

Micoflora asociada a dos sustratos orgánicos y su efecto en el control de *Rhizoctonia solani* Kühn

Mycoflora of two organic substrates and its effect on the control of *Rhizoctonia solani* Kühn

Clemencia Guédez^{1,3}, Luis Miguel Cañizalez¹, Carmen Castillo¹ y Rafael Olivar²

RESUMEN

Los abonos orgánicos se vienen utilizando como ente supresor de enfermedades de la raíz de la planta, debido a la gran cantidad de microorganismos que interactúan en ellos, lo que ha llevado a considerarlos como parte de las estrategias de control biológico. En este contexto, se evaluó la diversidad de la micoflora de dos sustratos orgánicos (suelo orgánico y lombricompost) y su efecto sobre el control del hongo *Rhizoctonia solani*. La diversidad de la micoflora de los sustratos se determinó a través del método de dilución de placas de Warcup, que permitió contar el número de colonias e identificar los hongos. Los aislamientos más abundantes de cada sustrato fueron seleccionados para realizar cultivos duales con *Rhizoctonia solani*. Se encontraron 16 aislamientos de hongos pertenecientes a tres ordenes y ocho géneros, incluyendo (*Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. y *Trichoderma harzianum* Rifai). En el lombricompost se encontró una micoflora significativamente más abundante ($P \leq 0,05$) que en el suelo orgánico. En los cultivos duales, *T. harzianum* presentó un porcentaje de inhibición de *R. solani* significativamente superior ($P \leq 0,05$) al del resto de los hongos. Con la incorporación del lombricompost no se introdujeron nuevos hongos, pero sí se incrementaron las poblaciones existentes en la micoflora nativa. *T. harzianum* resultó ser el hongo de mayor crecimiento y mayor porcentaje de inhibición, lo que sugiere que es un controlador biológico de *R. solani*, y que es factible incorporarlo al suelo durante la preparación del mismo.

Palabras clave: control biológico, antagonismo, hongos del suelo, lombricompost.

ABSTRACT

The use of organic manures for root disease control, which results from the remarkable diversity of microorganisms that interact there, has led to consider them as part of biological control strategies. In this context, we evaluated the mycological diversity of two organic substrates, (organic soil and vermicompost) and their effect on the control of the fungus *Rhizoctonia solani*. The mycoflora of the two organic substrates was assessed through Warcup's soil plate method, which allowed identifying the fungi and counting the number of colonies. The most abundant isolates were grown against *R. solani* in dual cultures. The results allowed identifying 16 isolates belonging to three orders and eight genera of fungi, including *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. and *Trichoderma harzianum* Rifai. A significantly more abundant mycoflora ($P \leq 0.05$) was found in the vermicompost substrate. In the dual cultures, *T. harzianum* attained a higher pathogen inhibition percentage ($P \leq 0.05$) than the other fungi. The vermicompost substrate did not determine the growth of new fungi, but enhanced the development of the pre-existing native ones. Not only having shown the best results in controlling *R. solani*, but also the most vigorous growth among the identified fungi, *T. harzianum* comes up as a promissory biological controller of the pathogen, that can be incorporated to the soil during its preparation.

Key words: biological control, antagonism, soil fungi, vermicompost.

Introducción

Las enmiendas orgánicas constituyen una fuente de carbono y otros nutrientes, lo cual favorece la actividad microbiana y mejora la estructura del suelo, creando así un medio adecuado para el crecimiento de las plantas. Sin embargo, la respuesta es variable y depende del cultivo, tipo de suelo, factores climáticos, prácticas de manejo y

de las características del material utilizado (Cotxaterra *et al.*, 2002).

Incorporar abonos orgánicos al agroecosistema provenientes de diferentes materiales vegetales y animales ha demostrado tener ciertos efectos supresivos hacia algunas

Fecha de recepción: 5 de febrero de 2009. Aceptado para publicación: 6 de noviembre de 2009

¹ Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico, Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad de Los Andes, Trujillo (Venezuela).

² Escuela Técnica Agropecuaria "Adolfo Navas Coronado", Ministerio de Educación, Trujillo (Venezuela).

³ Autor de correspondencia. cguédez@ula.ve

enfermedades, debido a una situación especial de las poblaciones microbianas (Craft y Nelson, 1996; Hoitink *et al.*, 1997; Hoitink y Bohem, 1999; Bulluck *et al.*, 2002; Cotxaterra *et al.*, 2002). Y muchos autores señalan que el fenómeno de supresión de patógenos de suelo por la adición de enmiendas orgánicas está asociado fundamentalmente al antagonismo ejercido por estimulación de la actividad microbiana y que, como tal, debiera ser considerado como un fenómeno de control biológico (Baker y Cook, 1974). El efecto de las enmiendas sobre la composición cualitativa y cuantitativa de la micoflora ha sido señalado como un indicador de la supresividad potencial de este método (Hoitink y Boehm, 1999; Dissanayake y Hoy, 1999).

El hongo *Rhizoctonia solani* Kühn es un hongo del suelo que se encuentra repartido por todo el mundo atacando a muchos cultivos, y forma parte de un conjunto de hongos que provocan el *Damping off* o caída de plántulas producto del estrangulamiento y necrosis del tallo en cuello en plantas recién germinadas. Durante mucho tiempo, su gran variabilidad impedía que se le atribuyese inequívocamente a ciertos hospedadores. Hoy se sabe de innumerables estudios que existen distintas razas clasificadas en grupos de anastomosis, debido a lo cual puede atacar a distintos cultivos. Este hongo se conserva en el suelo en forma de esclerocio o de micelio viviendo de la materia orgánica, y por su alto potencial saprófito puede sobrevivir en forma de micelio durante tres años. La actividad del hongo comienza cuando suben las temperaturas del suelo (>15°C). Después de desarrollarse en la superficie de la raíz, las hifas penetran el tejido vegetal por medio de enzimas que disuelven las paredes celulares (Wiese, 1987).

Las pruebas de antagonismo se realizan a través del enfrentamiento del patógeno y el antagonista en una caja de Petri con medio de cultivo artificial, y tiene por finalidad determinar el crecimiento de ambos hongos, y al mismo tiempo se detecta alguna actividad antagónica, ya sea del tipo micoparasitismo, competencia por sustrato o antibiosis; es considerado un estudio preliminar que permite determinar si un aislamiento de un hongo tiene posibilidades como controlador biológico, realizando posteriormente pruebas *in vivo* para confirmar su potencial biológico.

La diversidad microbiana como indicador de calidad del suelo ha sido muy discutido en la última década con el surgimiento de las técnicas de biología molecular (Johnson *et al.*, 2003). Sin embargo, se le ha dado poca importancia a la cuantificación de la relación benéfica entre diversidad microbiana, funcionamiento del suelo y sustentabilidad del ecosistema (Kennedy y Smith, 1995). El fenómeno

de supresividad de *R. solani* sobre poroto chaucha puede responder a la estimulación general de la micoflora más que al antagonismo de alguna cepa en particular (Nico *et al.*, 2003).

La utilización de índices de diversidad puede funcionar como bioindicador de microorganismos en comunidades microbianas del suelo, que pueden obtenerse en medios de cultivo definidos (Atlas, 1984). El índice de diversidad asume que los individuos fueron muestreados al azar de una población indefinidamente grande y que todas las especies están presentes en la muestra (ecuación 1).

$$H' = -\sum pi \ln pi \quad (1)$$

donde, pi es la proporción de individuos encontrados de la i ésima especie. Este valor es estimado por ni/N , donde ni es el número de individuos de la especie i y N es el número total de individuos muestreados (promedios totales por hábitat).

En esta investigación se evalúa la diversidad de la micoflora de dos sustratos, y se determina el comportamiento antagónico *in vitro* de los hongos aislados con más frecuencia frente a *R. solani*.

Materiales y métodos

Micoflora del sustrato

El estudio de micoflora se realizó sobre dos sustratos (suelo orgánico y lombricompuesto) y dos muestras por sustrato (M1 y M3 para suelo orgánico y M2 y M4 para lombricompuesto), en la localidad de San Pablo, Valera, estado Trujillo (9°13'48" N; 70°40'15" W). El sustrato de suelo orgánico de la zona (materia orgánica [MO] 22,41%; pH 5,9; C/N 8,96; nitrógeno total [NT] 0,45%) y sustrato de lombricompuesto: producto del cultivo de lombriz californiana de suelo franco-arenoso, excremento de caballeriza y materia vegetal (pH 4,20; MO 30,45%; C/N 11,90 y NT 0,60%).

Los sustratos de los germinadores utilizados se dejaron secar al aire durante 8 d; la unidad experimental la constituyeron cuatro muestras de 10 submuestras cada una. El estudio de la micoflora se realizó de acuerdo con el método de dilución en placas (Warcup, 1950). De cada una de las mezclas se pesó un gramo, se colocó en una fiola y se agregaron 99 mL de agua destilada estéril. Esta mezcla se colocó a agitación continua por 15 min, y con la suspensión aún en movimiento se pipeteó una porción para diluirla en volumen suficiente de agua destilada estéril según la concentración final deseada (10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}). Se procedió

a la siembra en cajas de Petri con PDA + antibiótico (cloranfenicol) colocando 1 mL de la suspensión de suelo, se sembraron 10 cajas de Petri por muestra que representó un tratamiento y se incubaron a temperatura ambiente ($27^{\circ}\text{C}\pm 1$) y cada día durante 5 d se determinó el número de colonias presentes y la identificación de las mismas. Los datos correspondientes a las 10 cajas de Petri se promediaron y expresaron como unidades formadoras de colonia (ufc) por gramo de suelo (previamente secado al aire y tamizado). En cada tratamiento se calculó la diversidad de la micoflora fúngica recurriendo al índice d de diversidad de Shannon y Weaver (1963).

Los promedios obtenidos en los registros de número total de ufc e índice de diversidad fueron sometidos a Anova y separación de medias por Test de Tukey al 5% de significancia. Posteriormente se efectuó análisis de correlación entre abundancia total e índice de diversidad, por un lado, y los valores de índice de supresividad.

Cultivos duales de hongos presentes

En estos sustratos, se realizaron previamente ensayos donde se evaluó el efecto de *T. harzianum* sobre *R. solani*, observándose en este estudio que donde se aplicó *T. harzianum* como controlador no se presentó la enfermedad por *R. solani* en germinadores de tomate, y donde no se aplicó *T. harzianum* sin esterilizar el sustrato se presentó, lo que sugiere que existe la posibilidad de supresión de la micoflora presente en los sustratos.

De los hongos identificados del estudio de la micoflora se seleccionaron los aislamientos más abundantes en cada tratamiento y se realizaron estudios de antagonismo *in vitro* frente a *Rhizoctonia solani*. La técnica utilizada fue la de cultivos duales (Mariano, 1993): en cajas de Petri con PDA se “sembraron” dos discos de agar, uno con el patógeno y el otro con el antagonista, separados 5 cm entre sí. Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente a $27^{\circ}\text{C}\pm 1$ durante 48 h y al cabo de las mismas se midió el desarrollo de ambas colonias para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento del patógeno según la ecuación 2 desarrollada por Camporota (1985).

$$I = \frac{de}{dt} \times 100 \quad (2)$$

donde:

I = porcentaje de inhibición del crecimiento del patógeno.

de = radio de la colonia del patógeno en el sentido del eje que enfrenta al antagonista.

dt = diámetro mayor de la colonia del patógeno.

Resultados y discusión

Estudio cualitativo y cuantitativo de la micoflora

Un total de 16 cepas diferentes fueron aisladas de los tratamientos pertenecientes a tres órdenes y ocho géneros de hongos, siendo *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* sp. y *Trichoderma harzianum* las cepas más abundantes (Tab. 1). Las muestras de los sustratos presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en cuanto a la abundancia total y la diversidad. Las muestras M2 y M4 del sustrato de lombricompuesto mostraron una micoflora significativamente más alta ($P \leq 0,05$) que la registrada en las muestras M1 y M3 del sustrato de suelo orgánico, que presentaron poblaciones significativamente menos abundantes que el resto de las muestras de los sustratos.

Los resultados de los índices de diversidad correspondientes a las poblaciones de hongos no exhibieron variabilidad con los valores de abundancia. Las unidades formadoras de colonias (ufc) de población microbiana aislada de las muestras del lombricompuesto (M2 y M4) resultó significativamente más alta en un 30% que las muestras (M1 y M3) del suelo orgánico ($P \leq 0,05$).

Las ufc identificadas resultaron diferentes para cada una de las muestras. *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. y *Trichoderma* sp. fueron los géneros que se presentaron con mayor abundancia en las muestras M1 y M3 en el suelo orgánico. En las muestras M2 y M4 del lombricompuesto se encontró a *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. como los géneros más abundantes. Ávila y Gutiérrez (2000), Budge y Whipps (2001) y Whipps (2001) sostienen que el conocimiento de relaciones ecológicas, como el parasitismo, la competencia y predación ha implicado la búsqueda y evaluación de diversos microorganismos del suelo cuyas estrategias de sobrevivencia les permiten controlar ciertas enfermedades radicales en cultivos hortícolas de importancia económica. La abundancia de los hongos saprofitos *Penicillium* spp. y *Aspergillus* spp. se debe a que son hongos que están asociados a las raíces de las plantas, alimentándose de exudaciones radicales, capaces de movilizar el fósforo y el nitrógeno del suelo (Atlas y Bartha, 1998). Según Booth (1971), *Fusarium* es un hongo ampliamente distribuido en el suelo y sobrevive en asociación con las plantas, posee especies patógenas como saprófitas y es específica para cada cultivo.

Cultivo dual de hongos presentes

Los hongos escogidos para este estudio fueron *Aspergillus* sp. (A1), *Penicillium* sp. (P2), *Trichoderma* sp., hongos más frecuente en las muestras del suelo orgánico M1 y M3; los

más frecuentes en las muestras M2 y M4 del lombricompuesto fueron *Penicillium* sp. (P11), *Aspergillus* sp. (A22) y *Fusarium* sp. (F1). Sólo en la muestra M4 del lombricompuesto se encontró el hongo *Rhizoctonia solani*, debido al control previo con *Trichoderma harzianum*. *T. harzianum* presentó un porcentaje de inhibición significativamente superior ($P \leq 0,05$) al resto de las especies (Tab. 2). La cepa P1 de *Penicillium* y la cepa A22 de *Aspergillus* presentaron porcentajes medios de inhibición que no difirieron significativamente entre sí ($P \leq 0,05$), pero sólo *Aspergillus* sp. cepa A1 provoca inhibición a distancia. El resto de las especies muestra una capacidad antagónica significativamente inferior ($P \leq 0,05$). *Fusarium* sp. (F1) y *Penicillium* sp. (P11) presentaron un antagonismo débil, por lo cual cabe concluir que no son los responsables de la supresividad mostrada por el sustrato. En cambio *Aspergillus* sp. cepa A1, el hongo saprófito más abundante, exhibió *in vitro* una moderada capacidad antagónica.

La adición de un sustrato en particular determina el desarrollo preferencial de aquellas especies más adaptadas al consumo de la fuente de nutrición (Kwasna *et al.*, 2000; Harman *et al.*, 2004) y, a su vez, en el corto plazo, la conformación de poblaciones menos diversificadas. Lewis y Lumsden (2001), Cotxaterra *et al.* (2002) y Donoso *et al.* (2008) encontraron que el agregar enmiendas orgánicas al suelo controlaba hongos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum* y *Sclerotinia sclerotium*.

T. harzianum presentó un comportamiento apropiado en el estudio de antagonismo *in vitro*, si se considera el porcentaje medio de inhibición del patógeno. Por otra parte existen antecedentes exitosos referidos al control biológico de *R. solani* con *T. harzianum* (Elad *et al.*, 1980; Chet y Baker, 1980; Lewis y Lumsden, 2001; Alonso *et al.*, 2002; Ezziyyani *et al.*, 2004; Osorio-Nila *et al.* 2005; Hoyos-Carvajal *et al.*, 2008). Mónaco *et al.* (1994) y Alonso *et al.* (2002) interpretan que un buen comportamiento antagónico *in vitro* no alcanza predecir un control biológico en condiciones naturales, pero permite descartar ciertos factores como causa probable del fenómeno de supresividad. *T. harzianum*, además de capacidad biocontroladora, tiene una acción positiva como promotor de crecimiento vegetal, lo que lo convierte en bioproducto potencialmente efectivo.

Broadbent *et al.* (1971) y Harman (2000) sostienen que puede ocurrir que un antagonista de buen comportamiento *in vitro* funcione posteriormente mal en campo, pero nunca puede suceder que un agente que haya mostrado ser ineficiente en laboratorio se comporte bien en el terreno; allí radica la importancia de estos estudios *in vitro*.

TABLA 1. Abundancia e índice de diversidad de hongos presentes en sustratos de suelo orgánico y lombricompuesto en dos muestreos en Valera (Venezuela).

Hongo	Sustrato suelo orgánico		Sustrato lombricompuesto	
	M1	M3	M2	M4
<i>Aspergillus</i> sp. (A11)	2,00	4,00	5,00	6,00
<i>Aspergillus</i> sp. (A1)	16,25	12,00	0,00	4,00
<i>Aspergillus</i> sp. (A22)	0,00	0,00	16,75	12,25
<i>Aspergillus</i> sp. (A2)	4,00	4,00	9,50	3,00
<i>Trichoderma</i> sp. (ThA)	4,50	9,50	0,00	2,00
<i>Trichoderma</i> sp. (T1)	0,00	0,00	2,75	0,00
<i>Penicillium</i> sp. (P2)	9,50	9,50	0,00	5,75
<i>Penicillium</i> sp. (P1)	0,00	0,00	5,75	0,00
<i>Penicillium</i> sp. (P11)	0,00	2,00	9,25	7,50
<i>Gliocladium</i> sp. (G1)	0,00	0,00	1,00	1,00
<i>Fusarium</i> sp. (F1)	5,75	4,00	8,25	6,50
<i>Fusarium</i> sp. (F2)	0,00	0,00	2,75	3,25
<i>Cladosporium</i> sp. (C1)	0,00	0,00	0,75	0,75
<i>Rhizopus</i> sp. (R1)	0,25	0,00	0,75	0,00
<i>Rhizoctonia</i> sp. (Rs1)	0,00	0,00	0,00	3,75
<i>Rhizoctonia</i> sp. (Rs2)	0,00	2,00	0,00	9,50
Abundancia total/muestra	42,25 b	47,00 a	62,50 b	65,25 a
Índice de diversidad	1,60	1,34	2,01	2,38

M1, M2, M3 y M4, muestra integral compuesta con 10 sub-muestras. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

TABLA 2. Porcentaje de inhibición de *Rhizoctonia solani* frente a hongos encontrados en sustratos de suelo orgánico y lombricompuesto en dos muestreos en Valera (Venezuela).

Hongos	Inhibición
<i>Aspergillus</i> sp. (A1)	11,06 a
<i>Aspergillus</i> sp. (A22)	30,95 b
<i>Trichoderma</i> sp. (ThA)	64,31 c
<i>Penicillium</i> sp. (P2)	34,88 b
<i>Penicillium</i> sp. (P11)	10,61 a
<i>Fusarium</i> sp. (F1)	8,10 a

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Conclusiones

Agregar al suelo sustratos orgánicos no determinó la introducción significativa de nuevos hongos, sino más bien una modificación de la cantidad preexistente de la micoflora nativa y el establecimiento de *Trichoderma harzianum*.

Trichoderma harzianum resultó tener mayor velocidad de crecimiento en cultivos duales y un alto porcentaje de inhibición del hongo *Rhizoctonia solani*, lo cual confirma que este hongo controla efectivamente a *Rhizoctonia solani*, independientemente de la micoflora presente.

Literatura citada

- Alonso R., R., B. Barranco M., G. Gracia R. y G. Jiménez M. 2002. Actividad *in vivo* de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfii* en plántulas de tomate. Manejo Integr. Plagas Agroecol. 66, 45-48.
- Atlas, R.M. 1984. Use of microbial diversity measurement to assess environmental stresses. pp. 540-545. En: Klug, M.J. y C.C. Reddy (eds.). 1984. Current perspectives in microbial ecology. American Society for Microbiology, Washington DC.
- Atlas, R. y R. Bartha. 1998. Microbial ecology fundamentals and applications. 4a ed. Benjamin/Cummings Publ. Co., Menlo Park, CA.
- Ávila, De M.C. y A. Gutiérrez. 2000. Biocontrol de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary en lechuga (*Lactuca sativa* L.). Fitopatol. Colomb. 16, 172-179.
- Baker, K.F. y R.J. Cook. 1974. Biological control of pathogens. W.H. Freeman Co., San Francisco, CA.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.
- Broadbent, P., K.F. Baker e Y. Waterworth. 1971. Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soils. Aust. J. Biol. Sci. 24, 925-944.
- Budge, S.P. y J.M. Whipps. 2001. Potential for integrated control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse using *Coniothyrium minitans* and reduced fungicide application. Phytopathol. 91, 221-227.
- Bulluck III, L.R., M. Brosius, G.K. Evanylo y J.B. Ristaino. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. Appl. Soil Ecol. 19, 147-160.
- Camporota, P. 1985. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis a vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. Agronomie 5, 613-629.
- Chet, I. y R. Baker. 1980. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathol. 70, 994-998.
- Cotxaterra, L., M.I. Trillas-Gay, C. Steinberg y C. Alabouvette. 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. Soil Biol. Biochem. 34, 467-476.
- Craft, C.M. y E.B. Nelson. 1996. Microbial properties of compost that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. Appl. Environ. Microbiol. 65(5), 1550-1557.
- Dissanayake, N. y J.W. Hoy. 1999. Organic material soil amendment effects on root rot and sugarcane growth and characterization of the materials. Plant Dis. 83, 1039-1046.
- Donoso, E., G.A. Lobos y N. Rojas. 2008. Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero. Bosque 29(1), 52-57.
- Elad, Y., I. Chet y J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopathol. 70, 119-121.
- Ezziyyani, M., C. Pérez S., A. SidAhmed, M.E. Requena y M.E. Candela. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum*). Ann. Biol. 26, 35-45.
- Harman, G. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Dis. 84, 377-393.
- Harman, G., C. Howell, A. Viterbo, I. Chet y M. Lorito. 2004. *Trichoderma* Species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microb. 2, 43-56.
- Hoitink, H.A., W. Zhang, D.Y. Han y W.A. Dick. 1997. Making compost to suppress plant disease. BioCycle 38, 40-42.
- Hoitink, H.A.H. y M.J. Boehm. 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. Annu. Rev. Phytopathol. 37, 427-451.
- Hoyos-Carvajal, L., P. Chaparro, M. Abransky, I. Chet y S. Orduz. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. Agron. Colomb. 26(3), 451-458.
- Johnson, M.J., K. Lee y K.M. Scow. 2003. DNA fingerprint reveals links among agricultural crops, soil properties and composition of soil microbial communities. Geoderma 114(3-4), 279-303.
- Kennedy, A.C. y K.L. Smith. 1995. Soil microbial diversity and the sustainability. J. Soil Water Conserv. 50(3), 243-348.
- Kwasna, H., Z. Sierota y G.L. Bateman. 2000. Fungal communities in fallow soil before and after amending with pine sawdust. Appl. Soil Ecol. 14, 177-182.
- Lewis, J.A. y R.D. Lumsden. 2001. Biocontrol of damping-off of green house-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. Crop Protection 20, 49-56.
- Mariano, R.L. 1993. Métodos de selección *in vitro* para el control microbiológico de patógenos de plantas. Revis. Anu. Patol. Plantas 1, 369-409.
- Mónaco, C., A. Perelló y M.C. Rollán. 1994. Ensayos *in vitro* del comportamiento antagónico de *Trichoderma* spp. frente a especies patógenas de la zona hortícola de La Plata, Argentina. Microbiol. SEM 10, 423-428.
- Nico, A.I., C.I. Monaco, G. Dal Bello y H. Alippi. 2003. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: test de patogenicidad y actividad biológica de metabolitos volátiles y difusibles. Rev. Invest. Agrop. 32, 173-192.
- Osorio-Nila, M.A., L.M. Vázquez-García, M.L. Salgado-Siclán y C.E. González-Esquível. 2005. Efecto de dos enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. para controlar *Sclerotinia* spp. en lechuga. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 11(2), 203-208.
- Shannon, C. y W. Weaver. 1963. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, IL.
- Warcup, J.H. 1950. The soil plate method for isolation of fungi from soil. Nature 166, 117-118.
- Whipps, J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J. Exp. Bot. 52, 487-511.
- Wiese, M.V. 1987. Compendium of wheat diseases. APS Press, St. Paul, MN.

