

MICROBIOTA Y NEMATODOS ASOCIADOS CON LA RIZÓSFERA Y RAÍZ EN EL CULTIVO DE AJO (*Allium sativum* L.)

María Auxiliadora Jiménez¹, Dilcia Ulacio¹, Wilfredo Perdomo¹ y Elizabeth Briceño¹

RESUMEN

Se determinó la micobiota y nematodos fitoparasíticos asociados con la rizósfera y raíz en el cultivo de ajo en dos localidades de la población de Agua Negra, estado Lara. Se colectaron al azar 150 plantas de aspecto sano a los 45, 90 y 135 días posteriores a la emergencia de las plántulas. Para determinar los hongos asociados con la rizósfera, se aplicó la técnica de platos de dilución y para la micobiota asociada con las raíces, se tomaron al azar 15 de éstos órganos, se lavaron y cortaron en segmentos para luego colocarlos sobre agar-agua acidificado con ácido láctico. Las colonias fúngicas que crecieron se cuantificaron y transfirieron a agar-papa-dextrosa, para su posterior identificación. Se calculó la frecuencia relativa de los géneros de hongos aislados. Para el análisis nematológico se cortaron y trituraron segmentos de raíces, y se procesaron 500 g de suelo en un levigador de Oostenbrink, tamices de Cobb y embudos de Baerman. Los géneros de hongos identificados fueron *Fusarium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Trichoderma*, comunes a ambas localidades y la mayor frecuencia relativa fue para *Fusarium equiseti*, *F. solani* y *Cladosporium allii* sp. Las raíces fueron colonizadas por una población menor que en la rizósfera. *F. solani* y *T. harzianum* fueron comunes en ambas localidades, aunque en una de ella destacó mayor número de unidades formadoras de colonias. Los géneros de nematodos con mayor frecuencia fueron *Helicotylenchus*, *Psilenchus* y *Aphelenchoides*. Las especies aisladas podrían solamente estar sobre la superficie de la raíz sin llegar a ser patógenicas.

Palabras clave adicionales: Hongos parásitos, hongos antagonistas, hongos saprófitos, nemátodos fitopatásitos

ABSTRACT

Mycobiota and plant nematodes from rhizosphere and root in garlic (*Allium sativum* L.)

The mycobiota and plant nematodes from rhizosphere and root of garlic were determined in two localities of Agua Negra, Lara State, Venezuela. One hundred and fifty plants of healthy aspect were collected at random 45, 90 and 135 days after the emergency of the plantlets. The fungi associated to the rhizosphere were determined by the dilution plates technique, and for the fungi associated to the roots, 15 of those organs were washed, cut into pieces, and placed on agar-water acidified with lactic acid. The colonies that grew were quantified and transferred to potato-dextrose-agar, for later identification. The relative frequency of the genera of isolated fungi was calculated. For the analysis of plant nematodes, segments of roots were cut and crushed, and 500 g of soil were processed in the Oostenbrink levigador, Cobb's sieves, and Baerman's funnels. The genera identified were *Fusarium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus* and *Trichoderma*, common to both localities, and the major relative frequency was for *F. equiseti*, *F. solani* and *Cladosporium allii* sp. The roots were colonized by a smaller population than the rhizosphere. *F. solani* and *T. harzianum* were common in both localities, although in one of them there were a higher number of colony-forming units. The dominant species of nematodes were *Helicotylenchus*, *Psilenchus* and *Aphelenchoides*. These isolated species might be on the surface of the root without being pathogenics.

Additional key words: Parasitic fungus, antagonist fungus, saprophytic fungus, parasitic nematodes

INTRODUCCIÓN

Se entiende por rizósfera la zona del suelo que rodea a las raíces y es influenciado biológica y físicamente por las mismas (Kluepfel, 1993). En la rizósfera tiene lugar una interacción dinámica con los microorganismos y las características químicas y biológicas se

manifiestan en una porción de apenas 1 mm de espesor a partir de las raíces (Coyne, 2000). Por otro lado, por tratarse de una zona de actividad biológica intensa, con una transferencia importante de agua y nutrientes, generalmente los microorganismos, son encontrados en mayor número y diversidad, si se le compara con el suelo no rizosférico (Grant y Long, 1989).

Recibido: Junio 2, 2008

Acceptado: Mayo 31, 2009

¹ Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela.
e-mail: majimenez@ucla.edu.ve

Kluepfel (1993) señaló que aunque existe una alta población microbiana que se concentra en la rizósfera, ésta muy poco se ha examinado con detalle. En el caso del cultivo de ajo (*A. sativum* L.) se hace necesario realizar un estudio relacionado con la distribución y evaluación de los microorganismos presentes, con la finalidad de determinar aquellos hongos que pudieran ser saprófitos o parásitos y la búsqueda de virtuales antagonistas para las principales enfermedades que atacan este cultivo y la identificación de nematodos asociados que dañan el producto comercial, usado para consumo y semilla. El objetivo de esta investigación fue determinar los géneros y especies de organismos de origen fúngico y los nematodos fitoparasíticos presentes en la rizósfera de plantas de ajo en fincas del municipio Jiménez, estado Lara.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal consistió de 150 plantas de ajo colectadas al azar dentro de dos parcelas de 12 x 12 m cada una, ubicadas en el sector Agua Negra, municipio Jiménez del estado Lara en las fincas “La Sabanita” y “El Destierro”, ambas ubicadas a un altitud de 1500 msnm, con temperatura que oscila entre 17 y 22 °C. Se colectaron muestras de 25 plantas a los 45, 90 y 135 días posteriores a la emergencia de las plántulas. El material se trasladó al Laboratorio de Fitopatología del Decanato de Agronomía de la Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” para su procesamiento.

Estudio de la micobiota en la rizósfera del cultivo

Para determinar la población de microorganismos asociados con la rizósfera se aplicó la técnica de platos de dilución la cual consistió en tomar muestras del suelo adherido a la superficie de las raíces y dejarlo secar a temperatura ambiente; posteriormente se prepararon diluciones sucesivas hasta llegar a 10⁻³, luego se tomaron alícuotas y se sembraron en Agar-Agua acidificado con ácido Láctico (A-AAc) contenido en platos Petri a razón de dos gotas por plato, se incubó por 7 días, a temperatura ambiente (25 + 4 °C). Se realizaron cuatro repeticiones. Las colonias fúngicas que crecieron se cuantificaron y transfirieron a Agar

Papa Dextrosa (APD) para su posterior identificación.

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza y prueba de Tukey utilizando el programa Statistix 2005, para establecer diferencias entre la micobiota rizosférica proveniente de las plantas de las tres edades mencionadas.

Aislamiento de la micobiota asociada a las raíces del cultivo

Se tomaron al azar 15 segmentos de raíces, se lavaron con agua destilada estéril (ADE), se secaron y cortaron en trozos de 2 mm para posteriormente colocarlos en A-Aac. Las colonias fúngicas que crecieron se cuantificaron y transfirieron a APD para su posterior identificación.

Se calculó la frecuencia relativa (FR) de los géneros de hongos aislados de la rizósfera. El cálculo se realizó mediante la relación:

$$FR (\%) = (\text{N}^\circ \text{ de colonias del género} / \text{N}^\circ \text{ total de colonias}) \times 100$$

Estudio de los nematodos en la rizósfera del cultivo

Se procesaron muestras de suelo y raíces de las plantas de ajo mezclando cinco submuestras tomadas al azar dentro de las fincas. Cada muestra de suelo pesó 1 kg. Los nematodos fueron extraídos de muestras de la rizósfera y raíces colectadas a 5 cm de profundidad; para ello, los segmentos de raíz fueron cortados en trozos de aproximadamente 2 cm y luego se fraccionaron en una licuadora durante 20 segundos.

El análisis nematológico se efectuó tomando 0,5 kg de suelo y procesándolo por el Levigador de Oostenbrink. Posteriormente, se recuperaron por el método de los tamices de Cobb y embudos de Baerman (Siddiki, 2000) para su posterior identificación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se muestra el promedio de unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos en la rizósfera en diferentes edades del ajo. Los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Trichoderma* fueron comunes en la rizósfera en las dos zonas bajo estudio. De acuerdo a Domsch et al. (1980), estos géneros prefieren las zonas cálidas, donde según Alexander (1980) la actividad microbiana es mayor.

De acuerdo con Montes-Belmont et al. (2003) y Nelson (2004) las especies de microorganismos que colonizan la rizósfera, y aunque pudieran predisponer el desarrollo de la raíz y afectar el crecimiento de las plantas, también pudieran favorecer el avance de hongos biocontroladores como *Trichoderma* y *Fusarium* no patógenicos, por lo que sería recomendable realizar estudios con relación a la interacción entre ellos.

Se detectaron diferencias entre los promedios de las UFC de hongos colectados en los diferentes períodos (Cuadro 2) ya que las

poblaciones y especies fúngicas fueron significativamente más altas en el suelo donde se realizó la colecta a los 135 días, lo que podría atribuirse al hecho de que en esta etapa ya estaban formados los bulbos y el término del desarrollo del sistema radical, y evidenciaría el efecto de estimulación de los exudados radicales sobre la densidad de población microbiana del suelo. Según Alexander (1980) el espectro de géneros puede variar de acuerdo al tipo y edad de la planta y con el tipo de suelo, dependiendo de la cantidad de nutrientes presentes y otros materiales acumulados.

Cuadro 1. Hongos en la rizósfera (UFC/g) del ajo colectados a diferentes edades del cultivo en las fincas La Sabanita y El Destierro, municipio Jiménez, estado Lara

Hongos aislados	La Sabanita				El Destierro			
	45 d	90 d	135 d	Total	45 d	90 d	135 d	Total
<i>Aspergillus terreus</i>		3	5	8	2	5	6	13
<i>A. niger</i>	-	6	13	19	13	14	18	45
<i>Cladosporium</i> sp.	14	18	19	51	16	28	34	78
<i>Fusarium. equiseti</i>	11	11	38	60	15	26	33	74
<i>F. oxysporum</i>	11	14	17	42	7	-	19	26
<i>F. solani</i>	20	21	22	63	11	18	24	53
<i>Penicillium</i> sp.	-	-	19	19	16	-	27	43
<i>Pytium</i> sp.	2	2	2	6	-	-	-	-
<i>Rhizopus stolonifer</i>	1	-	6	7	-	7	9	16
<i>Trichoderma harzianum</i>	1	2	6	9	4	9	10	23

* Los valores son el promedio de cuatro repeticiones

Cuadro 2. Cuantificación de hongos en la rizósfera (UFC/g) del ajo colectados a diferentes edades del cultivo en las fincas La Sabanita y El Destierro, municipio Jiménez, estado Lara

Días después de la siembra	La Sabanita	El Destierro
45	25,75 b	13,25 b
90	29,25 b	17,25 b
135	46,00 a	70,00 a
C.V. (%)	3,05	4,39

Medias con igual letra no son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Las variaciones observadas en cuanto a los componentes de la comunidad fúngica de la rizósfera del ajo pudieran explicarse por el hecho de que en la misma predominan microorganismos no patógenicos y las interacciones biológicas entre los patógenos, benéficos y neutrales pudiera eliminar o suprimir a los primeros, protegiendo a

las plantas contra las enfermedades (Alexander, 1980). Por otra parte, habría que considerar la edad del cultivo, los cambios en la exudación de la raíz y la morfología de este órgano durante el desarrollo, ya que en el primer muestreo (45 días) las plantas se encontraban pequeñas, con un sistema radical incipiente. A medida que avanzó el crecimiento, aumentó también el grado de lignificación de este órgano. Otros factores como la temperatura, las condiciones de luz y los niveles del agua e inóculo, pudieron haber determinado la vitalidad de esporas y de micelio de los hongos presentes en las etapas posteriores a los 45 días después de siembra, es decir, que el ambiente circundante, pudo haber afectado cualitativa y cuantitativamente los exudados radicales y en consecuencia a la comunidad de la rizósfera (Lynch, 1990; Nelson, 2004).

Whipps et al. (2001) encontraron que la liberación de material orgánico desde las raíces, no sólo proporciona la energía para el desarrollo

de poblaciones de microorganismos saprófitos y patógenos sino que también promueven la quimiotaxis de los mismos hacia ellas, estableciéndose competencia por el carbono, llegando a comportarse como saprófitos facultativos, dependiendo del tipo de suelo, tamaño de la población microbiana, contenido de materia orgánica y la distancia entre planta, raíces, y semillas.

El Cuadro 3 refleja la frecuencia relativa de las especies de hongos aisladas de la rizósfera de plantas de ajo, el cual muestra que la mayor frecuencia relativa en ambas fincas fue para *Fusarium equiseti*, *F. solani* y *Cladosporium* sp. En general, la mayoría de las especies aisladas de la zona radical pertenecen al género *Fusarium*. Las tres especies incluyendo a *F. oxysporum*, se presentaron con alta frecuencia para las tres edades. *F. oxysporum* ha sido descrito como agente causal de la pudrición basal (Schwartz y Mohan, 1995) y marchitez (Martínez et al., 1995) en el cultivo de ajo cuyos síntomas se han observado en plantas cultivadas a temperaturas cercanas a 30 °C. Aunque este factor ambiental no se midió en la zona de estudio, es posible que las condiciones de temperatura hayan limitado su patogenicidad, comportándose de manera saprofítica, ya que según Schwartz y Mohan (1995) es rara la ocurrencia de la enfermedad por debajo de 15 °C. Por otra parte, Whipps et al. (2001) han asegurado que aislamientos de *F. oxysporum* han colonizado raíces y materia orgánica, comportándose como supresores de cepas patogénicas del mismo hongo.

Esta alta FR de las especies de *Fusarium*, debieron limitar la presencia de géneros como *Rhizopus* sp. y *Aspergillus niger*, los cuales son considerados con alta capacidad saprofítica competitiva y abundantes en los suelos a nivel mundial (Domsch et al., 1980).

El género *Trichoderma harzianum* Rifai estuvo presente en las tres edades muestreadas del cultivo, pero con baja frecuencia en ambas zonas (Cuadro 3). Se conocen ampliamente las funciones antagonistas del género *Trichoderma*, específicamente la especie *harzianum* (Kukuc y Kivanc, 2002; Howell, 2003) sobre diferentes patógenos con origen en el suelo, principalmente sobre *Rhizoctonia solani* (Kühn), *Sclerotium rolfsii* Sacc, y *Pythium* sp., que tienen presencia universal y están ampliamente distribuidas en el

suelo siendo potenciales patógenos que pudieran inducir una enfermedad bajo condiciones conducentes. *A. niger* ha sido encontrado dominando la rizósfera (Kulshrestha, 1978; Satyaprasad, 1982); por otra parte, Raper y Fennel (1977) han señalado que aunque este hongo normalmente es saprófito en tejidos de plantas muertas y otros materiales orgánicos, puede infectar los bulbos a través de lesiones producidas durante la cosecha, el manejo o la comercialización.

El género *Pythium* se observó sólo en La Sabanita y aunque se encontró en baja proporción, ha sido reportado por Díaz Polanco y Díaz (1973) como patógeno de *Allium cepa* L. provocando sancocho de plántulas. En el cultivo del ajo, géneros como *Fusarium* y *Pythium* pueden ingresar a la planta ocasionando pudriciones radicales cuando en el suelo existe humedad en exceso (Ezziyyani et al., 2004; Ulacio et al., 1997; Ulacio et al., 2002). No obstante, su naturaleza agresiva y su capacidad de excluir otros competidores para dominar un sustrato, al parecer, se vieron disminuidos, siendo quizás una de las consecuencias de la ocurrencia de más del 50% de pudrición blanca (cuyo agente causal es *Sclerotium cepivorum* Berk) en la zona de cultivo (datos no mostrados). Se ha comprobado también que *S. cepivorum* puede ser controlado por el antagonista *T. harzianum* (Pereira et al., 1996).

Cladosporium sp. se encontró en las tres edades del cultivo, con una elevada frecuencia y gran capacidad de colonización saprofítica. Algunas especies de este género, han sido reportadas como patógenos de la cebolla (*C. Allii-cepae*) y el ajo (*C. Allii*), causando el manchado de la hoja (Schwartz y Mohan, 1995).

Es posible que las diferencias de las frecuencias observadas entre los géneros identificados (Cuadro 3) puedan deberse al uso de herbicidas practicado en ambas fincas, los cuales pueden estar interviniendo en el comportamiento de las poblaciones microbianas, principalmente en los potenciales biocontroladores. En este sentido, Sawicka et al. (1997) estudiaron la influencia de los herbicidas sobre patógenos de hortalizas y encontraron que estimularon el desarrollo de bacterias y Actinomycetes e inhibieron el crecimiento de la mayoría de los hongos, coincidiendo con los resultados obtenidos por Reyes (2000) sobre la microbiota de suelos

cultivados con tomate, la cual disminuyó al aplicar diferentes herbicidas.

Cuadro 3. Frecuencia Relativa (%) para cada especie de hongo aislada de la rizósfera de plantas de ajo provenientes de La Sabanita y El Destierro, municipio Jiménez, estado Lara

Hongo	Finca	
	La Sabanita	El Destierro
<i>Aspergillus terreus</i>	2,81	3,28
<i>A. níger</i>	6,69	11,36
<i>Cladosporium</i> sp.	17,95	19,69
<i>Fusarium equiseti</i>	21,12	18,68
<i>F. solani</i>	22,18	13,13
<i>F. oxysporum</i>	14,78	7,07
<i>Penicillium</i> sp.	6,69	11,86
<i>Pythium</i> sp.	2,11	-
<i>Rhizopus stolonifer</i>	2,46	4,04
<i>Trichoderma harzianum</i>	3,16	5,80

Hongos presentes en la raíz de ajo

De las especies de hongos encontradas, *F. solani* y *Trichoderma harzianum* fueron comunes en ambas zonas (Cuadro 4). En La Sabanita destacaron, con el mayor número de unidades formadoras de colonias, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Penicillium* sp. y *Trichoderma harzianum*, mientras que en El Destierro aunque la cantidad de UFC fue menor, destacó en mayor cantidad *F. solani*. Se observó que las raíces fueron colonizadas por una población microbiana menor que la existente en la rizósfera; en esta última hubo mayor actividad microbiana, a tal punto que no se detectó la presencia de los complejos formados por *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* y *Pythium*. De acuerdo con Alexander (1980) cada especie o variedad de planta induce

un efecto rizosférico característico, pero cuando las raíces envejecen este efecto desaparece progresivamente, dando lugar a la proliferación de los microorganismos que intervienen en la descomposición de los tejidos vegetales muertos. Las raíces pueden influir sobre el crecimiento de especies de microorganismos, seleccionando algunos, al inhibir el crecimiento de otros (Walker et al., 2003).

En suelos fertilizados o tratados en exceso con fungicidas, como es el caso de La Sabanita, se puede producir la degradación o destrucción de la micobiota beneficiosa. Given et al. (2002) señalaron que, en el menor de los casos, podría promoverse la proliferación de ciertas especies de saprófitos que pudieran cambiar, no sólo la capacidad competitiva de las plantas, sino que pudieran influir en la selección de una determinada especie de hongo como en el caso de este estudio con *Penicillium* y *F. oxysporum*, que juegan un papel clave bajo condiciones naturales. En El Destierro, que es un área poco intervenida, no estuvieron presentes.

Nematodos asociados a la rizósfera y raíces de ajo

Los nemátodos detectados en asociación a la rizósfera y raíces fueron *Aphelenchus* sp., *Aphelenchoides* sp. Fischer, 1894, *Criconemoides* sp., *Ditylenchus dipsaci* Filipjev, 1936, *Helicotylenchus* sp. en elevado número en ambas fincas, *Meloidogyne* sp. y *Psilenchus* sp. (Cuadro 5). Los géneros encontrados con mayor frecuencia fueron *Helicotylenchus*, *Psilenchus* y *Aphelenchoides*, pero el género *Criconemoides* sólo apareció en El Destierro.

Cuadro 4. Hongos aislados de raíces (UFC/g) de plantas de ajo (*Allium sativum* L.) colectadas a los 45, 90 y 135 días provenientes de La Sabanita y El Destierro, municipio Jiménez, estado Lara

Hongo	La Sabanita				El Destierro			
	45 d	90 d	135 d	Total	45 d	90 d	135 d	Total
<i>Cladosporium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	3	3
<i>Fusarium equiseti</i>	-	-	-	-	-	-	2	2
<i>F. oxysporum</i>	2	4	5	11	-	-	-	-
<i>F. solani</i>	2	2	4	8	2	3	3	8
<i>Penicillium</i> sp.	3	4	4	11	-	-	-	-
<i>Rhizopus stolonifer</i>	1	1	-	2	-	-	-	-
<i>Trichoderma harzianum</i>	1	3	3	7	-	-	2	2

Cuadro 5. Géneros de nematodos presentes en suelo y/o rizosfera de ajo provenientes de La Sabanita y El Destierro, municipio Jiménez, estado Lara

Nematodo	La Sabanita		El Destierro
	Rizósfera	Raíz	Rizósfera
<i>Aphelenchus</i> sp.	2	1	2
<i>Aphelenchoides</i> sp.	5	2	
<i>Criconemoides</i> sp.			1
<i>Dytilenchus dipsaci</i>	2	1	1
<i>Helicotylenchus</i> sp.	13	1	8
<i>Meloidogyne</i> sp.	3		
<i>Psilenchus</i> sp.	5		7

Entre las especies encontradas, *D. dipsaci*, ha sido señalado como uno de los patógenos más importantes en el cultivo (Crozzoli, 2002) junto con los hongos *Sclerotium cepivorum* Berk. y *Fusarium* sp. (Martínez, 1993; Schwartz y Mohan, 1995). Martínez (1993) señaló que la presencia de *Fusarium* spp. en la rizósfera de las plantas de ajo puede ocasionar daños complementarios a los producidos por *D. dipsaci*, comprometiendo la producción del cultivo. De acuerdo con Sikora y Greco (1990) la pérdida completa de la plantación puede ser causada por un solo individuo del nematodo por centímetro cúbico de suelo. En Venezuela, se encuentra en todas las zonas altas de producción de ajo del país (Márquez et al., 1991), demostrando su importancia y la situación de alerta epidemiológica en la zona.

Entre los otros nematodos encontrados, *Meloidogyne* es el más ampliamente distribuido y patogénico en los cultivos. *M. incognita* Chiwood, es considerado el de mayor distribución en Venezuela y el que mayores daños causa (Jiménez et al., 2001). De todas las especies de *Helicotylenchus* identificadas, *H. dihystra* (Cobb, 1893) Sher, 1961 y *H. multincinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956, son las que revisten la mayor importancia desde el punto de vista agrícola (Crozzoli, 2002). Especies de *Aphelenchus* spp. se encuentran en material orgánico en descomposición, y en estos hábitats han sido clasificados como saprófagos, aunque también pueden actuar como micófagos (Montes et al., 1998).

CONCLUSIONES

Se determinó la presencia de hongos en la

rizósfera de plantas de ajo que pudieran ser saprófitos o eventualmente parásitos como *Aspergillus terreus*, *A. niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Cladosporium*, *Penicillium* sp, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. solani* y *Pythium* sp., y virtuales antagonistas como *Trichoderma harzianum*. Entre los nematodos destacaron los que dañan el producto comercial, como *Aphelenchus*, *Aphelenchoides* y *Dytilenchus dipsaci*. Sin embargo, las especies de hongos y nematodos aisladas en ambas fincas podrían estar sobre esta superficie de la raíz sin llegar a ser patogénicas.

En el caso de *D. dipsaci*, éste representa el primer reporte del nematodo en ajo en la zona de Agua Negra, municipio Jiménez de estado Lara, por lo que en futuras siembras, podrían potencialmente convertirse en un problema de importancia económica para el cultivo.

LITERATURA CITADA

- Alexander, M. 1980. Introducción a la microbiología del Suelo. Edit. AGT México, pp. 163-218, 270-291.
- Coyne, M. 2000. Microbiología del Suelo: Un Enfoque Exploratorio. Editorial Paraninfo. Madrid.
- Crozzoli, R. 2002. Especies de nematodos fitoparásitos en Venezuela. INCI 27(7): 354-364.
- Díaz Polanco, C. y G. Salas de Díaz. 1973. Nueva lista de patógenos en las plantas cultivadas de Venezuela. Soc. Ven. de Fitop. Boletín Especial N° 2.
- Domsch, K.H., W. Gams, y T. Anderson, 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press. London.
- Ezziyyani M., C. Pérez, A.S. Ahmed, M.E. Requena y M.E. Candela. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología 26: 35-45.
- Given, D.R., K.W. Dixon, R.L. Barrett y K.

- Sivasithamparam. 2002. Plant conservation and biodiversity: the place of microorganisms, microorganisms in plant conservation and biodiversity. In: Sivasithamparam, Dixon, y Barrett (eds.). Kluwer Academic. Dordrecht, Netherlands. pp 1-18.
8. Grant, W.D. y P.E. Long. 1989. Microbiología Ambiental, Edit. Acribia. Zaragoza, España. 222 p.
 9. Howell, C. 2003. Mechanism employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87: 4-10.
 10. Jiménez N, R. Crozzoli, P. Petit, N. Greco. 2001. Nematodos fitoparasíticos asociados con al cultivo de la piña, *Ananas comosus*, en los estados Lara y Trujillo, Venezuela. *Nematol. Medit.* 29: 13-17.
 11. Kluepfel, D.A. 1993. The behavior and tracking of bacteria in the rhizosphere. *Annual Review of Phytopathology* 31: 441-472.
 12. Kukuc, C. y M. Kivanc. 2002. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. *Tur. Journal Biology* 27: 247-253.
 13. Kulshrestha, D.D. 1978. Rhizoplane mycoflora on maize in relation to plant growth. *Indian Phytopathol.* 31: 539.
 14. Lynch, J.M. 1990. *The Rhizosphere*. Wiley. Chichester, England.
 15. Márquez L, A. Arcia y R. Crozzoli. 1991. Situación fitopatológica del cultivo del ajo en el estado Trujillo, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 4: 66.
 16. Martínez, M. 1993. El bulbo de ajo y sus limitaciones fitopatológicas como semilla en el país. *Fonaiap Divulga* 10(44): 17-18.
 17. Martínez, G.E., N. de Albarracín, A. Arcia, L. Subero y M. Albarracín. 1995. Pudrición basal del ajo causado por *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Tropical* 46(3): 265-273.
 18. Montes L., R. Crozzoli y G. Vargas. 1998. Respuesta de selecciones de batata al nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en Venezuela. *Nematropica* 28: 113-117.
 19. Montes-Belmont, R., R. Arnulfo, H. Nava-Juárez, E. Flores-Moctezuma y M. Mundo-Ocampo. 2003. Hongos y nematodos en raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21-1: 300-304.
 20. Nelson, E.B. 2004. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere *Annual Review of Phytopathology* 42: 271-309.
 21. Pereira, J., G. Chaves, L. Zambolim, K. Matsuoka, R. Acuna y F. Do Vale. 1996. Control of *Sclerotium cepivorum* by the use of vermicompost, solarization, *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis*. *Summa Phytopathologica* 22: 228-234.
 22. Raper, K.B. y D.I. Fennel. 1977. *The genus Aspergillus*. Edit. Williams and Wilkinson. Baltimore, MD.
 23. Reyes, J. 2000. Efecto de cuatro herbicidas en la sobrevivencia y virulencia de *Sclerotium rolfsii* en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). Tesis. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Agronomía. Barquisimeto, Venezuela. 36 p.
 24. Satyaprasad, K. 1982. Rhizosphere and rhizoplane mycoflora of walt resistant and chickpea. *Indian Phytopathol.* 35:153-155.
 25. Sawicka Saaziz, N.H., M.Z. El-Fouli, A.A. El-Essawy y M.A. Kalaf. 1997. Influence of bean seeding root exudates on the rizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. *Botanical Bulletin. Academia. Sinica* 38: 33-39.
 26. Schwartz, H.S y S.K. Mohan. 1995. *Compendium of Onion Garlic Diseases*. APS Press. St. Paul, Minnesota.
 27. Siddiqi, M. 2000. *Tylenchida* parasites of

- plants and insects. CABI Publishing. Wallingford, UK.
28. Sikora R. y N. Greco. 1990. Nematodes parasites of food legumes. *In*: Luc, Sikora y Bridge (eds.). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International. Wallingford. UK. pp. 181-235.
29. Ulacio, U., C. Pérez y J. Pineda. 1997. Micoflora asociada a las raíces de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) provenientes del estado Portuguesa. *Bioagro* 9(1): 3-11.
30. Ulacio, D., J. Salas, P. Querales y M. Sanabria. 2002. Micobiota del suelo de zonas productoras de papa del estado Mérida y su relación con *Rhizoctonia solani*. *Bioagro* 14: 11-16.
31. Walker, T.S., H.P. Bais y E. Grotewold y J.M. Vivanco. 2003. Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiology* 132(1): 44-51.
32. Whipps, J.M., K.R. Skene y H.G. Jones. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52(2): 487-511.