximadamente, al suelo puesto en una caja de petri, 25 gramos de Carbono (10% peso/peso).

5.- Preparar una caja de petri con suelo sin carbono - (por triplicado).

6.- Alisar la superficie de las cajas con una espátula

7.- Inocular un disco de celofán lavado y esterilizado con una suspensión de esporas.

8.- Colocar un disco, sobre cada una de las cajas de - petri.

9.- Incubar las placas de 4 a 12 horas, y a 24°C.

10.- Determinar el porcentaje de la germinación, mediante el recuento de 200 esporas tratadas.

NOTA.- Para determinar si el carbono empleado estaba - activado, se empleó la capacidad que tiene éste para decolorarse.

CONTROL: El filtrado obtenido del suelo sin tratamiento.

NOTA.- El carbono por si solo no aumentó la germinación de las esporas, pero si lo hizo cuando al suelo se le agregó glucosa-peptona al 5%.

N.- METODO PARA EVALUAR LA MICOSTASIS, EN RELACION CON LA TEMPERATURA Y PRESION (Mishra y Pandey, 1978):

1.- Colocar varias muestras de suelo y secarlas por separado en un horno eléctrico, a las temperaturas de 40°, 50°, 60°, 70°, 80°, 100°, y 120°C, durante 6 horas.

2.- Tratar otras muestras de suelo, en un autoclave -- durante 5, 10, 15, y 20 minutos a 15 libras de presión.

3.- Evaluar la micostasis según el método de Jackson - (pág 93-95 ).

4.- Estimar la microflora de estas muestras de suelo, - mediante el método de dilución en placa, usando como medio de cultivo el de Martin.

N.- EVALUACION DE LA MICOSTASIS, EN RELACION CON EL PE-  
RIODO DE INCUBACION (Mishra y Pandey, 1978):

1.- Pulverizar y tamizar dos muestras de suelo.

2.- Ponga estas muestras en cajas de petri, e incúbe--  
las durante 1,4,7 y 15 días a 25°C.

3.- Evaluar la micostasis, según el método de Jackson-  
(pág-93-95).

NOTA.- Se puede mantener el suelo húmedo (al 25%), aña  
diendo agua destilada estéril.

O. \_ METODO EMPLEADO PARA EVALUAR LA MICOSTASIS, EN RE-  
LACION CON LA EDAD DE LAS ESPORAS (Mishra y Pandey,1978):

1.- Recolectar las esporas del Rhizopus nigricans, As-  
pergillus, flavus, Penicillium oxalicum, Verticillium albo-a-

trum, Curvularia lunata, Helminthosporium sativum y Fusarium-oxysporum de 7, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60 y 90 días de haber sido inoculadas en el medio de cultivo de papa-dextrosa agar.

NOTA.- Para cada edad de hongo, hacer siembras por triplicado.

2.- Preparar una suspensión de esporas (de la edad deseada), con agua bidestilada estéril.

3.- Centrifugar la suspensión, a 5000 rpm.

4.- Realizar diluciones de la suspensión, con agua destilada estéril, de modo que cada campo microscópico contenga-cerca de 50 esporas.

5.- Incubar la suspensión anterior durante 6 a 8 horas

6.- Tomar una gota de la suspensión anterior con una -pipeta estéril e inocular los blocks de agar.

7.- Los blocks inoculados, incubarlos durante 24 horas a  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

8.- Remover suavemente los blocks de agar de la super-ficie del suelo.

9.- Con un cubreobjetos, rebanar los blocks y colocar-los sobre un portaobjetos.

10.- Teñir las preparaciones con azul de algodón de --

lactofenol.

11.- Examinar bajo el microscopio la germinación de --  
las esporas.

NOTA.- El porcentaje de inhibición se calcula en base-  
a 1000 esporas contadas.

P.- METODO EMPLEADO PARA EXPLICAR LA NATURALEZA DE LA-  
MICOSTASIS (Hora, Baker, y Griffin, 1977):

Este método permite detectar la disponibilidad de los-  
nutrientes y/o inhibidores.

1.- Humedecer en cajas de petri, de 10 a 20 suelos con  
pH de 5.1 a 8.6

2.- Empleando filtros estériles de membrana nucleopore  
lavar asépticamente varios discos de agar.

3.- Inocular los discos con una suspensión de esporas  
de cuatro hongos prueba.

4.- Colocar los discos sobre el suelo, e incubar las -  
placas de 22 a 24 horas.

5.- Quitar los discos del suelo.

6.- Determinar el aumento y disminución de la germina-  
ción de los hongos.

NOTA.- Se considera que un aumento en la germinación de la espora, es debido a la considerable disponibilidad de los nutrientes en los discos de agar, como un resultado de su exposición al suelo. Se atribuye que una disminución en la germinación de las esporas, es debida a la presencia de sustancias inhibidoras.

En 1964, Griffin empleó un método que permite determinar el contenido de los nutrientes del medio, que son necesarios para la germinación de las esporas.

No se encontró germinación de las conidias del Aspergillus flavus inoculados en los discos de agar DIFCO, después de 15 horas de incubación cuando los discos fueron previamente lavados y purificados (Pass y Griffin, 1972).

Empleando el mismo método, Old en 1965 y Ko y Lockwood en 1967, no encontraron que el Helminthosporium sativum requiriera de nutrientes exógenos para su germinación, después de 12 horas de incubación. Estos mismos resultados fueron obtenidos en 1972 por Romine y Baker quienes emplearon discos lavados con agua destilada. Estos autores consideran que la respuesta obtenida, no tuvo su origen en los materiales tóxicos del agua. Es así como los discos de agar lavados y purificados durante 90 minutos, se han usado en subsecuentes experimentos para ambos métodos, SEA y SNAD; todo esto con el fin de eliminar el efecto del enmascaramiento de los nutrientes sobre la actividad de la micostasis.

En todos los casos, los controles consistieron en la incubación de los discos de agar, lavados y adicionados de una suspensión conidial (por el método SEA y SNAD), o en los filtros nucleopore, impregnados de conidias sin suelo, bajo las mismas condiciones.

Los métodos empleados para recobrar las esporas del suelo fueron divididos por Watson y Ford (1972) en directos e indirectos. Entre los métodos directos, se incluyen a los siguientes: a) recuperación de los propágulos que proceden de la superficie del suelo; mediante el uso de portaobjetos de fibra de celulosa, vidrio, discos de agar y, películas de plástico; b) recuperación de los propágulos que proceden de la masa interna del suelo, mediante el uso de las fibras de vidrio, mallas de nylon y técnicas de flotación o frotis. Entre los métodos indirectos que emplearon, se encuentran: a) la observación de las esporas sobre materiales que son permeables al agua, tales como las películas de celulosa, las membranas de acetato de celulosa, o los varios medios de cultivo con suelos en la superficie, ya sea en el interior o cubiertos completamente en el agar.

En la revisión que realizaron estos autores sobre el estudio de la micostasis, critican los métodos empleados hasta 1972. Mencionan que existen grandes diferencias de comportamiento en relación con la micostasis, entre las hifas y las esporas, cuando estas se desarrollan en un medio natural o en un medio de cultivo artificial. También consideran que el ---

agua destilada, afecta la fisiología de las células de los hongos, hecho que dificulta la interpretación de los resultados. Así, el agua natural debe ser usada para preparar el inóculo, o como control no nutritivo; ya que el agua destilada cambia el medio acuoso encontrado en el suelo donde se desarrollan las microesporas. Han considerado a su vez, que las diversas sustancias disueltas en el ambiente de las esporas, imparte a la solución, diversas propiedades, así como un potencial osmótico considerable.

Burges (citado por Watson en 1972), señala que "cuando el suelo es disgregado, probablemente pierde su actividad micostática". No se sabe exactamente si este efecto es debido a la redistribución y/o liberación de los nutrientes y en especial de los inhibidores volátiles; o bien, si tiene su origen en algún otro mecanismo.

En su revisión, Watson y cols. (1972), hicieron notar que el uso de agar, vidrio, celofán o cualquier otro material empleado como medio artificial, crea un microambiente diferente al encontrado en el suelo natural; debido a que su superficie es más grande y uniforme, tiene diferentes propiedades con respecto a la permeabilidad, características térmicas y superficie. Inclusive, las propiedades nutritivas de algunos de estos materiales, aumentan la actividad de los microorganismos en su superficie. Inclusive, las propiedades nutritivas de algunos de estos materiales, aumentan la actividad de los microorganismos en sus superficies.

Recientemente, Lingappa y Lockwood (1969), han cuestiona



do "si la micostasis, que se observa en los métodos directos, es o no generada en la superficie del método de ensayo".

También Griffiths (1965), cuestiona las diferencias que en los resultados se han obtenido para la micostasis; él considera que pueden deberse tanto a las diferencias inherentes de los propios suelos, como a las del método de ensayo. Así, en 1961, Dobbs y Griffiths, encontraron una menor sensibilidad con el -- método del disco de agar, que en el de celofán, debido a que - el primer método, solo es posible detectar una fuerte inhibi-- ción.

## R E S U M E N

1.- Los términos "Fungistasis" y "Micostasis", han sido empleados para definir el fenómeno de la "inhibición de la germinación de las esporas de los hongos, bajo ciertas condiciones que se esperaba lo hicieran" (Dobbs y Hinson, 1953; Garret, 1970; Griffin, 1972; Watson y Ford, 1972; Lockwood, 1961, 1963, 1964, 1966, 1968, 1976; Jackson, 1958; Weltzien, 1963; Schuep y Green, 1968).

Los investigadores que han estudiado la micostasis, han establecido las siguientes generalizaciones acerca de ella:

1. Casi todos los suelos naturales son micostáticos, con excepción de los subsuelos profundos en donde las poblaciones microbianas son bajas.
2. La micostasis generalmente requiere la presencia de organismos vivos. La parcial o completa esterilización del suelo por el calor seco y húmedo, las radiaciones gama; o bien, la aplicación de fumigantes volátiles la anulan, puede ser reataurada en el suelo esterilizado por reinoculación con microorganismos específicos (productores y no productores de antibióticos); aunque se ha encontrado micostasis en suelos estériles (micostasis residual).
3. En casi todos los propágulos de los hongos, ocurre la micostasis como una parte de su ciclo biológico.
4. Generalmente se anula por la adición de nutrientes que tengan carbono (ricos en energía) y Nitrógeno. La rizosfera

rica aminoácidos y ácidos orgánicos, favorece la germinación, de las esporas. (autores citados por Lockwood, 1976; Kringsvold, 1982).

5. El efecto de la profundidad o del pH del suelo sobre la germinación de las esporas, varía con cada especie de hongo (Schuep y col., 1968, 1969).

6. La micostasis se manifiesta más en los suelos de textura arcillosa o suelos ricos en materia orgánica (Lockwood, 1976).

7. Ocurre una mayor inhibición de la germinación de los hongos en el suelo durante el verano y menor durante el invierno, esta inhibición se relaciona inversamente con el contenido de azúcares reductores en el suelo. (Dobbs y Hinson, 1960).

8. El restablecimiento de la micostasis a las diferentes temperaturas y contenido de humedad, es más rápido a 0.85 atmósferas de presión (Balis y Kouyeas, 1968).

9. El pH no afecta significativamente la micostasis dentro de los límites biológicos (Schüep y Frei, 1969); no obstante a un pH fuertemente ácido, la micostasis se reduce ligeramente, quizá debido a la disminución de la población microbiana, en tanto que a un pH elevado se aumentó ligeramente probable debido a la presencia de un inhibidor volátil, o bien, puede ser que en ambos casos, sea debido al efecto directo del pH sobre los hongos. (Emmathy y Green, 1967; Schuep y cols., 1968 y 1969; Kruger, 1969; Hora y Baker, 1970). Cuando el suelo es sometido al autoclave, se anuló el efecto inhibitorio a todos los valores de pH (Schuep y Green, 1968); no obstante, el grado de inhibición de algunos hongos en el suelo puede relacionarse con el pH, particularmente a bajas concen-

centraciones de nutrientes (Bywater, 1965).

10. La sensibilidad de las esporas a la micostasis, varía de acuerdo a la forma, tamaño, edad y tiempo de germinación. - En general las esporas grandes son menos sensibles y nutriente-independientes, en tanto que las esporas pequeñas son más-sensibles y dependientes de los nutrientes. (Mallik, 1966; -- Griffiths, 1966; Dix, 1967; Schuep y Green 1968; Cooke y cols. , 1968; Shuep y Frei, 1969; Steiner y Lockwood, 1969; Johri y Saksina, 1975; Mitchell y Kix, 1975; autores citados por Lockwood, 1976).

No varía la sensibilidad a la micostasis en las esporas de 1 a 9 semanas de edad, sin embargo, después de 9 semanas, ocurre una disminución conforme avanza la germinación de las esporas (Steiner y Lockwood, 1968; Yoder y Lockwood. 1973).

El tiempo de germinación, se relaciona con el volumen de la spora. Así, las esporas con largos períodos de germinación son más sensibles y las esporas con cortos períodos ocurre lo contrario. La reducción del tiempo de germinación, mediante preincubación de las esporas en el suelo estéril, redujo significativamente la sensibilidad (Dix, 1972; Mitchell y Dix, 1975 y Schuep y cols. 1966, 1968 y 1969; autores citados por Lockwood, 1976).

Las especies de hongos que han resultado más sensibles son: Trichoderma viride, Penicillium oxalicum y Aspergillus terreus; mientras que entre las menos sensibles se incluyen

Alternaria solari, Ustilago zaeae, Pestalotia macrotrichia y -  
Helminthosporium maydis (de esporas grandes) (Schuep y Green, 1964).

II.- La teoría más acertada acerca de la naturaleza de -  
la micostasis, afirma que las esporas no germinan debido al de-  
sequilibrio que existe entre la concentración de los inhibido-  
res volátiles y la de los nutrientes, aunado todo esto, a otras  
características propias de los suelos. (Lockwood, 1976).

III.- Las propiedades micostáticas de los suelos pueden  
ser anuladas mediante esterilización con calor húmedo, con seco, fu-  
migantes o bien por la adición de azúcares y una fuente de ni-  
trógeno; así como por las plantas como por ejemplo el chícharo-  
en crecimiento sobre el suelo (Schuepp, 1962; Lockwood, 1963),  
caldo dextrosa papa, melazas y exudados de raíces (Chinn, 1957,  
1959, 1953 y 1961; Stover, 1958; Payven, 1962; Jackson, 1958 y -  
Schroth, 1963). Se ha visto que ni los residuos de las plantas  
con alto contenido de celulosa, ni los aminoácidos, han sido --  
eficaces, sin embargo, el ácido glutámico indujo la germinación  
del F. oxysporum f. cubense (Stover, 1958).

Cuando Epstein y Lockwood (1981), realizaron un bioensayo  
para estudiar el papel de varios componentes que intervienen en  
el proceso de la anulación de la micostasis del suelo, en espo-  
ras nutriente-independientes (Conidias de C. victoriae y C. sa-  
tivum), notaron que al poner conidias sobre papel filtro, que -  
anteriormente habían flotado en varias soluciones, "su veloci--

dad de germinación, era inversamente proporcional al volumen de la solución".

Ellos observaron que las esporas del hongo *C. victoriae* germinaron en un 90% cuando flotaron en una solución amortiguadora o en una solución de sales diluidas; y en la que los compuestos que participaron en la estimulación de la germinación, fueron la glucosa  $10^{-3}$ M; Galactosa  $10^{-3}$ M; Xilosa  $10^{-4}$ M; Hidroxilato -caseína 100 ppm, AGTA  $10^{-4}$ M; Solución salina, 1 ppm de extracto acuoso de *C. victoriae*.

## C O N C L U S I O N E S

1. La inhibición de las esporas de los hongos, depende - del pH; textura; contenido de humedad; abonos y fertilizantes - agregados al suelo; profundidad; edad, tamaño, tiempo y período de germinación de la espora, temperatura, etc. que prevalecen - en el suelo.

2. Cuando los propágulos se encuentran en concentraciones elevadas en el suelo, ocurre la autoinhibición, con lo que se inhibe la germinación de las esporas.

3. El enmascaramiento del efecto inhibitor del factor micostático en el suelo se presenta como resultado de un exceso de nutrientes.

4. La presencia de una gran cantidad de microorganismos en el suelo, trae como consecuencia el agotamiento de los nutrientes; hecho que impide el desarrollo de los propágulos fúngicos.

5. Como los hongos zoopatógenos generalmente son dependientes de los nutrientes del suelo, se ven obligados a competir con los microorganismos por los microhábitats; debido a esto no les es posible completar su ciclo biológico en proporción a las esporas que logran formarse.

6. Cuando los microorganismos llegan a invadir a una planta hospedera, antes de que lo hagan los propágulos, éstos últimos permanecen en estado de latencia (Harman y cols., 1979).

7. Es posible el control de los patógenos de los hongos mediante el uso de compuestos volátiles de tipo lipóideo, en vista de que éstos estimulan la germinación de las esporas, e inhiben su esporulación.

8. Existe un balance ecológico de los hongos en el suelo, debido, a que todos los factores antes mencionados, logran impedir que los hongos se desarrollen de manera excesiva, ya que cada hongo es en potencia capaz de formar cientos de esporas, de las cuales solo unas cuantas llegan a su completo desarrollo.

9. La micostasis en el suelo, ocurre como "un fenómeno natural"; cuyo nivel se modifica, según las condiciones del medio ambiente que predominen en ese momento en dicho suelo. El objetivo de la micostasis, consiste en mantener el ciclo biológico de los microorganismos en el suelo, ya que controla la sobrepoblación de hongos patógenos de plantas y animales.



## B I B L I O G R A F I A

1. Abyad, M.S. and Ismail I.K. (1974). "Fungistasis in Egiptian soils". Egyptian Journal of Botany, Vol. 17 (2/3): pág.161-172.
2. Abyad, M. and Ismail I.K. (1976). "Seasonal variation of - Fungistasis in Egyptian soils". Egyptian Journal of Botany. -- Vol 19 (1): pág. 63-75.
3. Adams P.B., J.A. Lewis and G.C. Papavizas (1968). "Survival of root-infecting fungi in soil. IV. The nature of fungistasis- in natural and cellulose amended soil on chlamidospores of Fusa rium solani f. sp. phaseoli". Phytopathology, Vol 58: pág. 378 383.
4. Alexander, Martin (1981). "Introducción a la Microbiología del Suelo" Trad. de la 2a. ed. en Inglés. Editorial A.G.T. Mé- xico, D.F., 491 pag.
5. Arora D.K.; Filonow A.B. and Lockwood J.L. (1982). "Exuda- tion of carbon 14 from fungal propagules en the presence of -- specific microorganisms". American Phytopathological. Soc. -- Phytopath., Vol 72 (7): pág. 997.
6. Bear-S.W. &Paver-G.D.C. (1983). "Effect of acid soils on - survival of Verticillium-dahliae". Phytopathology, Vol 72 (4), pág. 453.
7. Bailey J.E.; Lockwood J.L. and Wiese M.N. (1982). "Infec- tion of wheat by Cefalosporium-gramineum as influenced by free- zing of roots". Phytopathology, Vol 72 (10): pág. 1324-1328.
8. Balis, C.and Kouyeas, V. (1968). "Volatile inhibitors in- volved in soils mycostasis". Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S. Vol 8: pág. 145-149.

9. Balis, C. (1976). "Ethylene-Induced volatile inhibitors - causing soil fungistasis". *Nature*, Vol 259: pág. 112-114.
10. Berestetski-C. A. and Kravchenko-L. V. (1982). "Effect of-volatile products of decomposed plant residues on fungal spore development". *Mikol Fitopatol.*, Vol 16 (2), pág. 126-129.
11. Bilai-V-I, Koval-E.Z. and Karkevich -E.S. (1984). "Ecological and Methodological aspects of studies on Chitin destruction by micromicetes". *Mikol Z.M. (Kiev)*, Vol 46(1), pág. 97-108.
12. Bristow- P.R. and Lockwood, J.L. (1975a). "Soil fungistasis: Role of the microbial nutrient sink and of fungistatic substances in two sils". *Journal of General Microbiology*, Vol 90: pág. 147-156.
13. Bristow,P.R. and Lockwood J.L. (1975b). "Soil fungistasis Role of spore exudates in the inhibition of nutrient-independent propagules". *Journal of General Microbiology*, Vol 90: pág.140-146.
14. Cook, R.C. (1967). "Mycostasis in soils recently exposed - by retreating ice-cap". *Nature*, Vol 210; pág. 295-296.
15. Cook R.J. and W.C. Snyder (1965). "Influence of host exudates on growth and survival of germilings of *Fusarium solani* f. *phaseoli* in soil". *Phytopathology*, Vol 55: pág. 1021-1025.
16. Dix N.J. and P. Christie (1974). "Changing sensitivity to soil fungistasis with age in *Drechslera rostrata* spore and associated permeability changes". *Trans. Br. Mycol. Soc.* Vol 62: - pág. 527-535.
17. Dobbs, C.G. (1963). "Factors in Soil mycostasis". *Recent Progress in Microbiology VIII. Symposia held at the VIII International Congress for Microbiology. Montreal, 1962.- Univer-*

sity of Toronto press. Canada.

18. Dobbs, C.G. and Gash M.J. (1965). "Microbial and residual-mycostasis in soils". Nature, Vol 207: pág. 1354-1356.
19. Dutta-B.K., Ramarao-P. Isaac I, (1982). "Evidence of the -- biological origin of soil fungistasis". Pflansekr Pflanzenschu ts, Vol 89 (7): pág. 427-434.
20. Dutta-B.K., and Deb P.R. (1984). "Sporostatic effect of -- Ethylene and its possible role fungistasis". Microbios left, Vol 27(105): pág. 31-36.
21. Emmaty, D.A. and Green J.R. (1967). "The role of nutrients and pH in reversing fungistasis of conidia of *Trichoderma viride*". Canadian J. Microbiology, Vol 3: pág. 635-642.
22. Epstein L. and Lockwood J.L. (1982). "Exudation and fungis tasis of *Cochliobolus-victoriae* conidia in soil". Ann. Inst. - Phytopath, Vol 72 (7). pág. 949.
23. Epstein-L. and Lockwood J.L. (1983). "The role of exuda-- tion in the germination of Cochliobolus-victoriae conidia". - Journal General Microbiology, Vol 129 (12): pág. 3629-3636.
24. Epstein-L. and Lockwood J.L. (1981). "A bioassay for de-- tecting compounds involved on the annulment of fungistasis of nutrient-independent spores".The Canadian Phytopathological So ciety, Vol 71(2): pág. 215.
25. Filonow-A.B. and Lockwood J.L. (1981). "Carbon-14 exuda-- tion by fungal propagules into soils of different textures in relation to fungistasis". Phytopathology, Vol 71(2): pág.216.
26. Griffin, G.J. (1962). "Production of a fungistatic effect by soil microflora in autoclave soil". Phytopathology, Vol.52: pág. 90-91.

27. Griffin, D.M. (1972). "Ecology of soil Fungi". Ed. Fletcher I. Son. Ltd, Norwich. Great Britain, 193 pag.
28. Griffin, Cary J., Hora T.S. and R. Baker (1975). "Soils -- fungistasis elevation of the exogenous carbon and nitrogen requirements for spore germination by fungistatic volatiles in soils". Can. J. Microbiol., Vol 21: pag. 1468-1475.
29. Griffiths, D.A. (1966). "Vertical distribution of mycostasis in Malayan soils". Canadian J. Microbiology, Vol 12: pag 149-163.
- 30.- Griffiths, D.A. and Dobbs, C.G. (1973). "Relationships between mucostasis and free monosacarides in soils". Nature, Vol 19 (2): pag. 408.
31. Halvorson, M.J. Tetrake-D and Martin D.F. (1984). "Effect of aponin a substance from green alga Nannochloris species on the spore germination of two fungi". Microbics, Vol 41 (164): pag. 105-114.
32. Harman G.E., L.R. Mattick; G. Nash and B.L. Nedrow (1980). "Stimulation of fungal spore germination and inhibition of --- sporulation in fungal vegetative thally acids and their volatile peroxidation product". Canadian J. of Botany, Vol 58 (14): pag. 1541-1547.
33. Hattori, Tsutonu (1973). "Microbial life in soil". An Introuduction. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York., 427 p.
34. Hora T.S., Baker R. and Griffin, G.J. (1976). "Experimental evaluation of hypothesis explain the nature of soil fungistasis". Phytopathology, Vol 67: pag. 373-379.
35. Hora T.S. and Baker, R. (1970). "Volatile factor in soil fungistasis" Nature, Vol 225; pag. 1071-1072.

36. Hsu, S.C. and Lockwood J.L. (1971). "Responses of fungal - hyphae to soil fungistasis". *Phytopathology*, Vol 61: pág. 1355-1362.
37. Jackson, R.M. (1958). "An investigation of fungistasis in Nigerian soils" *J. General Microbiology*, Vol 18: pág. 248-258.
38. Jackson, R.M. (1957). "Fungistasis as a factor in the rhizosphere phenomenon". *Nature*, Vol 180: pág.
39. Jackson R.M. (1958). "Some aspects of soil fungistasis". *J. General Microbiology*, Vol 19: pág. 390-401.
40. Jauch, C. (1976). "Patología vegetal". Ed. el Ateneo. Imp. Talleres Graficos. TIPENC, S.R.L. Buenos Aires, Argentina, 270 p.
41. Jevés T.M. Coley-Smith J.R. (1980). Germination of sclerotia of *Stromatinia-gladioli*". *Trnas. Br. Mycol. Soc.*, Vol 74 - (1): pág. 13-18.
42. Johri, Kiran; B.N. Johri and Saksema, S.B. (1975). "Colonization capacity of the soil microorganisms in relation to fungistasis". *Plant and soil*, Vol 43: pág. 347-354.
43. Joyce M. (1956). "The production of antibiotics in soils". *Ann. app. Biol.* Vol 44(3): pág. 461-466.
44. Kalvish, T.JK. (1980). "Effect of soil fungistasis on Muscardine fungi". *SS. SER. Biol. Nauk*, Vol 0(3): pág. 8-16.
45. Kanaujia, R.S. and Mishra, R.R. (1977). "Observations on soil fungistasis. I survey of fungistasis in U.P. soils". *Acta Botanica Indica*, Vol 5: pág. 169-173.
46. Karimov K.M.M. (1980). "Behavior of the inducer of cotton Black root-rot *Thielaviopsis basicola* in soil". *Mikol fitopatol.*, Vol 14(1): pág 56-58.

- 47.- Ko, W. and Lockwood J.L. (1967). "Soil Fungistasis: Relation to fungal spore nutrition". *Phytopathology*, Vol. 57: Pág. 894-901.
- 48.- Ko, W.H. and Hora F.K. (1972). "The nature of a volatile inhibitor from certain alkaline soils". *Phytopathology*, Vol. 62: Pág. 573-575.
- 49.- Ko, W.H. and Hora F.H. (1975). "Elevation of the use of Charcoal in the soil fungistasis". *Phytopathology*, Vol. 65 (1): Pág. 1031-1032.
- 50.- Ko, W.H. and Chow, F.M. (1978). "Soil fungistasis: Role of volatile inhibitors in two soils". *Journal General Microbiology*, Vol. 104 (1): Pág. 75-78.
- 51.- Kouyeas V. and Balis, C. (1968). "Influence of moisture on the restoration of mycostasis in air dried soils". *Ann. Inst. Phytopathology, Benaki, N.S.*, Vol. 3: Pág. 123-144.
- 52.- Krigsvold D.T.; Griffin, G.J. and Hale, M.G. (1982). "Microsclerotial germination of *Cylindrocladium-crotalariae* in the rhizospheres of susceptible and resistant peanut arachis-hypogea plants". *Phytopathology*, Vol. 72 (7) Pág. 859.
- 53.- Krigsvold D.T. and Griffin, G.J. (1982). "Influence of growth medium on the sensitivity of *Cylindrocladium-crotalariae* microsclerotia to soil fungistasis". *Ann. Phytopathological Society*, Vol. 72 (4): Pág. 453.
- 54.- Kusakary, S.I. and Yusushi, Takagi (1973). "Fungistasis - activity of soil sterilized by gamma radiation". *Canadian Journal Microbiology*, Vol 19: Pág. 1333-1334.
- 55.- Lingappa, B.T. and Lockwood, J.L. (1961) "The nature of the widespread soil fungistasis". *Journal General Microbiology*,

Vol. 26: Pág. 473-485.

56.- Lingappa, B.T. and Lockwood J.L. (1962 a.). "Direct assay of soil for fungistasis". *Phytopathology*. Vol. 53: Pág. 529-531.

57.- Lingappa, B.T. and Lockwood J.L. (1962 b) "Relationship of soil microbes to the widespread soil fungistasis". *Phytopathology*, Vol. 54: Pág. 906.

58.- Lingappa, B.T. and Lockwood, J.L. (1963). "Activation of soil microflora by fungus spores in relation to soil fungistasis". *Journal General Microbiology*, Vol. 35: Pág. 215-227.

59.- Lockwood J.L. (1963). "Soil fungistasis". In: *Annu. Rev.-Phytopathol.* Vol. 14 (3): Pág. 233-237.

60.- Lockwood J.L. (1977). "Fungistasis in soils". *Biological Reviews- of the PHC*. Vol 52 (1); pág. 1-42.

61.- Marshunova G.N. and Fedorova, N.N. (1980). "Effect of green manure catch crops on fungistasis of sierozem soil". *Mikol fitopatol.* Vol. 14 (3) Pág. 233-237.

62.- Mirchink T.G. and Bondarenk N.G. (1980). "Effect of long-term application of mineral fertilizers and lime on the population dynamics of *Penicillium-funiculosum*". *Mikol Fitopatol.*, Vol. 14 (4) Pág. 319-322.

63.- Mishara-R.R. and Pandey, K.K. (1981). "Studies on soil fungistasis". *Trop. Ecol.*, Vol. 22 (2): Pág. 212-218.

64.- Mishra, R.R. and Pandey K.K. (1978). "Studies on soil fungistasis: Effect of certain physical and biological factors". *Plant and Soil*, Vol. 48: Pág. 355-366.

65.- Mitchell, C.P. and Dix N.J. (1975). "Influence of carbon -

- source in the sporulation medium on the theoretical colonization index and the sensitivity of Trichoderma viride spore to soil fungistasis". Transactions of the British Mycological Soc. Vol. 65 (2): Pág. 259-264.
- 66.- Old, Kenneth M. (1965). "Fungistatic effects of soil bacteria on root rotting fungi with particular reference to Helminthosporium sativum". Phytopathology, Vol. 55: Pág. 901-905.
- 67.- Pandey, K.K. (1976). "Investigation on soil fungistasis: Effect of fertilizers amendments on soil fungistasis". Fertilizer Technology, Vol. 15 (4): Pág. 306-308.
- 68.- Pandey K.K. (1976 b). "Short communication; Effect of certain Chemicals on soil fungistasis". Plant and soil, Vol. 44: Pág. 487-489.
- 69.- Prasad K.S. and Ramarao P. (1980). "Seasonal Variation of soil fungistasis against Chick-pea wilt pathogen Fusarium oxysporum f. sp. ciceri". Indian J. Mycol. Plant. Patol., Vol. 10- (2): Pág. 26.
- 70.- Robinson P.M. and Park D. (1966). "Volatile inhibitors of spore germination produced by fungi". Trans Br. Mycol. Soc., -- Vol. 49 (4): Pág. 639-649.
- 71.- Romine, M. and Baker R. (1972 a). "Properties of volatile-fungistatic factor in soil". Phytopathology, Vol. 62: Pág. 602-605.
- 72.- Romine, M. and Baker, R. (1972 b). "Soil fungistasis: Evidence for an inhibitory factor". Phytopathology, Vol. 63: Pág. 756-759.
- 73.- Schreiber, L.B. and Green R.J. (1963). "Effect of root exudates on germination of conidia and microsclerotia of Verticillium albo-atrum inhibited by the soil fungistatic principle". Phytopathology, Vol. 53: Pág. 260-263.



- 74.- Sharapov, V.M. and Kalvish T.M. (1984). "Effect of soil - fungistasis on zoopatogenic fungi". Mycopathologia, Vol. 85 --- (1-2): Pág. 121-128.
- 75.- Schuep N. and Frei E. (1969). "Soil fungistasis with respect to pH and profile". Canadian Journal of Microbiology, Vol. 15 (1): Pág. 1273-1279.
- 76.- Schuep N. and Green (1964). "Un método directo para la micostasis del suelo y respuesta de los hongos seleccionados al principio. Phytopathology Vol. 54: Pág. 906.
- 77.- Setua G.G. and Samaddar M.R. (1980). "Evaluation of role of volatile ammonia in fungistasis of soils". Phytopathology Z. Vol. 98 (4): Pág. 310-319.
- 78.- Steiner G.W. and Lockwood J.L. (1968 a). "Soil fungistasis: Sensitivity of spores in relation to germination time and size".- Phytopathology Magh, Vol. 59: Pág. 1084-1092.
- 79.- Steiner, G.W. and Locwood J.L. (1968 b). "Soil fungistasis: Mechanism in sterilized reinoculated soil". Phytopathology, Vol. 60: Pág. 90-91.
- 80.- Walker C.J. (1975). Patologia Vegetal". 3a. ed. en Español, Ed. Omega, España, Pág. 24.
- 81.- Watson, A.G. and Ford E.J. (1972). Soil fungistasis: A reap praisal". Ann. Rev. Phytopathol., Vol. 10: Pág. 327-343.
- 82.- Willis, George M. and Lansinge W. (1968). "Fungistatic properties of soils exposed to different antecedent environments". In: Canadian Journal Microbiology, Vol. 14: Pág. 755-761.