

EVALUACIÓN DE TRES METODOLOGÍAS DE INOCULACIÓN DE *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. EN GERMOPLASMA DE AJONJOLÍ (*Sesamum indicum* L.)*

Evaluation of three inoculation methods of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. to sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm

Dasybel Peraza¹ y Hernán Laurentin¹

RESUMEN

Macrophomina phaseolina es un hongo del suelo que afecta a muchas especies cultivadas, entre ellas al ajonjolí. Como estrategia de manejo de la enfermedad, el uso de la resistencia genética debería ocupar un lugar preponderante, sin embargo, requiere identificar fuentes de resistencia para ser utilizadas en programas de mejoramiento genético, y a su vez, esta identificación requiere de un protocolo de inoculación eficaz. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar tres metodologías de inoculación de *M. phaseolina* en ajonjolí, utilizando cuatro aislamientos del hongo y cuatro genotipos del cultivo. Para todas las metodologías se usó un diseño de parcelas divididas con cuatro repeticiones, las parcelas principales estuvieron representadas por los aislamientos y las subparcelas por los genotipos de ajonjolí. La primera metodología consistió en enfrentar plántulas de ajonjolí a una suspensión de microesclerocios, en la segunda se enfrentaron al hongo en crecimiento, sembrado en cápsulas de Petri en agar papa dextrosa, y en la tercera las plántulas crecieron sobre un sustrato mezclado con propágulos del hongo. En las tres se evaluó la longitud de las lesiones provocadas por el hongo y el porcentaje de germinación. Las tres metodologías fueron efectivas en lograr la enfermedad en la planta, sin embargo, la segunda metodología no permitió la obtención de datos confiables debido a la contaminación de los medios sobre los cuales crecían las plántulas. Solo porcentaje de germinación fue distinto entre genotipos de ajonjolí, al evaluarse mediante la tercera metodología. Se propone a la tercera metodología como un protocolo de rutina para evaluar la reacción de germoplasma de ajonjolí a *M. phaseolina*.

Palabras clave: microesclerocios, pudrición carbonosa, resistencia genética, diversidad genética.

ABSTRACT

Macrophomina phaseolina is a soil-borne fungus affecting many cultivated species, such as sesame. There are many strategies of the disease management, but genetic resistance should be one of the most important. However, in order to use genetic resistance, identification of resistance's sources is necessary, and for that, successful inoculation protocols are needed. Objective of this research was to evaluate three inoculation methods of *M. phaseolina* on sesame, using 4 fungus isolates and 4 sesame genotypes. For all the methods, a split plot design with 4 replications was used. Main plots were represented by fungus isolates and subplots by sesame genotypes. For the first method, sesame plantlets were put into Petri dishes containing microsclerotia suspension; for the second method plantlets were put into Petri dishes containing the fungus growing on potato dextrose agar medium, and for the third, plantlets were grown into substrate mixed with the fungus growing into a Petri dish. Lesion length on plantlets and germination percentage were quantified in the three methods. All methods were successful for causing disease, however, second method was difficult to manage due to contamination problems, for that, data was not registered. Germination percentage was the only variable showing differences among sesame genotypes

(*) Recibido: 04-08-2012

Aceptado: 24-05-2013

¹ Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" Departamento de Ciencias Biológicas. UCLA. Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela. E-mail: hlaurentin@ucla.edu.ve, dasybelandrea@hotmail.com.

when third method was used. Third method is proposed as routine protocol for measuring sesame germplasm reaction to *M. phaseolina*.

Key words: microsclerotia, charcoal rot, genetic resistance, genetic diversity.

INTRODUCCIÓN

El ajonjolí es una planta a la cual se le ha propuesto como origen a India y Etiopía. Es un cultivo de importancia comercial en países africanos, asiáticos y americanos. India y China son los mayores productores, con poco más del 50% del total mundial (FAO 2012). La casi totalidad de producción de ajonjolí en el mundo se genera en países subdesarrollados (Laurentin *et al.* 2000). Es un cultivo del cual la información se ha generado fundamentalmente en países tropicales.

El ajonjolí es de gran importancia en Venezuela ya que ha sido utilizado por más de 60 años como alternativa para la rotación del cultivo de maíz en la zona denominada “granero de Venezuela”, en los alrededores de Turén en el estado Portuguesa.

En Venezuela se ha reportado la presencia de enfermedades que causan en algunos casos severos daños y pérdidas. Prácticamente desde el inicio de la siembra de ajonjolí en la Colonia Agrícola de Turén del estado Portuguesa, se han reportado enfermedades causadas por hongos del suelo, lo cual motivó la implementación de líneas de investigación conducentes a minimizar tales problemas (Pineda 2002). Estas enfermedades son causadas por un complejo de patógenos entre los que destaca *Macrophomina phaseolina*, hongo causante de la pudrición carbonosa de la raíz, que presenta una amplia distribución en los suelos de la zona referida. Este hongo ocasiona, bajo condiciones favorables, una considerable reducción en el peso del grano (hasta 65%) en plantas enfermas, esto se traduce en pérdidas en el rendimiento, que pueden ser mayores a 10% (Pineda y Avila 1988). *Macrophomina phaseolina* sobrevive en el suelo en forma de esclerocios, se ha contabilizado hasta 200 esclerocios/g en suelos sembrados con ajonjolí (Pineda *et al.* 1985). Estos esclerocios son formados en los tejidos del tallo de plantas infectadas, y son incorporados al suelo

junto con el material vegetal, donde persisten por un período de hasta 3 años (Dhingra y Sinclair 1978) y actúan como fuente de inóculo primario para próximos ciclos del cultivo. Siembras tardías en ajonjolí (diciembre-enero) implican mayor pudrición carbonosa de la raíz debido a aumento del estrés hídrico en las plantas y a las mayores temperaturas que se registran en la zona durante el año (Odvody y Dunkle 1979).

El control de la enfermedad se efectúa mediante prácticas culturales como el manejo de fechas de siembra (Hernández 1999), control biológico (Sandoval y López 2000), control químico (Pineda y Avila 1988) y desarrollo de cultivares resistentes (Mazzani *et al.* 1973). Esta última estrategia requiere del conocimiento de la interacción ajonjolí-*Macrophomina phaseolina* y la variabilidad intraespecífica de las especies involucradas (tanto el patógeno como el hospedero), para diseñar un programa de mejoramiento genético eficiente en la obtención de cultivares con mecanismos de defensa. El estudio de esta interacción requiere de metodologías eficaces en la inoculación del hongo sobre el germoplasma del cultivo. Reportes previos de esta interacción han sido realizados por Simosa y Delgado (1991) y El-Bramawy (2006). El objetivo del presente trabajo fue evaluar tres metodologías de inoculación de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) mediante la cuantificación de incidencia y severidad de la enfermedad provocada por cuatro aislamientos del hongo sobre cuatro genotipos de ajonjolí.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo

El trabajo fue realizado en el Laboratorio de Fitopatología del Decanato de Agronomía de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, ubicado en Tarabana, Cabudare, estado Lara.

Material vegetal

La interacción ajonjolí – *Macrophomina phaseolina* se evaluó sobre cuatro genotipos de ajonjolí del banco de germoplasma de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (Tabla 1), los cuales fueron seleccionados con base en la variabilidad genética existente entre ellos, reportada por Laurentin y Karlovsky (2007). Las semillas utilizadas pasaron por todos los tratamientos requeridos en un banco de germoplasma, incluyendo la desinfección con fungicida de contacto.

Aislamiento del hongo

Para la obtención de varios aislamientos del hongo se tomaron muestras vegetales de siembras comerciales en el estado Portuguesa, que presentaron sintomatología de pudrición carbonosa. Una vez obtenido el tejido enfermo, secciones pequeñas se colocaron en agar papa dextrosa (PDA) en cápsulas de Petri, se esperó el crecimiento micelial de *M. phaseolina* para transferir secciones de medio PDA con micelio y esclerocios a otra cápsula que también contenía PDA, operación que se repitió tantas veces como fue necesario para obtener aislamientos puros. De esta forma se obtuvieron cuatro aislamientos del hongo, provenientes de los sitios geográficos indicados en la Tabla 2.

Metodologías de inoculación

Primera metodología

El primer método de inoculación consistió en enfrentar a plántulas de una semana de edad a una suspensión de microesclerocios. La suspensión de microesclerocios se logró tal como lo señaló Laurentin (2007), se tomaron 2 g PDA modificado (4% de agar) sobre el cual estuvo creciendo *M. phaseolina* durante una semana. Este contenido de medio, micelio y microesclerocios fue macerado en 50 ml de agua destilada, se cuantificó con una lupa estereoscópica la cantidad de microesclerocios por unidad de volumen al tomar alícuotas de 50 µL para cada aislamiento. Posteriormente, la concentración fue ajustada a 300 microesclerocios por mililitro mediante la adición de agua destilada. Previo a la obtención de la suspensión de microesclerocios, se inició la obtención del material vegetal, el cual fue establecido directamente en las cápsulas de Petri que sirvieron como unidades experimentales. Para esto se utilizó un diseño de experimentos completamente al azar con 20 tratamientos (representados por las combinaciones entre cuatro cultivares de ajonjolí y cuatro aislamientos del hongo, además de testigos que fueron los cultivares de ajonjolí en ausencia del hongo) y 4 repeticiones. El arreglo de tratamientos fue en parcelas divididas, en el cual las parcelas principales (cápsulas de Petri) estuvieron representadas por los aislamientos, y las

Tabla 1. Genotipos de ajonjolí utilizados en la evaluación de la interacción con *Macrophomina phaseolina*

Genotipo	Descripción
43 x 32	Línea seleccionada del segundo ciclo de selección recurrente hacia altos rendimientos. La población original fue obtenida por el cruzamiento entre 50 introducciones exóticas (Laurentin <i>et al.</i> 2000)
UCLA 295 ; UCLA 37	Líneas élites del programa de mejoramiento genético de ajonjolí de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Origen desconocido
Maporal	Línea seleccionada del cultivar Etíope Arapatol (Mazzani <i>et al.</i> 1973).

Tabla 2. Coordenadas geográficas, altitud y localidad de los puntos en que fue colectado el material enfermo que originó los cuatro aislamientos de *M. phaseolina* utilizados.

Aislamientos	Latitud	Longitud	Altitud msnm	Localidad
36-2011	9° 07' 38,3'' N	68° 53' 19,8'' O	90	El Gateao
37-2011	9° 06' 34,1'' N	69° 02' 31,3'' O	96	El Playón
41-2011	9° 09' 4,9'' N	68° 54' 06'' O	100	Camino 8
2-2011	9° 18' 10,4'' N	69° 07' 13,9'' O	133	Carretera V, frente a PAI

subparcelas (mitad de las cápsulas de Petri) por los cultivares de ajonjolí. De esta manera, las unidades experimentales fueron cada una de las mitades de todas las cápsulas de Petri utilizadas. Se colocó un disco de papel absorbente de las mismas medidas de la cápsula, el cual fue humedecido con 5 ml de agua destilada. En cada unidad experimental se colocaron 5 semillas de cada cultivar. Las 40 cápsulas con su respectivo disco de papel absorbente fueron previamente esterilizadas mediante autoclave (121°C, 103 kPa, durante 20 min) junto al medio y el agua destilada utilizada para la germinación de las semillas. Al pasar ocho días, con las plántulas en desarrollo, se colocaron 10 semillas más de cada cultivar. En este momento se dispensaron en cada cápsula de Petri 3 ml de la suspensión con microesclerocios, a excepción de las cápsulas testigo; y se observaron las plantas diariamente. Cuando se empezaron a visualizar lesiones, se midió la longitud de la lesión en la raíz y en el tallo como indicadores de la severidad. Además, en cada unidad experimental, se registró el porcentaje de germinación de las 10 semillas colocadas.

Segunda metodología

En esta metodología se enfrentaron las plántulas a las estructuras de propagación que el hongo desarrolló en cápsulas de Petri con PDA. Para cada uno de los aislamientos, se tomó un disco de 1 cm de diámetro con PDA, micelio y microesclerocios. Estos fueron colocados en cápsulas de Petri con medio PDA de tal manera de tener suficiente material en crecimiento activo para establecer el ensayo. Al igual que el anterior, se ejecutó según un diseño completamente al azar, con un arreglo de tratamientos en parcelas divididas, con 20 tratamientos y 4 repeticiones. Las parcelas principales estuvieron representadas por los aislamientos y las subparcelas por plántulas de los cultivares de ajonjolí. Estas plántulas fueron obtenidas previamente mediante la colocación de semillas en cápsulas de Petri con papel absorbente. Una vez obtenidas las plántulas, lo cual se logró a los 8 días, se colocaron en las subparcelas. Al colocar las plántulas, ya la cápsula de Petri estaba totalmente cubierta por el hongo. Sobre las plántulas se cuantificó la longitud de la lesión en raíz y tallo como índices de la severidad de la

enfermedad, desde el momento en que empezaron a aparecer los síntomas de la enfermedad.

Tercera metodología

Se estableció un ensayo con un diseño de tratamiento de parcelas divididas con cuatro repeticiones. Se llenaron 16 bandejas de plástico transparente de 10 x 19 x 5 cm con un sustrato constituido por tierra negra y arena (proporción 2:1) esterilizado en autoclave (121°C, 103 kPa, durante 1 h), mezclada con el contenido de una cápsula de Petri con *Macrophomina phaseolina* que creció en medio PDA durante 2 semanas. Cuatro bandejas fueron llenadas con la mezcla de cada uno de los cuatro aislamientos utilizados, y se utilizaron cuatro adicionales como el testigo (se llenaron con el sustrato esterilizado sin hongo). El sustrato fue humedecido por una única vez con 20 ml de agua destilada para permitir la germinación de las semillas. Las bandejas fueron mantenidas a temperatura ambiente. Las parcelas principales estuvieron representadas por los aislamientos (repetidas 4 veces); mientras que las subparcelas estuvieron representadas por 4 secciones de cada bandeja, en la cual se sembraron 10 semillas de genotipos. Las variables evaluadas fueron longitud de lesión en tallo (desde el momento en que se presentó la enfermedad) y porcentaje de germinación. La longitud de lesión en raíz no se cuantificó para mantener las plantas vivas para próximas evaluaciones.

Análisis Estadístico

Para cada una de las variables registradas se realizó un análisis de varianza previa comprobación de sus supuestos. Posteriormente se realizó la prueba de medias de Tukey en cada una de las fuentes de variación que resultaron con diferencias estadísticas. Estos análisis se efectuaron con el programa Statistix for Windows v.8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las tres metodologías aplicadas para lograr la infección de las plantas por *Macrophomina phaseolina* fueron efectivas. Todas causaron la enfermedad en las plantas inoculadas. Sin embargo, la facilidad de manejo y la identificación

de la virulencia y severidad de cada uno de los aislamientos sobre los genotipos evaluados varió entre metodologías. Además, el momento de medir las variables propuestas fue a 4 días para la primera y segunda metodología y a 7 días para la tercera.

Para la primera metodología, las variables longitud de lesión de raíz y longitud de lesión de tallo indican que la inoculación fue efectiva, todas las plantas que tuvieron contacto con el propágulo inicial del hongo presentaron la enfermedad con un rango de longitud de la lesión de 4,1 a 6,3 mm para raíz y 6,8 a 10,4 mm para tallo. La longitud de las lesiones no mostró diferencias estadísticas entre aislamientos del hongo (Figuras 1 y 2). Para estas variables no se detectaron diferencias ($P > 0,05$) entre los cultivares de ajonjolí evaluados. Ante el ataque de *Macrophomina phaseolina* en estas condiciones de inoculación, los cuatro cultivares presentaron la misma susceptibilidad a enfermarse, se infiere que poseen los mismos genes relacionados con la respuesta que la planta pueda tener ante la presencia del hongo.

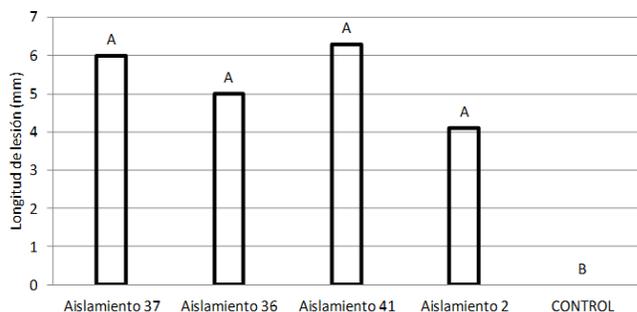


Figura 1. Longitud de lesión de raíz de cuatro genotipos de ajonjolí en presencia de cuatro aislamientos de *M. phaseolina*, cuantificado mediante la primera metodología. Las columnas identificadas con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

El porcentaje de germinación fue afectado ($P < 0,01$) por la interacción Genotipo x Aislamiento (Figura 3). Germinación de 100% para los cuatro genotipos en ausencia del hongo, indica que cualquier alteración en esta variable en semillas inoculadas es consecuencia de la acción del hongo. El aislamiento 2 causó disminución significativa ($P < 0,05$) en la germinación de los genotipos con respecto al control. El genotipo UCLA37 presentó valores más altos de germinación, su germinación fue estadísticamente

igual al control, excepto al ser enfrentado al aislamiento 2; mientras que 43x32 fue más afectado en esta variable, se redujo ($P < 0,05$) su germinación con respecto al control al ser inoculado con tres de los cuatro aislamientos del hongo.

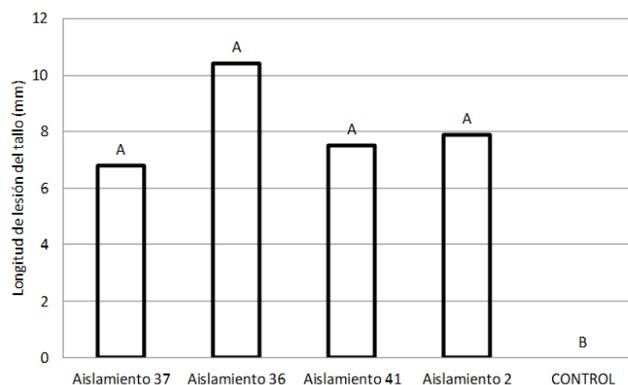


Figura 2. Longitud de lesión de tallo de cuatro genotipos de ajonjolí en presencia de cuatro aislamientos de *M. phaseolina*, cuantificado mediante la primera metodología. Las columnas identificadas con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

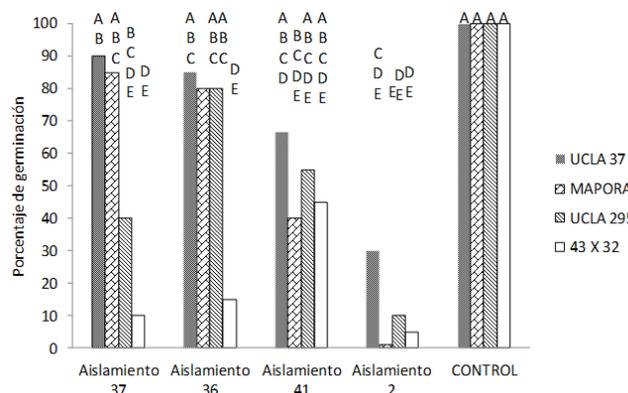


Figura 3. Porcentaje de germinación de cuatro genotipos de ajonjolí en presencia de cuatro aislamientos de *M. phaseolina*, cuantificado mediante la primera metodología. Las columnas identificadas con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

La segunda metodología fue complicada de manejar en relación al control de la contaminación con microorganismos. Esta metodología requería de medios de cultivo muy fácilmente contaminables, las unidades experimentales que actuaron como control presentaron plantas enfermas. Ante tal situación, y a pesar que se registraron en todas las unidades experimentales lesiones en raíz y tallo, los resultados no se reportan debido a la falta de confiabilidad en los

datos, puesto que no es posible asegurar que las plantas inoculadas hayan sufrido la enfermedad causada por *M. phaseolina*.

En la tercera metodología se identificaron diferencias ($P \leq 0,01$), la variable longitud de lesión en tallo fue afectada por aislamiento del hongo, lo cual es explicado por las diferencias existentes entre el testigo y las plantas inoculadas (Figura 4). Las longitudes de la lesión fueron mayores que las reportadas en la primera metodología, estuvieron en el rango desde 9 hasta 19 mm. Los cuatro genotipos de ajonjolí evaluados no presentaron diferencias en longitud de la lesión del tallo, lo cual fue similar en la primera metodología.

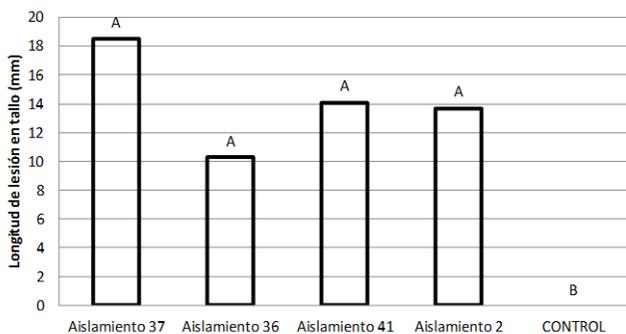


Figura 4. Longitud de lesión de tallo de cuatro genotipos de ajonjolí en presencia de cuatro aislamientos de *M. phaseolina*, evaluado en la tercera metodología. Las columnas identificadas con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

En relación al porcentaje de germinación, a diferencia de la primera metodología, no se identificó significación estadística para la interacción Genotipos de Ajonjolí x Aislamientos del Hongo, pero se presentaron diferencias ($P \leq 0,05$) entre genotipos de ajonjolí (Figura 5) y entre aislamientos del hongo (Figura 6). Sólo en el genotipo 43x32 se redujo significativamente el porcentaje de germinación al ser comparado con el control. El aislamiento 2 fue más virulento, al disminuir significativamente el porcentaje de germinación con respecto al control. Se evidencia que el genotipo 43x32, es atacado por *M. phaseolina* en estado de plántula, su capacidad de respuesta de defensa es igual que para los otros genotipos, pero si es atacada la semilla, se afecta más que los otros genotipos. El aislamiento 2 tuvo mayor capacidad de infectar semilla.

Pineda *et al.* (1985) también encontraron variabilidad entre genotipos de ajonjolí en cuanto a la reducción en la germinación producida por el ataque de *M. phaseolina*; sin embargo, Simosa y Delgado (1991) no encontraron efecto de la infección en la semilla sobre la germinación en ajonjolí.

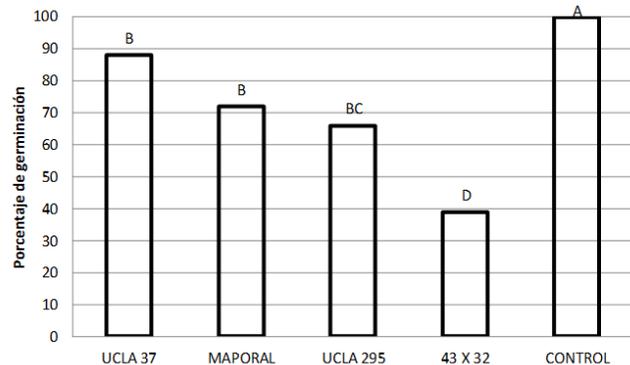


Figura 5. Porcentaje de germinación de 4 genotipos de ajonjolí en presencia de aislamientos de *M. phaseolina*, determinados por la tercera metodología. Las columnas identificadas con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

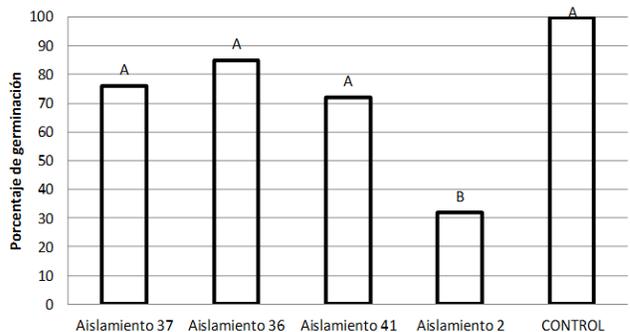


Figura 6. Porcentaje de germinación de ajonjolí considerando 4 aislamientos del hongo *M. phaseolina*, determinados por la tercera metodología. Las columnas identificadas con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Las tres metodologías aplicadas fueron eficaces en enfermar a las plantas de ajonjolí. Muñoz *et al.* (2005), al evaluar diferentes aislamientos de *M. phaseolina* en diferentes especies vegetales, concluyeron que el cultivo de ajonjolí fue más afectado. La segunda metodología no generó resultados confiables debido a la contaminación que se registró en las unidades experimentales, como consecuencia de la dificultad de manejar material biológico sobre un medio de cultivo ya preparado. La falta de diferencias estadísticas entre genotipos de ajonjolí o de

aislamientos de *M. phaseolina* en la longitud de lesión de tallo y raíz dificulta la recomendación de una metodología en particular; sin embargo, se evidenciaron diferencias en porcentaje de germinación entre genotipos de ajonjolí. Debido a que la magnitud de daño sobre la semilla fue distinta según la metodología aplicada, se afirma que la interacción entre planta y patógeno es compleja y depende de la fuente y concentración de inóculo inicial (microesclerocios, micelio y la relación entre ambos). La concentración de microesclerocios y micelio determina la severidad con que actúe el patógeno (Simosa y Delgado 1991), pues la planta puede tener la capacidad de responder con resistencia hasta una magnitud determinada de inóculo inicial, o el patógeno puede tender a provocar cierta magnitud de la enfermedad, dependiendo de la fuente de inóculo. Al colocar otro factor como medio de cultivo y suelo, la interacción será aún más compleja.

Debido a lo anteriormente expuesto, la tercera metodología se asemejaría más a las condiciones de campo, donde se encontrarían las plantas de ajonjolí en un suelo con microesclerocios y micelio de *M. phaseolina*. En tal sentido, se sugiere un sustrato mezclado con propágulos del hongo, como más idóneo para evaluar el comportamiento de materiales de ajonjolí en presencia del hongo.

REFERENCIAS

- Dhingra, O. and Sinclair, J. 1978. Biology and Pathology of *Macrophomina phaseolina*. Universidad Federal de Vicosa, Vicosa, Brazil. 166 p.
- El-Bramawy, M. 2006. Field resistance of crosses of sesame (*Sesamum indicum* L.) to charcoal root rot caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Plant Protection Science 42:66-72.
- FAO, 2012. FAOstat databases (<http://faostat.fao.org>). [agosto de 2012].
- Hernández, C. 1999. Posibilidades de manejo de las fechas de siembra dentro de un sistema de control integrado de la pudrición carbonosa provocada por *Sclerotium bataticola* Taub. (Butler) en girasol. Cuadernos de Fitopatología 63:166-168.
- Laurentin, H. 2007. Genetic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.): molecular markers, metabolic profiles and effect of plant extracts on soil-borne pathogenic fungi. Tesis Doctoral. Universidad Georg-August, Göttingen, Alemania.
- Laurentin, H. and Karlovsky, P. 2007. AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters. Genet Resour Crop Evol. 54:1437-1446.
- Laurentin, H., Layrisse, A. y Quijada, P. 2000. Evaluación de dos ciclos de selección recurrente para altos rendimientos de semilla en una población de ajonjolí. Agronomía Tropical 50:521-535.
- Mazzani, B., Nava, C., Martínez, A. y Layrisse, A. 1973. Maporal, una nueva variedad de ajonjolí para los Llanos Occidentales. Agronomía Tropical 23:501-508.
- Muñoz, C., Hernández, M. y Pérez, M. 2005. Análisis patogénico y genético de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. En diferentes hospedantes. Revista Mexicana de Fitopatología 23:11-18.
- Odvody, G. and Dunkle, L. 1979. Charcoal stalk rot of sorghum: effect of environment in host-parasite relations. Phytopathology 126:343-352.
- Pineda, J. 2002. Enfermedades del ajonjolí. Algunas medidas de control. II Curso sobre producción de ajonjolí, soya y otras leguminosas. ASOPORTUGUESA, UCLA y FONAIAP. 114 p.
- Pineda, J. y Avila, J. 1988. Alternativas para el control de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum* patógenos del ajonjolí

(*Sesamum indicum* L.). *Agronomía Tropical* 38:79-84.

Pineda, J., Nass, H. y Rodríguez, H. 1985. Efecto de la densidad de inóculo de (*Macrophomina phaseolina*) en la infección de plántulas de ajonjolí. *Agronomía Tropical*. 35 (4-6): 133-138.

Sandoval, I. y López, M. 2000. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A34 hacia *Macrophomina phaseolina* y otros patógenos fúngicos del frijol. *Fitosanidad* 4:69-72.

Simosa, N. and Delgado, M. 1991. Virulence of four isolates of *Macrophomina phaseolina* on four sesame (*Sesamum indicum*) cultivars. *Fitopatología Venezolana* 4: 20-23.