

MICOFLORA ASOCIADA A LAS RAÍCES DE PLANTAS DE TABACO (*Nicotiana tabacum*) PROVENIENTES DEL ESTADO PORTUGUESA

Dilcia Ulacio^{*}, Claudia Pérez^{**} y Juan Pineda^{***}

RESUMEN

Con el fin de determinar la micoflora existente en plantas adultas de tabaco, se analizó la rizósfera, el rizoplano, la raíz y el suelo adyacente de muestras procedentes de La Misión y Guanare, estado Portuguesa. Las muestras de la zona de Guanare presentaban síntomas de marchitez, amarillamiento y necrosis, mientras que las de la zona de La Misión presentaban una apariencia sana. El análisis se realizó a través del método de dilución utilizando agua destilada estéril para detectar los hongos presentes en la rizósfera y el rizoplano. Asimismo, trozos de raíces y suelo fueron colocados directamente en platos con Agar-Agua (AA) y Papa-Dextrosa-Agar (PDA). Para cada análisis se utilizaron diluciones de 1:100 y 1:1000, realizándose 3 repeticiones. En la rizósfera y el rizoplano dominaron comúnmente especies del género *Aspergillus* (aisladas en agar Czapec's y agar malta para su identificación) y del género *Fusarium*. En las raíces de las muestras enfermas se detectaron *F. oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* y *Trichoderma harzianum*. El estudio demostró que los microorganismos se encontraron en mayor proporción en la rizósfera y el rizoplano, y que tanto *Aspergillus* como *Fusarium* poseen una alta capacidad saprofítica competitiva.

Palabras claves adicionales: *Aspergillus*, *Fusarium*, micología, rizósfera

ABSTRACT

Mycoflora in tobacco plant roots (*Nicotiana tabacum*) in Portuguesa state, Venezuela

Rhizosphere, rhizoplane, root and adjacent soil from sample of tobacco adult plants carried out from La Misión and Guanare, Portuguesa state, were analyzed with the object to determine the mycoflora present. The samples of Guanare showed symptoms of decay and necrosis while those from La Misión showed healthy appearance. The analysis was dilution method using sterile distilled water to find fungi in rhizosphere and rhizoplane. Likewise, pieces of roots and adjacent soil were put directly into petri dishes containing water-Agar (WA) and Potato-Dextrose-Agar (PDA). Each analysis used 1:100 and 1:1000 dilutions with three repetitions. In the rhizosphere and rhizoplane commonly predominated *Aspergillus* (aisladas in Czapec's-Agar and Malta-Agar) and *Fusarium* species. In pieces of roots from diseased samples *F. oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* and *Trichoderma harzianum* were found. This study determined that microorganisms concentrated in great proportion in rhizosphere and rhizoplane and that *Aspergillus* and *Fusarium* species have a high competitive saprophytic capacity.

Additional key words: *Aspergillus*, *Fusarium*, mycology, rhizosphere

INTRODUCCIÓN

El término rizósfera es generalmente aceptado como la zona del suelo que rodea inmediatamente las raíces y es influenciado biológica y físicamente por las mismas. Este medio ambiente es extremadamente complejo y es una región de intensa actividad biológica (Kleupfel, 1993). El término rizoplano es considerado como la parte exterior de la raíz inmediatamente adyacente al suelo, es decir, constituye la superficie de las raíces. La mayor o menor cantidad de

microorganismos en estas áreas va a depender de la cantidad de nutrientes exudados por las plantas que se encuentran en las mismas (Martín, 1977).

El diagnóstico de la micoflora radical en algunos cultivos, a nivel mundial, ha sido determinado tomando en cuenta la edad de la planta (Khan y Prakash, 1982; Kulshrestha 1978; Misha, 1978). Asimismo, se ha estudiado según la condición de susceptibilidad o resistencia de los cultivares a ciertas enfermedades (Satyaprasad, 1982; Sing et al., 1982).

* Profesor. Departamento Agrobiológico, Decanato de Agronomía, UCLA.

** Profesor. Vicerectorado de Producción Agrícola Vegetal, UNELLEZ. Guanare.

*** Profesor. Posgrado de Fitopatología, Decanato de Agronomía, UCLA. Apdo. 400. Barquisimeto

La micoflora saprofítica de la rizósfera incluye elementos benéficos y deletéreos, teniendo el potencial para influenciar significativamente el crecimiento y rendimiento de las plantas (Schipper et al., 1987; Suslow y Schroth, 1982). Los microorganismos deletéreos, afectan el crecimiento de las plantas en forma negativa, pero no necesariamente parasitan el tejido vegetal; su actividad incluye alteraciones de la suplencia de agua, iones y sustancias de crecimiento por cambio de las funciones de las raíces y/o limitaciones en el crecimiento de las mismas (Schipper et al., 1987). Sin embargo, es difícil de demostrar patogenicidad de los microorganismos deletéreos (incluyendo hongos y bacterias), debido a que su efecto en las plantas es frecuente restringiendo el retardo en el crecimiento y/o los brotes, sin otros síntomas visibles (Schipper et al., 1987; Suslow and Schroth, 1982). Es así como la comunidad de la rizósfera está compuesta principalmente por microorganismos no patogénicos, pero las intensas interacciones biológicas entre microorganismos dañinos, benéficos y neutrales, pueden guiar a la eliminación o supresión de los patógenos y bajo ciertas condiciones, ellos pueden ser benéficos. En muchos casos la rizósfera puede ser considerada como la zona buffer microbiológica en la cual la micoflora sirve para proteger la planta de los ataques de los patógenos (Martín, 1977).

La finalidad de este estudio fue detectar los hongos presentes en la rizósfera, el rizoplano, la raíz y el suelo adyacente en dos plantaciones de tabaco, del estado Portuguesa, para tratar de diferenciar los microorganismos fungales que pudieran estar ejerciendo una acción deletérea y/o neutral de aquellos verdaderamente patógenos para el cultivo, así como determinar la cantidad de microorganismos presentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de suelo de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) aparentemente sanas ubicadas en la localidad de La Misión, municipio Turén, y de otras enfermas, aisladas en una finca tabacalera de Guanare, estado Portuguesa. Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Micología del Posgrado de Fitopatología de la

UCLA en Barquisimeto, donde se siguieron los siguientes pasos:

a) Aislamiento de la Rizósfera

Se empleó la técnica de los platos de dilución. Para ello, se cortaron las muestras de suelo, sin dañar las raíces; éstas se sacudieron suavemente para remover la mayor cantidad de suelo adherido superficialmente. Posteriormente, se colocaron aproximadamente 10g de raíces en recipientes que contenían 100 ml de agua destilada estéril. Se agitó la suspensión por aproximadamente 10 minutos y se prepararon las diluciones de la manera siguiente: luego de extraer los trozos de raíces se transfirieron de la solución, muestras sucesivas de 10 ml a frascos con 90 ml de agua esterilizada hasta obtener diluciones de 1:100 y 1:1000. Posteriormente se colocó 0,2 ml de cada dilución sobre la superficie de los medios de cultivos utilizados (Agar-Agua, y P.D.A.). Se incubaron los platos a 24-30 °C por 1 ó 2 semanas y luego se procedió al aislamiento, purificación y al conteo e identificación de las colonias.

b) Aislamiento del rizoplano

Aquí se utilizaron los trozos de raíces que fueron extraídas de las soluciones (10 g aproximadamente), las cuales fueron colocadas en fiolas con agua destilada estéril. Los frascos se sometieron a agitación por aproximadamente media hora y luego se prepararon platos de dilución tal como fue descrito anteriormente.

c) Aislamiento de la raíz

Para el aislamiento de microorganismos asociados íntimamente con la superficie de la raíz, los mismos trozos de raíces utilizados en el aislamiento del rizoplano se cortaron en segmentos de 2 mm, los cuales se colocaron en los medios de cultivos directamente, colocando 4 segmentos/caja de Petri.

d) Aislamiento del suelo

Para esto fue esparcida una pequeña cantidad (lo colectado entre el pulgar e índice de la mano) del suelo que fue sacudido originalmente de las raíces, en cajas Petri con Agar-Agua (A-A), para observar el crecimiento de diferentes microorganismos que se encontraban rodeando la zona de la rizósfera.

e) Identificación de microorganismos

Para la identificación de especies del género *Aspergillus*, se utilizaron los medios Agar Czapec's y Agar Malta. El resto de los microorganismos fueron aislados en medio Papa Dextrosa Agar (PDA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de hongos de la rizósfera y el rizoplano

La mayoría de las especies aisladas de estas dos zonas radicales pertenecieron a los géneros

Aspergillus y *Fusarium*, y fueron comunes en las dos localidades muestreadas (Cuadro 1); sin embargo, el complejo de especies de *Aspergillus* (Figura 1) fue mayor en las muestras de La Misión tanto en la rizósfera como en el rizoplano, mientras que el género *Fusarium* (Figura 2) predominó en las muestras de Guanare, siendo mayor en el rizoplano. Singh et al. (1982), señalaron que existe una alta población microbial que se concentra tanto en la rizósfera como en el rizoplano; sin embargo, según Kleupfel (1993) señala que muy pocos han sido examinados en detalle.

Cuadro 1. Hongos encontrados en la rizósfera y el rizoplano de muestras de tabaco provenientes de La Misión y Guanare, estado Portuguesa.

Hongos Presentes	Rizósfera		Rizoplano	
	La Misión	Guanare	La Misión	Guanare
<i>Aspergillus niger</i>	+++	+++	++	+++
<i>A. ustus</i> (1) *	+++	+++	++	++
<i>A. ustus</i> (2) *	+++	-	+++	-
<i>A. terreus</i>	+++	+++	+++	+++
<i>A. flavus</i> (1) *	+++	-	+++	-
<i>A. flavus</i> (2) *	+++	+++	-	+++
<i>A. candidus</i>	-	-	-	++
<i>Fusarium solani</i> (1)	-	+++	-	+++
<i>F. solani</i> (2)	+++	++	+++	+++
<i>F. moniliforme</i>	-	+	-	++
<i>F. roseum</i> (1)	-	-	+	-
<i>F. roseum</i> (2)	-	-	+	-
<i>Rhizoctonia</i> sp.	-	++	-	-
<i>Penicillium furcatum</i>	++	++	+++	+++
<i>Penicillium</i> sp.	-	-	+++	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	++	+++	++
<i>Rhizopus stolonifer</i>	-	+++	++	-
<i>Mucor</i> sp.	+++	-	-	-

(+) Poca proporción (< 50 colonias/ caja de Petri); (++) Med. Prop. (51-100 col./caja de Petri); (+++) Alta Prop. (> 100 col./ caja de Petri).

(1) y (2) corresponden a colonias de la misma especie con coloración diferente en el medio de cultivo.

En un trabajo realizado por Satyaprasad (1982) encontró que el rizoplano estaba mayormente dominado por *Fusarium* spp en la última etapa de desarrollo de las plantas. En el presente estudio, aunque esto no se observó tan determinadamente, si se aisló una alta proporción de colonias de *Fusarium* del rizoplano en ambas zonas muestreadas.

Del complejo *Aspergillus* (Figura 1), las especies que presentaron mayor número de colonias fueron: *A. niger*, *A. ustus* y *A. terreus* (Cuadro 1), las cuales estuvieron presentes tanto en la rizósfera como en el rizoplano de

las muestras bajo estudio. Según Raper y Fennel (1977), estas especies tienen presencia universal y están ampliamente distribuidas en el suelo. En el caso de *A. niger*, éste ha sido encontrado dominando tanto la rizósfera como el rizoplano en otros estudios (Kulshrestha, 1978; Satyaprasad, 1982). Raper y Fennel (1977) señalan que, aunque normalmente *A. niger* es saprófito en tejidos de plantas muertas y otros materiales orgánicos, bajo ciertas circunstancias pudiera volverse patogénico. En el cultivo del tabaco, esta especie no ha sido señalada como patógeno (APS, 1991).

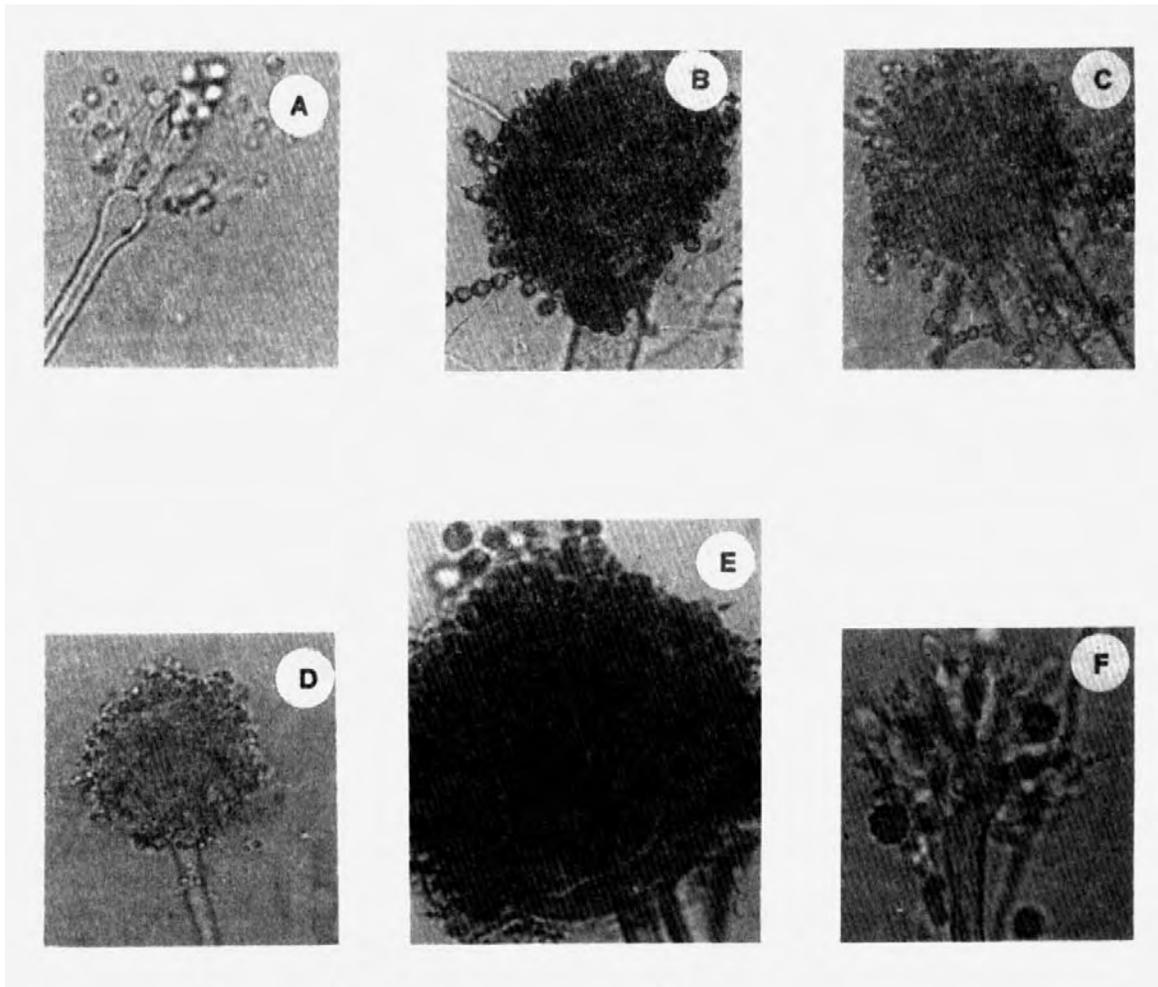


Figura 1. Especies del género *Aspergillus* encontradas en las diferentes zonas de influencia radical en las dos áreas estudiadas, a) *A. candidus*, b) *A. flavus* 1, c) *A. flavus* 2, d) *A. terreus*, e) *A. niger*, f) *A. ustus* 1.

Sin embargo, no se descarta que el mismo, o está contribuyendo de manera indirecta a los problemas fitopatológicos en el área tabacalera, aprovechando las heridas realizadas por nemátodos y otros patógenos presentes en el cultivo, o tiene cierto efecto biocontrolador, ya que se ha demostrado que puede ser antagonista para algunos hongos (Mehrotra et al., 1988). Algunos investigadores afirman que los microorganismos que pueden crecer en la rizósfera proveen una línea frotal de defensa para las raíces contra el ataque de los patógenos y que éstos pueden encontrar antagonistas en las rizósfera antes y durante la infección primaria y también durante el desarrollo de las raíces (Baker y Cook, 1974).

Aspergillus terreus dominó en ambas zonas muestreadas (Cuadro 1), y se conoce que ha presentado actividad antifungal sobre hongos tales como *Ophiobolus graminis* y *Fusarium udum* (Domsch et al., 1980). En este estudio no se descarta que tanto *A. terreus* como *A. flavus* tengan propiedades antagónicas sobre algunas especies del complejo *Fusarium*, *Rhizoctonia sp.*, *Sclerotium rolfii* u otras especies del mismo género aislado de la rizósfera en las muestras procedentes de Guanare. Un estudio con *Pyrenochaeta terrestris* en cebolla en la zona de Quíbor, demostró que ambas especies mostraron cierto efecto antagonista sobre el patógeno, tanto a nivel de laboratorio como a nivel de invernadero (Camacho, 1997). Asimismo, existen estudios que demostraron el antagonismo de *A. flavus* sobre una raza de la misma especie (Cooty, 1994).

Tanto de *A. ustus* como de *A. flavus* fueron aisladas dos colonias con características diferentes, observadas a nivel de las cajas de Petri; es de resaltar que en agar Czapec's las dos colonias de *A. flavus* formaron esclerocios. Asimismo fue aislado *A. candidus* del rizoplano de la muestra de Guanare. Según Raper y Fennel (1977), tanto *A. ustus* como *A. candidus* son eminentemente saprófitos y están ampliamente distribuidos en zonas tropicales y subtropicales. En general, la importancia patogénica del género *Aspergillus* se ha señalado a nivel de humanos y animales (Monod et al., 1995; Raper and Fennel, 1977); sin embargo, la gran proporción de colonias encontradas tanto en la rizósfera como en el rizoplano en las zonas muestradas, demostró la

alta capacidad de colonización a nivel del suelo, la cual (con excepción de las especies de *Fusarium*, que son altamente competitivas), no permiten la presencia en gran escala de las especies de otros géneros fungales y sólo se detectaron dos colonias diferentes de *Penicillium* (posiblemente una de *P. furcatum*), *Cladosporium*, *Rhizopus* (*R. stolonifer*), *Mucor sp* y *Rhizoctonia sp.*, entre una y otra zona muestreada (Cuadro 1).

Del complejo *Fusarium* (Figura 2) la mayor proporción de colonias detectadas en ambas zonas fueron las de *F. solani*, de las cuales se detectaron dos colonias diferentes en coloración que pudieran pertenecer a formas especiales de esta especie. Según Toussoun y Nelson (1976), la distribución de esta especie es amplia en el mundo. Aunque su capacidad verdaderamente parasítica no ha sido siempre clara, se conoce que puede causar pudriciones en la raíces y canchales en los tallos, así como la asociación con infecciones locales causadas por *Pythium sp.*, *Phytophthora sp.*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* o por otra especie del mismo género, contribuyendo con los graves problemas de enfermedades en el cultivo.

A nivel de estas dos zonas radicales también se aislaron colonias de *Fusarium moniliforme* de la muestra de Guanare y dos colonias de diferentes color de *F. roseum* del rizoplano de las muestras de La Misión, que, al igual que en el caso de *F. solani*, pudieran pertenecer a formas especiales de esta especie. Según Booth (1971), *F. moniliforme* es un serio patógeno en el cultivo de gramíneas y *F. roseum* es considerado un parásito débil en cereales. Sin embargo, en este diagnóstico no se descarta su asociación indirecta con las enfermedades de la raíz y el cuello del cultivo de tabaco, ya que se aislaron del rizoplano y de la zona de la raíz cuando fueron colocadas directamente en los platos agar-papa.

Aislamiento de la raíz y el suelo

A diferencia de los resultados obtenidos de la rizósfera y el rizoplano, donde la concentración de microorganismos fue alta, en la raíz y el suelo la población microbiana fue menor (Cuadro 2). A este respecto, Martín (1977) afirma que el número microbiano es mayor en la rizósfera debido a que las interacciones bioquímicas entre los microorganismos y las raíces son más pronunciadas.

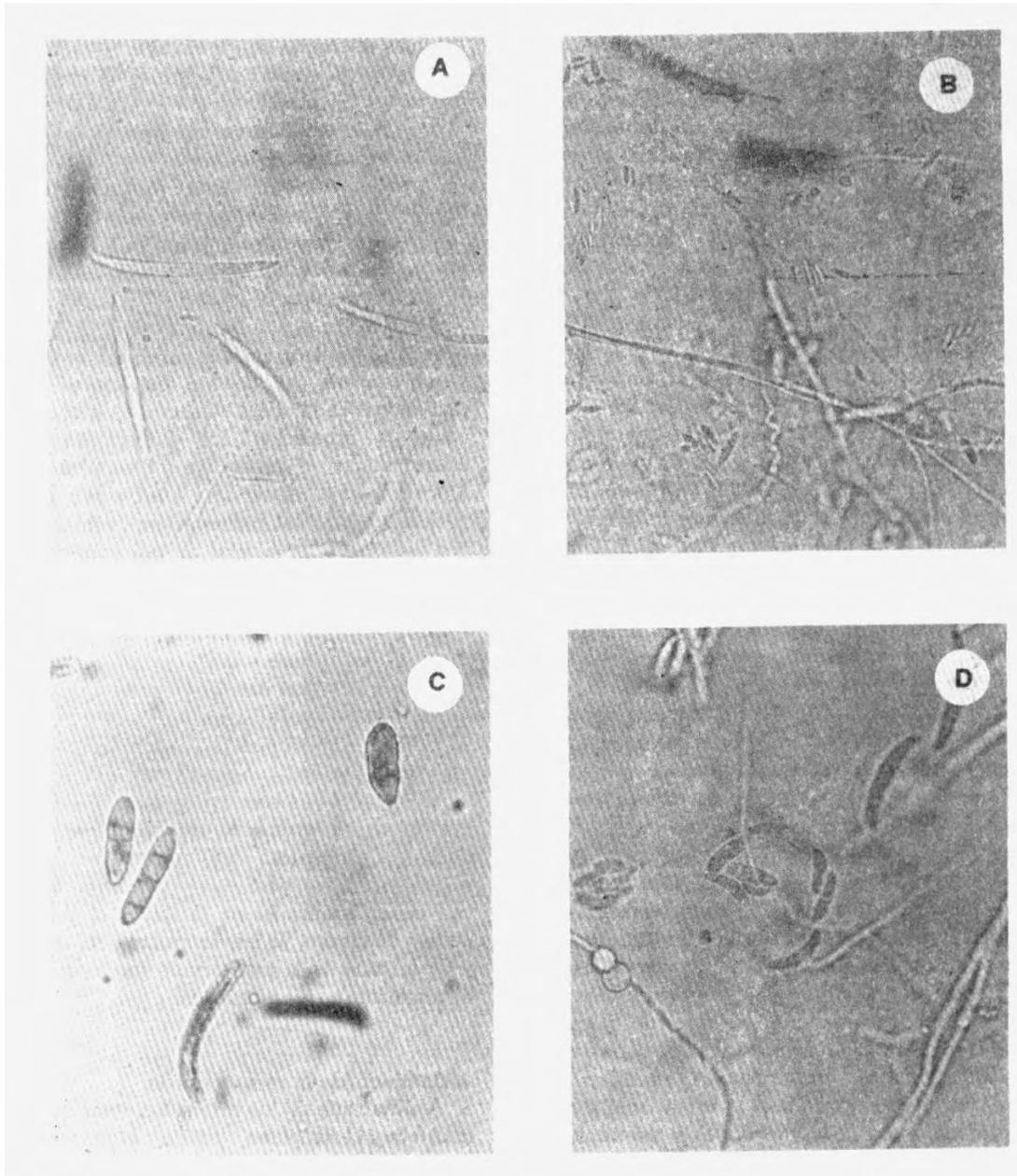


Figura 2. Especies del género *Fusarium* encontradas en las diferentes zonas de influencia radical en las dos áreas estudiadas, a) *F. solani*, b) *F. oxysporum*, c) *F. moniliforme*, d) *F. roseum*

Este mismo autor asegura que en contraste a su efecto sobre las bacterias, las raíces no alteran apreciablemente la cantidad total de hongos; por otro lado, los géneros fungales específicos son estimulados, siendo selectivo para el tipo, más que para el número total. El espectrum de géneros varía según el tipo de planta, la edad y el tipo de suelo. Esa mayor cantidad de hongos, tanto en la rizósfera como en el rizosplano va a depender de la cantidad de nutrientes y otros materiales que se acumulan alrededor del área radical, dándole un gradiente de difusión a medida que la zona de influencia de la raíz se va alejando.

De las especies encontradas a nivel de la raíz, destacaron *A. niger*, considerada la de mayor capacidad de colonización saprofítica competitiva, ya que predominó en las cuatro zonas radicales estudiadas en ambas localidades muestreadas (Cuadro 2); *A. flavus* 1 la cual fue encontrada también en las cuatro zonas radicales pero sólo en La Misión y, las especies de *Fusarium*, destacándose *F. oxysporum* que fue aislado de las muestras de Guanare. Esta especie si ha sido señalada como uno de los principales patógenos del cultivo del tabaco (APS, 1991). Sin embargo,

en Venezuela éste, junto a las demás especies del complejo *Fusarium*, son considerados patógenos menores para el cultivo, a diferencia de *Sclerotium rolfsii* y *Macrophomina phaseolina*, entre otros, que son patógenos severos en las zonas tabacaleras del país (Pineda et al., 1995). Quizás la alta colonización de algunas especies de *Aspergillus* u otros saprófitos del suelo impidieron mayor actuación por parte de *F. oxysporum* o simplemente sea una raza poco agresiva para el cultivo, la que está presente en el país.

Otros hongos de importancia detectados a nivel de la raíz, en las muestras de Guanare, fueron *Sclerotium rolfsii* y *Trichoderma harzianum* (Cuadro 2). El primero, como se dijo anteriormente, constituye el principal problema del cultivo de tabaco a nivel nacional. Quizás, el mismo no fue detectado en La Misión donde se conoce de la presencia de este hongo, porque dichas muestras aparentemente estaban sanas, mientras que las de la zona de Guanare, si presentaron síntomas de amarillamiento, necrosis y marchitamiento.

Cuadro 2. Hongos encontrados en la raíz y el suelo de muestras de tabaco provenientes de La Misión y Guanare, estado Portuguesa.

Hongos Presentes	Raíz		Suelo	
	La Misión	Guanare	La Misión	Guanare
<i>A. niger</i>	+++	++	+++	+++
<i>A. ustus</i> 2	-	-	++	-
<i>A. terreus</i>	-	-	++	-
<i>A. flavus</i> 1	++	-	++	-
<i>F. solani</i> 1 *	-	++	-	+
<i>F. solani</i> 2 *	++	-	++	-
<i>F. moniliforme</i>	++	++	-	-
<i>F. roseum</i> 1 *	++	-	+	-
<i>F. roseum</i> 2 *	++	-	++	++
<i>F. moniliforme</i>	-	+	-	-
<i>F. oxysporum</i>	-	+	-	-
<i>C. cladosporioides</i>	++	++	-	-
<i>R. stolonifer</i>	++	+++	++	+++
<i>Sclerotium rolfsii</i>	-	++	-	-
<i>Trichoderma harzianum</i>	-	++	-	-
<i>Cunninghamella</i> sp.	+	-	-	++
<i>Bispora</i> sp.	+	-	-	++
<i>Mucor</i> sp.	-	-	++	-

(+) Poca proporción (< 50 colonias/caja de Petri); (++) Med. Prop. (51-100 col./caja de Petri); (+++) Alta Prop. (> 100 col./caja de Petri).

(1) y (2) corresponden a colonias de la misma especie con coloración diferente en el medio de cultivo.

En este estudio, la presencia de *T. harzianum* en las raíces de las muestras procedentes de Guanare, más que una colonización natural se presume fue debido a una colonización inducida, ya que se conoce de su efectividad como controlador biológico sobre *Sclerotium rolfsii* (Latiague, 1990; Velázquez, 1996; Wells, 1988). Éste no fue detectado en algunas de las otras zonas de influencia radical y se conoció de la realización de pruebas de control biológico con *Trichoderma* en ese sitio.

Otros hongos encontrados a nivel de la raíz (Cuadro 2) fueron *Cladosporium cladosporioides* y *Rhizopus stolonifer* en ambas localidades muestreadas, así como *Bispora* sp. en La Misión y *Curvularia lunata* en Guanare. Estos conjuntamente con algunas especies del complejo *Aspergillus* y *Fusarium*, *Mucor* sp., *Cunninghamella* sp, y microorganismos que no presentaron estructuras para su identificación, aislados del suelo en una u otra zona muestreada, son considerados eminentemente saprófitos y muchos de ellos quizás no llegan a parasitar a las plantas en ninguno de los estados de desarrollo de la misma, contribuyendo solamente al equilibrio dentro de las complejas interacciones en el suelo tal como lo han señalado Schipper et al. (1987).

En general, se detectaron bajas proporciones de los microorganismos considerados patógenos del cultivo y quizás el método utilizado no fue el más efectivo para detectar otros parásitos importantes señalados por Pineda et al. (1995) en la zona de La Misión. Sin embargo, algunos autores han señalado que los saprófitos a diferencia de los parásitos, tienen más amplia distribución, presumiblemente porque su naturaleza es más agresiva y tienen mayor tolerancia a condiciones ambientales extremas.

COCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La mayor cantidad de microorganismos se concentra en la rizósfera y el rizoplano debido a que en estas zonas se encuentran la mayor cantidad de nutrientes y otros materiales que generalmente provienen de los exudados de las raíces de las plantas.

Los géneros *Aspergillus* y *Fusarium* poseen una alta capacidad de colonización debido a que la

producción de sus estructuras de reproducción son abundantes en el suelo.

La presión de selección que ejerce el género *Aspergillus* como principal saprófito en la zona radical de las muestras de La Misión, aparentemente no permitió la presencia de hongos que pudieran ser considerados importantes en el cultivo del tabaco, tal cual como ocurrió con las muestras procedentes de Guanare, donde hubo mayor proporción del género *Fusarium* y se detectaron hongos como: *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum*, *F. moniliforme* y *Rhizoctonia* sp. considerados patógenos para el cultivo bajo estudio.

Estudios a nivel de laboratorio con algunas especies de *Aspergillus* tales como *A. ustus*, *A. niger*, *A. terreus* y *A. flavus* pudieran realizarse a fin de determinar el rol de estas especies en presencia de ciertos patógenos y con determinados hospederos.

En estudios posteriores, la determinación de la micoflora debería realizarse durante todo el ciclo de desarrollo del cultivo a fin de dilucidar la dinámica de población de los hongos en cada estación de crecimiento de las plantas.

LITERATURA CITADA

1. American Phytopathological Society (APS). 1991. Compendium of the Tobacco Diseases. D. Shew y G. B. Lucas (eds.). APS. St. Paul, Minnesota. 68 p.
2. Baker, K. y R. J. Cook. 1974. Biological Control of Plant Pathogenens. Ed. W.H. Freeman. San Francisco. 433 p.
3. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute (CMI). Kew. England.
4. Camacho, B. 1997. Uso de antagonistas y solarización para el control integrado de *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) en cebolla (*Allium cepa*). Tesis. Posgrado de Fitopatología, UCLA. Barquisimeto. 92 p.
5. Cooty, P. 1994. Influence of field application of an atoxigenic strain of *Aspergillus flavus* on the populations of *A. flavus* in cotton seed. *Phytopathology* 84:1270-1277.

6. Domsch, K. H. G. y Traute-Heidi A. 1980. Compendium of Soil Fungi. Vol. 1 Academy Press. London.
7. Khan, A. A. M. y D. Prakash. 1982. Rhizosphere and rhizoplane mycoflora of gram as affected by plant growth. Indian Phytopathol. 35:717-718.
8. Kleupfel, D. 1993. The behavior and tracking of bacteria in rhizosphere. Ann. Rev. Phytopathol. 31:441-472.
9. Kulshrestha. D. D. 1978 Rhizoplane mycoflora on maize in relation to plant growth. Indian Phytopathol. 31:539.
10. Latiegue, 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.
11. Martin, A. 1977. Introduction to Soil Microbiology. Wiley. New York.
12. Mehrotra, R. S., K. R. Aneja, A. K. Gupta y A. Aggarwall. 1988. Fungi. Agents of biological control. In: Biocontrol of Plant Diseases. Vol. 1. K. G. Mukerji, K. L. Garg. (eds.). CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 37-52.
13. Misha, K. B. 1978. Rhizoplane mycoflora of fiebre-yielding misha plants. Indian Phytopathol. 31:21-23.
14. Monod, M., A. Faith y K. Jatón-Ogay 1995. The Secreted protease of *Aspergillus* and their possible role in virulence. Canadian Journal of Botany 73(1): 1081 - 1086.
15. Pineda, J., O. Tortolero, J. Renaud, A. Carrasco, J. Díaz y E. Briceño. 1995. Patógenos asociados a cultivos comerciales de tabaco en algunas zonas de Venezuela. VII Congreso Latinoamericano de Fitopatología Resúmenes. Revista Forestal Venezolana. ULA. Mérida. pp. 24-25.
16. Raper, K. y D. Fennel. 1977. The Genus *Aspergillus*. Academic Press. New York.
17. Satyaprasad, K. 1982. Rhizosphere and rhizoplane mycoflora of walt resistant and chickpea. Indian Phytopathol. 35:153 - 155.
18. Schippers, B., A. Bakker y P. Bakker. 1987. Interacions of deleterius and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. Ann. Rev. Phytopathol. 25:339 - 358
19. Sing, K. N. Sing y S. R. Misra 1982. Rhizosphere mycoflora associated to sugar cane plants affeted by red rot. Indian Phytopathol. 35 (2): 310 - 313.
20. Suslow, T.V. y M.N Schroth. 1982. Role de deleterious rhizobacteria as minor pathogens in reducing crop growth. Phypathology 72:111 - 115.
21. Toussoun, T. A y P. Nelson. 1976. A pictorial Guide to the Identification of Fusarium Species. Second Edition. The Pensylvania State University Press. University Park . 43 p.
22. Velásquez, 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. Barquismeto. 103 p.
23. Wells, H. 1988. Trichoderma as a biocontrol agent. In: Biocontrol of Plant Diseases. Vol 2. Mukerji. y K. L. Garg (eds.) CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 71-82.