

Caracterización patogénica y estudio de los grupos de compatibilidad micelial en *Sclerotium cepivorum* Berk

Bridget Moreno¹ y Rodolfo Acevedo²

Decanato de Investigación, Universidad Nacional Experimental del Táchira, ¹Laboratorio de Investigaciones Genéticas y ²Laboratorio de Control Biológico, San Cristóbal, Venezuela

Resumen

Se estudió la patogenicidad y la formación de los Grupos de Compatibilidad Micelial (GCM) en 12 aislamientos del hongo *Sclerotium cepivorum* Berk., los cuales provinieron de los estados Táchira, Mérida, Trujillo en Venezuela y Pamplona en Colombia. La patogenicidad de los 12 aislamientos se evaluó en base a la severidad y virulencia de los mismos, utilizando una escala de severidad. Se utilizaron pruebas de enfrentamiento para comprobar la existencia de interacciones compatibles e incompatibles expresadas por los GCM, después de colocar en una misma cápsula de petri diferentes aislamientos del hongo. Al evaluar la patogenicidad, se observaron altos niveles de enfermedad con los aislamientos T-9, C-1 y TR-10. El T-9 fue el más virulento y agresivo de todos los aislamientos probados, ya que el inicio de síntomas sucedió a los 12 días, y a los 19 días el 100% de las nueve plantas inoculadas murió. Tres respuestas fueron observadas al enfrentar los 12 aislamientos de *S. cepivorum*: una reacción de compatibilidad o anastomosis y dos reacciones de incompatibilidad. Se encontraron dos GCM, representados por los aislamientos T-8 (Táchira) y TR-3 (Trujillo), los cuales expusieron incompatibilidad al ser enfrentados con los demás aislamientos. Estos resultados permiten establecer las bases para la caracterización genética de *S. cepivorum*.

Palabras clave

Caracterización, Patogenicidad, GCM, *Sclerotium cepivorum*

Patogenic characterization and study of the mycelial groups of compatibility in *Sclerotium cepivorum* Berk

Summary

We have studied the pathogenicity and the formation of mycelial compatibility groups of (MCG) in 12 isolates of the fungus *Sclerotium cepivorum* Berk from the states of Táchira, Mérida, Trujillo in Venezuela and Pamplona in Colombia. The pathogenicity was evaluated according to severity and virulence. *In vitro* confrontation tests were used to check the presence of compatible and incompatible interactions expressed by MCG when different isolates of the fungus were put together in a petri dish. When pathogenicity was evaluated, we found high levels of disease with isolates T-9, C-1 and TR-10. The isolate T-9 was the most virulent and aggressive, as the symptoms began at day 12 and at day 19 and 100% of the nine inoculated plants died. Three responses were observed when confronting *S. cepivorum* isolates: a reaction of compatibility or anastomosis and two reactions of incompatibility. Two MCG were found, represented by isolates T-8 (Táchira) and TR-3 (Trujillo), which showed incompatibility when faced with other isolates. These results provide a basis upon which the genetic characterization of *S. cepivorum* can be established.

Key words

Characterization, Pathogenicity, MGC, *Sclerotium cepivorum*

Dirección para correspondencia:

Dra. Bridget Moreno
Laboratorio de Investigaciones Genéticas
Decanato de Investigación
Universidad Nacional Experimental del Táchira
San Cristóbal, Venezuela
Fax: +58 76 532 454
E-mail: bmoreno@unet.edu.ve

Aceptado para publicación el 6 de Mayo de 2002

©2002 Revista Iberoamericana de Micología
Apdo. 699, E-48080 Bilbao (Spain)
1130-1406/01/10.00 Euros

El hongo *Sclerotium cepivorum* es el agente causal de la Pudrición Blanca del ajo. Este patógeno está incluido taxonómicamente dentro de la clase Deuteromycetes, en el Orden o Grupo Especial Micelia Sterilia [1], el cual recientemente ha sido denominado como Orden Aganomycetales [2]. La alta incidencia de Pudrición Blanca en las zonas hortícolas de Venezuela, ha ocasionado la sustitución casi total de la superficie sembrada por esta hortaliza. Las pérdidas que *S. cepivorum* ocasiona al

Tabla 1. Pruebas de enfrentamiento de los diferentes aislamientos del hongo *S. cepivorum* Berk.

Aislamiento	T2	T6	T7	T8	T9	M1	M2	M4	M5	TR3	TR10	C1
T2	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
T6		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
T7			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
T8				X	X	X	X	X	X	X	X	X
T9					X	X	X	X	X	X	X	X
M1						X	X	X	X	X	X	X
M2							X	X	X	X	X	X
M4								X	X	X	X	X
M5									X	X	X	X
TR3										X	X	X
TR10											X	X
C1												X

ajo son del orden del 100%, razón por la cual se hace necesaria la implementación de medidas de control que logren menguar sus poblaciones.

Con la determinación de los grupos de compatibilidad vegetativa (GCV) o micelial (GCM), se pueden establecer diferencias basadas en las respuestas de compatibilidad o incompatibilidad [1,3-7]. Earnshaw y Boland [6] reportaron que la presencia de GCM es una medida indirecta de la variabilidad genética entre aislamientos. Las pruebas de enfrentamiento, utilizadas por Acevedo y Arcia [4] y Earnshaw y Boland [6], comprobaron la existencia de grupos de compatibilidad micelial (GCM) en el hongo *S. cepivorum*, encontrando diferencias entre aislamientos con la aparición de una banda de color oscuro y sin crecimiento micelial en la línea de enfrentamiento, lo que les permitió concluir que la compatibilidad micelial puede ser usada para reflejar heterogeneidad genética entre aislamientos de *S. cepivorum*. Acevedo y Arcia [4] mediante pruebas de enfrentamiento *in vitro*, evaluaron el efecto antagónico de los aislamientos venezolanos S1, S2, S3, S4 S5 y S6 de *S. cepivorum*, observando que el antagonismo sólo ocurrió cuando se combinó el aislamiento S2, presentándose en la zona de unión una barrera de color verde oscuro y donde no hubo formación de esclerocios. La anastomosis se evidenció cuando se enfrentaron colonias de un mismo aislamiento entre sí y con los aislamientos de las demás zonas geográficas. Earnshaw y Boland [6] estudiaron los grupos de compatibilidad micelial (GCMs) del hongo *S. cepivorum* mediante la utilización de las pruebas de enfrentamiento. Comprobaron la existencia de interacciones compatibles e incompatibles después de colocar en una misma cápsula de petri diferentes aislamientos del hongo. Las interacciones compatibles se caracterizaron porque las hifas de los aislamientos enfrentados presentaron anastomosis sin deterioro o muerte de las células en los puntos de unión. Por el contrario, en las interacciones incompatibles las hifas sufrieron deterioro o muerte en los puntos de unión, con la presencia de una banda de color rojo o marrón que, posteriormente, se tornó más oscura. En otras interacciones incompatibles las hifas de los aislamientos enfrentados simplemente no llegaban a unirse, por el rechazo de las unas con las otras. Rodríguez y Arcia [10] realizaron pruebas de enfrentamiento con aislamientos de *S. rolfsii*, encontrando reacciones de incompatibilidad representadas por la formación de una banda de color oscuro, por lo que concluyeron que estos aislamientos eran diferentes. Otra característica que ha sido evaluada y que ha reportado datos de gran interés para el conocimiento de *S. cepivorum*, es la patogenicidad [1,3-5,9,15]. Utkhede y col. [15] realizaron pruebas de patogenicidad demostrando que diez de 12 aislamientos de *S. cepivorum* analizadas, mantuvieron la virulencia sobre plantas de ajo. Acevedo y Arcia [3]

estudiaron la patogenicidad de los aislamientos S1, S2 y S3, provenientes de plantas de ajo enfermas. Ellos observaron que los tres aislamientos resultaron patogénicos, mostrando diferentes grados de agresividad y virulencia. El S3 fue el más agresivo y virulento, mostrando síntomas a los 38 días con un porcentaje de infección del 94,4%. En los aislamientos S1 y S2 los síntomas se observaron a los 85 y 70 días, con un porcentaje de infección de 50 y 75%, respectivamente. En vista de lo planteado anteriormente, esta investigación tuvo como objetivo realizar “*in vitro*” pruebas de enfrentamiento entre 12 aislamientos del hongo *S. cepivorum* Berk. para determinar los grupos de compatibilidad micelial (GCM) y, por otra parte, establecer diferencias entre estos aislamientos evaluando virulencia y agresividad entre los mismos, mediante pruebas de patogenicidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y aislamiento de *S. cepivorum* Berk. Se procedió a realizar visitas a diferentes localidades productoras de ajo del estado Táchira, dentro de las que se encontraron El Cobre, Sabana Grande, La Pradera, Betania y Villa Páez. Se solicitaron aislamientos de los Estados Mérida, Trujillo y de la ciudad de Pamplona – Colombia. El patógeno se aisló siguiendo las técnicas fitopatológicas de rutina a partir de bulbos infectados y, con diferentes estados de desarrollo de la enfermedad, se le describió la sintomatología respectiva. Los bulbos de ajo con síntomas y/o signos de la enfermedad fueron seleccionados, lavados y cortados en trozos de 0,5 cm², luego se desinfectaron con alcohol 70%, hipoclorito de sodio 2,5% y agua destilada estéril. Se procedió a la siembra en medio PDA (papa-dextrosa-agar) al 2%, a una temperatura de 20 °C y luz continua.

Prueba de enfrentamiento. Se realizó utilizando la metodología de Acevedo [5] y de Earnshaw y Boland [6]. Se colocaron, en los extremos de la cápsula de petri con medio PDA, discos de agar con micelio del hongo de cuatro días de desarrollo, realizando las combinaciones respectivas de manera que se lograra enfrentar el mismo aislamiento y realizar enfrentamientos con aislamientos diferentes. Se utilizaron dos placas de petri por enfrentamiento. El patrón de enfrentamiento se muestra en la tabla 1.

Patogenicidad de los aislamientos. Las pruebas de patogenicidad se evaluaron utilizando la metodología de Acevedo [5]. Se procedió de la siguiente manera:

Preparación del inóculo. Se utilizó micelio del hongo de 10 días de desarrollo para inocular, en frascos de vidrio, 300 g de la mezcla suelo:harina de maíz en proporción 9:1, se agregaron a cada frasco 80 ml de agua estéril, estos se sellaron herméticamente y se incubaron a 20 °C durante 10 días. Transcurrido ese período de tiempo, se

Tabla 2. Enfrentamiento entre diferentes aislamientos del hongo *S. cepivorum* Berk.

Disposición	G.C.M	Anastomosis
T1T1	-	+
T1T2	-	+
T1T3	-	+
T1T4	+	-
T1T5	-	+
T1T6	-	+
T1T7	-	+
T1T8	-	+
T1T9	-	+
T1T10	+	-
T1T11	-	+
T1T12	-	+
T2T2	-	+
T2T3	-	+
T2T4	+	-
T2T5	-	+
T2T6	-	+
T2T7	-	+
T2T8	-	+
T2T9	-	+
T2T10	+	-
T2T11	-	+
T2T12	-	+
T3T3	-	-
T3T4	+	-
T3T5	-	+
T3T6	-	+
T3T7	-	+
T3T8	-	+
T3T9	-	+
T3T10	+	-
T3T11	-	+
T3T12	-	+
T4T4	-	+
T4T5	+	-
T4T6	+	-
T4T7	+	-
T4T8	+	-
T4T9	+	-
T4T10	-	+
T4T11	+	-
T4T12	+	-
T5T5	-	+
T5T6	-	+
T5T7	-	+
T5T8	-	+
T5T9	-	+
T5T10	+	-
T5T11	-	+
T5T12	-	+
T6T6	-	+
T6T7	-	+
T6T8	-	+
T6T9	-	+
T6T10	+	-
T6T11	-	+
T6T12	-	+
T7T7	-	+
T7T8	-	+
T7T9	-	+
T7T10	+	-
T7T11	-	+
T7T12	-	+
T8T8	-	+
T8T9	-	+
T8T10	+	-
T8T11	-	+
T8T12	-	+
T9T9	-	+
T9T10	+	-
T9T11	-	+
T9T12	-	+
T10T10	-	+
T10T11	+	-
T10T12	+	-
T11T11	-	+
T11T12	-	+
T12T12	-	+

mezcló el contenido de los frascos con el suelo orgánico esterilizado, en proporción 1:7. Se colocaron 500 g de esta mezcla en materos plásticos dejando incubar la misma a 20 °C/10 d. Este procedimiento se aplicó a los 12 aislamientos, utilizando tres repeticiones (materos) en cada caso.

Preparación de los hospederos. Se estimuló la germinación de los dientes de ajo, colocándolos en una nevera a 4-5 °C durante 15 d.

Inoculación. Se sembraron tres dientes de ajo/matero/aislamiento. Se utilizó como testigo suelo sin inocular. Se realizaron observaciones semanales durante dos meses, para detectar la presencia de síntomas de la enfermedad en las plantas inoculadas.

Evaluación. La patogenicidad se evaluó en función al grado de virulencia y agresividad de los aislamientos, como medida de la severidad. Las plantas de 70 días desde la siembra, se arrancaron de raíz para la observación de los síntomas. Se utilizó la siguiente escala para las evaluaciones: clase 0 : Plantas sanas, sin síntomas; clase 1: 1 a 25% de hojas con amarillamiento apical, marchitamiento inicial; clase 2: 26 a 50% de hojas con amarillamiento, inicio de muerte descendente; clase 3: 51 a 75% de hojas amarillas y necrosadas, muerte descendente avanzada; clase 4: 76 a 100% del tejido necrótico, bulbos con formación de micelio blanquecino y esclerocios.

RESULTADOS

Pruebas de enfrentamiento. Tres respuestas fueron observadas al enfrentar los 12 aislamientos de *S. cepivorum*: una reacción de compatibilidad o anastomosis y dos reacciones de incompatibilidad. Dentro de las últimas, una se caracterizó por la presencia de una banda de color marrón oscuro en la línea de enfrentamiento y la otra por la inhibición del crecimiento micelial y formación de esclerocios (antagonismo). El antagonismo sólo ocurrió cuando se enfrentaron los aislamientos T-8 y TR-3 con todos los demás aislamientos; es decir, cuando se combinaron colonias del hongo que provenían de diferentes regiones productoras de ajo, y/o de localidades geográficas distintas (Tabla 2, Figura 1). Este se caracterizó por la fusión de las hifas de los aislamientos enfrentados. Para el caso de los enfrentamientos con el aislamiento T-8, se observaron los dos tipos de reacción de incompatibilidad, dependiendo de la combinación utilizada. Con el aislamiento TR-3 todos los aislamientos formaron una banda de color marrón oscuro. Por otra parte, la anastomosis se observó cuando se enfrentaron colonias de un mismo aislamiento y en algunas combinaciones entre aislamientos diferentes, como se muestra en la Tabla 2, Figura 1.

Pruebas de patogenicidad. Al evaluar la patogenicidad de los 12 aislamientos de *S. cepivorum* se observaron diferencias en cuanto a la severidad y virulencia de los mismos. Los más altos niveles de enfermedad se presentaron cuando se utilizaron los aislamientos T-9, C-1 y TR-10. El T-9 fue el más virulento y agresivo de todos los probados, ya que el inicio de síntomas sucedió a los 12 días y, a los 19 días, todas las plantas inoculadas murieron (Tabla 3). Por otra parte, todos los aislamientos restantes mostraron agresividad moderada.

Los resultados observados después de analizar los datos de la escala de severidad, permiten corroborar las diferencias existentes entre los 12 aislamientos de *S. cepivorum* en cuanto a su patogenicidad. Se consideró el tiempo transcurrido desde la siembra hasta la aparición de las primeras plantas en clase 1 (TG1), el tiempo que pasó desde la aparición de los primeros síntomas hasta alcanzar la clase 4 (TG0G4) y el porcentaje de plantas enfermas en clase 1 (%G1). Los resultados se presentan en la tabla 4.

El aislamiento T-9 fue el que alcanzó en menor tiempo la clase 1, donde a los 16 días las nueve plantas evaluadas para este aislamiento mostraron 100% de infección, en función de la clase de la escala de severidad. Sólo transcurrieron tres días más para que murieran todas las

Tabla 3. Pruebas de patogenicidad evaluando 12 aislamientos del hongo *Sclerotium cepivorum* Berk., sobre plantas de ajo (*Allium sativum*).

Aislamiento	Plantas sembradas	Plantas infectadas(a)	Índice de infección	% de infección	Inicio de síntomas (días)	Muerte de plantas (días) (b)
T-2	9	6	0,67	67	24	77
T-6	9	5	0,56	56	33	84
T-7	9	3	0,33	33	16	73
T-8	9	6	0,67	67	16	73
T-9	9	6	0,67	67	12	19
M-1	9	3	0,33	33	16	81
M-2	9	5	0,56	56	16	78
M-4	9	5	0,56	56	23	72
M-5	9	5	0,56	56	40	77
TR-3	9	6	0,67	67	14	70
TR-10	9	3	0,33	33	15	70
C-1	9	3	0,33	33	23	71
TESTIGO	9	-	-	-	-	0

a: Al inicio de los síntomas
b: Todas las plantas en grado 4

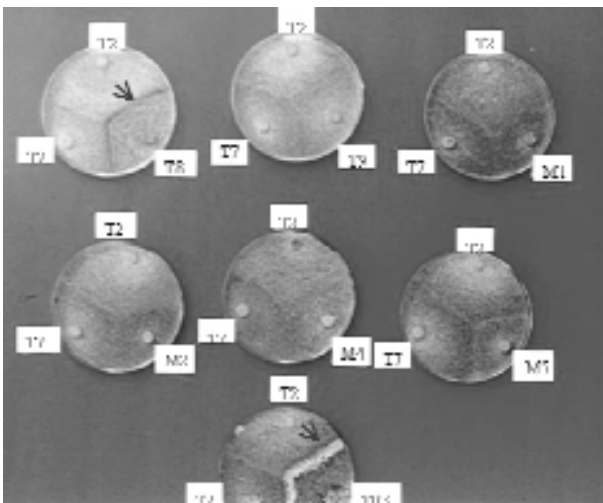


Figura 1. Pruebas de Enfrentamiento del Hongo *Sclerotium cepivorum* Berk. Las bandas señaladas por las flechas, representan incompatibilidad entre los aislamientos enfrentados.



Figura 2. Patogenicidad de los aislamientos de *Sclerotium cepivorum* Berk.

Tabla 4. Pruebas de patogenicidad evaluando la severidad de 12 aislamientos del hongo *Sclerotium cepivorum* Berk., sobre plantas de ajo (*Allium sativum*).

Aislamientos	T G1 (d)	% G1	T G0G4 (d)
T2	24	55,5	77
T6	31	44,4	84
T7	16	33,3	73
T8	16	66,6	73
T9	16	100	19
M1	16	33,3	81
M2	16	44,4	78
M4	21	55,5	72
M5	40	33,3	77
TR3	16	22,2	70
TR10	15	33,3	70
C1	21	11,1	71
TESTIGO	0	0	0



Figura 3. Bulbo de ajo afectado por Pudrición Blanca.

plantas infectadas por este aislamiento. Cabe señalar que la condición de temperatura en la que se realizó el ensayo, fue la que la literatura reportó como óptima (20 °C) para el desarrollo *in vitro* de *S. cepivorum* [5], por lo que el patógeno logró crecer sin limitaciones y las plantas mostraron su sintomatología en poco tiempo. Los síntomas

mostrados por todas las plantas de ajo fueron inicialmente un amarillamiento apical que, en el tiempo, se distribuyó en toda el área de las hojas en forma descendente, hasta causar necrosis y muerte del tejido. En los bulbillos formados se observó la presencia de micelio blanquesino y de esclerocios (Figuras 2 y 3).

DISCUSIÓN

Los resultados encontrados en esta investigación demostraron que existen diferencias entre los aislamientos de *S. cepivorum*. Estos resultados concuerdan con lo establecido por Earnshaw y Boland [6] en su investigación sobre Grupos de Compatibilidad Micelial en *S. cepivorum*, quienes observaron las tres respuestas de compatibilidad e incompatibilidad señaladas anteriormente. También observaron reacciones intermedias, definidas por variaciones en el grosor y color de la línea de enfrentamiento, detectando así nueve GCM en 142 aislamientos probados. En la presente investigación se definieron dos GCM, basados en las respuestas de incompatibilidad encontradas entre los aislamientos T-8 y TR-3, ya que estos mostraron anastomosis cuando se les enfrentó consigo mismos y entre ellos, y antagonismo al ser combinados con todos los demás aislamientos. Según esto, se podría pensar que T-8 y TR-3 constituyen biotipos no afines con los demás aislamientos, siendo esto un indicio de que entre los aislamientos estudiados existe variabilidad genética que supone razas dentro de la misma especie. Earnshaw y Boland [6] señalan que la compatibilidad micelial puede ser usada para reflejar heterogeneidad genética entre los aislamientos de *S. cepivorum* y Betancourt [11] considera lo mismo para el hongo *S. rolfsii* Sacc.

Se evidenció el alto grado de virulencia de los 12 aislamientos de *S. cepivorum*, además de comprobar que existe dentro de esta misma especie, comportamientos diferentes cuando se evaluó la agresividad para atacar o

infectar las plantas de su hospedero susceptible. Leguizamón y Barriga [7] realizaron pruebas de patogenicidad con *S. cepivorum* obteniendo resultados que difieren a los encontrados en el presente estudio. Si bien estos autores hallaron diferencias patogénicas entre los aislamientos probados, el tiempo que transcurrió para que comenzaran a manifestarse los síntomas y para que ocasionaran la muerte total de las plantas fue mayor al observado en esta investigación en la cual el porcentaje de infección varió entre 38 y 60 % comparado a 67% encontrado con el aislamiento T-9. Otros autores han reportado que las diversas respuestas mostradas por algunos patógenos al evaluar su patogenicidad son indicios de variabilidad o diferenciación entre los mismos [3,10,12-15]. En el caso de *S. cepivorum*, se observaron diferentes comportamientos entre los 12 aislamientos estudiados en cuanto a virulencia y agresividad, además de considerarse la formación de los GCM, lo que permite inferir que existe variabilidad genética y patogénica en este hongo. Además, en un estudio realizado por Moreno y Acevedo [9] se demostró variabilidad morfológica en los mismos 12 aislamientos utilizados en este estudio. Estos resultados representan un punto de partida para la caracterización electroforética de este hongo, ya que otras investigaciones reportan que con la utilización de marcadores moleculares, como isoenzimas, proteínas o ADN, podría comprobarse de forma directa la variabilidad genética de *S. cepivorum* Berk.

Este artículo está basado en una parte de la tesis presentada por el primer autor para optar al título de Magíster Scientiarum en Agronomía en la Universidad Nacional Experimental del Táchira.

Bibliografía

1. Acevedo R. La Pudrición blanca del ajo (*Sclerotium cepivorum* Berk). Revisión bibliográfica. Trabajo de ascenso, Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET), San Cristóbal, Estado Táchira, Venezuela 1987.
2. Agrios G. Fitopatología. (3ª Ed.) Ciudad de Mexico, Mexico, Editorial Limusa, 1996.
3. Acevedo R, Arcia A. Influencia de la temperatura, pH y luz en el crecimiento y formación de los esclerocios de tres aislamientos de *Sclerotium cepivorum*. Fitopatología Venezolana 1988; 1: 35. (Resumen 057)
4. Acevedo R, Arcia A. Morfogénesis de los esclerocios del hongo *Sclerotium cepivorum*. Fitopatología Venezolana 1989; 2:50. (Resumen 054).
5. Acevedo R. Variabilidad Morfofisiopatológica del Hongo *Sclerotium cepivorum* Berk, agente causal de la Pudrición blanca del ajo. Trabajo de ascenso, Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET), San Cristóbal, Estado Táchira, Venezuela 1992.
6. Earnshaw D, Boland G. Mycelial compatibility groups in *Sclerotium cepivorum*. Plant Pathol 1997; 46: 229-238.
7. Leguizamón J, Barriga R. Enfermedades del ajo (*Allium sativum* L) en Cundinamarca y Boyacá. Noticias Fitopatológicas 1976; 5: 4-19.
8. Leslie J. Fungal vegetative compatibility. Ann Rev Phytopathol 1993; 83: 690-693.
9. Moreno B, Acevedo R. Caracterización del hongo *Sclerotium cepivorum* Berk. agente causal de la Pudrición Blanca del ajo, mediante electroforesis. Trabajo de Grado para optar al título de Maestría en Agronomía, Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET), San Cristóbal, Estado Táchira, Venezuela 2000.
10. Rodríguez I, Arcia A. Caracterización fisiológica de dos aislamientos de *Sclerotium rolfsii*, procedentes de El Sombrero, estado Guárico y de La Misión, estado Portuguesa. Fitopatología Venezolana 1993; 6:53-54 (Resumen 060).
11. Betancourt G. Caracterización fisiopatológica de *Sclerotium rolfsii* Sacc. Trabajo de ascenso. Maracay, Universidad Central de Venezuela (UCV) 1984.
12. Crowe F, Hall D, Greathead A, et al. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. Phytopathology 1980; 70: 64-69.
13. Leggett M, Rahe J. Factors affecting the survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* in the Fraser Valley of British Columbia. Ann Appl Biol 1985; 106: 255-263.
14. Sánchez T. Evaluación del efecto de filtrados tóxicos de *Sclerotium cepivorum* sobre callos y microbulbillos in vitro de *Allium sativum*. Tesis de grado UCV, Facultad de Agronomía, Maracay, 1995.
15. Utthede S, Rahe J, Ormrod D. Occurrence of *Sclerotium cepivorum* sclerotia in commercial onion farm soils in relation to disease development. Plant Dis Reporter 1978; 62: 1030-1034.