

## VIABILIDAD DE *Rhizoctonia solani* Kuhn AG1-IA BAJO CONDICIONES DE INUNDACIÓN. I. MICOFLORA ASOCIADA AL PATÓGENO EN TEJIDO DE *Oryza sativa*

Dilcia Ulacio<sup>\*</sup>, Herman Nass<sup>\*\*</sup>, Juan Pineda<sup>\*\*\*</sup> y Adalberto Carrasco<sup>\*\*\*\*</sup>

### RESUMEN

Se mantuvieron trozos de vainas de hojas de arroz afectadas por *Rhizoctonia solani* AG1-IA bajo inundación por 15, 30 y 45 días, a fin de detectar la micoflora asociada y su posible rol en la viabilidad del patógeno. Los trozos enfermos fueron enterrados en bolsas de polietileno a 3, 10 y 17 cm de profundidad utilizando un suelo con tradición arrocería en ambas condiciones. Cumplido cada período de tiempo, los trozos de tejido fueron extraídos del suelo y colocados en Agar-Agua; como referencia se colocaron también trozos desinfectados con alcohol. Posteriormente, diferentes colonias de hongos fueron aisladas en Papa-Dextrosa-Agar. Los géneros detectados en los tratamientos bajo inundación fueron: *Gelasinospora sp.*, *Trichoderma sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Chaetomium sp.*, *Acremonium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Mycogone sp.*, *Curvularia sp.* entre otros. Este estudio demostró la facultad de algunos hongos considerados fuertemente aeróbicos para tolerar condiciones anaeróbicas, así mismo, demostró que *R. solani* AG1-IA fue capaz de sobrevivir asociado a otros microorganismos. Sin embargo, su viabilidad y posterior producción de esclerocios se vio limitada en los tratamientos bajo inundación tanto en aquellos trozos sin desinfectar como en los desinfectados, lo que indicó que factores inherentes a la condición de anaerobiosis también afectaron la sobrevivencia de *R. solani*.

**Palabras claves adicionales:** Arroz, hongos del suelo, antagonistas

### ABSTRACT

#### Viability of *Rhizoctonia solani* Kuhn AG1-IA under flooding conditions.

##### I. Mycoflora associated to the pathogen in *Oryza sativa* tissue

Mycoflora associated to pieces of rice sheaths affected by *Rhizoctonia solani* AG1-IA and its possible effect on pathogen viability was studied under soil flooding condition at depths of 3, 10 and 17 cm for 15, 30 and 45 days. At the end of each time period, the pieces were put in Water-Agar. Additional pieces of sheaths were disinfected and taken as reference. Different colonies of fungi grown in Water-Agar, were isolated in Potato-Dextrosa-Agar. The main genus detected from flooding treatments were: *Gelasinospora sp.*, *Trichoderma sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Chaetomium sp.*, *Acremonium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Mycogone sp.* and *Curvularia sp.* This study showed some anaerobic condition tolerancy of fungi considered strongly aerobics. On the other hand, it showed that *Rhizoctonia solani* AG1-IA survived associated with other microorganisms. However, its viability and sclerotia production was limited in flooding treatments of both disinfected and non-disinfected leaves, which indicated that inherent factors to water logging conditions also affected the survival of *R. solani*.

**Additional key words:** Rice, soilborne fungi, antagonists

### INTRODUCCIÓN

El suelo constituye uno de los sitios más dinámicos de interacciones biológicas en la naturaleza. Las poblaciones del suelo y los efectos de las mismas en su medio ambiente son gobernadas en gran parte por las propiedades químicas y físicas del suelo (Martin, 1977). Estas

características son diferentes entre un suelo seco y un suelo inundado. En este último, las relaciones e interacciones microbiales se realizan sin la presencia de oxígeno, con acumulación de metano y CO<sub>2</sub> y en general los microorganismos se deben adaptar a los diferentes cambios químicos que se suscitan bajo esta condición (De Datta, 1986).

---

Recibido: Agosto 3, 1998

\* Profesor. Dpto. Agrobiológico, Decanato de Agronomía, UCLA

\*\* Investigador. FONAIAP-CIAE Yaritagua, estado Yaracuy

\*\*\* Profesor. Posgrado de Fitopatología, Decanato de Agronomía, UCLA

\*\*\*\* Técnico. Posgrado de Fitopatología, Decanato de Agronomía, UCLA. Apdo. 400. Barquisimeto, Venezuela

Las ventajas que ofrece un suelo en condición aeróbica permite el desarrollo de una gran variedad de microorganismos cuyo funcionamiento fisiológico y bioquímico va a ser diferente de aquellos que se desarrollan bajo condiciones anaeróbicas; aunque existen microorganismos aeróbicos facultativos capaces de soportar esta última condición. Por ejemplo, Anderson (1982) señala que *Rhizoctonia solani* AG1-IA es capaz de soportar ambientes acuáticos; sin embargo, Mew y Rosales (1985) mencionan estudios donde se señala que al enterrar los esclerocios de este microorganismo, éstos pierden viabilidad.

Por otra parte se han detectado algunos controladores de *Rhizoctonia solani* a nivel del suelo (Martin, 1977) y aún más, algunos investigadores señalan que la sobrevivencia de *R. solani* en condiciones bajo inundación se ha visto seriamente afectada por los microorganismos presentes (Mew y Rosales, 1985). Así mismo, algunas bacterias inhiben el crecimiento micelial de *R. solani* y afectan la viabilidad de los esclerocios (Mew y Rosales, 1986). De tal forma, esta investigación basó sus objetivos en determinar la micoflora que se asoció bajo condiciones de inundación a trozos de vainas de hojas de arroz afectadas por *Rhizoctonia solani* AG1-IA y en estudiar su posible rol en la viabilidad del micelio y posterior formación de esclerocios cuando fueron enterrados en un suelo sembrado tradicionalmente con el cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Esclerocios de *R. solani* perteneciente al grupo AG1-IA (Cedeño et al., 1995) obtenidos de una cepa del FONAIAP-Portuguesa fueron colocados en medio Papa - Dextrosa - Agar (PDA) a pH 7,0 y temperatura ambiente; igualmente fueron sembradas semillas de arroz de la variedad Colombia 1 (considerada susceptible a *R. solani* AG1-IA que causa el añublo de la vaina de la hoja), de tal manera que al cumplir 75 días de desarrollo, pudieran ser inoculadas con esclerocios de aproximadamente 15 días de edad.

Una vez inoculadas con los esclerocios de *R. solani* AG1-IA, las plantas de arroz se colocaron en cámara húmeda a fin de lograr condiciones

adecuadas para la incidencia de la enfermedad, la cual se inició a los tres días. Cuando transcurrieron seis días después de la inoculación, grupos de 20 trozos de tejido enfermo fueron colocados en bolsitas de nylon, según la metodología de Lumsden (1981). Cada bolsita fue enterrada a 3,10 y 17 cm de profundidad en bolsas de polietileno que contenían suelo con tradición en la siembra de arroz, proveniente de la finca "La Unión" ubicada en Araure, estado Portuguesa. El suelo fue utilizado en dos formas: una parte se esterilizó con vapor de agua por un lapso de 4 horas y la otra parte no fue esterilizada. Las bolsas de polietileno con sus respectivas bolsitas de nylon fueron colocadas en grupos de tres en recipientes plásticos que fueron llenados con agua, de tal forma que la misma sobrepasó la superficie del suelo en aproximadamente 5 cm. Cada 2 días se niveló el agua en los recipientes. La lámina de agua se mantuvo así por 15, 30 y 45 días, realizándose tres repeticiones para cada profundidad. Igual procedimiento se realizó en suelo seco. A manera de referencia, se realizó una prueba enterrando similar número de muestras en suelo seco.

Cumplido cada período de tiempo, las bolsitas de nylon fueron extraídas del suelo y lavadas con agua corriente. Los trozos de tejido enfermo sacados de las bolsitas se colocaron en medio Agar-Agua (A-A) en grupos de cuatro, realizando tres repeticiones para cada profundidad. Como referencia se desinfectaron con alcohol al 75 % igual número de trozos de tejido enfermo extraído, y también fueron colocados en A-A. Una vez que se inició el crecimiento micelial tanto de *R. solani* AG1-IA como de otros microorganismos, porciones de micelio con agar provenientes tanto de los trozos sin desinfectar como los desinfectados, fueron aislados en PDA a pH 7,0. En todos los tratamientos se realizaron observaciones del inicio de formación del micelio de *R. solani*, a fin de detectar el efecto de los microorganismos asociados, así como el posible rol de la condición anaeróbica en la viabilidad del patógeno.

Una vez iniciado el crecimiento micelial de *R. solani* AG1-IA en A-A, porciones de éste fueron aislados en PDA, a fin de observar el inicio de formación de esclerocios tanto en tejido desinfectado como sin desinfectar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Determinación de la micoflora asociada.

Una notoria diversidad de microorganismos asociados al micelio de *R. solani* o inhibiendo a este último fue observada en los tratamientos mantenidos bajo inundación de suelo no esterilizado cuando los trozos de tejido no fueron desinfectados. El Cuadro 1 muestra los diferentes

géneros que fueron detectados y las proporciones de acuerdo a la profundidad en los tiempos de inundación bajo estudio. La mayor cantidad fue encontrada en los tratamientos mantenidos por 15 días bajo inundación, seguido de los tratamientos mantenidos a 30 y 45 días. Entre los microorganismos que pudieron ser identificados están: *Fusarium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Acremonium sp.*, *Aspergillus sp.* y *Chaetomium sp.*

**Cuadro 1.** Microorganismos asociados a *R. solani* AG1-IA a diferentes profundidades y tiempos de inundación en tejido enfermo de *Oryza sativa* (promedio de tres repeticiones)

Profundidad (cm)	Tiempo de Inundación (días)								
	15			30			45		
	3	10	17	3	10	17	3	10	17
<i>Gelasinospora sp.</i>	-	-	-	-	-	-	***	**	*
<i>Trichoderma sp.</i>	***	*	**	**	*	*	-	-	-
<i>Fusarium sp.</i>	***	**	**	**	**	**	**	**	*
<i>Penicillium sp.</i>	***	**	**	**	*	*	*	**	**
<i>Aspergillus sp.</i>	***	**	*	**	*	*	*	*	*
<i>Acremonium sp.</i>	-	-	-	-	*	*	-	*	*
<i>Rhizopus sp.</i>	***	**	**	**	*	**	*	*	-
<i>Mycogone sp.</i>	-	-	-	-	*	*	-	*	*
<i>Chaetomium sp.</i>	-	-	-	-	*	*	*	*	*
<i>Curvularia sp.</i>	*	*	*	*	*	-	*	-	-
Otros saprófitos	**	***	**	**	***	**	**	***	**

\* Poca presencia (< 5 aislamientos)

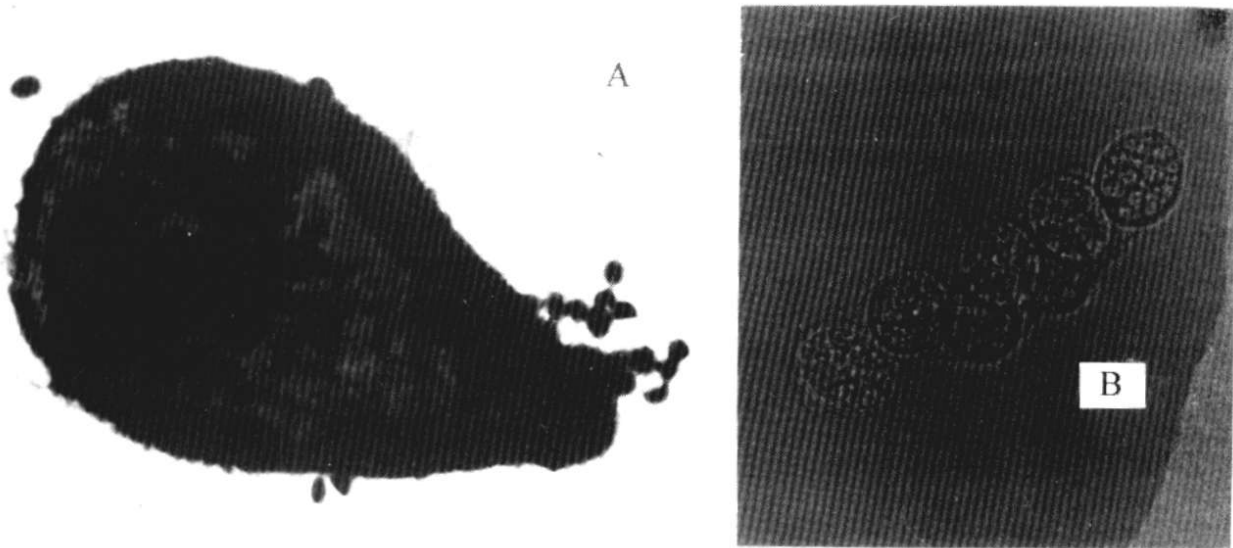
\*\* Mediana presencia (5-10 aislamientos)

\*\*\* Alta presencia (> 10 aislamientos)

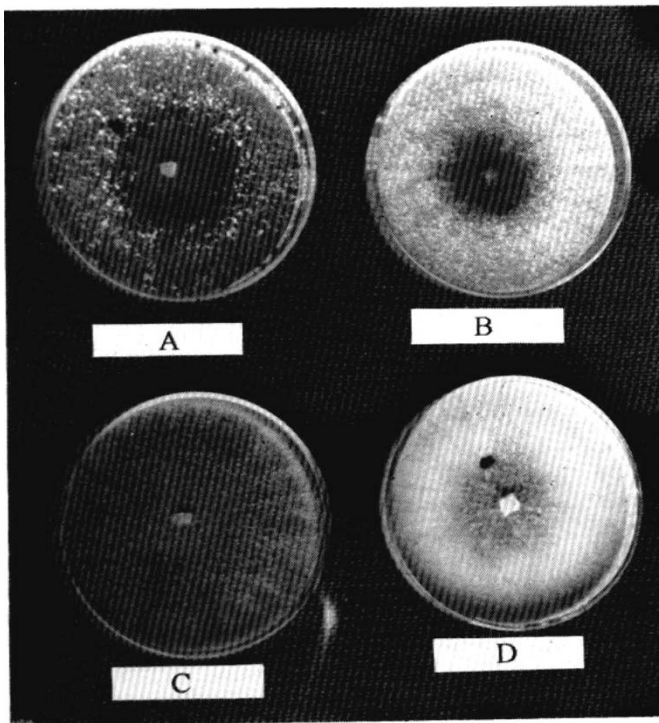
A los 45 días, a 3 cm de profundidad, predominó *Gelasinospora sp.* (Figura 1 A y B) que en la mayoría de las cajas de Petri estuvo asociada con *R. solani*, observándose la presencia de gran cantidad de peritecios que posteriormente impidieron la formación de los esclerocios del patógeno. Este predominio se observó solamente en los tratamientos provenientes de 45 días bajo inundación, con mayor énfasis a los 3 cm y no se observó en las cajas de Petri conteniendo micelio proveniente de los tratamientos de 15 y 30 días de inundación. La presencia de peritecios de *Gelasinospora sp.*, en los tratamientos provenientes de 45 días bajo inundación fue disminuyendo a medida que los trozos de tejido enfermo estuvieron más profundos en las bolsas, en cuyo caso predominó el micelio de *R. solani*. Sin embargo, éste no formó esclerocios (Figura 2). Otros hongos observados en las cajas de Petri, de los tratamientos de 45 días bajo inundación a 3 cm de profundidad fueron:

*Fusarium sp.*, *Chaetomium sp.* y *Penicillium sp.*, entre otros. Mayor diversidad de microorganismos fue observada entre los 10 y 17 cm no sólo a los 45 días bajo inundación sino también a los 30 días, detectándose en ese momento, además de los tres mencionados *Aspergillus sp.*, *Acremonium sp.*, *Rhizopus sp.* y *Mycogone sp.* A 3 cm de profundidad en 30 días bajo inundación, sólo se detectaron *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Curvularia sp.*, *Trichoderma sp.* y *Rhizopus sp.* (Cuadro 1).

A los 15 días, la mayor cantidad de microorganismos se encontró a los 3 cm, seguido de 17 cm y 10 cm de profundidad. Se observó con mayor frecuencia: *Rhizopus sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Aspergillus sp.* y *Fusarium sp.*, entre otros. Es de resaltar que fueron detectados una gran cantidad de microorganismos a los cuales no se le pudo observar estructuras para su identificación.



**Figura 1.** Estructuras observadas de *Gelasinospora sp.*  
 A. Peritecio con ascosporas B. Ascas con ascosporas



**Figura 2.**  
 Micelio de *R. solani* AG1-IA asociado con *Gelasinospora sp.* A. Testigo. B, C y D representan tratamientos de 45 días bajo inundación a profundidad de 3, 10 y 17 cm en suelo no esterilizado, observándose el inicio de formación de peritecios del Ascomycete

De acuerdo a estos resultados (Cuadro 1) se puede inferir que la mayoría de los microorganismos presentes, son anaeróbicos facultativos; sin embargo, según De Datta (1986) y Rivillo (1986), una vez que se inunda el suelo se mantiene cierta condición aeróbica en su superficie y en ocasiones en una capa por debajo de la capa arable. En este estudio, esta posible condición aeróbica pudo haber permitido la presencia de microorganismos que como *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*, son fuertemente aeróbicos.

De Datta (1986) indica que en ausencia de oxígeno en el sistema de suelo inundado, los organismos anaeróbicos y facultativos verdaderos se vuelven activos y la descomposición de la materia orgánica es más lenta y menos completa. Así mismo, el autor señala que existen dos causas de la baja población microbiana en suelos inundados: 1) el metabolismo anaeróbico es por naturaleza menos eficiente que el aeróbico para proveer energía para la síntesis de las nuevas células y 2) los actinomicetos y hongos que convierten del 15 al 40 % del carbono del sustrato son inactivos debido a la falta de oxígeno. Estas observaciones difieren de los resultados del presente trabajo, donde hubo una notoria diversidad de microorganismos bajo condiciones de inundación, más aún cuando se observó la presencia de microorganismos en tratamientos mantenidos a 30 y 45 días en suelo inundado. El hecho de agitar el agua al momento de mantener el nivel de inundación, lo cual ayudaría a restituir el oxígeno perdido, podría haber ocasionado en parte esta diferencia.

De los microorganismos detectados a nivel del ensayo de crecimiento micelial destacan *Trichoderma sp.* y *Gelasinospora sp.*, los cuales bajo condiciones de inundación, pudieran en un momento dado, tener importancia desde el punto de vista de control biológico. Estudios sobre control de *Rhizoctonia solani* por parte de *Trichoderma harzianum* señalan que este último colonizó trozos de hojas de arroz enterrados en suelo seco pero no así en suelo inundado (Mew y Rosales, 1985). En la presente investigación a nivel de laboratorio se observó, que en aquellas cajas de Petri donde *R. solani* estuvo asociado a *Trichoderma sp.*, posteriormente, éste último inhibió completamente el crecimiento micelial del patógeno. De esta manera, se puede inferir que en

condiciones de inundación en el suelo también pudiera darse la condición de antagonismo por parte de *Trichoderma sp.* en lapsos de inundación poco prolongados y a nivel superficial. Se conoce que el género *Trichoderma* es un antagonista efectivo para muchos patógenos habitantes del suelo (Latiegue, 1990; Sivan y Shet, 1989; Velásquez, 1996; Wells, 1988) y que actúa como hiperparásito (Sudheim y Tronsmo, 1988) o en competencia por nutrientes (Mehrotra et al., 1988; Sirvan y Shet, 1989). Aunque en este estudio no se realizaron determinaciones ni pruebas sobre el tipo de antagonismo presentado entre *Trichoderma sp.* y *R. solani*, se infiere que pudo ocurrir un hiperparasitismo ya que sólo se observó crecimiento en PDA del hongo antagonista.

*Gelasinospora sp.*, que según las características que presentó es una especie poco común (R. Hanlin, Universidad de Georgia, Comunicación personal), fue observado solamente asociado con *R. solani* y *Fusarium sp.* A diferencia de los otros microorganismos, no fue observado en la prueba sobre suelo seco (datos no publicados). Esto evidenciaría que es un fuerte competidor en el suelo inundado al no permitir el crecimiento micelial de otros microorganismos presentes e inhibir posteriormente la formación de esclerocios de *R. solani*, a pesar de que este último sí formó micelio tal como muestra la Figura 2. Sin embargo, *Gelasinospora* no está señalado como antagonista y no existen mayores estudios sobre el mismo (Hanlin y Tortolero, 1995).

#### **Viabilidad de *Rhizoctonia solani* AG1-IA en presencia de la micoflora asociada.**

En condiciones de laboratorio a temperatura ambiente, al aislar *Rhizoctonia solani* en A-A, éste inició su crecimiento micelial aproximadamente a las 15 horas, al igual que las muestras enterradas en suelo seco, tanto esterilizado como sin esterilizar. En este estudio, el micelio proveniente de los trozos de las vainas de arroz afectados por *R. solani* AG1-IA mantenidos bajo los tres períodos de inundación y en las tres profundidades, iniciaron el crecimiento en A-A, aproximadamente a las 72 horas en ambas condiciones de esterilización del suelo. Sin embargo, la viabilidad del micelio no fue del todo completa, ni siquiera en los tratamientos en suelos

seco, aunque en este último, el porcentaje de sobrevivencia fue mayor (Ulacio, 1997). Esto indicó que el hecho de mantenerlo enterrado afectó el inicio del crecimiento micelial, observándose esto tanto en aquellos trozos sin desinfectar como en los que fueron desinfectados. De este resultado se podría inferir que la presencia de los microorganismos *per se* no afectó el inicio del crecimiento del propágulo, sino que otros factores pudieron influir para retrasar y limitar la sobrevivencia del mismo. Sin embargo, en aquellas cajas de Petri donde se detectó viabilidad a las 72 horas, se observó posteriormente un crecimiento normal. Para Bateman (1970), la capacidad de *R. solani* para vivir y crecer en una gran variedad de medios ecológicamente distintos, hace suponer que el mismo posee una amplia y diversa constitución genética induciendo diferentes reacciones bioquímicas y fisiológicas según el hábitat donde se encuentre. Este aspecto es corroborado en esta investigación ya que a pesar de que se retrasó la viabilidad de *R. solani*, éste fue capaz de sobrevivir asociado a los microorganismos presentes y bajo la condición de inundación, indicando que posee una gran capacidad saprofítica competitiva.

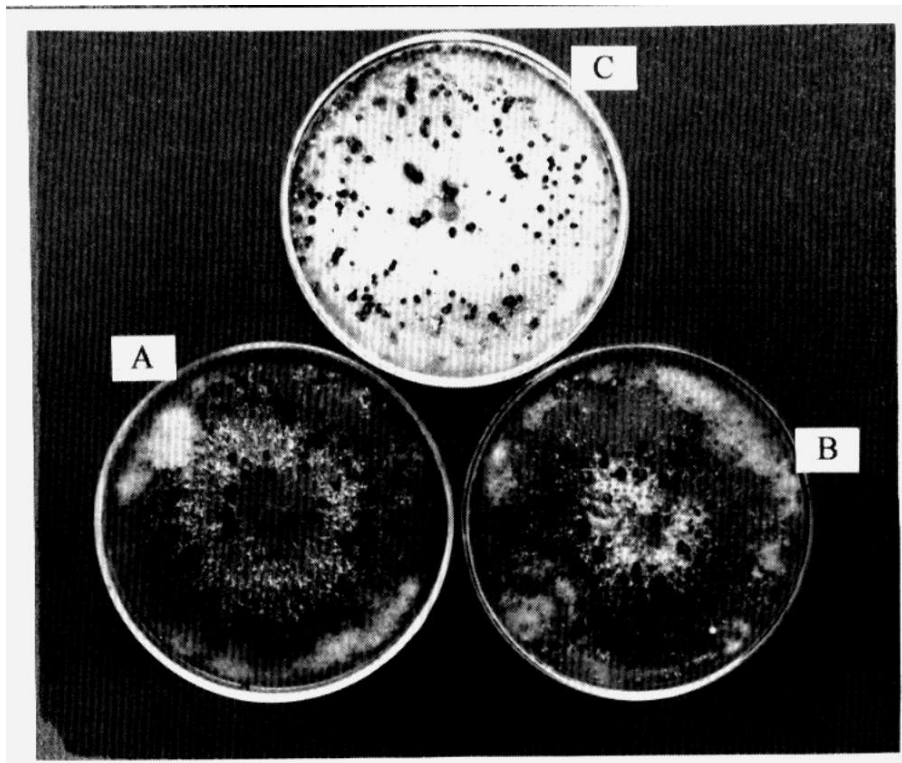
### Formación de esclerocios a partir del micelio mantenido bajo inundación.

El Cuadro 2 muestra el tiempo de aparición de los esclerocios desarrollados a partir del micelio mantenido a 15, 30 y 45 días bajo inundación, observándose que el micelio proveniente de tejido no desinfectado en suelo no esterilizado no formó esclerocios. Normalmente el micelio de *R. solani* AG1-IA aislado en PDA a pH 7, muestra esclerocios completamente formados a los 5 días, produciendo entre 50 y 60 esclerocios/caja de Petri; así mismo, la proporción de esclerocios de *R. solani*, cuando éstos fueron enterrados en suelo seco esterilizado fue similar al número que se obtuvo en el laboratorio (Figura 3). En este estudio se evidenció que si bien los microorganismos jugaron un papel primordial limitando la producción de esclerocios observados en tratamientos de tejido sin desinfectar, en condición no esterilizada, el factor inundación afectó tanto el tiempo de aparición como el número de esclerocios producidos/caja Petri. La producción observada en los tratamientos provenientes de suelo esterilizado estuvo entre 2-10 esclerocios/caja de Petri, (en al menos una repetición), retrasándose el inicio de su formación, a mayor tiempo de inundación.

**Cuadro 2.** Efecto de los microorganismos y otros factores inherentes a la condición anaeróbica sobre el tiempo de formación de esclerocios a partir del micelio de *Rhizoctonia solani* AG1-IA proveniente de tejido enfermo de *Oryza sativa*.

Tiempo de inundación (días)	Profundidad (cm)	Tejido sin desinfectar		Tejido desinfectado	
		SNE	SE	SNE	SE
15	3	0	15	10	10
	10	0	0	0	10
	17	0	15	10	10
30	3	0	15	10	10
	10	0	15	0	10
	17	0	0	10	10
45	3	0	0	0	15
	10	0	24	15	15
	17	0	24	15	0

**Nota:** En condiciones normales de laboratorio, el micelio de *R. solani* muestra esclerocios completamente formados a los 5 días  
SNE: Suelo no esterilizado SE: Suelo esterilizado



**Figura 3.** Proporción de esclerocios formados cuando se aisló micelio de *Rhizoctonia solani* AG1-IA de trozos de tejido enfermo de *Oryza sativa* enterrados en suelo seco por 15 días (A), 30 días (B) y 45 días (C).

Estos resultados demuestran que la combinación microorganismos - condición anaeróbica, debilitaron al micelio de *R. solani* AG1-IA a tal punto que afectaron la producción de sus estructuras de resistencia. Un estudio de Mew y Rosales (1985) comprobaron que el número de esclerocios de *R. solani* AG1-IA fue muy bajo en suelo inundado no esterilizado, cuando éstos fueron recuperados de trozos de hojas de arroz incubados entre 2 a 4 semanas en suelo irrigado, siendo más alta la producción de los mismos en suelo seco.

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se detectó gran diversidad de microorganismos asociados a *R. solani*, entre ellos algunos considerados fuertemente aeróbicos tales como *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*, en

trozos de tejido de *Oryza sativa* mantenidos bajo inundación.

Se encontró retraso en el inicio del crecimiento micelial de *R. solani* AG1-IA, por efecto no sólo de los microorganismos presentes, sino también de la condición anaeróbica en la cual permaneció.

La inhibición en la formación de esclerocios de *R. solani* AG1-IA en los tratamientos de tejido enfermo sin desinfectar provenientes tanto de suelo seco como inundado no esterilizado, demostró el efecto de los microorganismos presentes. Sin embargo, el retraso en la formación y en la baja proporción de esclerocios formados del micelio provenientes de los tratamientos de suelo esterilizado inundado, indicó que otros factores influyen en el potencial del micelio para producir sus estructuras de resistencia.

Se sugieren estudios más detallados para determinar las especies fúngicas capaces de soportar condiciones anaeróbicas, así como los mecanismos de actuación de los antagonistas sobre *R. solani* AG1-IA.

## LITERATURA CITADA

1. Anderson, N. 1982. The Genetic and Pathology of *Rhizoctonia solani*. Ann. Rev. Phytopathology 20:329-347.
2. Barnett, H. L. y B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Third Edition Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota.
3. Bateman, D. F. 1970. Pathogenesis and disease of *Rhizoctonia solani*. In: John Parmeter, Jr. (ed.). *Rhizoctonia solani*. Biology and Pathology. American Phytopathological Society. A Symposium on *Rhizoctonia solani* University of California, Berkeley. pp. 161-171.
4. Cedeño, L., H. Nass, C. Carrero, R. Cardona, H. Rodríguez, L. Alemán y K. Quintero. 1995. *Rhizoctonia solani* AG1-IA importante patógeno del arroz (*Oryza sativa*) en Venezuela. XIV Congreso Venezolano de Fitopatología. Resúmenes. Revista Forestal Venezolana. ULA-Mérida. p.142.
5. De Datta, S. 1986. Producción de Arroz. Fundamentos y Prácticas. Editorial Limusa, México.
6. Hanlin, R. y O. Tortolero. 1995. Géneros ilustrados de Ascomycetes. Editorial Botánica. Barquisimeto.
7. Latiege, A. 1990. *Trichoderma harzianum* Rifaii como antagonista de *Sclerotium rolfsii*. Sacc. Agente causal de la pudrición basal en caraota. Tesis. Posgrado de Fitopatología, UCLA. Barquisimeto. 61 p.
8. Lumsden, R. D. 1981. A nylon fabric technique for, studying the ecology of *Pythium aphanidermatum* and other fungi in soil. Phytopathology 71 (3): 282-285.
9. Martin, A. 1977. Introduction to Soil Microbiology. Second edition. Wiley. New York.
10. Mehrotra, R. S., K. R. Aneja, A. K. Gupta y A. Aggarwal. 1988. Fungi - Agents of biological control. In: Mukerji y Garg (eds.). Biocontrol of Plant Diseases. Vol. 1. CRC Press. Boca Ratón, Florida. pp. 38-47.
11. Mew, T. W. y A. M. Rosales. 1985. Influence of *Trichoderma* on survival of *Thanatephorus cucumeris* in association with rice in tropics. In: C. A. Parker et al (eds.). Ecology and Management of Soiborne Plant Pathogens. APS Press St. Paul, Minnesota. pp 117-120.
12. Mew, T. W. y A. M. Rosales. 1986. Bacterization of rice plants for control of shearth blight caused by *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 76 (11): 1260-1264.
13. Rivillo, A. 1986. Cinéticas físico-químicas de suelos venezolanos bajo condiciones de inundación. Tesis. Posgrado en Ciencias del Suelo. Universidad Central de Venezuela, Maracay. 377 p.
14. Silvan, A. y I. Shet. 1989. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. Phytopathology 79 (2): 198-203.
15. Sundheim L. y A. Tronsmo. 1988. Hyperparasites in biological Control In: Mukerji y Garg (eds.). Biocontrol of Plant Diseases. Vol 1. CRC Press. Boca Ratón, Florida. pp. 54-64.
16. Ulacio, D. M. 1997. Efecto de la inundación en la sobrevivencia y virulencia de propágulos de *Rhizoctonia solani* AG1-IA en el cultivo de arroz (*Oryza sativa*). Tesis. Posgrado de Fitopatología, UCLA. Barquisimeto. 95 p.
17. Velázquez, J. 1996. Control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc con *Trichoderma harzianum* Rifaii en siembras comerciales de tabaco en el estado Portuguesa. Tesis. Posgrado de Fitopatología, UCLA. Barquisimeto. 103 p.
18. Wells, H. 1988. *Tichoderma* as a biocontrol Agent. In: Mukerji y Garg (eds.). Biocontrol of Plant Diseases. Vol 1. CRC Press. Boca Ratón, Florida. pp. 71-82.