

FACULTAD DE AGRONOMÍA
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

comisión de estudios de postgrado



POSTGRADO EN
AGRONOMÍA

EFFECTO DE LA DOSIS Y EL MOMENTO DE APLICACIÓN DE *Trichoderma harzianum* Rifai SOBRE EL CONTROL DE *Sclerotium rolfsii* Sacc. Y DE *Fusarium oxysporum* f. *sp. lycopersici* EN TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) CV. RIO GRANDE BAJO CONDICIONES *in vivo*

ING. AGR. HELEN YNGBORG PÉREZ PIVAT

MARACAY, MARZO 2008



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
POSTGRADO EN AGRONOMÍA
PROTECCIÓN VEGETAL**



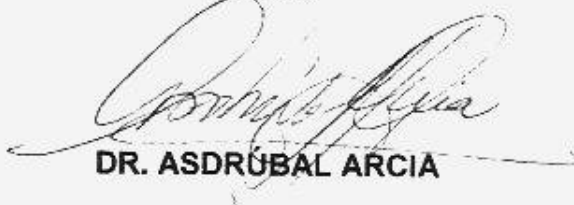
**EFFECTO DE LA DOSIS Y EL MOMENTO DE APLICACIÓN DE *Trichoderma harzianum* Rifai SOBRE EL CONTROL DE *Sclerotium rolfsii* Sacc. Y DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* EN TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) CV.
RIO GRANDE BAJO CONDICIONES *in vivo***

ING. AGR. HELEN YNGBORG PÉREZ PIVAT

MARACAY, MARZO 2008

**TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO FINAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE *Magister Scientiarum* EN AGRONOMÍA QUE OTORGA
LA UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA**

TUTOR



DR. ASDRÚBAL ARCIA

COMITÉ ASESOR



DRA. NELLY SANABRIA DE A.

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
POSTGRADO EN AGRONOMÍA
MARACAY

VEREDICTO

Quienes suscriben, Miembros del Jurado designado por el Consejo de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela para examinar el Trabajo de Grado presentado por la ciudadana **HELEN YNGBORG PÉREZ PIVAT**, Cédula de Identidad No. **15.274.519**, bajo el título "**EFECTO DE LA DOSIS Y EL MOMENTO DE APLICACIÓN DE *Trichoderma harzianum* Rifai SOBRE EL CONTROL DE *Sclerotium rolfsii* Sacc. Y DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* EN TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) CV. RÍO GRANDE BAJO CONDICIONES *in vivo***", a los fines de cumplir con el requisito legal exigido para optar al grado de **Magíster Scientiarum en Agronomía**, dejan constancia de lo siguiente:

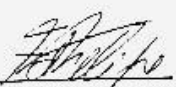
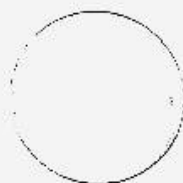
1. Leído como fue dicho Trabajo de Grado por cada uno de los Miembros del Jurado, éste fijó el día miércoles 26 de marzo de 2008, a las 3:00 p.m., para que el autor lo defendiera en forma pública, lo que éste hizo en el Salón "A" del Postgrado en Agronomía, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió satisfactoriamente las preguntas que le fueron formuladas por el Jurado, todo ello conforme a lo dispuesto en los Artículos 45, 47, 50, 51, 52 y 53 del Reglamento de Estudios de Postgrado vigente.
2. Finalizada la defensa pública del Trabajo de Grado, el Jurado decidió aprobarlo con la valoración de **SUFICIENTE** por considerar, sin hacerse solidario de las ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado. Para dar este Veredicto el Jurado estimó que la obra examinada representa un aporte al conocimiento en el área objeto de estudio, específicamente en cuanto a las dosis y tiempo de aplicación del antagonista usado en condiciones controladas, lo cual debe ser una referencia obligada para el control de las enfermedades consideradas.

En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, en Maracay a los veintiséis días del mes de marzo de dos mil ocho, dejándose también constancia de que, conforme en la normativa jurídica vigente, actuó como Coordinador del Jurado, el Tutor Dr. Miguel Asdrúbal Arcia.

FIRMAN CONFORMES



Dr. MIGUEL ASDRÚBAL ARCIA
Coordinador
C.I. No. 1.721.795



Dr. EDMUNDO FELIPE
C.I. No. 2.830.085



Dra. DILCIA ULACIO
C.I. No. 7.576.582

Zully
26/03/08

DEDICATORIA

*A la memoria de mis abuelos **Joseph Pivat** e **Yngeborg Fehlinger** y mi tía **Heidi Pivat**, que permanecen vivos y presentes en todos y cada uno de los días de mi vida... con todo mi amor les dedico este trabajo. Demostraron que con fe, esfuerzo, dedicación, constancia y amor, los sueños pueden hacerse realidad y las metas son posibles de alcanzar. Las tres estrellas más brillantes del firmamento son sin duda alguna ustedes, los que iluminan mi camino y resplandecen dentro de mi corazón ahora y para siempre.*

*A la memoria del **Dr. Eduardo Ortega Cartaya**, quien en vida fue un gran investigador en el área agrícola, una fuente de inspiración en mi carrera profesional, un ejemplo de amigo, compañero, trabajador incansable, abnegado, responsable, un ejemplo a seguir. Siempre te recordaré con gran aprecio, ahora estás iluminando con tu luz una estrella del cielo, como siempre iluminaste con alegría y bondad el camino de quienes tuvimos la dicha de conocerte.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios y mi Señor Jesucristo por ser siempre mi guía, mi norte, por estar siempre conmigo y darme fe y esperanza para lograr todas mis metas y ser mejor cada día.

A mi Virgen Milagrosa, por estar conmigo siempre, aún en los momentos más difíciles, por darme paz, fuerza, esperanza y fe para seguir adelante y darme la certeza de que con fe todo se puede lograr.

A mi madre, Margarita, por estar siempre a mi lado, por compartir todo conmigo, por sus consejos, apoyo, cariño, amistad y amor incondicional, por siempre confiar en mí y darme seguridad para lograr mis deseos, sueños y metas, como este que hoy se hace realidad y los que aún faltan.

A mi padre, Eduardo, por darme su apoyo y cariño a lo largo de mi vida y carrera, por ayudarme en este proyecto que ya hoy es una realidad.

A mi hermana Isis, mi segunda madre y mi amiga, por su ayuda en los análisis estadísticos de este trabajo y ante todo por entenderme y quererme como soy, por ser mi complemento, por siempre brindarme su apoyo y comprenderme, por ser la mejor hermana del mundo.

A la Universidad Central de Venezuela, la casa que vence las sombras, por ser la casa donde se cumplen los sueños como el que hoy se hace realidad.

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela por otorgarme la Beca Académica con la cual fue posible la realización de la Maestría y brindarme la maravillosa oportunidad de a la par de llevar a cabo mis estudios de postgrado, ejercer la docencia e investigación en mi área de formación.

Al Prof. Asdrúbal Arcia, por confiar en mí para la realización de este trabajo, por su apoyo y asesoría durante la realización del mismo, por sus sabios y valiosos consejos, por compartir su valiosa experiencia y conocimientos, y por brindarme siempre su amistad y aprecio. Que Dios lo bendiga.

A la Profa. Nelly Sanabria de Albarracín, por su valiosa asesoría a lo largo de la realización de este trabajo, por su disposición siempre colaboradora, por compartir sus conocimientos y por brindarme su amistad, aprecio y apoyo.

Al Prof. Franklin Chacín, Decano de la Facultad de Agronomía, por brindarme su confianza, aprecio, apoyo y amistad.

Al Prof. Luis Subero, por brindarme su amistad, estima y aprecio, por sus sabias palabras, su apoyo y compartir su experiencia de manera desinteresada, por su disposición siempre atenta y colaboradora. Que Dios lo bendiga.

A los Profesores Gustavo Trujillo, Yonis Hernández y Miriam Brito, por brindarme su amistad, aprecio y apoyo y compartir sus valiosos conocimientos de manera siempre amable y atenta.

A los Profesores Damelis Jáuregui, Mercedes Castro, Marina García, Marlene Lapp, Romelia Parra, Nancy Mariño, María Ferrarotto, Lorena Guevara y Luis Hernández Chong, por brindarme su amistad, aprecio y apoyo.

A la Profesora Thirza Ruiz, por brindarme su confianza, apoyo y amistad.

Al Departamento de Botánica Agrícola, en especial al personal de las Cátedras de Fitopatología y Morfoanatomía Vegetal, por su apoyo y amistad.

A las Srtas. Denise, Elida y Sra. Mildred, Secretarías del Dpto. e Instituto de Botánica Agrícola, por su atención siempre colaboradora, amable y atenta.

Al personal que labora en la Clínica de Enfermedades de Plantas de la Sección de Fitopatología por su amable colaboración.

A los Profesores Gustavo Rodríguez, Edmundo Felipe, Tibayde Sánchez, Luis Bautista y el personal de la E.E. EXPERTA, por su amistad, aprecio y confianza.

A los Profesores Leonardo Taylhardat, Marta Barrios y Gisela García, por su guía, apoyo y disposición siempre colaboradora y atenta para los trámites a realizar ante el CDCH y por su amistad y aprecio.

A las Sras. María Carlina y Mercedes, Secretarías de la Coordinación de Investigación, por su atención siempre amable, cordial, atenta y colaboradora.

Al personal que labora en el CDCH, en especial a las Sras. María Elena, Belkis, Giovannina e Hilda por su atención siempre amable, cordial, atenta y colaboradora.

A la Profesora Jocelyne Ascencio y al personal que labora en la Comisión de Estudios de Postgrado, en especial a la Sra. Jacqueline y Srta. Karina por su atención amable y cordial.

A los Profesores Luis T. Pino Pérez y Deyanira Lobo, por su guía y disposición siempre colaboradora y atenta para los trámites inherentes a la Beca Académica y por su amistad y aprecio.

A los Profesores Gustavo Vargas, Francisco Zapata, Miriana Cerovich y Catalina Ramis, Coordinadores del Postgrado en Agronomía durante el desarrollo de mis estudios de Maestría, por su apoyo y aprecio.

Al Prof. Mauro Albarracín, Coordinador de Seminarios del Postgrado en Agronomía por su amistad y aprecio.

A la Sra. Zully y el Sr. Adolfo, del Postgrado en Agronomía, por su atención siempre amable, atenta, cordial y colaboradora.

Al personal que labora en el Departamento de Administración de la Facultad de Agronomía, en especial a la Sra. Josefina, Sr. Argenis y Srta. Irasmin, por su atención siempre atenta y colaboradora para los trámites a realizar ante dicha instancia.

A los Ing. Agr. Amado Rondón, Alfonso Ordosgoitti y Eustaquio Arnal, por su aprecio y por compartir sus conocimientos y valiosas experiencias en el campo agrícola de manera siempre amable, atenta y desinteresada.

Al Sr. Manuel González, por su valiosa, amable y desinteresada colaboración con el préstamo de una balanza y estufa, que fueron empleadas en la fase final de este trabajo y por su valiosos consejos.

Al Sr. Carlos López, por su valiosa y atenta colaboración en las labores de traslado de las plantas al umbráculo definitivo y acondicionamiento del mismo.

A mis compañeros del Postgrado en Agronomía, con los que compartí buenos momentos a lo largo de mis estudios de Maestría.

A mis estudiantes, por inspirarme a ser mejor día a día y compartir con ellos todo lo que he aprendido y continúo aprendiendo en este maravilloso mundo de la investigación y docencia en Fitopatología y Morfoanatomía Vegetal.

A todas aquellas personas que, de una u otra forma, hicieron posible este sueño que hoy se hace realidad.

“Gracias”
HELEN YNGBORG PÉREZ PIVAT

RESUMEN

En Venezuela, la mayoría de los suelos destinados a la producción de hortalizas se encuentran altamente contaminados con los hongos *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Sclerotium rolfsii* Sacc. El primero, ha ocasionado en las plantaciones de tomate, reducciones en la producción de hasta un 60%, mientras que el segundo es patógeno de más de 180 especies de plantas, siendo además la supervivencia del mismo en el suelo de extrema importancia epidemiológica. A pesar de que las estrategias de control para ambos hongos suelen ser distintas, se cuenta en la actualidad con hongos del género *Trichoderma*, efectivos agentes de control biológico de enfermedades en los cultivos. La importancia del control de estos patógenos para disminuir sus efectos sobre el tomate cv. Río Grande, radica en que éste se destina tanto al consumo fresco como al procesamiento industrial, constituyendo además la fuente de sustento para los agricultores dedicados a su producción, que requieren de alternativas de control cónsonas con el medio ambiente, que no pongan en peligro su salud y que controlen eficientemente los patógenos que afectan sus cultivos. Por estas razones, se planteó la realización de un estudio cuyo objetivo fundamental fue evaluar el efecto de la dosis y el momento de aplicación de *Trichoderma harzianum* sobre el control de *S. rolfsii* Sacc. y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Río Grande bajo condiciones *in vivo*. Este trabajo, se llevó a cabo en la E.E. EXPERTA, en umbráculo ubicado en la Urb. El Piñal - El Limón y en la Clínica de Plantas de la Cátedra de Fitopatología - Dpto. de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía U.C.V. Maracay. Se emplearon 160 plantas de tomate cv. Río Grande, el cual es susceptible a ambos patógenos y es ampliamente cultivado en el Edo. Aragua y el país. Se inocularon 80 plantas con cada patógeno, 20 de ellas fueron empleadas como testigo para cada tratamiento (un testigo inoculado sin aplicación del biocontrolador y un testigo sin inocular) y a las 60 restantes se les aplicaron los tratamientos correspondientes. Luego de 30 días se realizó el trasplante en condiciones de umbráculo. Se llevaron a cabo ensayos para determinar la mejor dosis del hongo *T. harzianum* Rifai sobre el control de ambos patógenos en tomate, de acuerdo a las siguientes concentraciones: 1×10^5 UFC/g, 1×10^4 UFC/g y 1×10^2 UFC/g. El hongo biocontrolador empleado fue *T. harzianum* (Tricobiol®). Para determinar la mejor época de aplicación de éste, se probaron las diferentes dosis indicadas como suspensión, en tres épocas distintas: semillero, trasplante y semanalmente, discriminados de acuerdo a siete tratamientos, aplicados para cada patógeno por separado. Un día después del trasplante se realizó a la inoculación con cada patógeno. Se empleó una cepa de *S. rolfsii* Sacc. procedente de El Sombrero, Edo. Guárico inoculando a razón de 10 esclerocios/planta y una cepa de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 2 procedente de El Conde, Edo. Aragua, empleando una concentración de 10^6 conidios/ml. El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con 10 repeticiones por tratamiento. Para el análisis de varianza, se aplicó la prueba de medias de Tukey, a fin de determinar los mejores tratamientos aplicados. Para aquellas variables que no cumplieron los supuestos básicos, se procedió a realizar un análisis de varianza vía no paramétrica (Kruskal-Wallis). Se aplicaron además las pruebas de correlación de Spearman y Pearson. Se llevó a cabo un seguimiento del desarrollo de las plantas de tomate cv. Río Grande desde el semillero hasta la cosecha de los frutos, momento en el cual fueron medidas variables cuantitativas de la planta. El hongo *T. harzianum* Rifai, demostró un efectivo control sobre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, con la aplicación de las tres dosis evaluadas en los tres momentos de aplicación: semillero, trasplante y semanal, garantizando además la menor mortalidad de plantas. Para las variables de frutos, los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y trasplante); obteniéndose frutos de mayor calidad y mayores rendimientos. En cuanto al hongo *S. rolfsii* Sacc., todas las concentraciones de *T. harzianum* Rifai utilizadas, en sus diferentes momentos de aplicación, excepto el tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* Rifai aplicado en semillero, trasplante y semanal) ofrecieron una eficiente protección a las plantas inoculadas desde el semillero hasta la cosecha, hasta por más de cinco meses después del trasplante. Para las variables de frutos, fue en el caso del tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y trasplante), donde se observó mayor número de frutos por planta y mayores rendimientos, pese a encontrarse un 20% de mortalidad. Con la incorporación de *T. harzianum* Rifai en el cultivo de tomate cv. Río Grande, no sólo se disminuye la incidencia de las enfermedades causadas por los patógenos bajo estudio, sino que se potencia la productividad de las plantas; además de ofrecer al consumidor productos agrícolas más sanos, llevando a cabo una producción sin la aplicación de productos químicos y más cónsona con el medio ambiente.

Palabras clave: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Sclerotium rolfsii*, *Trichoderma harzianum*, control biológico, época de aplicación, dosificación.

ABSTRACT

In Venezuela, most of the soils dedicated to the vegetables production are highly polluted with the fungi *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Sclerotium rolfsii* Sacc. The first one, has caused reductions in the production until 60% in the tomato crops, while the second is pathogen of more than 180 species of plants, being also the survival of the same one in the soil extreme epidemic importance. Although the control strategies for both fungus are usually different, now this control is possible with the application of *Trichoderma*, effective agents of biological control of plants diseases. The importance of the control of these pathogen in tomato cv. Río Grande, is that this crop is dedicated to the fresh consumption as to the industrial prosecution, also constituting the source of sustenance for the farmers that require alternatives of control agreement with the environment, without danger for the health and with efficiently control of the pathogen that affect this crop. For these reasons, this work evaluate the effect of the dose and the moment of application of *Trichoderma harzianum* over the control of *S. rolfsii* Sacc. and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Río Grande under alive conditions. This work, was carried out in the E.E. EXPERTA, in shelter located in the Urb. El Piñal – El Limón and in the Clínica de Enfermedades de Plantas – Sección de Fitopatología - Dpto. Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, U.C.V. Maracay. 160 plants of tomato cv. Río Grande were used., this cultivar is susceptible to both pathogen ones and it is broadly cultivated in the Edo. Aragua and the country. 80 plants were inoculated with each pathogen, 20 of them were employees as control for each treatment (a control inoculated without application of *Trichoderma* and a control without inoculating) and in the 60 remaining plants were applied the corresponding treatments. After 30 days the plants were transplanting under shelter conditions. Rehearsals to determine the best dose of the fungus *T. harzianum* Rifai on the control of both pathogen in tomato were carry out, according to the following concentrations: 1×10^6 CFU/g, 1×10^4 CFU/g and 1×10^2 CFU/g. The fungus used was *T. harzianum* (Tricobiol®). To determine the best time in application of this, the different suitable doses were proven as suspension, in three different times: nursery, transplanting and weekly, discriminated against according to seven treatments, applied for each pathogen one for separate. One day after the transplanting was carried out the inoculation with each pathogen. The fungus *S. rolfsii* Sacc was used. coming from El Sombrero, Edo. Guárico inoculating to reason of 10 sclerotia/plant and the fungus *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 coming from El Conde, Edo. Aragua, using a concentration of 10^6 conidia/ml. The experimental design was totally randomized, with 10 repetitions for treatment. For the variance analysis, the test of Tukey was applied, to determine the best applied treatments. For those variables that didn't complete the basic suppositions, proceeded to carry out a not parametric variance analysis (Kruskal-Wallis). They were also applied the tests of correlation of Spearman and Pearson. It was carried out a pursuit of the development of the plants of tomato cv. Río Grande from the nursery until the crop of the fruits, moment in which quantitative variables of the plant were measured. The fungus *T. harzianum* Rifai, demonstrated an effective control of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, with the application of the three doses evaluated in the three application moments, also guaranteeing the smallest mortality of plants. For the variables of fruits, the best results were obtained with the treatment 4 (1×10^4 CFU/g of *T. harzianum* applied in nursery and transplanting); being obtained fruits of more quality and bigger yields. As for the fungus *S. rolfsii* Sacc., all the concentrations of *T. harzianum* Rifai, in their different application moments, except the treatment 1 (1×10^2 UFC/g of *T. harzianum* Rifai applied in nursery, transplanting and weekly) they offered an efficient protection to the plants inoculated from the nursery until the crop, until for more than five months after transplanting. For the variables of fruits, in the case of the treatment 4 (1×10^4 UFC/g of *T. harzianum* applied in nursery and transplanting), where bigger number of fruits was observed by plant and bigger yields, in spite of being 20% of mortality. With the incorporation of *T. harzianum* Rifai in the tomato crop cv. Río Grande, diminishes the incidence of the diseases caused by the pathogen under study, and the productivity of the plants is also developed; offering to the consumer healthier agricultural products, carrying out a production without the application of chemical products and more agreement with the environment.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
TABLA DE CONTENIDO	ix
INDICE DE CUADROS	xii
INDICE DE FIGURAS	xiv
INDICE DE TABLAS	xix
I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- OBJETIVOS	4
III.- REVISIÓN DE LITERATURA	6
3.1.- Características del cultivo de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> L.)..	6
3.1.1.- Generalidades.....	6
3.1.2.- Variedades.....	7
3.1.3.- Producción.....	8
3.2.- Enfermedades	9
3.2.1.- Marchitez por <i>Fusarium</i> (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>).	9
3.2.1.1.- Descripción de la Enfermedad.....	9
3.2.1.1.1.- Generalidades.....	9
3.2.1.1.2.- Síntomas.....	9
3.2.1.2.- Organismo Causal.....	10
3.2.1.2.1.- Características.....	10
3.2.1.2.2.- Razas.....	11
3.2.1.2.3.- Ciclo de la Enfermedad y Epifitología.....	12
3.2.1.2.4.- Control.....	15
3.2.2.- Podredumbre blanca (<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.)	16
3.2.2.1.- Descripción de la Enfermedad.....	16
3.2.2.1.1.- Generalidades.....	16
3.2.2.1.2.- Síntomas.....	18
3.2.2.1.3.- Organismo Causal.....	20
3.2.2.1.3.1.- Características.....	20
3.2.2.1.3.2.- Ciclo de la Enfermedad y Epifitología.....	21
3.2.2.1.3.3.- Control.....	22
3.3.- <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai como agente de control biológico	23
3.3.1.- Generalidades sobre el Control Biológico.....	23
3.3.1.1.- Ventajas del Control Biológico.....	25
3.3.1.2.- Desventajas del Control Biológico.....	25
3.3.2.- El Control Biológico con el uso de <i>T. harzianum</i>	26
3.3.2.1.- Mecanismo de Acción.....	27
3.3.2.2.- Formulaciones.....	31
3.3.2.3.- Ventajas del Control Biológico con el Uso de <i>Trichoderma</i>	33

3.3.2.4.- Experiencias de Control de hongos de los géneros <i>Fusarium</i> y <i>Sclerotium</i> con el Uso de <i>T. harzianum</i> Rifai.....	34
3.3.2.5.- Experiencias de Control de otros hongos patógenos con el Uso de <i>T. harzianum</i> Rifai.....	38
IV.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
4.1.- Material Vegetal.....	43
4.2.- Preparación del Semillero y Transplante.....	44
4.3.- Procedencia de las Cepas.....	46
4.3.1.- Hongos Fitopatógenos.....	46
4.3.2.- Hongo Biocontrolador.....	46
4.4.- Dosificación de <i>T. harzianum</i>.....	46
4.5.- Época de Aplicación de <i>T. harzianum</i>.....	46
4.5.1.- Semilleros.....	47
4.5.2.- Transplante.....	47
4.5.3.- Aplicaciones semanales.....	47
4.6.- Inoculación de Plantas.....	49
4.6.1.- Inoculación con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	49
4.6.1.1.- Preparación del Inóculo.....	49
4.6.1.2.- Inoculación.....	49
4.6.2.- Inoculación con <i>S. rolfsii</i>	49
4.7.- Diseño de Experimento.....	51
4.8.- Análisis Estadístico.....	51
4.9.- Evaluación de los Tratamientos Aplicados.....	52
V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
5.1.- Control de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> con la aplicación de <i>T. harzianum</i>.....	54
5.1.1.- Efecto de <i>T. harzianum</i> sobre el crecimiento de las plantas.....	54
5.1.2.- Efecto de <i>T. harzianum</i> sobre el control de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	71
5.1.3.- Concentración efectiva de <i>T. harzianum</i> , tiempo de protección y época de aplicación más adecuada.....	74
5.2.- Control de <i>S. rolfsii</i> con la aplicación de <i>T. harzianum</i>.....	77
5.2.1.- Efecto de <i>T. harzianum</i> sobre el crecimiento de las plantas.....	77
5.2.2.- Efecto de <i>T. harzianum</i> sobre el control de <i>S. rolfsii</i>	94
5.2.3.- Concentración efectiva de <i>T. harzianum</i> , tiempo de protección y época de aplicación más adecuada.....	98
5.3.- Concentración efectiva de <i>T. harzianum</i>, tiempo de protección y época de aplicación más adecuada para el control de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> y <i>S. rolfsii</i> Sacc.....	99
VI.- CONCLUSIONES.....	101
6.1.- <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>.....	101
6.2.- <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.	102
6.3.- <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y <i>S. rolfsii</i> Sacc.	103

VII.- RECOMENDACIONES.....	104
VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	105

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Tratamientos de <i>Trichoderma harzianum</i> a aplicar a las plantas inoculadas con los patógenos bajo estudio.....	44
Cuadro 2.- Dosificación de <i>Trichoderma harzianum</i> para su aplicación al transplante y semanal.....	47
Cuadro 3.- Prueba de Medias del Análisis de Varianza de Kruskal-Wallis para las variables de las plantas de tomate inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	54
Cuadro 4.- Prueba de Medias de Tukey para las variables de los frutos de plantas de tomate inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	64
Cuadro 5.- Coeficientes de variación para las variables de los frutos de plantas de tomate inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	65
Cuadro 6.- Prueba de Medias del Análisis de Varianza de Kruskal-Wallis para las variables altura (cm), longitud de raíces (cm), peso fresco de raíces (g) y peso fresco de la parte aérea (g) de las plantas de tomate inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	77
Cuadro 7.- Prueba de Medias de Tukey para las variables peso seco de raíces (g), peso fresco de la parte aérea (g) y peso seco de la parte aérea (g) de las plantas de tomate inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	78
Cuadro 8.- Coeficientes de variación para las variables de plantas de tomate inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	79

Cuadro 9.- Prueba de Medias de Tukey para las variables de los frutos de plantas de tomate inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI)..... 88

Cuadro 10.- Coeficientes de variación para las variables de frutos de tomate de plantas inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI)..... 88

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.- Ciclo de la enfermedad marchitez del tomate causada por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	14
Figura 2.- Mecanismo de Acción de <i>Trichoderma harzianum</i>	31
Figura 3.- Transplante de las plántulas.....	45
Figura 4.- Preparación y aplicación del biocontrolador <i>Trichoderma harzianum</i>	48
Figura 5.- Preparación del inóculo de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> e inoculación de plantas.....	50
Figura 6.- Inoculación de plantas con <i>Sclerotium rolfsii</i>	51
Figura 7.- Secado y pesado de las muestras secas de raíces y parte aérea.....	53
Figura 8.- Altura promedio (cm) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Río Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	56
Figura 9.- Altura promedio (cm) en el tiempo de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Río Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	57
Figura 10.- Longitud promedio de raíces (cm) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Río Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	58
Figura 11.- Raíces desarrolladas con la aplicación de <i>T. harzianum</i>	58

Figura 12.- Peso fresco promedio de raíces (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular TSI).....	59
Figura 13.- Peso seco promedio de raíces (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular TSI).....	60
Figura 14.- Peso fresco promedio de la parte aérea (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular TSI).....	61
Figura 15.- Peso seco promedio de la parte aérea (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular TSI).....	62
Figura 16.- Ancho promedio de frutos (cm) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular TSI).....	66
Figura 17.- Largo promedio de frutos (cm) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular TSI).....	67

Figura 18.- Peso promedio de frutos (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	68
Figura 19.- Número de frutos promedio por planta de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	69
Figura 20.- Rendimiento (kg) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	70
Figura 21.- Mortalidad (%) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	73
Figura 22.- Altura promedio (cm) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	80
Figura 23.- Altura promedio (cm) en el tiempo de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	81
Figura 24.- Longitud promedio de raíces (cm) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	82

Figura 25.- Peso fresco promedio de raíces (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	83
Figura 26.- Peso seco promedio de raíces (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	84
Figura 27.- Peso fresco promedio de la parte aérea (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	85
Figura 28.- Peso seco promedio de la parte aérea (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	86
Figura 29.- Ancho promedio de frutos (cm) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	89
Figura 30.- Largo promedio de frutos (cm) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	90
Figura 31.- Peso promedio de frutos (g) de plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	91
Figura 32.- Número de frutos promedio por planta de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cv. Rio Grande inoculadas con <i>Sclerotium rolfsii</i> y tratadas con <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).....	92

Figura 33.- Rendimiento (kg) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI)..... 93

Figura 34.- Mortalidad (%) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI)..... 95

Figura 35.- Plantas inoculadas con *S. rolfsii*..... 96

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Producción Mundial de Tomate (1994 – 2005).....	8
--	---

I.- INTRODUCCIÓN

En Venezuela, la mayoría de los suelos destinados a la producción de hortalizas se encuentran altamente contaminados con el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, el cual ha causado daños severos en las plantaciones de tomate ocasionando reducciones en la producción de hasta un 60% (Anzola y Román, 1982).

Igualmente, se ha detectado la presencia en suelos agrícolas del país del hongo *Sclerotium rolfsii*, el cual es patógeno de más de 180 especies de plantas y posee distribución mundial. Se caracteriza por afectar en diversas fases del desarrollo de sus hospedantes, desde semillas hasta productos agrícolas a nivel de postcosecha, siendo además la supervivencia de este patógeno en el suelo, un hecho de extrema importancia epidemiológica (Díaz Polanco y Castro, 1977).

Por otra parte, dada la naturaleza saprofitica de ambos hongos y su gran capacidad de sobrevivencia, las zonas tradicionalmente productoras, tales como los Estados Aragua, Carabobo, Cojedes, Guárico, Lara y Portuguesa se han visto afectadas por los mismos, causando serios daños de importancia económica.

Es necesario destacar que en el caso del hongo *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se trata de un patógeno sistémico, que suele afectar a las plantas jóvenes, mientras que *S. rolfsii* actúa de manera digestiva o macerativa y ataca a plantas adultas; de manera tal, que las plantas de tomate se encuentran en permanente peligro de ser afectadas o bien por cada uno de estos patógenos o por ambos de manera conjunta.

La importancia del control de estos patógenos para disminuir sus efectos sobre el tomate cv. Río Grande, radica en que éste se destina tanto al consumo fresco como al procesamiento industrial, constituyendo además la fuente de sustento para los agricultores dedicados a su producción, que requieren de alternativas de

control cónsonas con el medio ambiente, que no pongan en peligro su salud y que controlen eficientemente los patógenos que afectan sus cultivos.

En la actualidad, la búsqueda de nuevas y mejores alternativas de control de enfermedades ha conllevado al uso de microorganismos con capacidad de controlar a otros, tal como *Trichoderma harzianum* Rifai, ampliamente utilizado para el control de hongos patógenos como *S. rolfsii* Sacc. y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

La aplicación de una formulación de cepas seleccionadas de *T. harzianum* y *T. viride*, directamente al suelo o sobre semillas (“coating”), plántulas para trasplante (sistema “paper-pot”) y plantas adultas, mediante diferentes sistemas de riego; ha permitido aplicar con éxito los principios del control biológico en enfermedades producidas por hongos y en enfermedades víricas con vectores fúngicos, especialmente en cultivos de remolacha azucarera, lechuga, melón y tomate, obteniéndose incrementos de 20% en la producción (Grondona *et al*, 1995).

La relevancia del empleo de controladores biológicos en este caso particular, estriba en que en el cultivo de hortalizas se ha venido empleando el bromuro de metilo para desinfectar sustratos, pero por ser altamente tóxico, afectar seriamente a la salud y causar graves daños al ambiente, se ha prohibido su uso a nivel mundial, razón por la cual *T. harzianum* se perfila como una alternativa segura, económica y eficiente de control.

Igualmente, es necesario destacar que en los países en desarrollo, los cultivadores utilizan sin medida los plaguicidas, generalmente sin ninguna capacitación para aplicarlo o para identificar la necesidad pertinente.

Los plaguicidas clasificados como extremadamente peligrosos por la Organización Mundial de la Salud (OMS), son los más utilizados. La combinación de la importancia de los tomates en dietas y los altos niveles de plaguicidas, particularmente en los países en desarrollo, determina la importancia de la reducción en el uso de estos productos, tanto para la salud y seguridad ocupacional, como para la seguridad del consumidor. En una serie de estudios realizados se encontró que era muy común la práctica de fumigar los tomates en la tarde y cosecharlos a la mañana siguiente. (Davis y Dinham, 2002).

Dada la creciente importancia de los hongos patógenos *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *S. rolfii* sobre el cultivo del tomate y con el propósito de hacer más eficiente el uso del hongo biocontrolador *T. harzianum*, surge la necesidad de realizar un estudio del efecto de la dosis y el momento de aplicación de *T. harzianum* sobre el control de ambos hongos en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Río Grande bajo condiciones *in vivo*.

II.- OBJETIVOS

Objetivo General

- ❖ Evaluar el efecto de la dosis y el momento de aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Río Grande, bajo condiciones *in vivo* así como sobre el crecimiento del cultivo.

Objetivos Específicos

- ❖ Evaluar el efecto del hongo *Trichoderma harzianum* Rifai sobre el hongo patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate cv. Río Grande.
- ❖ Evaluar el efecto del hongo *Trichoderma harzianum* Rifai sobre el hongo patógeno *Sclerotium rolfsii* en tomate cv. Río Grande.
- ❖ Evaluar el efecto de la dosis del hongo antagonista sobre el control de los hongos patógenos *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Sclerotium rolfsii* Sacc. en tomate cv. Río Grande, en forma individual.
- ❖ Determinar el momento de aplicación más adecuado de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Sclerotium rolfsii* Sacc. en tomate cv. Río Grande, en forma individual.
- ❖ Determinar el tiempo de protección que ofrece el biocontrolador *Trichoderma harzianum* Rifai a las plantas de tomate cv. Río Grande contra los hongos patógenos bajo estudio, en forma individual.

- ❖ Determinar la concentración más efectiva de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control de los hongos patógenos bajo estudio en plantas de tomate cv. Río Grande, en forma individual.

- ❖ Evaluar el efecto de la concentración de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre el crecimiento de las plantas de tomate cv. Río Grande.

III.- REVISIÓN DE LITERATURA

3.1.- CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* L.)

3.1.1.- GENERALIDADES

Flores (1983) señala que el tomate es originario de la zona andina, específicamente de Perú, Bolivia y Ecuador, donde se encuentran muchas especies silvestres. Los nativos lo llevaron a América Central y México, y los conquistadores españoles a Europa, donde al principio lo utilizaron como planta ornamental. Hoy es una de las principales hortalizas cultivadas en el mundo, tanto para consumo fresco como para ser procesado por industrias de alimentos.

Igualmente, acota el autor que es una planta herbácea, perenne, pero cultivada como anual. Aunque botánicamente sea un fruto, se le considera como hortaliza por el sistema intensivo de producción. Con el transplante, el sistema radical tiende a ser fibroso, con muchas raíces laterales. Las plantas alcanzan, de acuerdo a la variedad, alturas que oscilan entre 1 y 12 m. El fruto o baya es carnoso y jugoso, con una o más semillas. La mayoría de las variedades son de frutos de piel amarilla y pulpa roja, en tanto que los rosados, son de piel incolora y pulpa roja. En 1 g de semillas hay unas 400 de ellas.

Menciona además, que se trata de una planta de clima cálido, resistente al calor y a la falta de agua. Se produce en una gran diversidad de suelos y climas. El cultivo dura de 3 a 4 meses, desde la siembra en el semillero hasta la primera cosecha. La planta puede ser de crecimiento determinado o indeterminado. Las primeras alcanzan un tamaño definido, terminando el tallo en un racimo floral. Las plantas de estas características son las más solicitadas por la industria. Por su parte, las de crecimiento indeterminado, en el punto de crecimiento se alternan 2 ó 3 hojas con un racimo floral y son utilizadas para el mercado fresco.

En general, indica el autor que el tomate se da bien a temperaturas entre 18 y 26°C, con óptimas diurnas de 21 a 24°C y nocturnas de 18 a 20°C. La temperatura y humedad relativa alta, favorecen los ataques de enfermedades del follaje, mientras que las temperaturas nocturnas elevadas provocan la caída de las flores debido a fallas en la polinización de las mismas.

3.1.2.- Cultivares

Peña y Moreno (1997) señalan que a pesar de que en Venezuela el cultivo del tomate ha alcanzado una enorme importancia, no se producen materiales adaptados a las condiciones ambientales del país, lo cual obliga la siembra de aquellos seleccionados para otras latitudes. Esta situación impone la realización de evaluaciones periódicas, a fin de conocer cuáles presentan el mejor comportamiento en las diferentes localidades. La evaluación define en gran medida, el rendimiento de la materia prima y la calidad industrial.

Entre los cultivares de tomate, destaca el cultivar Río Grande, el cual presenta, de acuerdo a los autores, frutos con las siguientes características:

Forma: Cuadrado oval

Peso promedio: 92.42 g

Clasificación: Grande

Por otra parte, Páez *et al* (2000) señalan que este cultivar presenta crecimiento indeterminado y altos rendimientos; los frutos son tipo perita, de dureza al corte y resistencia al transporte en huacales de madera.

Acotan los autores, que en el caso de este cultivar, las temperaturas elevadas reducen el crecimiento vegetativo e impiden el establecimiento de los frutos.

3.1.3.- PRODUCCIÓN

De acuerdo a FAO (2006), la producción mundial de tomate está situada en 125.015.792 Tm para el año 2005. Las cifras de producción han mantenido una tendencia al incremento, tal y como se observa en la **Tabla 1**.

Tabla 1.- Producción Mundial de Tomate (1994 – 2005)

Año	Producción de Tomate (Tm)
1994	83.353.464
1995	87.660.093
1996	93.710.395
1997	90.053.930
1998	95.684.417
1999	108.710.443
2000	108.485.528
2001	106.251.865
2002	114.447.704
2003	116.640.818
2004	120.384.017
2005	125.015.792

Fuente: FAO (2006)

CIDEIBER (1997), señala que, en Venezuela la producción de hortalizas está encabezada por el tomate, con 234.865 toneladas para el año 1995, siendo este fruto dedicado en gran proporción a su procesamiento industrial. La producción de este cultivo se encuentra relativamente extendida, pero se da con mayor intensidad en Lara, Aragua, Guárico, Portuguesa, Carabobo y Zulia. Para el año 2005, FAO (2006) reporta una producción de 195.000 toneladas.

Acotan además Davis y Dinham (2002), que entre los países con mayor producción de tomates se encuentran China, Estados Unidos, Turquía, Rusia, Italia, Egipto, India, España y México, mientras que en América Latina, el tomate es una de las principales plantas hortícolas que se cultivan para la venta. Por otra parte, señalan que los tomates frescos son el ingrediente fundamental en el arte culinario de todo el mundo, y los tomates en conserva se utilizan para hacer sopas, jugos (zumos), salsa de tomate, pasta de tomate y otros productos.

Igualmente, explican los autores, que en 1999 la producción mundial fue de cerca de 94 millones de toneladas en 5.5 millones de hectáreas cultivadas, y ha aumentado rápidamente en la última década, tanto en función al tonelaje como al área. De hecho, FAO (2006) reporta una producción de 125 millones de toneladas para el año 2005 en 4.5 millones de hectáreas cultivadas.

3.2.- ENFERMEDADES

3.2.1.- Marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)

3.2.1.1.- Descripción de la Enfermedad

3.2.1.1.1.- Generalidades

Jones (2001) indica que la fusariosis o marchitez vascular del tomate fue descrita por primera vez por G.E. Masee en Inglaterra en 1895. Es una enfermedad de importancia mundial, siendo descrita en al menos 32 países, y es destructiva en campo.

Fravel *et al* (2003) indican que todas las razas de *F. oxysporum* son saprofiticas y pueden sobrevivir por largos períodos en materia orgánica del suelo y en la rizosfera de muchas especies de plantas.

3.2.1.1.2.- Síntomas

Tanto Watterson (1985) como Jones (2001) y Anzola y Román (1982), indican que las plántulas infectadas alcanzan escaso desarrollo. Las hojas se vuelven flácidas y desarrollan epinastia, además, se tornan amarillentas; es necesario destacar que dichos síntomas suelen afectar sólo a un sector de la planta, y con frecuencia los folíolos a un lado del pecíolo se vuelven amarillos antes que los del otro lado. Este amarillamiento afecta de forma gradual a la mayor parte del follaje. Adicionalmente, el tejido vascular se torna de color castaño oscuro, la base de los tallos afectados se ensanchan y normalmente las plantas se marchitan y mueren.

Acota Agrios (1998) que existen tres géneros de hongos que producen marchitamientos vasculares: *Ceratocystis*, *Fusarium* y *Verticillium*. La mayoría de los hongos del género *Fusarium* que producen marchitamientos tanto en flores como en hortalizas anuales y en plantas herbáceas perennes de ornato, pertenecen a la especie *Fusarium oxysporum*. Los marchitamientos vasculares ocurren debido a la presencia y actividad del patógeno en los tejidos vasculares xilémicos de las plantas, en las cuales ocurre pudrición de las raíces, amarillamiento de las hojas, marchitez y necrosamiento de sus bases, lo cual puede producir su muerte.

3.2.1.2.- Organismo Causal

3.2.1.2.1.- Características

De acuerdo a CAB International (2003) el hongo *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* pertenece a la clase Ascomycetes, subclase Sordariomycetidae y orden Hypocreales.

Tal y como señala Jones (2001), los aislamientos de *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *lycopersici* (Sacc). W.C. Zinder & H.N. Hans. producen micelio entre rosado y blanco, a menudo con un matiz purpúreo, y ralo a abundante. Los microconidios son abundantes, se generan en fiálides simples emergiendo lateralmente, presentan forma oval-elipsoide, erectas a curvadas, de 5-12 x 2,2-3,5 μm , y carecen de septas.

Los macroconidios pueden ser escasos o abundantes, se producen en conidióforos ramificados o bien en la superficie de esporodoquios; poseen una pared fina, de tres a cinco septas, y son fusiformes a subulados con ambos extremos puntiagudos. Estos macroconidios, presentan además, una base pedicelada y miden entre 27-46 x 3-5 μm si son triseptados, ó 35-60 x 3-5 μm si tienen cinco septas; siendo las esporas triseptadas las más comunes.

Las clamidosporas tienen pared engrosada que puede ser lisa o rugosa, son abundantes y se generan de forma terminal o catenulada. Normalmente aparecen solitarias, pero en ocasiones se forman en pares o en cadenas.

3.2.1.2.2.- Razas

Se han descrito tres razas fisiológicas para este patógeno. Tanto Bournival *et al* (1991) citado por Lugo (1998) como Jones (2001) coinciden en señalar que la raza 1 es la más ampliamente distribuida, y se ha detectado su presencia en la mayoría de las áreas geográficas del mundo, mientras que la raza 2 fue identificada en Estados Unidos y en otros países, incluyendo Australia, Brasil, Gran Bretaña, Israel, México, Marruecos, Países Bajos e Iraq. La raza 3 fue localizada en Brasil en 1966; desde entonces se ha encontrado también en Australia, y en California y Florida (Estados Unidos).

Lugo (1998) indica que en el caso de Venezuela, a pesar de haberse reportado tanto la raza 1 como la raza 2, es ésta última la más común, siendo de hecho todos los aislamientos estudiados por la autora pertenecientes a esta raza.

Por otra parte, Anzola y Román (1982) señalan que la raza 2 se encuentra presente en suelos infestados de la región central del país, mientras que Díaz Polanco y Castro (1977) indican que en la zona de los Llanos Centro-Occidentales, este hongo causa problemas, sobreviviendo de un año a otro, debido a su actividad saprofítica sobre residuos vegetales.

En el caso de Europa, en países como España, Rodríguez-Molina *et al* (2002) reportan la existencia de las razas 0 y 1, las cuales fueron aisladas de plantas de tomate infectadas colectadas en Murcia, al sureste del país. Estos aislamientos fueron identificados como razas 0 y 1 por Tello y Lacasa en 1990.

3.2.1.2.3.- Ciclo de la Enfermedad y Epifitiología

Agrios (1998) explica que el patógeno causante de esta enfermedad es un organismo que habita en el suelo y que sobrevive entre los cultivos en los restos de plantas infectadas que yacen en el suelo en forma de micelio y en cualquiera de sus formas de esporas, pero lo hace con mayor frecuencia en forma de clamidosporas, sobre todo en las regiones templadas frías. Se propaga a cortas distancias a través del agua y el equipo agrícola contaminado, y a grandes distancias principalmente en los trasplantes infectados o en el suelo que va en ellos.

En este aspecto, el autor coincide con Jones (2001) quien señala que la diseminación de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ocurre por medio de la semilla, los tutores del tomate, el suelo y las plántulas para trasplante infectadas, o mediante suelo infestado adherido al cepellón de la planta de trasplante infectada. El transporte a larga distancia se produce mediante semillas y plantas de trasplante, mientras que la dispersión a corta distancia se realiza mediante trasplante, tutores y suelo infestado diseminado por el viento, el agua, y maquinaria agrícola.

Por otra parte, acota Agrios (1998), que cuando las plantas sanas se desarrollan en un suelo contaminado, los tubos germinales de las esporas o el micelio penetran directamente por las puntas de las raíces o entran en estas últimas a través de heridas o a nivel de la zona donde se forman las raíces laterales. El micelio del hongo se propaga intercelularmente a través de la corteza de la raíz y cuando llega a los vasos xilémicos, entra en ellos a través de las punteaduras. Cuando se encuentra en los vasos, dicho micelio se ramifica y produce microconidios que son desprendidos y llevados hacia la parte superior de la planta en el torrente de fotoasimilados. Los microconidios germinan en el punto donde cesa su movimiento ascendente, el micelio penetra la pared superior del vaso y el hongo produce más microconidios en el siguiente vaso. El micelio del hongo avanza también lateralmente en los vasos adyacentes, en los que penetra a través de las punteaduras.

Menciona el autor, que, en ocasiones el hongo llega a los frutos de las plantas infectadas, penetra y contamina a las semillas. Esto sucede principalmente cuando la humedad del suelo es alta y la temperatura relativamente baja, condiciones que permiten a las plantas producir buenas cosechas aunque sean infectadas por el hongo.

Nogués *et al* (2002), señalan que un número de estrategias de defensa tanto físicas como químicas que son empleadas por las plantas, son ahora conocidas. Estas incluyen la formación de calosa cerca de las células infectadas, la oclusión de los vasos colonizados por acción de geles, gomas y tilosas, además de la síntesis de compuestos tóxicos por parte del hongo.

Igualmente, acotan los autores que la colonización del xilema por el hongo incrementa la resistencia al flujo del agua dentro de la planta, lo que se traduce en déficit de agua en las hojas, ocasionándose la disminución de las tasas de fotosíntesis y respiración, y por ende, la longevidad de la hoja.

Jones (2001), señala que los factores que favorecen el desarrollo de la marchitez son, en general, temperatura del suelo y del aire de 28°C, humedad del suelo óptima para el crecimiento vegetal, plantas preadaptadas con bajos niveles de nitrógeno y fósforo, y altos niveles de potasio, bajo pH del suelo, días cortos y baja intensidad de luz. La virulencia del patógeno se ve incrementada por micronutrientes, fósforo y nitrógeno amoniacal, y decrece con el nitrato.

Por otra parte, Anzola y Román (1982) indican que el hongo causa daños más severos en aquellos suelos ubicados en zonas de clima cálido y temperatura de 28-29°C con pH de aproximadamente 7.2. El agente patógeno penetra en las plantas a través de sus raíces y resulta favorecido cuando ésta última han sido lesionadas por alguna causa.

Mencionan los autores que la presencia de nematodos, tales como los de la especie *Meloidogyne incognita*, también propicia la entrada del patógeno, los cuales pueden causar respuestas en el huésped tales como la disminución de su resistencia natural. Igualmente, se ha encontrado que el extracto de raíces con nematodos favorece el desarrollo de *Fusarium sp*, por lo que se cree que las actividades desarrolladas por el nemátodo en el sistema radicular causan alteraciones favorables para el desarrollo de esta enfermedad.

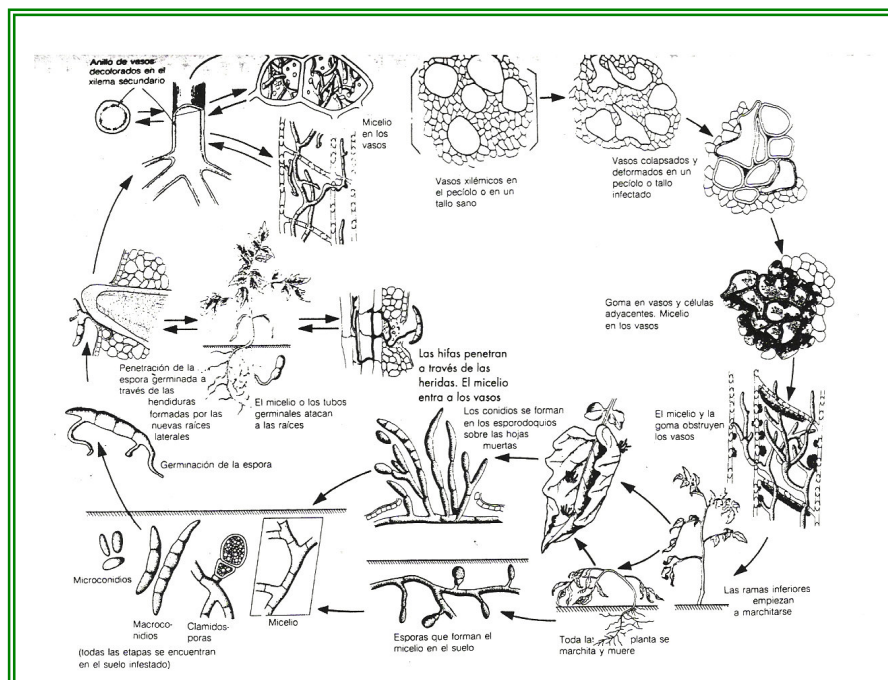


Figura 1.- Ciclo de la enfermedad marchitez del tomate causada por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*

Fuente: Agrios (1998)

3.2.1.2.4.- Control

Jones (2001) recomienda la utilización de cultivares resistentes para el control de las razas 1 y 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Se ha identificado resistencia monogénica a la raza 3, por lo tanto deben utilizarse cultivares con esta resistencia siempre que estén disponibles. Recomienda también este autor, aumentar el pH del suelo a valores de 6.5 – 7.0, así como la utilización de nitrato como fuente de nitrógeno en lugar de nitrógeno amoniacal. Esto retarda significativamente el desarrollo de la enfermedad y da como resultado un incremento de rendimiento que iguala a aquel que se consigue al utilizar fumigantes en un suelo de pH 5.5.

De igual manera, destaca que es de suma importancia evitar la introducción de semillas y plantas infectadas por el hongo, así como la introducción de suelo infestado adherido a maquinaria agrícola en zonas libres del patógeno.

Larena *et al* (2003) señalan, que en España los mayores componentes del control integrado de las marchiteces son la inyección del suelo con bromuro de metilo y el empleo de cultivares resistentes. Sin embargo, los residuos de bromuro en el suelo, el agua y la capa de ozono, han derivado en la búsqueda de nuevas alternativas de control.

Además, acotan Armstrong y Armstrong (1981) y De Cal *et al* (1997) citados por Larena *et al* (2003), que el tratamiento con conidios de *Penicillium oxalicum* producidos en estado de fermentación sólida, reduce significativamente las marchiteces por *Fusarium* en tomate, incluyendo las producidas por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, tanto en condiciones de invernadero como campo; incluso les confiere resistencia a las plantas.

Zavaleta-Mejía (1999) indica que el uso de agroquímicos ha permitido obtener incrementos sustanciales en la producción; no obstante, sus efectos adversos están impactando de manera significativa la sostenibilidad de la agricultura. Esto,

tal y como explica la autora, aunado a los problemas de seguridad y salud pública inherentes a la fabricación y uso de agroquímicos, han conducido a la búsqueda y establecimiento de alternativas de manejo de plagas y enfermedades. Así, surge el interés por el control ecológico, el cual puede definirse como cualquier forma de control que reduce la incidencia o severidad de la enfermedad, o incrementa la producción del cultivo, aun cuando no haya aparentemente un efecto significativo en la reducción de la enfermedad o inóculo, y su impacto nocivo en el ambiente sea mínimo o nulo.

Por otra parte, Gherbawy y Yaser (2003) realizaron un estudio en el que se analizaron muestras de suelo adherido a raíces de paprika tanto sanas como afectadas por patógenos del suelo, encontrándose entre ellos *Fusarium oxysporum*, el cual fue el más común. Para evaluar el control de este patógeno, se empleó *Trichoderma harzianum*, *T. pseudokoningii* y *Gliocladium roseum* añadido al sustrato estéril previamente inoculado con el patógeno. Se obtuvo que en ausencia de los hongos antagonistas, la enfermedad se presentó en el 80% de las plántulas, mientras que con *T. harzianum* las plántulas afectadas alcanzaron un 25%, mientras que en los tratamientos con *T. pseudokoningii* y *G. roseum* la infección fue de 40% y 50%, respectivamente.

3.2.2.- Podredumbre blanca (*Sclerotium rolfsii* Sacc.)

3.2.2.1.- Descripción de la Enfermedad

3.2.2.1.1.- Generalidades

McCarter (2001) destaca que, la pudrición blanca fue descrita por primera vez en tomate, pero afecta también a otras especies de plantas cultivadas, entre las que se incluyen hortalizas, plantas ornamentales y cultivos extensivos. La enfermedad es conocida por varios nombres, como la “marchitez del sur”, la “podredumbre sureña del tallo” y la “podredumbre del tallo causada por *Sclerotium*”. Esta

enfermedad ocurre en todo el mundo, pero es de mayor importancia en zonas tropicales y subtropicales.

Por su parte, Agrios (1998) indica que, con frecuencia, *Sclerotium* produce pérdidas considerables en hortalizas y frutos carnosos durante su embarque y almacenamiento. Este hongo causa principalmente enfermedades en climas cálidos, las cuales afectan a las plantas de países que se localizan en la latitud de 38°C a cualquier lado del Ecuador.

Igualmente indica que las enfermedades que producen los hongos del género *Sclerotium*, denominadas “marchitamientos o tizones sureños”, afectan a una amplia variedad de plantas, incluyendo hortalizas, flores, cereales, plantas para forraje y malezas. Algunos de los hospedantes más comunes del hongo son leguminosas, crucíferas, cucurbitáceas, zanahoria, apio, maíz dulce, berenjena, lechuga, quimbombó, cebolla, pimienta, papa, camote, tomate, amarilis, crisantemo, delfinio, iris, narciso, tulipán, alfalfa, cereales, algodón, cacahuate y tabaco.

Cilliers *et al* (2000) señalan que *Sclerotium rolfsii* causa enfermedad en más de 500 especies de plantas alrededor del mundo. Además, el hongo no produce esporas asexuales sino que se perpetúa en forma de esclerocios como inóculo primario, tanto en el suelo como en la misma planta. El estado sexual, *Athelia rolfsii*, puede ser inducido en condiciones de laboratorio pero no ocurre comúnmente en la naturaleza.

Es interesante destacar que durante el verano de 2005, Garibaldi *et al* (2006), encontraron que plantas de papa (*Solanum tuberosum*) de plantaciones comerciales cerca de Alessandria (norte de Italia) mostraban severos síntomas de pudrición basal. Los primeros síntomas fueron detectados a principios del mes de julio en correspondencia a un drástico incremento de la temperatura del aire (cercana a los 38°C) y la humedad relativa. Las plantas afectadas manifestaban

extensivas necrosis en los tejidos corticales, mientras que las hojas se tornaban cloróticas. En presencia de abundante humedad, se observaba la formación de un micelio blanco en los tejidos infectados, con la posterior formación de esclerocios. Una vez realizadas las pruebas de patogenicidad, se demostró la presencia de *S. rolfsii*, constituyendo éste el primer reporte de este patógeno sobre papa en la zona.

De manera similar, Jeeva *et al* (2005) reportan que en India, se ha encontrado al ñame (*Dioscorea alata* L.) como un nuevo hospedante de *S. rolfsii*, lo cual fue confirmado mediante la realización de pruebas de patogenicidad. Este patógeno causa en el cultivo manchas circulares en las hojas, hasta que las mismas se necrosan y rompen; cuando ataca en zonas con alta humedad, produce abundante micelio blanco en las manchas presentes en las hojas. En el mencionado país el ñame constituye una fuente importante de alimento y subsistencia, razón por la cual es preocupante la presencia de este patógeno.

En cuanto a la distribución de las enfermedades causadas por este patógeno, Mullen (2005) indica que éstas ocurren alrededor del mundo, en la zona ecuatorial entre las latitudes 45°N y 45°S. Es común en Estados Unidos, América Central, el Caribe, América del Sur, los países cercanos al Mar Mediterráneo, África, India, Japón, Filipinas, Hawaii, Australia y Nueva Zelanda.

3.2.2.1.2.- Síntomas

Agrios (1998) indica que, por lo común, la infección empieza con una lesión de color café oscura que aparece sobre el tallo suculento y justo por debajo de la superficie del suelo. Los primeros síntomas observables se manifiestan en un amarillamiento o marchitez de las hojas inferiores o bien en muerte descendente de las hojas desde su punta hasta el pecíolo. Estos síntomas avanzan posteriormente hasta las hojas de la parte superior de la planta.

Igualmente indica el autor que en las plantas con tallos muy suculentos, como es el caso del apio, el tallo puede doblarse y la planta se acama, mientras que en plantas con tallos más duros, como es el caso de la alfalfa, el frijol, el tomate y el tabaco, el tallo que ha sido invadido mantiene su verticalidad y comienza a perder sus hojas o a marchitarse. Al mismo tiempo, el hongo avanza hacia la parte superior de la planta y cubre la lesión del tallo con una masa blanca y algodonosa de micelio; dicho avance depende del nivel de humedad presente.

McCarter (2001) explica que, generalmente, los síntomas aparecen en las zonas de la planta que se encuentran sobre o cerca del suelo. Las plantas pueden ser atacadas en cualquier estado de desarrollo si las condiciones ambientales son las adecuadas. El síntoma más común es una podredumbre de color castaño a negro en el tallo, que se desarrolla cerca de la línea del suelo. La lesión se desarrolla con rapidez, rodeando el tallo completamente y dando lugar a la repentina y permanente marchitez de toda la parte aérea de la planta. Las plantas jóvenes pueden doblarse por la línea del suelo. En condiciones de humedad elevada, se desarrolla en las lesiones un micelio blanco, vigoroso y abundante que en ocasiones se extiende en el tallo de la planta adulta varios centímetros sobre la línea del suelo.

Pasados unos días, menciona el autor, en el micelio pueden aparecer esclerocios esféricos, de tonalidad castaña a marrón rojiza, y con un diámetro medio de 1-2 mm. El hongo penetra rápidamente por la epidermis de los frutos que se encuentran en contacto con el suelo infestado. El punto de infección se ve inicialmente hinchado, ligeramente amarillo y con la epidermis rota. La lesión se vuelve hidrótica y blanda, y a menudo presenta forma de estrella. Una vez infectado, el fruto se colapsa en 3 ó 4 días. La cavidad de la lesión se llena rápidamente de micelio blanco y esclerocios en desarrollo. También pueden producirse lesiones marrones con micelio sobre la superficie de las hojas que se encuentran en contacto con el suelo, o de las hojas más bajas que son salpicadas con inóculo del suelo.

3.2.2.1.3.- Organismo Causal

3.2.2.1.3.1.- Características

De acuerdo a CAB International (2003) el hongo *S. rolfsii* pertenece a la clase Basidiomycetes, subclase Agaricomycetidae, orden Polyporales y familia Corticiaceae.

McCarter (2001) indica que *S. rolfsii* Sacc., produce abundante micelio blanco y vigoroso en los medios de cultivo de uso común en el laboratorio, como papa dextrosa agar. El tamaño, color y morfología de los esclerocios varían entre aislamientos.

Señala el autor que dichos esclerocios se forman en 5 ó 6 días de cultivo en placa incubados a una temperatura óptima (27-30°C). Algunos aislamientos del hongo pueden ser inducidos a formar el estado basidial (*Athelia rolfsii* Curzi Tu & Kimbrough) *in vitro*, pero su papel en el ciclo biológico del patógeno es desconocido.

Rodríguez y Arcia (1994) en estudios realizados en condiciones *in vitro*, encontraron que los rangos óptimos de temperatura y luz para un buen crecimiento micelial de *S. rolfsii* se encuentran entre 25 y 30 °C y oscuridad continua, mientras que el tiempo requerido para la formación de esclerocios se encuentra entre 6 y 12 días.

Por otra parte, Agrios (1998) señala que sobre todos los tejidos infectados, e incluso sobre el suelo, el hongo produce numerosos esclerocios pequeños de tamaño uniforme, redondos o irregulares y blancos cuando inmaduros, pero de color café oscuro o negro cuando llegan a su madurez. Los esclerocios maduros no se encuentran unidos a los filamentos miceliales y tienen la forma, el tamaño y el color de una semilla de mostaza. El micelio que produce *S. rolfsii* es abundante,

de color blanco, veloso y ramificado, que forma numerosos esclerocios pero comúnmente es estéril, es decir, no produce esporas. En ocasiones produce basidiosporas en los bordes de las lesiones cuando el clima es húmedo.

Serra y Da Silva (2005) explican que entre las enfermedades que afectan al pimentón, se encuentra la marchitez o podredumbre causada por *S. rolfsii*, siendo ésta una de las más relevantes. El hongo es un importante patógeno, habita en el suelo y ocasiona la pudrición de las raíces y por ende, el acame de las plántulas. Este hongo presenta una amplia gama de hospederos, cerca de 500 especies, encontrándose distribuido en todas las regiones agrícolas, especialmente en las zonas tropicales y subtropicales, donde predominan las condiciones de alta humedad y temperatura elevada.

Castellano (1999) indica que la sobrevivencia de *S. rolfsii* en el suelo es de gran importancia desde el punto de vista epidemiológico, formando estructuras de resistencia o esclerocios esféricos que permanecen viables por más de dos años, para luego iniciar la infección en hospederos susceptibles.

3.2.2.1.3.2.- Ciclo de la Enfermedad y Epifitiología

De acuerdo a Mc Carter (2001) los esclerocios producidos por el hongo pueden sobrevivir durante años en el suelo y en restos de las plantas huésped. Los esclerocios pueden ser diseminados mediante la dispersión del suelo o material vegetal infestado. Este hongo es también altamente saprofítico y es capaz de generar un abundante crecimiento micelial en varios sustratos huésped.

Indica el autor que, a menudo, *S. rolfsii* utiliza materia orgánica como sustrato para la producción de ácido oxálico y enzimas que desintegran los tejidos de la planta huésped. Esto también ha sido mencionado por Agrios (1998), quien indica que el hongo ataca directamente a los tejidos, produciendo una masa abundante de micelio, además de matar y desintegrar a dichos tejidos al secretar ácido oxálico,

así como también enzimas pectinolíticas, celololíticas y otras enzimas antes de que penetre en el hospedante.

Igualmente, acota este último autor, que el hongo se propaga con mayor rapidez hacia las raíces de las plantas y finalmente destruye el sistema radical. Su micelio blanco aparece siempre en los tejidos que ha infectado y desde ahí crece sobre el suelo hasta las plantas vecinas, produciendo nuevas infecciones.

Destacan Blum y Rodríguez-Kábana (2004), que *S. rolfsii* al formar esclerocios sobrevive por largos períodos en el suelo, y frecuentemente toleran la degradación química y biológica, con presencia de melanina en las membranas exteriores.

En cuanto al crecimiento micelial *in vitro*, Barreto y Arcia (1991) señalan que este ocurre en una gran amplitud de valores de pH, pudiendo resistir desviaciones desde 3 hasta 12, aunque los niveles óptimos se encuentren entre 4 y 6. En estudios más recientes se ha señalado que ocurre una inhibición del crecimiento a valores extremos de 2 y 14.

Mullen (2005) indica que a mediados del siglo veinte, las enfermedades causadas por *S. rolfsii* fueron controladas a través de la aplicación de fungicidas; sin embargo, se ha restringido el uso de estas medidas de control altamente contaminantes a fin de proteger el medio ambiente.

3.2.2.1.3.3.- Control

McCarter (2001) indica que el control de la podredumbre negra es difícil de conseguir cuando existe un alto nivel de inóculo y las condiciones ambientales son favorables para la enfermedad. Ciertas prácticas de fertilización, como el uso de niveles altos de calcio y fertilizantes amoniacales, han facilitado cierto control en condiciones de bajo nivel de la enfermedad. Ciertas prácticas de control que se encuentran actualmente en fase experimental, incluyen la solarización de suelo

húmedo con una cubierta de polietileno, el control biológico con ciertos organismos (como *T. harzianum*), y la resistencia varietal o del hospedante.

Por otra parte, Blum y Rodríguez-Kábana (2004) señalan que entre las medidas de control empleadas para el manejo de *S. rolfsii* se encuentran la aplicación de fungicidas, la solarización, el uso de microorganismos antagonistas, la rotación de cultivos y la incorporación de residuos de materia orgánica e inorgánica.

Watterson (1985) acota que la medida de control más efectiva para el manejo de las enfermedades producidas por este patógeno es un buen programa sanitario. La remoción y quema de todas las plantas infectadas previene una nueva aparición de la enfermedad. La rotación de cultivos cada tres años con cultivos como el maíz y el sorgo también reduce las pérdidas ocasionadas por *S. rolfsii*. Entre las variedades de tomate que han mostrado cierta tolerancia al patógeno el autor menciona a la TH 318 de Petoseed®.

3.3.- *Trichoderma harzianum* Rifai COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO

3.3.1.- Generalidades sobre el Control Biológico

Grondona *et al* (1995) explica que el objetivo principal del control biológico es reducir las enfermedades y plagas de las plantas por medio de la consecución de tres objetivos particulares:

- 1) Reducir el inóculo del patógeno a través de medidas que impliquen una supervivencia del mismo más restringida entre las cosechas, una menor producción o liberación de propágulos viables y una menor difusión de los mismos.
- 2) Reducir la infección del hospedador por el patógeno.
- 3) Reducir la severidad del ataque por el patógeno.

Igualmente, señala que el control biológico no consiste en destruir a los patógenos sino convivir con ellos, reduciéndolos hasta niveles que no produzcan daño, o en el caso de producirse, que éstos sean mínimos.

Arcia (2003) indica que, según los fitopatólogos, la definición de **Control Biológico** es: "la reducción de la densidad de inóculo o de la actividad en la producción de enfermedad de un patógeno o parásito en su estado activo o latente, por la acción de uno o más organismos, efectuado naturalmente o a través de la manipulación del ambiente, del huésped o del antagonista, o por la inducción masiva de uno o más antagonistas"

Estas definiciones, señala el autor, llevan a considerar los aspectos más interesantes del **Control Biológico**:

- 1.- La **manipulación de poblaciones**, tanto de las plantas que se quieren proteger, como la de las plagas y enfermedades que las atacan, como las poblaciones de los organismos antagonistas, usados en el control biológico, en comparación con las aplicaciones de productos químicos, con una acción específica y dirigida.
- 2.- Las medidas de protección son diferentes; el concepto del producto químico, destructor, eliminador, se reduce, ahora es un proceso de convivencia, de equilibrio poblacional y por ende un equilibrio ecológico.

Por lo tanto, la estrategia epidemiológica, al usar productos biológicos, es la de **reducir el inóculo inicial**, protegiendo, a su vez, el sitio de infección, en lugar de eliminar la población dañina. Reseña igualmente el autor una serie de ventajas y desventajas del control biológico, las cuales se enumeran a continuación:

3.3.1.1.- Ventajas del Control Biológico

- 1.- No se producen residuos tóxicos que contaminen el ambiente, por lo tanto es también posible recuperar cuencas contaminadas.
- 2.- Es definitivamente más económico que cualquier producto químico que se quiera emplear para el control de plagas o enfermedades.
- 3.- Es seguro, actúa contra el hospedero o especies afines y no contra especies ajenas al proceso.
- 4.- No provoca mutaciones en las poblaciones a las cuales puede atacar.
- 5.- Se ha señalado que es un método de control permanente, porque la especie del antagonista se debe perpetuar en el medio, haciéndose parte del mismo. Sin embargo, esto no siempre ocurre y es necesario mantener un monitoreo constante que permita conocer el desarrollo de las dos poblaciones, el patógeno y el antagonista, a fin de no caer en errores de estrategias de control.

3.3.1.2.- Desventajas del Control Biológico

- 1.- Se requiere de una mayor investigación en todo el proceso porque se debe saber la adaptabilidad del controlador, sus procesos de reproducción y multiplicación, entre otros aspectos.
- 2.- Se necesita constancia en el cultivo de los agentes de control y en la colonización.
- 3.- El control biológico sólo se aplica contra plagas y enfermedades cuyo nivel económico de infestación es alto.

4.- Debido al uso indiscriminado de productos químicos, algunas veces se hace difícil disponer de los enemigos naturales.

5.- Son pocos los recursos humanos entrenados para esa labor.

Analizando algunas de las ventajas y de las desventajas, se debe enfatizar el impacto ambiental que el control biológico tiene y en la economía que él representa, y eso conlleva la necesidad de impulsar esa área, muy especialmente al desarrollo de los recursos humanos dedicados a esta actividad.

Es importante resaltar que, además de la actividad antagónica, un buen agente de control debe tener la habilidad de sobrevivir en el hábitat donde es aplicado. Adicionalmente, una formulación apropiada del producto de biocontrol puede proporcionarle larga vida de anaquel, la capacidad de soportar condiciones adversas e inclusive proveerle con los ingredientes necesarios para inducir su actividad específica.

3.3.2.- El Control Biológico con el uso de *T. harzianum*

Agrios (1998) indica que el género *Trichoderma*, el cual es un antagonista de muchos hongos fitopatógenos, pertenece a los hongos superiores, subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, orden Hyphales (Moniliales).

Por su parte, Samuels (2006) indica que *Trichoderma* es usualmente considerado un hongo del suelo, de vida libre, sin embargo, algunas evidencias sugieren que las especies pertenecientes a este genero pueden comportarse como organismos oportunistas, simbioses avirulentos y como parasitos de otros hongos. Señala el autor que la primera proposición de *Trichoderma* como género fue realizada por Persoon en 1794, en base a material colectado en Alemania.

3.3.2.1.- Mecanismo de Acción

Grondona *et al* (1995) indican que algunos hongos del género *Trichoderma* constituyen un buen sistema de control de enfermedades de interés agronómico cuando se utilizan como agentes de control biológico.

La aplicación de una formulación con cepas seleccionadas de *T. harzianum* y *T. viride*, directamente al suelo, o sobre semillas, plántulas para transplante (“sistema paper-pot”) y plantas adultas, mediante diferentes sistemas de riego, ha permitido aplicar con éxito los principios de control biológico en enfermedades producidas por hongos y en enfermedades víricas con vectores fúngicos, especialmente en cultivos de remolacha azucarera, lechuga, melón y tomate. En los mejores casos se han obtenido incrementos de producción de un 20%.

Por otra parte, Harman (2001) señala que entre los mecanismos de acción del antagonista *T. harzianum* se encuentran los siguientes:

- 1) Micoparasitismo.
- 2) Antibiosis.
- 3) Competición por nutrientes y espacio.
- 4) Desactivación de las enzimas de los patógenos.
- 5) Tolerancia al estrés por parte de la planta, al ayudar al desarrollo del sistema radical.
- 6) Solubilización y absorción de nutrientes orgánicos.
- 7) Resistencia inducida.

De éstos, los primeros cuatro mecanismos mencionados tienen acción hongo-fitopatógeno, los otros son indirectos, ya que su acción es elicitarse o impulsar mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos de la planta.

Al respecto, Grondona *et al* (1995) señalan que los agentes de control biológico, entre ellos *Trichoderma*, pueden actuar a través de diferentes mecanismos, siendo los más comunes los descritos a continuación:

Competición: Se entiende por competición el desigual comportamiento de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, cuando la utilización de éste por uno de ellos reduce la cantidad disponible para los demás. La competición por exclusión es un buen mecanismo de control biológico, siendo la más común por nutrientes, oxígeno, espacio físico y luz.

Antibiosis: Se define como la inhibición del crecimiento de un microorganismo por sustancias producidas y liberadas por otro microorganismo.

Parasitismo: El parasitismo consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente, se ven implicadas enzimas extracelulares. La forma más común es el **micoparasitismo**, en el que el patógeno es un hongo. Las enzimas más frecuentes que participan en el micoparasitismo son quitinasas, celulasas, beta-1,3-glucanasas y proteasas que lisan la pared de las hifas, conidios y esclerocios, al ser atraídas por medio de lectinas producidas por el propio patógeno, ayudando a la penetración dentro del hongo hospedador.

Se ha señalado en Biocontrol (2004), que el **proceso micoparasítico** incluye las siguientes etapas:

- Crecimiento quimiotrópico de *Trichoderma*.
- Reconocimiento superficial del huésped.
- Secreción de enzimas.
- Penetración de las hifas.
- Lisis del huésped.

Igualmente, acotan Grondona *et al* (1995), que *Trichoderma* es el hongo que con mayor frecuencia se viene utilizando como agente de control biológico.

Es un hongo anamórfico, que posee una serie de características que lo hacen especialmente interesante para este tipo de actividad: es ubicuo, fácil de aislar y cultivar, produce una gran cantidad de esporas, crece rápidamente en muchos sustratos, no afecta a las plantas y animales, actúa como micoparásito, compite bien por el alimento y por el espacio, produce antibióticos y tiene una amplia gama de patógenos susceptibles de ser controlados.

Por otra parte, señalan los autores, que un aislamiento del hongo tendrá una capacidad antagonista concreta y que su eficacia frente a un determinado patógeno dependerá del patosistema y de las condiciones en que se aplique.

Rojas (2000) reseña que se ha demostrado que *Trichoderma* actúa contra un amplio rango de hongos fitopatógenos transmitidos por suelo y aire. El hongo ha sido usado en el campo e invernadero contra pudriciones en un amplio rango de especies, causadas por *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Pythium*, y patógenos formadores de esclerocios como *Sclerotinia* y *Sclerotium*.

Igualmente acotan en Biocontrol (2004) que el micoparasitismo por *Trichoderma* es un proceso complejo que incluye una serie de eventos sucesivos. La primera señal de interacción detectable muestra un crecimiento quimiotrópico del hongo en respuesta a algún estímulo en la hifa del huésped o hacia un gradiente de químicos producidos por el mismo. Cuando el micoparásito hace contacto físico con su huésped, sus hifas se enrollan alrededor de éste o se le adhieren por medio de estructuras especializadas. Además, se ha demostrado que la interacción de *Trichoderma* con su huésped es específica y que está controlada por lectinas presentes en la pared celular de éste.

Stefanova *et al* (1999) señalan que entre los hongos utilizados para el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo, varias especies de *Trichoderma* han sido merecedoras de una mayor atención, su actividad resulta en una combinación de micoparasitismo y producción de metabolitos. Indica además que el biocontrol actualmente ocupa un lugar importante dentro de las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por los patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium*, entre otros, destacando que las especies de *Trichoderma* poseen buenas posibilidades en este sentido como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas, a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolación, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular.

Harman *et al* (2004) señalan que varios estudios han arrojado que la colonización de las raíces por aislamientos de *Trichoderma* incrementan los niveles de las enzimas relacionadas con la defensa en las plantas, incluyendo varias peroxidasas, quitinasas y β -1,3 glucanasas.

De La Cruz *et al* (1992) señalan que algunas especies de *Trichoderma* han sido descritas como agentes de control biológico de hongos fitopatógenos. La degradación y consecuente asimilación del hongo fitopatógeno, llamado micoparasitismo, ha sido propuesto como el mejor mecanismo mediante el cual *Trichoderma* desarrolla su actividad antagonista. Igualmente explican los autores, que se ha encontrado un gran número de aislamientos de este hongo, que excretan enzimas hidrolíticas, tales como quitinasas, proteasas y β -glucanasas en el medio que crecen, en presencia de laminarina, quitina, o paredes celulares del hongo fitopatógeno.

Estas observaciones, teniendo presente a la quitina y glucanos como componentes estructurales de las paredes celulares de los hongos, sugieren que

las hidrolasas producidas por *Trichoderma* se encuentran involucradas en la actividad micoparasítica.

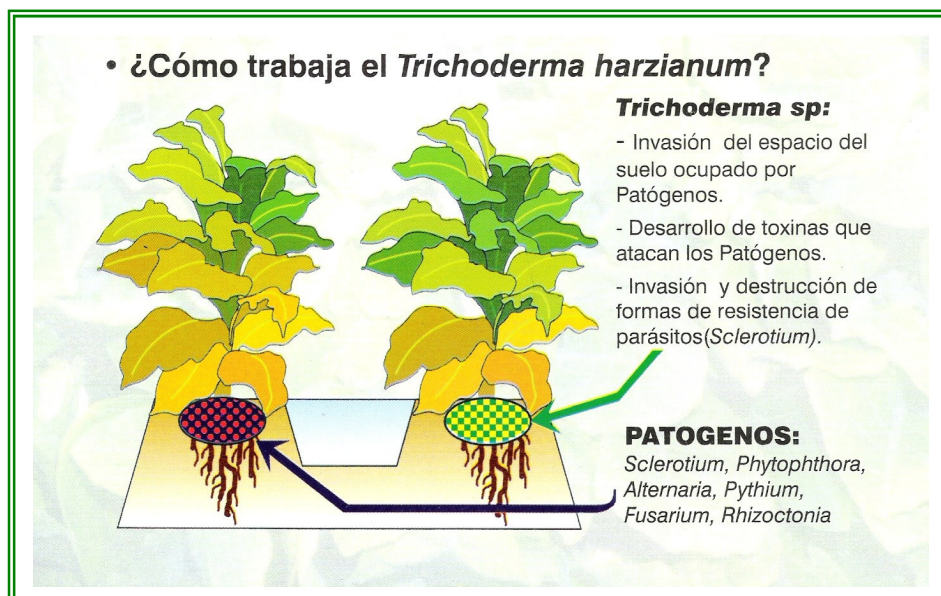


Figura 2.- Mecanismo de Acción de *Trichoderma harzianum*

Fuente: Rojas (2000)

3.3.2.2.- Formulaciones

En Biocontrol (2004) se señala que los preparados a base de este hongo se pueden presentar tanto en formulación líquida, como en sólida, conteniendo en cualquiera de los casos, un mínimo de 1.0×10^7 UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo de peso seco o por mililitro de producto.

Indica Fernández- Larrea (2001), que en Cuba se produce artesanalmente *Trichoderma* en presentación sólida, líquida estática y bifásico (líquido –sólido). La concentración de conidios en la presentación líquida es de 2 a 3×10^8 conidios/ml y en la presentación sólida del hongo de 2 a 3×10^9 conidios/g.

Por otra parte, diferentes empresas productoras de controladores biológicos, tales como SEHUSA (2005), presentan productos a base de *Trichoderma*. Tal es el caso de BIOCOP-T[®], el cual es un biofungicida líquido, a base de *T. harzianum*, con una composición de un mínimo de 4×10^6 de esporas viables/ml de producto, empleado para la prevención y control de una amplia gama de enfermedades radicales como damping-off (*Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Sclerotium*).

En el caso de Venezuela, Agrobica (2005) posee en el mercado el producto Tricobiol[®], el cual es un fungicida biológico, presentado con una formulación en polvo mojable, concentrada y totalmente soluble en agua, para facilitar su aplicación con cualquier equipo.

Las dosis de aplicación recomendadas del producto son las siguientes:

Semilleros: 1 envase/ 500 m² o un envase por cada 2 sacos de sustrato (bandejas).

Semillas de ajo y papa: 1 envase/ 200 l de agua; sumergir las semillas por 2 a 5 minutos.

Transplante: 1 envase/200 l de agua para inmersión de raíces.

Campo: 1 a 2 envases/ ha después de cada aporque, o cada 21 días dirigido al pie de la planta.

Invernaderos: 1 a 2 envases/ 1000 m², vía goteo, cada 20 a 30 días.

IAB (2005) presenta DIB-32, un preparado a base de cepas autóctonas especialmente seleccionadas del hongo *T. harzianum*. Dicho preparado posee excelentes cualidades para el control biológico de algunas enfermedades fúngicas y para la estimulación natural del crecimiento de plantas jóvenes.

Posee además excelentes características medioambientales, pues tiene toxicidad nula para animales superiores, es inocuo para artrópodos útiles, abejas y

abejorros y no es posible la contaminación del agua. Actúa como agente de control biológico, disminuyendo o eliminando la necesidad de tratar con fungicidas químicos, mediante dos mecanismos: antibiosis (por secreción de sustancias que actúan contra los hongos patógenos) y micoparasitismo (por alimentarse de hongos patógenos).

Dicho preparado se puede presentar tanto en formulación líquida, como en sólida, conteniendo en cualquier caso un mínimo de 1.0×10^7 UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo de peso seco o por mililitro de producto.

3.3.2.3.- Ventajas del Control Biológico con el Uso de *Trichoderma*

IAB (2005) señala, entre dichas ventajas, las siguientes:

- Protege las raíces de enfermedades causadas por *Pythium*, *Rhizoctonia* y *Fusarium*, además permite el crecimiento de raíces más fuertes y por lo tanto, sistemas radicales más sanos.
- Aumenta la capacidad de captura de nutrientes y de humedad, así como mejora de rendimientos en condiciones de estrés hídrico.
- No requiere equipamiento especial para su aplicación.
- Compatible con inoculantes de leguminosas y posibilidad de aplicar a semillas que han sufrido un tratamiento con fungicida químico.
- Disminuye y en algunos casos elimina la necesidad de tratar con fungicidas químicos, reduciendo los costos, así como el uso de fertilizantes, pues las plantas tienen más raíces y los utilizan mejor.

3.3.2.4.- Experiencias de Control de hongos de los géneros *Fusarium* y *Sclerotium* con el Uso de *T. harzianum* Rifai.

Acevedo (1992) señala que a fin de conocer la biología del hongo *Sclerotium cepivorum*, evaluar la efectividad de *Trichoderma sp.* como agente de control biológico y establecer una metodología para la producción de semilla libre de patógenos por cultivo de tejidos, se evaluó la variabilidad morfofisiopatológica de tres aislamientos del patógeno bajo condiciones diferentes de temperatura, pH, luz y en pruebas de patogenicidad, encontrándose que el hongo se desarrolla entre 5 y 28°C, con óptimo de 20 a 25°C; a pH entre 2 y 9, con óptimo de 5 a 8, resultando además patogénicos los tres aislamientos, con diferentes grados de agresividad y virulencia.

Indican el autor que la efectividad de *Trichoderma sp.* como agente de control biológico fue evaluada en pruebas *in vitro*, macetas y campo, determinándose que el aislamiento de *Trichoderma sp.* proveniente de El Cobre, estado Táchira, presentó características de antagonista al competir y parasitar micelio y esclerocios de *S. cepivorum in vitro*. Además, el antagonista redujo el porcentaje de infección de la enfermedad en macetas cuando se aplicó incorporado a la semilla al momento de la siembra, y en el campo logró el menor porcentaje de incidencia de la enfermedad y el mayor rendimiento en la cosecha, en comparación a diferentes productos químicos y al testigo.

Ruocco *et al* (2004) señalan que las diferentes especies de *Fusarium* son patógenos de muchos cultivos de importancia agrícola, produciendo algunas de ellas micotoxinas. En el caso particular de este estudio, se trabajó con *F. proliferatum*, el cual contamina los cereales con la toxina beauvaricina y genera graves problemas de salud tanto en animales y humanos por la ingesta de los mismos.

Pruebas *in vitro* demostraron que la actividad antagónica y micoparasítica de *Trichoderma* no es inhibida por la presencia de la toxina a concentraciones mayores de 10 ppm en el sustrato. El biocontrol *in vivo* tanto en avena como en frijol arrojó que *Trichoderma* es capaz de controlar el patógeno bien sea que produzca la toxina o no.

Por otra parte, Benítez (2005) indica que, en España, las infecciones producidas por los hongos, vienen siendo uno de los más graves problemas de los agricultores andaluces tanto por su capacidad destructiva como por su aparición inesperada en cualquier fase del cultivo. Solucionar el problema mediante el uso de pesticidas altamente tóxicos y contaminantes, como se ha hecho hasta ahora, parecía ser el único recurso.

Igualmente señala la autora que un equipo de investigadores de la Universidad de Sevilla ha conseguido, hasta el momento en condiciones de laboratorio, contrarrestar el daño de los hongos utilizando precisamente uno de ellos en la obtención por manipulación genética de una planta de tomate capaz de destruirlos. El parásito utilizado ha sido el hongo *Trichoderma*, el cual presenta una alta capacidad de agresión a otros hongos. Los investigadores sevillanos han identificado media docena de enzimas del hongo y han aislado los genes que las producen. Posteriormente, han introducido esos genes de *Trichoderma* en los cromosomas de la planta del tomate, de forma que dichos tomates transgénicos puedan producir por si mismos las enzimas atacantes y destruir los hongos parásitos de su entorno. Además de tomates, los científicos han logrado plantas de tabaco y de melón transformadas por el mismo sistema.

Prosigue la autora enfatizando que las hortalizas en general, son muy receptivas a la hora de incorporar genes ajenos, lo que permite abre las posibilidades de aplicar esta técnica a muchos otros tipos de cultivo. Las plantas transgénicas han mostrado su efecto en condiciones de laboratorio. Queda ahora ponerlas a prueba en invernaderos, para lo cual los laboratorios sevillanos han empezado a colaborar

con un grupo italiano que dispone de instalaciones adecuadas para ello. Los genes de *Trichoderma* que producen las enzimas atacantes tienen un bajo grado de actividad. Los científicos han sustituido sus segmentos adyacentes normales por otros que les hacen activarse con fuerza. Estos genes híbridos artificiales se han reintroducido en el hongo para generar cepas transgénicas de *Trichoderma* que segregan cantidades de enzimas 200 veces superiores a lo normal.

Díaz-Polanco y Castro (1977) señalan que ya desde los años cincuenta era conocido que hongos de los géneros *Penicillium* y *Trichoderma* actúan como invasores de esclerocios de *S. rolfsii*.

Acotan además los autores que otros trabajos han indicado que el uso de diversos hongos y bacterias pueden constituir medidas efectivas de control biológico de *S. rolfsii* en diversos hospederos; fenómenos similares han sido utilizados con cierto éxito en el control de otros patógenos, como por ejemplo *Fusarium roseum* y *F. moniliforme*.

Rodríguez y Acevedo (1991), indican que de aislamientos de *Trichoderma spp.* tolerantes a las dosis de 500, 500 y 100 µg ia/ml de los fungicidas Iprodione, Vinclozolín y Triadimefón, respectivamente, se hicieron crecer conidios y discos de micelio en medio PDA que contenía las dosis de 0, 2.000, 5.000, 10.000, 20.000 y 25.000 µg ia/ml de los fungicidas mencionados, con la finalidad de inducir la tolerancia a los mismos, y ser utilizados en un futuro para realizar un control integrado de la pudrición blanca del ajo (*Sclerotium cepivorum* Berk). El material fue incubado por 30 días en luz continua y a 25 °C. En cada caso se evaluó color de las colonias, tipo de crecimiento, presencia o ausencia de esporulación y crecimiento micelial (cm/d), con respecto al *Trichoderma* original.

Los resultados indican que Iprodione permitió el crecimiento micelial, germinación de conidios y esporulación en las dosis de 2.000 y 5.000 µg ia/ml. Con Vinclozolín el crecimiento micelial se presentó en las dosis de 2.000, 5.000, 10.000 y 20.000 y

la esporulación a dosis de 2.000 y 5.000 $\mu\text{g ia/ml}$. Con Triadimefón el crecimiento micelial ocurrió en las dosis de 2.000, 5.000 y 10.000 y la esporulación en la dosis de 2.000 $\mu\text{g ia/ml}$. Todos los aislamientos tolerantes a los fungicidas presentaron cambios en el color, aspecto, crecimiento y esporulación con respecto al *Trichoderma* original, y se desarrollaron en medios con fungicida después de ser repicados en 3 oportunidades en medio sin fungicida, lo que demuestra que la característica de tolerancia es estable, considerándose una adaptación genética.

Gajardo y Pérez (1999) realizaron un ensayo en el cual se inocularon semillas de frijol variedad Tórtola INIA con esclerocios de *S. rolfsii*. Las semillas habían sido recubiertas con formulaciones que contenían diferentes concentraciones de conidios de *T. harzianum* cepa N3. Se analizó la germinación y desarrollo de las plántulas hasta los 7 días, y presencia de síntomas de infección. La formulación que contenía 10^5 conidios/ml resultó ser la óptima para obtener un 100% de germinación y un desarrollo normal de las plántulas de frijol sin inocular.

Acotan los autores que esta misma formulación permitió controlar el desarrollo de *Fusarium* endógeno, como también el de *S. rolfsii* usado como inóculo. Los investigadores concluyeron que el recubrimiento de semillas de frijol con formulaciones que contienen la cepa N3 permiten controlar a *Fusarium* y *S. rolfsii* sin alterar parámetros fisiológicos como germinación y desarrollo de las plántulas.

Coventry *et al* (2006) realizaron una investigación conducente a controlar la enfermedad conocida como pudrición blanca de la cebolla, la cual es ocasionada por el hongo *Sclerotium cepivorum*, con el uso de *Trichoderma viride* bajo condiciones de invernadero. En los ensayos realizados, encontraron que la viabilidad de los esclerocios fue significativamente reducida con el tratamiento del suelo con cebolla triturada y *T. viride* en comparación con los tratamientos testigo.

Sivan y Chet (1986) reportan que el aislamiento de *T. harzianum* denominado T-35, el cual fue aislado de la rizósfera de plantas de algodón sembradas en un suelo infestado con *Fusarium* ha sido empleado como biocontrolador. En condiciones de invernadero, el antagonista fue aplicado al suelo bajo la forma de suspensión de conidios. Cuando *T. harzianum* fue probado para el control de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis* y *F. roseum* 'Culmorum', se obtuvo una reducción significativa de los patógenos en algodón, melón y avena, respectivamente. El efecto protector de *T. harzianum* contra la marchitez por *Fusarium* en algodón fue evaluada en ciclos sucesivos del cultivo. El antagonista persistió en el suelo por tres ciclos sucesivos, reduciendo la incidencia del patógeno. Tanto en algodón como en melón, *T. harzianum* controló la marchitez por *Fusarium*.

3.3.2.5.- Experiencias de Control de otros hongos patógenos con el Uso de *T. harzianum* Rifai.

Lobo de Souza (2000) señala que recientemente, se ha destacado el uso de *Trichoderma stromaticum* para el control de escoba de bruja, causada por *Crinipellis pernicioso* en cacao.

Esterio *et al* (1998) llevaron a cabo una investigación cuyo objetivo principal fue determinar *in vitro* la compatibilidad de Tricodex 25% WP con nueve fungicidas habitualmente utilizados en vides en Chile. Los fungicidas utilizados en este estudio fueron: Azufre mojable, Azufre polvo, Captan, DF-100; Folpet, Iprodione y Pyrimethanil (fungicidas de contacto) y Triadimefón y Benomil fungicidas sistémicos. Con este fin se utilizaron dos metodologías: método de Leroux & Gredt (% de inhibición de la germinación de conidios), e inhibición del desarrollo del micelio.

En el primer caso los distintos fungicidas fueron incorporados al medio de cultivo Agar-Glucosa (AG) en concentraciones crecientes de 25 a 1000 ppm de ingrediente activo, colocándose una suspensión de 200.000 conidias/ml de *T. harzianum*. En el método de crecimiento del micelio, las concentraciones de los fungicidas fluctuaron entre 25 y 1000 ppm, disponiéndose en forma invertida sobre placas de Petri con las distintas concentraciones fungicidas discos de Papa Dextrosa Agar (PDA) con micelio activo de *T. harzianum* cepa T39. Por cada concentración fungicida se consideraron 4 repeticiones, cada una de estas conformada por una placa de Petri.

Acotan los autores que en el estudio se determinaron las concentraciones mínimas efectivas capaces de eliminar al 10%, 50% y 90% de los propágulos de *Trichoderma*. Los resultados indican que DF-100 (fungicida orgánico) al igual que los fungicidas de contacto Captan, Folpet y Pyrimethanil permiten en mayor medida el crecimiento del micelio, aunque este último también permite una mayor germinación. El fungicida Iprodione al igual que el Benomil, permitió en mayor medida la germinación de conidios. Tanto el Triadimefón como el azufre en sus dos formulaciones no presentaron efecto adverso alguno a las concentraciones comercialmente utilizadas.

En otro estudio realizado por Esterio *et al* (1998), se evaluó la compatibilidad y viabilidad *in vivo* entre *Trichoderma harzianum* cepa T39 y una serie de fungicidas de uso habitual en vides en Chile, realizando un ensayo de campo y laboratorio compuesto por series de tratamientos: Aplicación exclusiva de Trichodex (T₁), o de los fungicidas en estudio (T₂) (azufre mojable; azufre polvo; Triadimefón; Benomil; Captan; DF-100; Folpan; Iprodione y Pyrimethanil); aplicación de Trichodex 1° y 96 horas después, los distintos fungicidas (T₃); y fungicidas 1° y 96 horas después Trichodex (T₄), y un testigo absoluto (T₅). Se colectaron 25 bayas desde 3 plantas por tratamiento en cinco épocas: antes e inmediatamente después de las aplicaciones, y 72,168 y 264 horas post 1° aplicación, inoculándose

posteriormente en seco con conidias de *Botrytis* resistentes a 50 ppm de Benomil, e incubadas a 20°C y alta humedad por 15 días.

En evaluaciones periódicas se determinó el efecto de control en los distintos tratamientos. En orden decreciente el grado de compatibilidad obtenido in vivo entre Trichodex y los distintos fungicidas fue el siguiente: DF-100; Pyrimethanil; Folpan Captan; Iprodione y Benomil. Además, se determinó que el Benomil, Iprodione y Pyrimethanil, presentaron una mayor compatibilidad al ser aplicados antes que el controlador biológico; en cambio DF-100, Captan y Folpan son más compatibles al ser aplicados después de éste. El Triadimefón y azufre en sus dos formulaciones resultaron ser inocuos para esta cepa de *T. harzianum*.

Cilliers *et al* (2003) señala que en condiciones *in vitro*, empleando medios contentivos de Carbendazin y Flusilazole, se imposibilitó el crecimiento de aislamientos de *S. rolfsii*,

Por otra parte, señalan Ezziyyani *et al* (2004) que las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores.

Dadas estas ventajas, los autores realizaron un trabajo a fin de analizar el uso de *T. harzianum* como agente antagonista de *Phytophthora capsici*, para reducir la marchitez causada por este patógeno en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.) var. California Wonder, incrementar los niveles de enzimas hidrolíticas producidas por *T. harzianum* y conseguir biopreparados más eficaces. Se llevó a cabo una serie de ensayos, tanto *in vitro* como *in vivo*, además del tratamiento de semillas con una suspensión al 3% de *T. harzianum*.

En el caso de los ensayos *in vivo*, éstos se realizaron en macetas y en el suelo. Para el ensayo en macetas, el inóculo de *T. harzianum* utilizado fue preparado en vermiculita, avena y agua (Avy3), con concentraciones de 5, 10, 15 y 20 g/maceta, las cuales contenían 15 g del patógeno *P. capsici*. Se emplearon 10 plantas por tratamiento. Para los ensayos en suelo, se prepararon hoyos en los que fue mezclada vermiculita inoculada previamente con el antagonista a razón de 15 g/hoyo, rehaciendo el hoyo donde se colocaron las plantas. Pasados siete días del trasplante, se removió el suelo a nivel de la rizósfera, formando un círculo alrededor de la planta, se infectaron las plantas con *P. capsici* y se cubrió con el suelo.

Los autores destacan que en las plántulas crecidas en vermiculita a partir de semillas tratadas con el antagonista, el porcentaje de germinación, el peso seco y la longitud de las plántulas fue superior al de las no tratadas, indicando una mayor absorción de nutrientes. En macetas, el tratamiento de las plantas con Avy3, dio un buen resultado en la reducción de la podredumbre con un 56%, sin embargo, los resultados de control del patógeno con el antagonista en plantas cultivadas en suelo, no ha sido tan satisfactorio, encontrándose una reducción del 22%; el establecimiento y la reducción de población de *T. harzianum* en el suelo puede deberse a que el antagonista utiliza su energía en la producción de metabolitos secundarios más que en su propia reproducción.

Trujillo *et al* (2006) realizaron un trabajo a fin de evaluar la eficiencia biológica de *T. harzianum* (cepa TS3) y el sinergismo entre éste y el extracto acuoso de humus frente a la incidencia del tizón temprano, causado por *Alternaria solani* en papa var. Cal White, en condiciones de producción. Para ello, condujeron un ensayo de campo para el cual se definieron cuatro tratamientos: un testigo estándar, y la aplicación combinada de *T. harzianum* y extracto acuoso de humus y de cada uno de ellos por separado como tratamientos alternativos. La dosis de *Trichoderma* fue de 3 kg/ha y el extracto acuoso de humus se preparó a razón de 200 g de humus en 16 litros de agua.

Como resultado del trabajo, los autores destacan que el antagonista *T. harzianum* cepa TS3, en aplicaciones combinadas con extracto acuoso de humus con una frecuencia semanal, puede alcanzar un nivel de protección similar e incluso superior al alcanzado con los estándares químicos evaluados frente al ataque del tizón temprano, confirmando así sus posibilidades de uso como biorregulador de tan importante enfermedad.

Abdelzaher (2004) indica que en Egipto, se registró un severo ataque de damping-off en avena, causado por *Pythium diclinum*, siendo éste el primer reporte del patógeno en dicho cultivo, causando lesiones marrones en la base de las plántulas y decaimiento. Por esta razón, se llevó a cabo un trabajo a fin de evaluar el efecto de la protección de semillas con *T. harzianum* (MU510). La incorporación de este biocontrolador en la cobertura de carboximetilcelulosa aplicada a la semilla para protegerla, redujo en más de un 95% el damping-off en la fase de preemergencia, mientras que en postemergencia el damping-off se previno con la adición del hongo biocontrolador al suelo infestado con *P. diclinum*.

Tomando como referencia las exitosas experiencias realizadas con *Trichoderma harzianum* como biocontrolador, se planteó la realización de un estudio cuyo objetivo fundamental fue evaluar el efecto de la dosis y el momento de aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate cv. Rio Grande bajo condiciones *in vivo*, con el fin de aportar una fuente de control eficiente y de mínimo impacto ambiental, sobre estos patógenos de gran importancia agrícola.

IV.- MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos contemplados en este trabajo, se llevaron a cabo tanto en el umbráculo y laboratorio de la Estación Experimental EXPERTA de la Facultad de Agronomía – U.C.V. Maracay como en umbráculo ubicado en la Urb. El Piñal – El Limón y en la Clínica de Plantas de la Cátedra de Fitopatología – Dpto. de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía – U.C.V. Maracay.

4.1.- Material Vegetal

Se emplearon 160 plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) cv. Río Grande, el cual es susceptible tanto a *Sclerotium rolfsii* como a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y es ampliamente cultivado en el Edo. Aragua y el país para consumo fresco y uso agroindustrial.

Se dispusieron 80 de estas plantas para ser inoculadas con cada uno de los patógenos bajo estudio, siendo 20 de ellas empleadas como testigo para cada tratamiento, un testigo inoculado sin aplicación del biocontrolador y un testigo sin inocular. A las 60 plantas restantes se les aplicaron los tratamientos correspondientes. Los tratamientos aplicados se muestran en el **Cuadro 1**.

Cuadro 1.- Tratamientos de *Trichoderma harzianum* a aplicar a las plantas inoculadas con los patógenos bajo estudio.

Dosis de <i>Trichoderma harzianum</i>	Tratamiento	Transplante	Semanal
1 x 10 ² UFC/gramo.	T ₁ (STS10 ²)	✓	✓
	T ₂ (ST10 ²)	✓	x
1 x 10 ⁴ UFC/gramo.	T ₃ (STS10 ⁴)	✓	✓
	T ₄ (ST10 ⁴)	✓	x
1 x 10 ⁶ UFC/gramo.	T ₅ (STS10 ⁶)	✓	✓
	T ₆ (ST10 ⁶)	✓	x
Testigo 1	T ₇ (TI)	x	x
Testigo 2	T ₈ (TSI)	x	x

Nota: En semillero, se aplicó a las plantas correspondientes la dosis de 1 x 10⁶ UFC/gramo.

Leyenda:

✓ Se aplica

x No se aplica

T₇: Testigo inoculado sin aplicación del biocontrolador

T₈: Testigo sin inocular

Este esquema de tratamientos fue aplicado tanto para *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* como para *Sclerotium rolfsii* por separado. Un día después del transplante se procedió a realizar la inoculación de cada patógeno.

4.2.- Preparación del Semillero y Transplante

Se plantaron las semillas en dos bandejas de siembra de 128 celdas cada una con sustrato esterilizado compuesto por suelo y materia orgánica.

Se realizó el riego diario de las plantas, aplicando fertirrigación 2 a 3 veces por semana.

Luego de 30 días se procedió a realizar el transplante de las plántulas en condiciones de umbráculo, empleando bolsas negras de polietileno de 5 kg con sustrato, como se ilustra en la **Figura 3**.

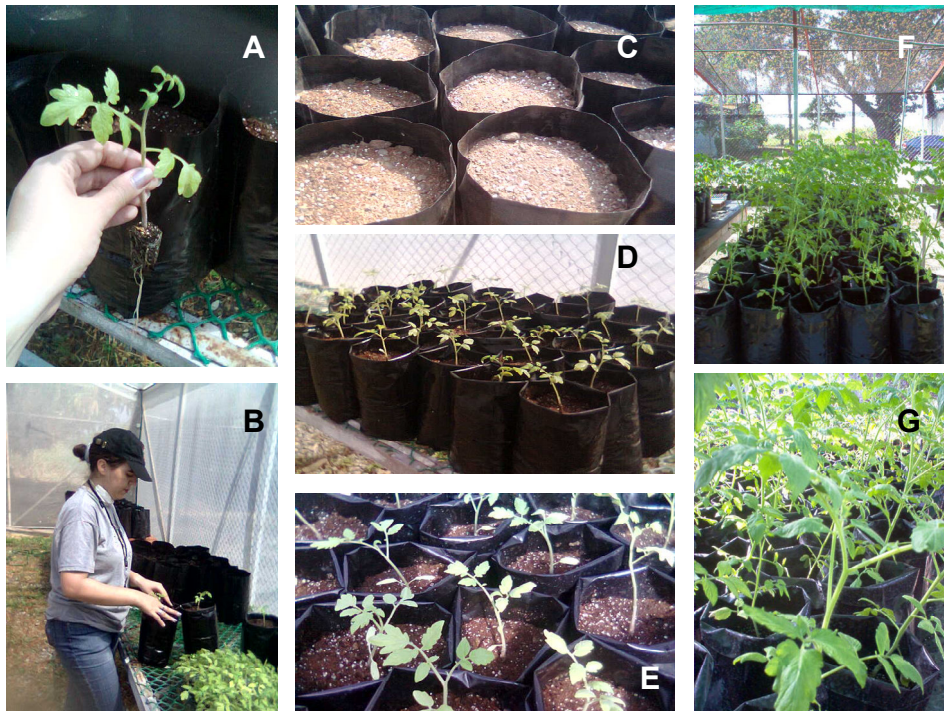


Figura 3.- Transplante de las plántulas.

A.- Cepellón procedente del semillero.

B.- Transplante en bolsas con sustrato.

C.- Sustrato empleado para el transplante.

D, E.- Aspecto de las plántulas recién transplantadas.

F, G.- Plantas ya establecidas.

4.3.- Procedencia de las Cepas

4.3.1.- Hongos Fitopatógenos

Para la realización de los ensayos contemplados en este estudio, se empleó una cepa de *S. rolfsii* procedente de El Sombrero, Edo. Guárico y una cepa de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 2 procedente de El Conde, al sur del Edo. Aragua.

4.3.2.- Hongo Biocontrolador

El hongo biocontrolador empleado fue *Trichoderma harzianum*, el cual constituye el producto comercial Tricobiol[®] de la empresa Agrobica ubicada en Valencia, Edo. Carabobo. Este producto es de formulación en polvo mojable, concentrada y totalmente soluble en agua.

4.4.- Dosificación de *T. harzianum*

Se llevaron a cabo ensayos con el fin de determinar la mejor dosis del hongo *Trichoderma harzianum* para el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y de *Sclerotium rolfsii* en tomate, de acuerdo a las siguientes concentraciones:

C₁: *Trichoderma harzianum* 1 x 10² UFC/gramo.

C₂: *Trichoderma harzianum* 1 x 10⁴ UFC/gramo.

C₃: *Trichoderma harzianum* 1 x 10⁶ UFC/gramo.

4.5.- Momento de Aplicación de *T. harzianum*

Para determinar la mejor época de aplicación del hongo biocontrolador, se aplicaron las diferentes dosis de *T. harzianum* en suspensión, en tres épocas distintas: en semillero, al transplante y semanalmente, discriminados de acuerdo a los siguientes tratamientos:

Cuadro 2.- Dosificación de *Trichoderma harzianum* para su aplicación al transplante y semanal.

Trat	Transp.	Semanas											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l /0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1 l/ 0.3g
2	1l/ 0.3g	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l /0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1 l/ 0.3g
4	1l/ 0.3g	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l /0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1l/ 0.3g	1 l/ 0.3g
6	1l/ 0.3g	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* 10 plantas por tratamiento, aplicando 100 ml/planta, lo cual da 1 l de agua y 0.3 g de *Trichoderma harzianum*.

* Calculado para *F. oxysporum f. sp. lycopersici* e igualmente para *S. rolfsii*.

4.5.1.- Semilleros

Cada bandeja contuvo 5 ml de inóculo por celda, de manera tal que se preparó 1 litro de suspensión para regar ambas bandejas. Por lo tanto, se emplearon 3 litros de suspensión (1 litro por tratamiento).

4.5.2.- Transplante

Para el transplante, fueron requeridos 3.9 g de *Trichoderma* para cada uno de los tratamientos (T₁, T₂, T₃, T₄, T₅ y T₆), por lo cual se emplearon 5 g de cada una de las concentraciones.

4.5.3.- Aplicaciones semanales

Para las aplicaciones semanales, fueron requeridos 3.9 g de *Trichoderma* para cada uno de los tratamientos (T₁, T₃ y T₅), por lo cual se emplearon 5 g de cada una de las concentraciones.

En la **Figura 4** se ilustra el proceso de preparación y aplicación del biocontrolador.



Figura 4.- Preparación y aplicación del biocontrolador *Trichoderma harzianum*.

- A.- Gramos de *Trichoderma* pesados para preparar cada una de las concentraciones.
- B.- Colocación del biocontrolador en los recipientes.
- C.- Preparación de la solución del biocontrolador.
- D.- Cámara de Neubauer empleada para medir las concentraciones del biocontrolador.
- E, F.- Soluciones de *Trichoderma* preparadas.
- G.- Aplicación de *Trichoderma* a las plantas.

4.6.- Inoculación de Plantas

4.6.1.- Inoculación con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

4.6.1.1.- Preparación del Inóculo

El inóculo fue preparado tomando aislamientos puros del hongo, cultivados por siete días a temperaturas entre 28-30°C en cajas de petri con medio papa dextrosa agar (PDA). Se agregaron 20 ml de agua destilada esterilizada (ADE) y con un bisturí estéril se raspó suavemente la superficie de la colonia, a fin de separar el micelio y los conidios del hongo, esta suspensión fue filtrada en gasa estéril y luego se midió en hematocímetro o Cámara de Neubauer la concentración de conidios en la suspensión, ajustándose a una concentración de 10^6 conidios/ml para luego inocular las plantas.

Se preparó 1 litro para inocular 70 plantas, empleando 10 cc para cada una.

4.6.1.2.- Inoculación

La inoculación de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* se realizó en la raíz, causando heridas en la misma mediante la utilización de un tubo de vidrio, a fin de facilitar la penetración del hongo en la planta y garantizando la entrada del patógeno. Tanto la inoculación como la preparación del inóculo se ilustran en la **Figura 5**.

4.6.2.- Inoculación con *S. rolfsii*

En el caso de *S. rolfsii*, se empleó sustrato conteniendo la fuente de inóculo, a razón de 100 esclerocios/kg, como se observa en la **Figura 6**.

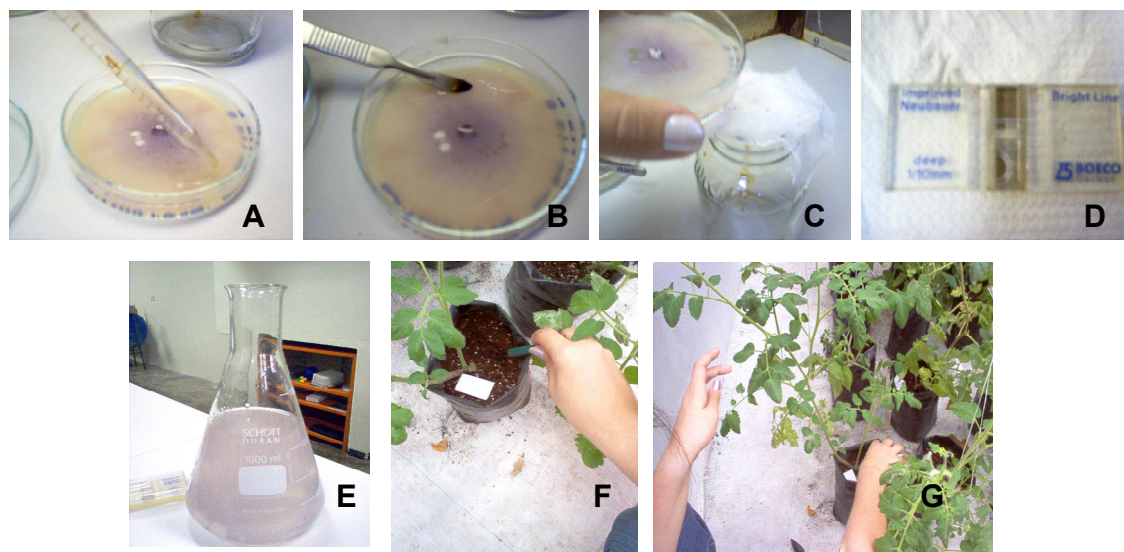


Figura 5.- Preparación del inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* e inoculación de plantas.

- A, B.- Ceba de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y preparación de la solución de inóculo.**
C.- Filtrado de la solución de inóculo.
D.- Cámara de Neubauer empleada para medir la concentración de inóculo.
E.- Solución de inóculo preparada.
F.- Realización de heridas para inocular las plantas.
G.- Aplicación del inóculo al sustrato.



Figura 6.- Inoculación de plantas con *Sclerotium rolfsii*.

A, B.- Cepas del patógeno.

C, D.- Colocación de los esclerocios en la base de las plantas.

4.7.- Diseño de Experimento

El ensayo se llevó a cabo bajo un diseño completamente aleatorizado (D.C.A) con submuestreo, con 10 repeticiones por tratamiento aplicado para cada uno de los patógenos bajo estudio.

4.8.- Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico Statistix versión 8.0. Para el análisis de varianza, se aplicó la prueba de medias de Tukey, a fin de determinar los mejores tratamientos aplicados. Para aquellas variables que no cumplieron los supuestos básicos, se procedió a realizar un análisis de varianza vía no paramétrica (Kruskal-Wallis). Se aplicaron además las pruebas de correlación de Spearman y Pearson para las variables analizadas.

4.9.- Evaluación de los Tratamientos Aplicados

Se evaluó tanto la mejor dosis de *Trichoderma harzianum* sobre ambos patógenos, así como la época de aplicación más adecuada y el tiempo de protección que ofrece el biocontrolador. Para ello se realizó un seguimiento del desarrollo de las plantas de tomate cv. Río Grande, desde el semillero hasta la cosecha de los frutos.

Se midieron, al momento de la cosecha, las siguientes variables:

- Altura de la planta (cm)
- Longitud de las raíces (cm)
- Peso fresco de raíces (g)
- Peso seco de raíces (g)
- Peso fresco de parte aérea (g)
- Peso seco de parte aérea (g)
- Rendimiento (kg)
- Número de frutos por planta.
- Peso individual del fruto.
- Largo y ancho de cada fruto.

Para la obtención del peso seco, se colocaron las partes a secar en papel y se colocaron en estufa a 60°C por 24 horas, como se observa en la **Figura 7**.

Se evaluó además el efecto de cada uno de los patógenos sobre las plantas y el efecto de protección de *Trichoderma harzianum* sobre el crecimiento de las mismas.

Se realizó la observación de los síntomas manifestados por las plantas para cada uno de los tratamientos aplicados.



Figura 7.- Secado y pesado de las muestras secas de raíces y parte aérea.

A.- Estufa.

B.- Pesado en balanza.

C, D.- Vistas generales de las muestras secas de raíces y parte aérea, respectivamente.

V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1.- Control de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* con la Aplicación de *T. harzianum*

5.1.1.- Efecto de *T. harzianum* sobre el crecimiento de las plantas.

Una vez efectuadas las evaluaciones respectivas, se realizaron los análisis estadísticos vía no paramétrica de cada una de las variables, aplicando el análisis de varianza de Kruskal-Wallis con su respectiva prueba de medias ($p = 0.05$), tal y como se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3.- Prueba de Medias del Análisis de Varianza de Kruskal-Wallis para las variables de las plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Altura de Plantas (cm)	Longitud de Raíces (cm)	Peso Fresco de Raíces (g)	Peso Seco de Raíces (g)	Peso Fresco Parte Aérea (g)	Peso Seco Parte Aérea (g)
T ₂ 128.50 a	T ₅ 49.65 a	T ₅ 23.54 a	T ₅ 2.66 a	T ₅ 127.52 a	T ₅ 23.27 a
T ₆ 128.00 ab	T ₁ 47.17 a	T ₆ 19.47 ab	T ₆ 2.22 a	T ₆ 107.43 a	T ₆ 20.38 ab
T ₄ 123.80 ab	T ₆ 44.32 a	T ₃ 17.13 ab	T ₃ 2.21 a	T ₄ 90.45 a	T ₄ 16.99 ab
T ₁ 123.50 ab	T ₂ 42.48 a	T ₈ 15.38 ab	T ₈ 1.92 a	T ₈ 90.51 a	T ₃ 16.72 ab
T ₅ 119.00 ab	T ₇ 41.50 a	T ₁ 15.25 ab	T ₁ 1.82 a	T ₃ 86.49 a	T ₂ 14.94 ab
T ₃ 109.00 ab	T ₄ 39.09 a	T ₂ 14.76 ab	T ₇ 1.81 a	T ₁ 86.59 a	T ₁ 13.45 b
T ₈ 106.70 ab	T ₃ 36.44 a	T ₄ 14.10 ab	T ₄ 1.77 a	T ₂ 76.03 a	T ₈ 13.32 b
T ₇ 105.50 b	T ₈ 35.60 a	T ₁ 10.58 b	T ₂ 1.67 a	T ₇ 61.93 a	T ₇ 13.14 b

*Las letras iguales significan que no existen diferencias significativas entre tratamientos. $\alpha = 0.05$

T₁: STS10² T₅: STS10⁶
 T₂: ST10² T₆: ST10⁶
 T₃: STS10⁴ T₇: TI
 T₄: ST10⁴ T₈: TSI

Se realizó también un análisis de correlación entre las variables evaluadas aplicando la prueba de correlación de Pearson.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

En relación a la variable **altura de plantas (cm)**, se observa en la **Figura 8** que al momento de la cosecha la misma presentó el mayor valor con el tratamiento 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y al momento del trasplante), mientras que la menor altura fue registrada en el tratamiento 7 correspondiente al testigo inoculado. Entre el resto de los tratamientos no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$).

Este efecto de *T. harzianum* ha sido observado por otros investigadores, tales como González-Salgado *et al* (1999) quienes encontraron que *T. harzianum* influyó significativamente sobre el incremento de la masa fresca, la altura y el diámetro del tallo en plantas de tomate.

Los autores plantean que tal efecto puede atribuirse al control realizado por este tipo de microorganismos sobre algunos patógenos, a la producción de metabolitos estimuladores del crecimiento vegetativo por parte de éstos, o la acción simultánea de ambos factores.

En cuanto a la correlación entre la altura de plantas con las demás variables evaluadas, se encontró una correlación positiva de ésta con el peso fresco de la parte aérea, el peso seco de la parte aérea y el peso fresco de la raíz. Dicha correlación resulta lógica, dado que una mayor superficie radical contribuye a que la planta lleve a cabo una adecuada absorción de agua y nutrientes, cumpliendo el proceso fotosintético y desarrollando mayor parte aérea y por ende la altura de la planta.

Se observa además que la aplicación de *T. harzianum*, desde muy bajas dosis, propicia un notable desarrollo de la parte aérea, tomando importancia la aplicación tanto en semillero como al momento del transplante y semanalmente.

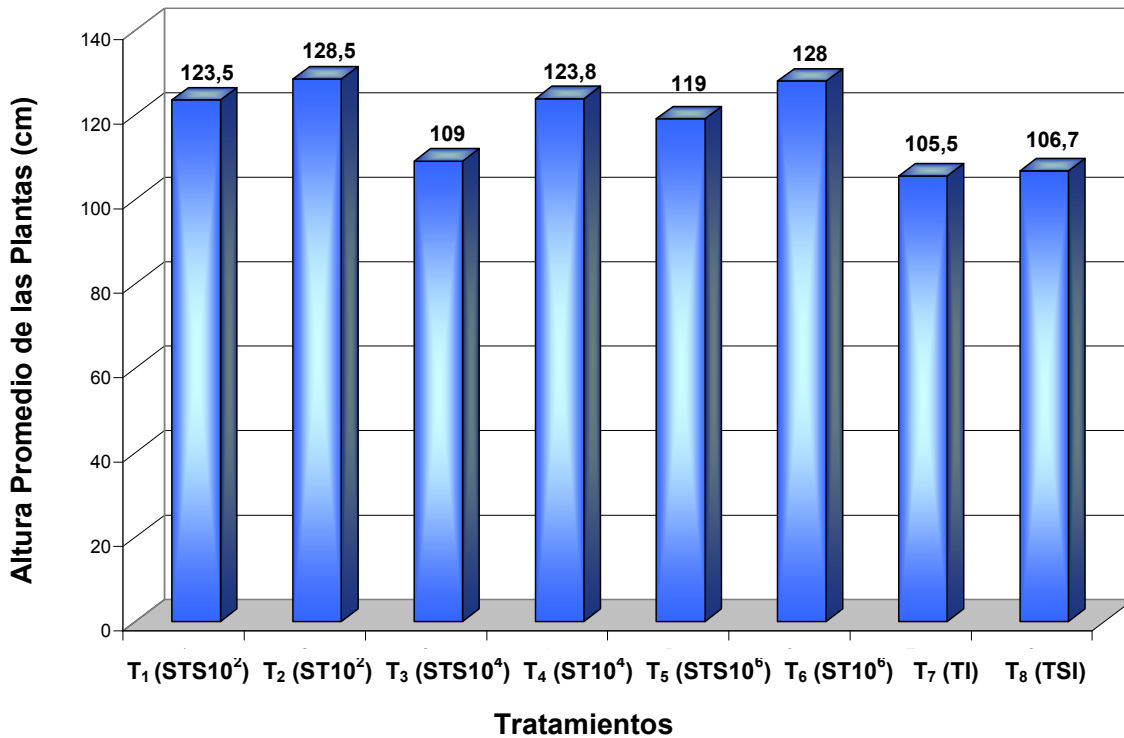


Figura 8.- Altura promedio (cm) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Al realizar el seguimiento de esta variable en el tiempo, se observó que las diferencias entre los tratamientos aplicados fueron apreciables a partir del cuarto mes después del transplante, donde ya las plantas habían alcanzado un considerable desarrollo. En la **Figura 9** se aprecia la evolución de la altura de las plantas para cada tratamiento, evaluada desde el inicio del ensayo hasta la cosecha.

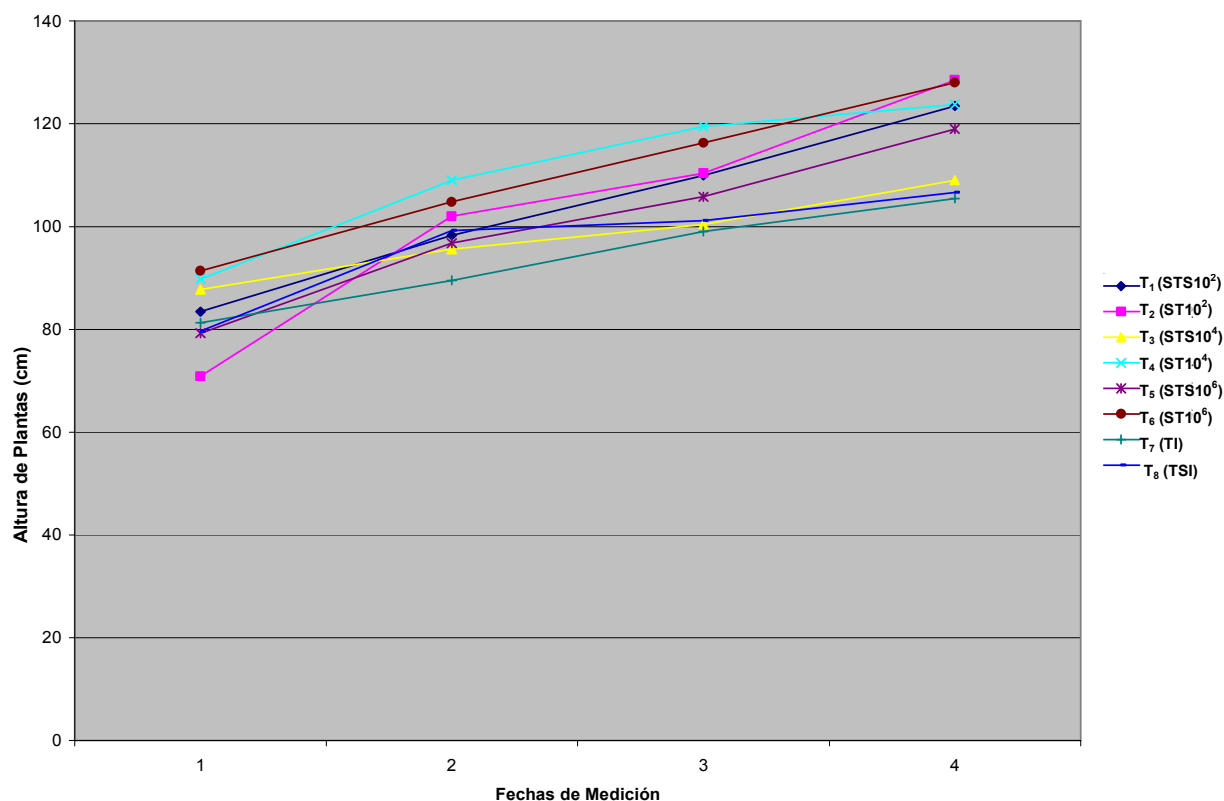


Figura 9.- Altura promedio (cm) en el tiempo de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

En cuanto a la variable **longitud de raíces (cm)**, tal y como se aprecia en la **Figura 10**, se observa que la mayor longitud se alcanzó con el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), seguido del tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal) y el tratamiento 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), sin embargo, no hubo diferencias significativas entre todos los tratamientos aplicados ($p > 0.05$), como se observa en la **Figura 11**.

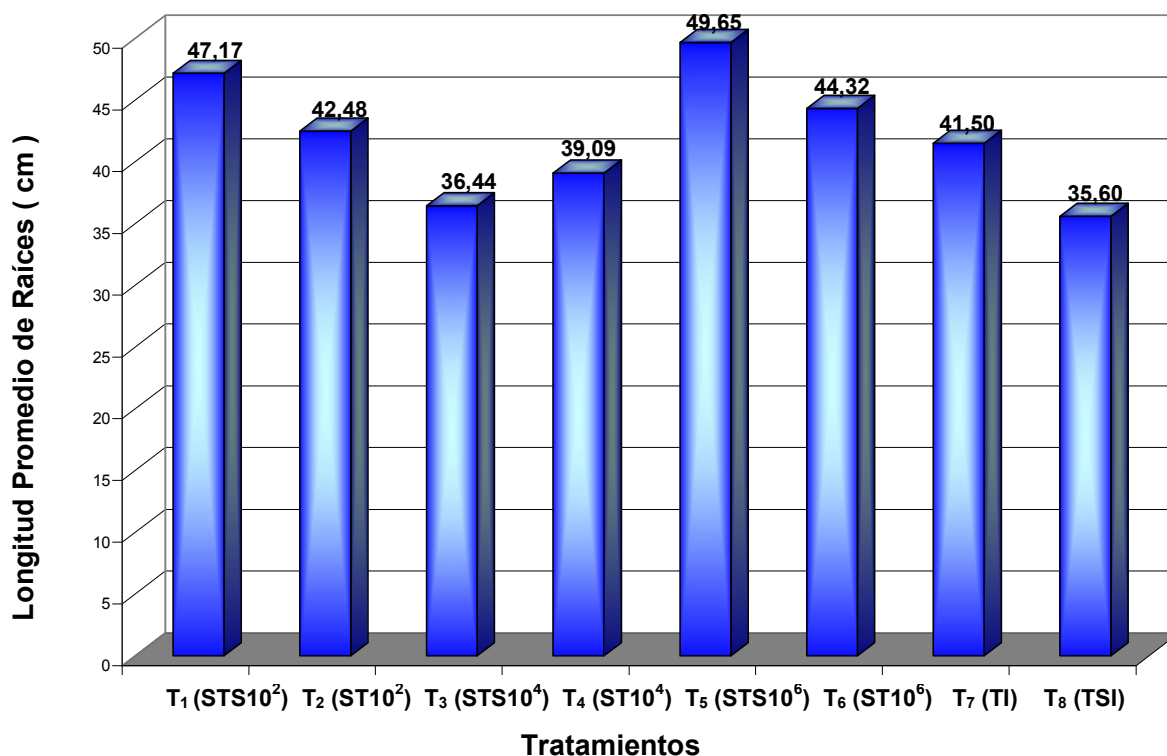


Figura 10.- Longitud promedio de raíces (cm) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).



Figura 11.- Raíces desarrolladas con la aplicación de *T. harzianum*.

A.- 1×10^6 UFC/g aplicada en semillero, transplante y semanal.

B.- 1×10^4 UFC/g aplicada en semillero y transplante.

Nótese que la longitud es muy similar en ambos tratamientos.

Respecto a la correlación entre esta variable y las demás variables evaluadas, se obtuvo una correlación positiva entre la longitud de raíces y el número de frutos por planta; ya que la planta al contar con una mayor superficie radical es capaz de realizar una absorción más efectiva de agua y nutrientes, lo que mejora su crecimiento vegetativo y una vez alcanzada la fase reproductiva, tanto la floración como el llenado del fruto ocurre de manera más eficiente.

En cuanto a la variable **peso fresco de raíces (g)**, el mayor peso se obtuvo con el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), mientras que el menor peso se observó en el tratamiento 7 (testigos inoculados), presentando ambos tratamientos diferencias ($p < 0.05$) significativas respecto al resto, tal y como se aprecia en la **Figura 12**.

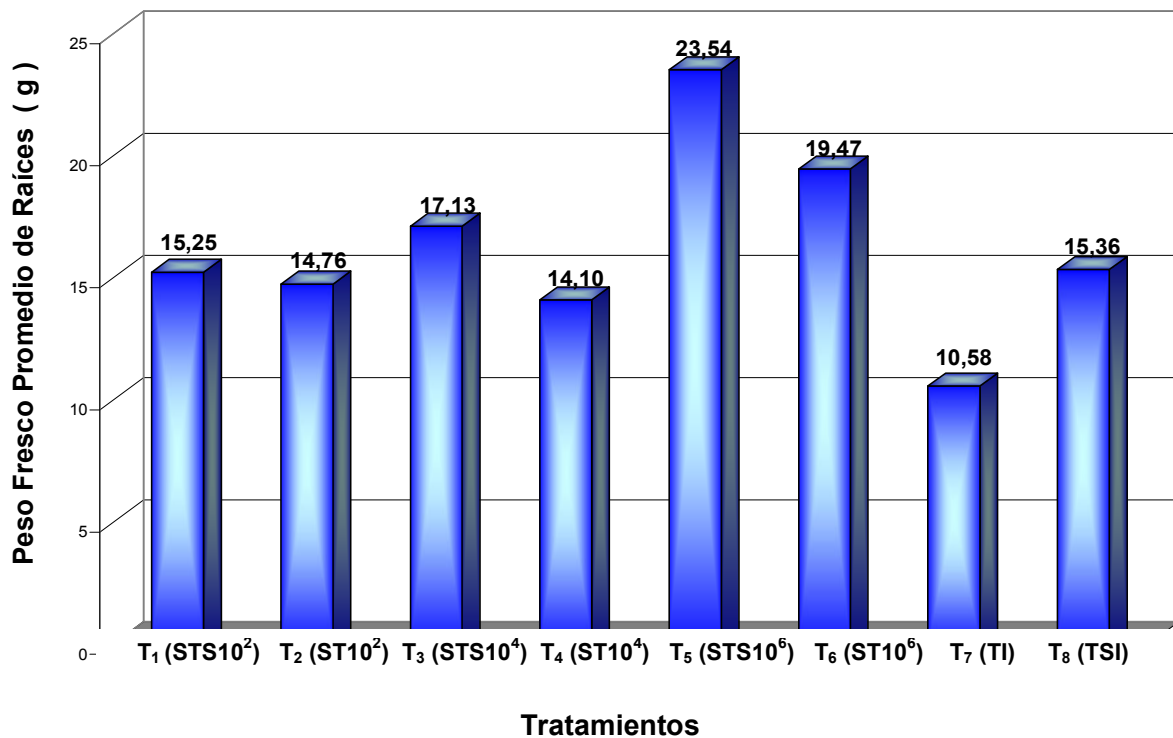


Figura 12.- Peso fresco promedio de raíces (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

En lo que se refiere a la correlación del peso fresco de raíces con las demás variables evaluadas, dicha correlación fue positiva con el número de frutos y la altura de la planta.

En relación al **peso seco de raíces (g)**, a pesar de no encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($p > 0.05$), el mayor valor de peso seco fue alcanzado en las plantas del tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), seguido de los tratamientos 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante) y 3 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), tal y como se aprecia en la **Figura 13**.

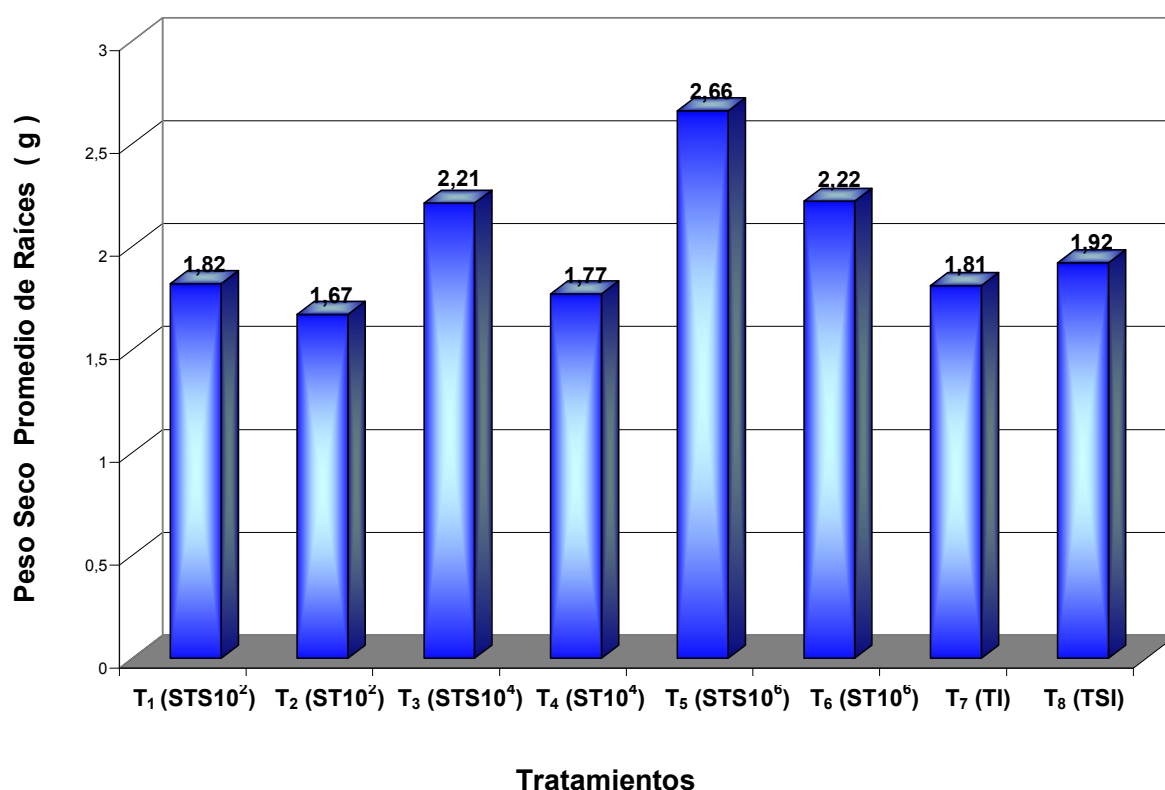


Figura 13.- Peso seco promedio de raíces (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Respecto al efecto de los biocontroladores sobre el crecimiento radical, Hysek *et al* (2002) indican que *T. harzianum* coloniza raíces, incrementa la masa de raíces y protege a las plantas manteniéndolas sanas con la consecuente obtención de buenos rendimientos.

La variable **peso fresco de la parte aérea (g)** mostró su máximo valor, tal y como se aprecia en la **Figura 14**, con el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre éste y el resto de los tratamientos aplicados.

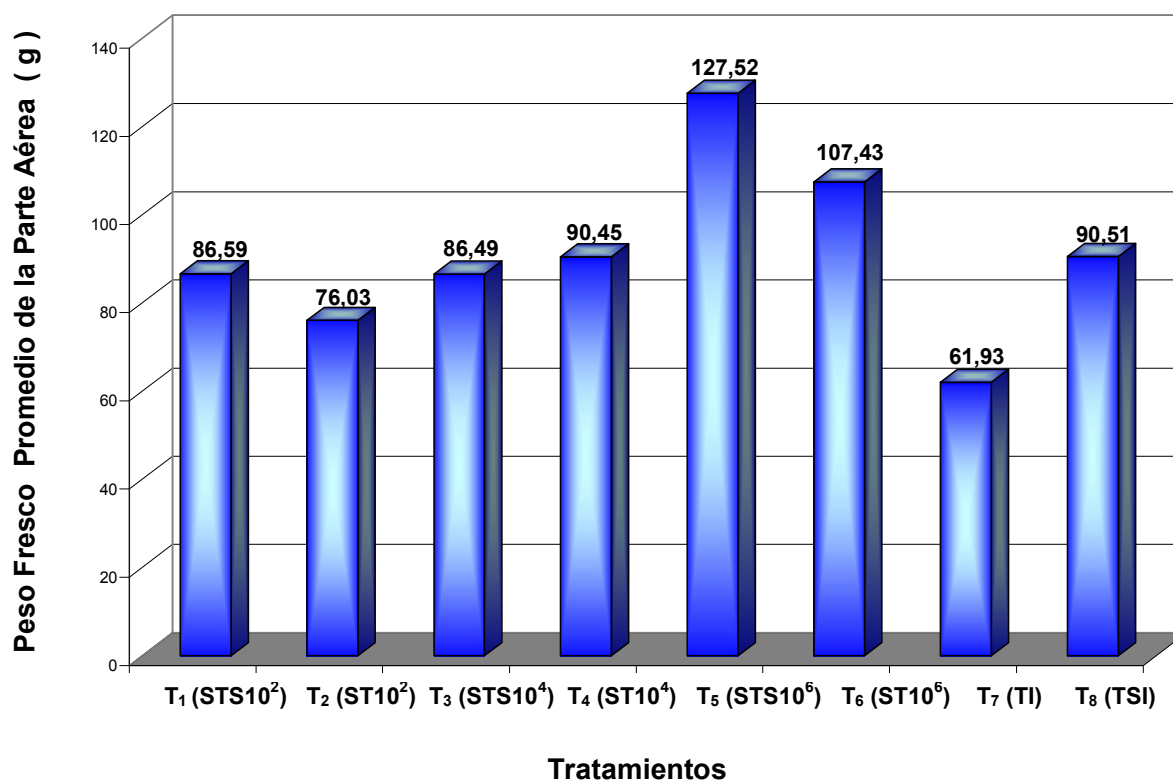


Figura 14.- Peso fresco promedio de la parte aérea (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

El peso fresco de la parte aérea presentó correlación positiva tanto con la altura de plantas como con el número de frutos.

La variable **peso seco de la parte aérea (g)** expresó su máximo valor con el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), el cual presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con los tratamientos 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), 7 (testigo inoculado) y 8 (testigo sin inocular).

Es importante destacar que los tratamientos 5 y 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), propician el desarrollo de biomasa en las plantas tratadas, como se muestra en la **Figura 15**.

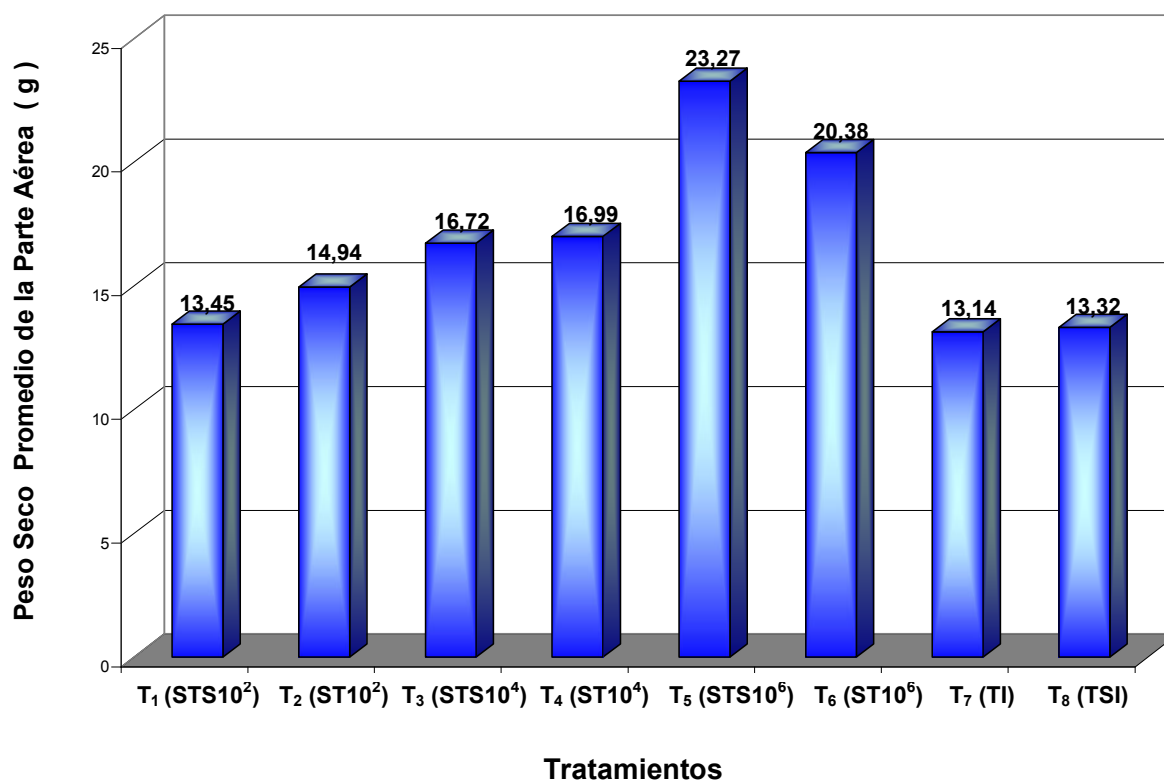


Figura 15.- Peso seco promedio de la parte aérea (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Estos resultados coinciden con lo señalado por Kleifeld *et al* (1983), quienes explican que *T. harzianum* promueve el crecimiento en melón, tomate, pimentón y leguminosas en ausencia de patógenos. De hecho, los autores observaron que las semillas tratadas con el biocontrolador germinan entre 2 a 7 días antes que las no tratadas. Igualmente se ha encontrado que la aplicación de *T. harzianum* en estas plantas ha aumentado en un 40% la producción de materia seca y ha hecho que la floración ocurra antes que en las plantas control.

Igualmente, González-Cárdenas *et al* (2004) indican que para el control de *Fusarium solani* en tomate cultivado bajo condiciones de invernadero en suelo franco-arcilloso, empleando dos aislamientos de *T. harzianum* denominados Thv y Th291, se encontró que a pesar de usarse una alta presión de inóculo del patógeno, ambos aislamientos de *Trichoderma* lograron un buen control y contribuyeron a estimular un mayor peso seco de las plantas.

En cuanto a la correlación, la misma resultó positiva entre esta variable y la altura de plantas. En lo que respecta a las variables relativas a la parte aérea, su expresión coincide con lo reseñado por Kleifeld y Chet (1992), quienes afirman que el hongo *T. harzianum* aplicado al suelo, induce un incremento en la tasa de emergencia de plántulas, altura de las plantas, área foliar y peso seco; es decir, que la aplicación del biocontrolador no sólo ofrece un efecto protector contra patógenos del suelo sino que además contribuye a la expresión positiva de las variables de la planta, tanto en fase vegetativa como reproductiva.

Destaca en el caso particular de este trabajo, que para las variables analizadas, el tratamiento más efectivo fue el tratamiento 5 (10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), lo cual evidencia que una dosis de este biocontrolador superior a 10^2 UFC/g o 10^4 UFC/g aplicada con mayor frecuencia, ejerce un mejor control de este patógeno sistémico, que suele afectar a las plantas jóvenes. Esta última característica hace necesaria la protección de las plantas

tanto en semillero como en sus primeros estadios a fin de evitar la muerte de las plántulas antes de culminar el ciclo del cultivo.

Para las variables del fruto, se tomaron las mediciones efectuadas en la última cosecha, excepto para el número de frutos y el rendimiento (kg), variables para las cuales se tomó en consideración el número total de frutos obtenidos durante todo el ensayo. Es necesario destacar que para ésta última, no se desarrollaron frutos aptos en el tratamiento 1 (10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal). Las variables fueron analizadas vía paramétrica, aplicando la prueba de medias de Tukey, tal y como se muestra en el **Cuadro 4**, mientras que en el **Cuadro 5**, se muestran los coeficientes de variación (C.V.) obtenidos para cada una de estas variables.

Cuadro 4.- Prueba de Medias de Tukey para las variables de los frutos de plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Ancho de Frutos (cm)	Largo de Frutos (cm)	Peso de Frutos (g)	Número de Frutos
T ₆ 4.31 a	T ₄ 5.54 a	T ₄ 48.40 a	T ₃ 3.55 a
T ₇ 4.18 a	T ₇ 5.35 a	T ₆ 46.25 a	T ₄ 3.47 a
T ₄ 4.12 a	T ₅ 5.33 a	T ₃ 45.00 a	T ₈ 2.98 ab
T ₅ 4.08 a	T ₆ 5.19 a	T ₇ 44.71 a	T ₇ 2.87 ab
T ₂ 4.00 a	T ₂ 5.08 a	T ₅ 44.17 a	T ₂ 2.62 ab
T ₃ 4.00 a	T ₃ 5.05 a	T ₈ 40.91 a	T ₆ 2.07 ab
T ₈ 3.82 a	T ₈ 5.00 a	T ₂ 40.83 a	T ₁ 1.52 b
T ₁ -----	T ₁ -----	T ₁ -----	T ₅ 1.50 b

*Las letras iguales significan que no existen diferencias significativas entre tratamientos. $\alpha = 0.05$

T₁: STS10² T₅: STS10⁶
 T₂: ST10² T₆: ST10⁶
 T₃: STS10⁴ T₇: TI
 T₄: ST10⁴ T₈: TSI

Cuadro 5.- Coeficientes de variación para las variables de los frutos de plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Tratamiento	Ancho de Frutos (cm)	Largo de Frutos (cm)	Peso de Frutos (g)	Número de Frutos
T ₁	-----	-----	-----	150.70
T ₂	18.724	17.056	47.232	93.189
T ₃	16.644	11.585	28.207	88.609
T ₄	16.335	17.664	39.419	73.146
T ₅	10.660	16.158	42.587	109.11
T ₆	0.000	12.505	19.808	87.572
T ₇	15.309	12.285	27.530	88.130
T ₈	16.439	10.722	28.134	81.090

T₁: STS10² **T₅: STS10⁶**
T₂: ST10² **T₆: ST10⁶**
T₃: STS10⁴ **T₇: TI**
T₄: ST10⁴ **T₈: TSI**

Como se observa, los coeficientes de variación son relativamente bajos para las tres primeras variables, las cuales presentaron medidas similares en cada evaluación realizada para cada tratamiento, mientras que para el número de frutos, los coeficientes de variación son muy elevados; esto puede deberse al hecho de que en cada cosecha efectuada, se obtuvo un número distinto de frutos, encontrándose incluso cosechas donde no se produjeron frutos para algunos de los tratamientos evaluados, lo cual, produce un incremento en dichos coeficientes.

Para la variable **ancho de fruto (cm)**, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos aplicados, sin embargo, el mayor valor se obtuvo con el tratamiento 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), tal y como se aprecia en la **Figura 16**. En cada una de las cosechas efectuadas, se encontraron valores similares de ancho de fruto para cada uno de los tratamientos evaluados.

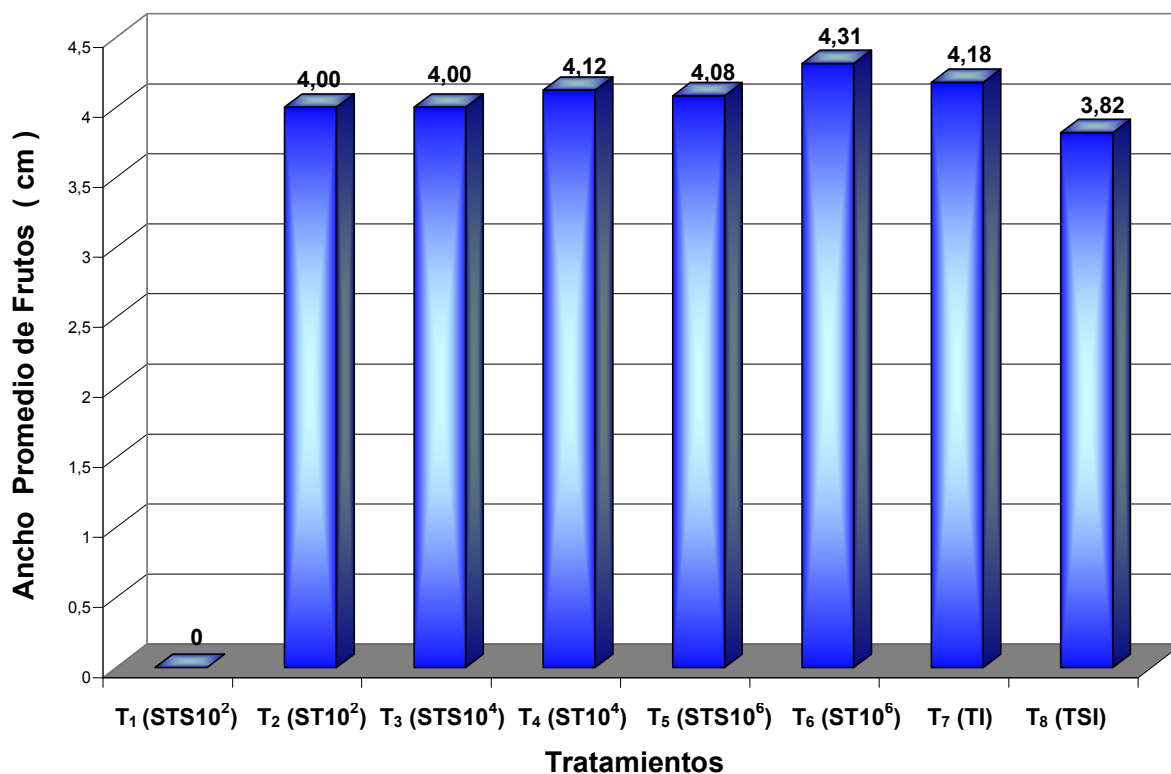


Figura 16.- Ancho promedio de frutos (cm) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

En cuanto a la variable **largo de fruto (cm)**, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$), encontrándose los mayores valores en los frutos del tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), como se observa en la **Figura 17**.

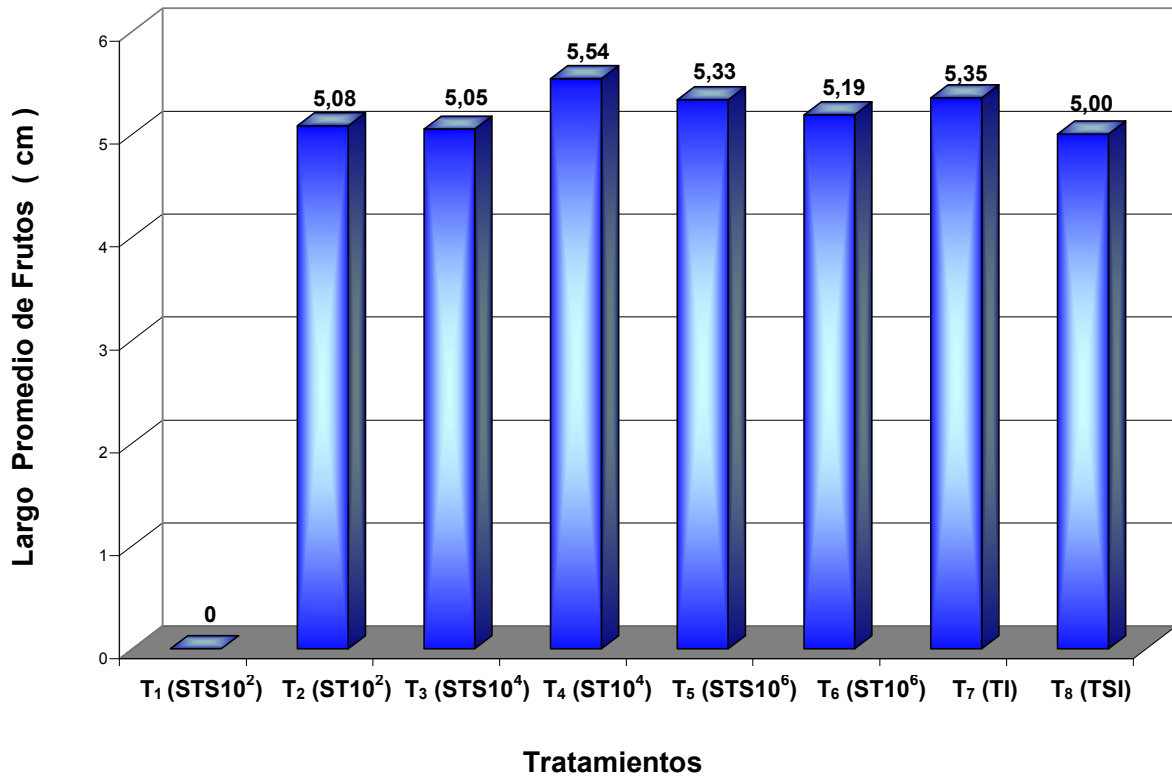


Figura 17.- Largo promedio de frutos (cm) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

En el caso de la variable **peso de fruto (g)**, como se refleja en la **Figura 18**, se observó el mayor peso en los frutos correspondientes al tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), no encontrándose diferencias significativas entre la totalidad de los tratamientos aplicados ($p > 0.05$).

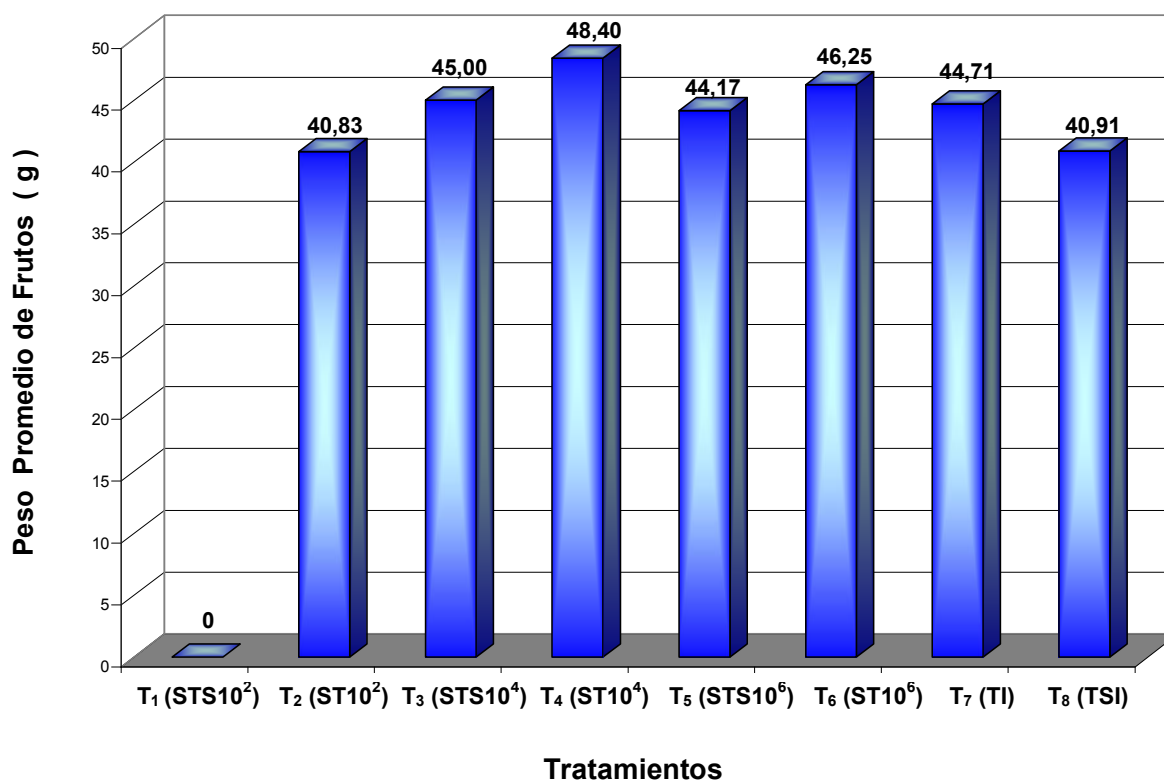


Figura 18.- Peso promedio de frutos (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Para la variable **número de frutos por planta**, se observó que el mayor número de frutos se obtuvo con el tratamiento 3 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), el cual no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) con el tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), mientras que el menor número de frutos se obtuvo con el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), el cual a su vez no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) con el tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal). Los resultados se observan en la **Figura 19**.

Para las variables del fruto, se observa que *T. harzianum* ejerce un efecto positivo sobre todas y cada una de las mismas, tomando en consideración que, independientemente de la dosis aplicada, dicho efecto se ve favorecido por la aplicación continua del biocontrolador.

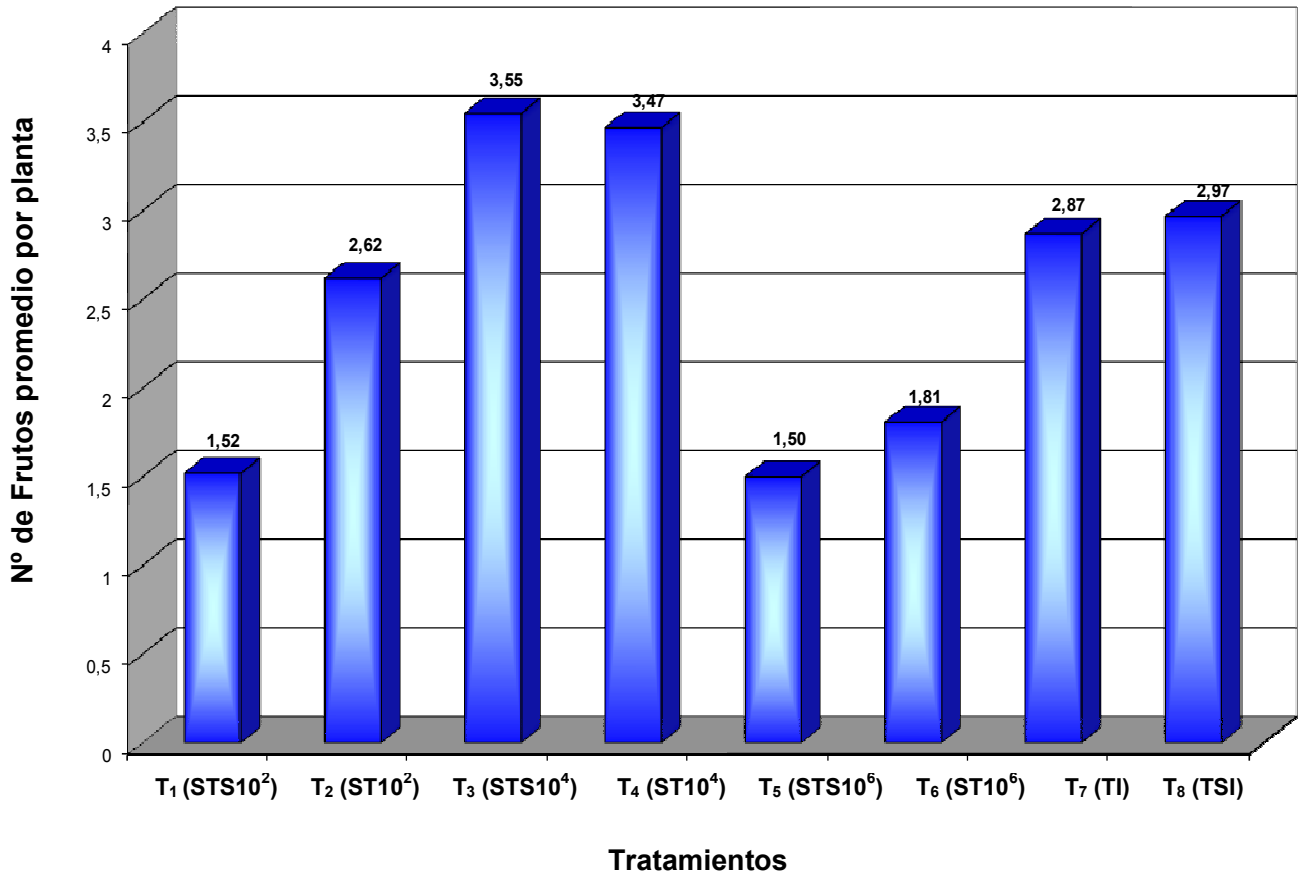


Figura 19.- Número de frutos promedio por planta de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

le

rendimiento (kg), expresó su mayor valor con el tratamiento 4 (1 x 10⁴ UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), seguido del tratamiento 3 (1 x 10⁴ UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal). En este caso, el menor rendimiento fue obtenido con el tratamiento 5

(1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal). Estos resultados se observan en la **Figura 20**.

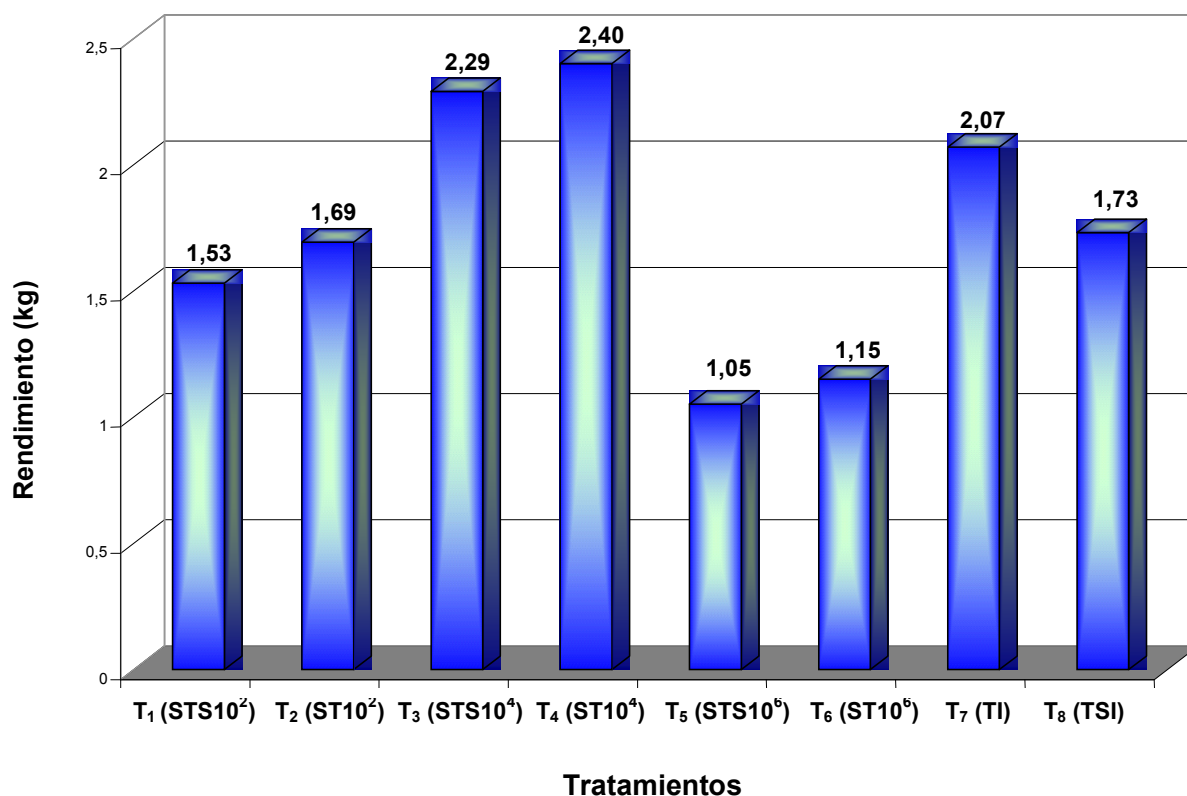


Figura 20.- Rendimiento (kg) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Herrera (2005) señala que el aislamiento Th650 de *T. harzianum* a una concentración de 9×10^5 UFC/g, además de controlar a los fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Fusarium solani* produjo un efecto positivo sobre el rendimiento y calidad de los frutos así como un aumento de la cantidad de materia seca de la parte aérea y radicular de las plantas. El rendimiento fue de 1.9 kg/planta, siendo los resultados muy similares a los obtenidos en este trabajo con los tratamientos 1 (1×10^2 UFC/g de *T.*

harzianum aplicado en semillero, transplante y semanal), 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante) y 8 (testigos sin inocular).

Los tratamientos 3 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal) y 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante) fueron los que presentaron mayores rendimientos, con 2.40 y 2.29 kg/planta, respectivamente.

5.1.2.- Efecto de *T. harzianum* sobre el control de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

En cuanto a la variable **mortalidad de plantas (%)**, se observó que la mortalidad fue nula para los tratamientos 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), 3 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal) y 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), al igual que en el tratamiento 8 (testigos sin inocular).

En un ensayo realizado por De Cal *et al* (1995), quienes probaron diferentes controladores biológicos, entre los cuales se encontraba *T. harzianum* a una concentración de 10^6 UFC/g, se observó que el mismo al ser aplicado en suelo inoculado con microconidios de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza 2, redujo las poblaciones del patógeno en un 20 a 30%, hasta los 30 días después de la inoculación.

Al contrastar los resultados obtenidos por estos investigadores con los obtenidos en este trabajo, se evidencia que el efecto protector que ejerce *T. harzianum* se incrementa a medida que se realizan mayor número de aplicaciones, lo cual se manifiesta en una menor mortalidad de las plantas afectadas por los patógenos, en este caso, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Así como en este caso la concentración de 1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* resultó ser una de las más efectiva para estas variables, González-Cárdenas *et al.* (2005) encontraron que, en el caso del control de *F. oxysporum* en lechosa, con la aplicación de *Trichoderma sp.* al momento del trasplante, no hubo diferencias significativas entre las dosis de *Trichoderma sp.* 10^4 , 10^3 , 10^2 y el testigo en todas las variables de respuesta medidas, debido a que las plantas después de 10 días de ser trasplantadas murieron debido a la infección del hongo *Fusarium oxysporum* a la dosis empleada, mostrándose diferencias estadísticamente significativas con el tratamiento 1 que consistió en aplicar *Trichoderma sp.* 10^6 , con el cual las plantas continuaron su desarrollo normalmente.

Sin embargo, se aprecia que el efecto del biocontrolador depende tanto del patógeno a controlar como del cultivo y la concentración a la cual se aplique, puesto que en el caso anterior no fueron efectivas las concentraciones bajas de *T. harzianum* 10^4 , 10^3 y 10^2 , mientras que en el presente trabajo sí; influyendo además la época y frecuencia de aplicación, lo cual es corroborado por Fang y Tsao (1995), quienes acotan que para mantener la población de los antagonistas, se debe llevar a cabo la aplicación periódica de inóculo fresco de los mismos al sustrato.

En el caso de los tratamientos 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y trasplante), 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y trasplante) y 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y trasplante) la mortalidad fue de 10%, siendo la mayor mortalidad la de las plantas del tratamiento 7 (testigos inoculados) con un 70%. Estos resultados son reflejados en la **Figura 21**.

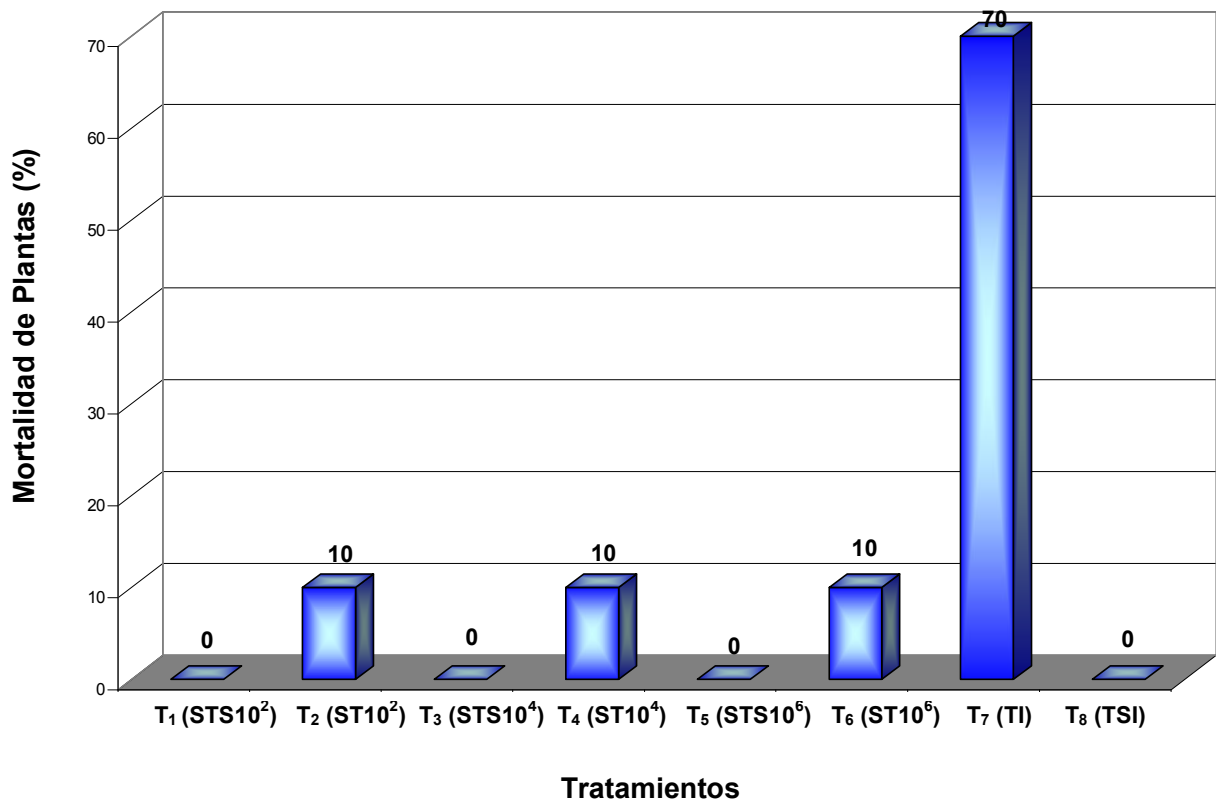


Figura 21.- Mortalidad (%) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Como se aprecia, el hongo *T. harzianum*, ofrece un efectivo control sobre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, con la aplicación de las tres dosis evaluadas en los tres momentos de aplicación: semillero, transplante y semanal.

En contraste con estos resultados, investigadores como Hartman y Fletcher (1991) realizando pruebas bajo condiciones de invernadero, con diferentes cultivares de tomate (Alisa Craig, Blizzard, Calypso, Compacto, Counter, Criterium, entre otros) y aplicando el aislamiento Th2 de *T. harzianum* a una concentración de 5×10^6 conidios/10 ml para controlar el patógeno *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* encontraron que a los 130 días del ensayo, se evidenciaron

síntomas foliares, mientras que a los 158 días la totalidad de las plantas se encontraron muertas.

Es importante destacar que la mayor parte de los ensayos llevados a cabo para evaluar la efectividad de *T. harzianum* sobre el control de este patógeno, han sido realizados con concentraciones de 1×10^6 UFC/g y superiores, además de realizar evaluaciones generalmente por un mes; sin embargo, se ha demostrado en esta investigación que el control de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* es posible con concentraciones inferiores a la señalada aplicadas en forma periódica.

Otra consideración importante respecto a *Trichoderma*, es que este biocontrolador, una vez introducido en el campo o en la siembra bajo condiciones controladas, ofrece una efectiva protección contra patógenos, estimula el crecimiento y desarrollo de las plantas e incrementa los rendimientos de manera segura y eficaz.

Respecto a este punto, es interesante señalar el trabajo realizado por Elad *et al.* (1993) donde se probó el producto comercial Trichodex (aislamiento T39 de *T. harzianum*) a razón de 1×10^{10} UFC/g para el control de *Botrytis cinerea* en melón cv. Kasem 292, sembrados en potes bajo condiciones de invernadero, encontrándose que el control del patógeno con el biocontrolador no presenta diferencias significativas con el control ejercido por fungicidas como iprodione o vinclozolin.

5.1.3.- Concentración efectiva de *T. harzianum*, Tiempo de Protección y Momento de Aplicación más adecuado

En función de los resultados obtenidos, se observó que el control del marchitamiento vascular causado por el hongo *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* con *T. harzianum*, es efectivo a partir de la menor concentración evaluada (1×10^2 UFC/g).

Sin embargo, la época de aplicación más adecuada, para todas las concentraciones evaluadas, fue la aplicación en semillero, transplante y semanal, lo que garantiza la menor mortalidad de plantas.

Esto coincide con lo observado por Budge y Whipps (1991), quienes trabajando con cultivos de celery y lechuga bajo condiciones de invernadero, observaron que luego de una semana de incorporar al sustrato el aislamiento HH3 de *T. harzianum* a una concentración de 10^7 UFC/cm³, los valores de esta concentración iban disminuyendo, detectándose niveles de 10^4 UFC/cm³ de *T. harzianum* en los sustratos de ambos cultivos 13 meses después de la última incorporación del biocontrolador, lo cual justifica la aplicación a ciertos intervalos de tiempo del producto.

Igualmente, Ahmed *et al* (1999) acotan que en ensayos realizados para el control de *Phytophthora capsici* con la aplicación de *T. harzianum*, se observaron fluctuaciones en la población del biocontrolador, incluso decrecimiento en la densidad de población, lo cual se asocia probablemente a la disponibilidad de nutrientes.

Hysek *et al* (2002) explican que se ha demostrado que la viabilidad de los conidios de *T. harzianum* en suelos con presencia de fertilizantes tiende a decrecer con el tiempo. En estudios realizados en diferentes cultivos, entre los que se encuentran la papa y el maíz, se encontró que para el primer mes, la viabilidad era de 90%, mientras que ya en el segundo mes era de 50% y finalmente, en el quinto mes, era de 10%.

En el caso de esta investigación, se aplicó fertiirrigación 2 a 3 veces por semana, sin embargo, la efectividad demostrada por *Trichoderma* para el control de los patógenos bajo estudio se debió, tomando en consideración lo reseñado por los autores, a las aplicaciones continuas del biocontrolador.

Todos las concentraciones de *T. harzianum* utilizadas, en sus diferentes momentos de aplicación, ofrecieron una eficiente protección a las plantas

inoculadas desde el semillero hasta la cosecha, hasta por más de cinco meses después del trasplante. Esta particularidad resulta similar a los resultados obtenidos por Cole y Zvenyika (1988), quienes trabajaron con 16 aislamientos de *T.harzianum*, los cuales aplicaron a razón de 10^{10} conidios/kg a sustrato parcialmente esterilizado para semilleros de tabaco. De estos aislamientos destacó el denominado T77, el cual sobrevivió por espacio de 19 semanas, proporcionando protección al momento de transplantar las plántulas a sustratos inoculados con diferentes concentraciones del patógeno, en este caso, *Rhizoctonia solani*.

Al observar los resultados de mortalidad (%), en el caso particular del control de *F. oxysporum* f. sp.*lycopersici* con *T. harzianum*, la dosis más efectivas fueron las correspondientes a los tratamientos 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y trasplante) y 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, trasplante y semanal).

Sin embargo, es necesario acotar, que en el caso del tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, trasplante y semanal) , si bien se evita la mortalidad de las plantas a lo largo del tiempo y la longitud de raíces, así como los pesos frescos y secos de parte aérea y raíces de las plantas son mayores, la producción de frutos por planta es menor, además de que muchos frutos se sobremaduran e incluso llegan a podrirse muy rápido, aún antes de ser cosechados.

5.2.- Control de *S. rolfsii* con la aplicación de *T. harzianum*

5.2.1.- Efecto de *T. harzianum* sobre el crecimiento de las plantas.

Una vez efectuadas las evaluaciones respectivas, se realizaron los análisis estadísticos de cada una de las variables, siendo analizadas las variables altura de plantas (cm), longitud de raíces (cm), peso fresco de la parte aérea (g) y peso fresco de raíces (g) vía no paramétrica, aplicando el análisis de varianza de Kruskal-Wallis, por no cumplir con los supuestos básicos del análisis de varianza, tal y como se muestra en el **Cuadro 6**. El resto de las variables fueron analizadas vía paramétrica, aplicando la prueba de medias de Tukey, como se observa en el **Cuadro 7**, mientras que en el **Cuadro 8**, se muestran los coeficientes de variación (C.V.), desde el punto de vista descriptivo, obtenidos para cada una de estas variables.

Cuadro 6.- Prueba de Medias del Análisis de Varianza de Kruskal-Wallis para las variables altura (cm), longitud de raíces (cm), peso fresco de raíces (g) y peso fresco de la parte aérea (g) de las plantas de tomate inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Altura de Plantas (cm)	Longitud de Raíces (cm)	Peso Fresco de Raíces (g)	Peso Fresco Parte Aérea (g)
T ₆ 134.5 a	T ₂ 47.54 a	T ₈ 20.73 a	T ₈ 119.22 a
T ₂ 121.9 ab	T ₈ 43.50 a	T ₂ 17.63 a	T ₆ 107.66 a
T ₄ 118.9 ab	T ₆ 41.75 a	T ₃ 14.48 a	T ₂ 104.98 a
T ₈ 118.1 ab	T ₅ 39.30 a	T ₆ 13.99 a	T ₃ 92.52 a
T ₃ 115.2 ab	T ₃ 37.65 a	T ₅ 12.62 a	T ₅ 78.72 a
T ₅ 114.5 ab	T ₄ 34.95 a	T ₁ 11.41 a	T ₄ 76.45 a
T ₇ 106.8 ab	T ₇ 35.30 a	T ₄ 10.12 a	T ₇ 61.45 a
T ₁ 102.6 b	T ₁ 29.45 a	T ₇ 9.10 a	T ₁ 58.38 a

*Las letras iguales significan que no existen diferencias significativas entre tratamientos. $\alpha = 0.05$

T₁: STS10² T₅: STS10⁶
 T₂: ST10² T₆: ST10⁶
 T₃: STS10⁴ T₇: TI
 T₄: ST10⁴ T₈: TSI

Cuadro 7.- Prueba de Medias de Tukey para las variables peso seco de raíces (g), peso fresco de la parte aérea (g) y peso seco de la parte aérea (g) de las plantas de tomate inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Peso Seco de Raíces (g)	Peso Seco Parte Aérea (g)
T ₈ 2.59 a	T ₆ 21.43 a
T ₂ 1.99 ab	T ₈ 19.91 a
T ₃ 1.74 ab	T ₅ 18.92 a
T ₅ 1.59 ab	T ₄ 18.46 a
T ₆ 1.57 ab	T ₃ 17.34 ab
T ₁ 1.38 b	T ₂ 16.69 ab
T ₇ 1.34 b	T ₁ 14.25 ab
T ₄ 1.26 b	T ₇ 9.60 b

*Las letras iguales significan que no existen diferencias significativas entre tratamientos. $\alpha = 0.05$

T₁: STS10² T₅: STS10⁶
 T₂: ST10² T₆: ST10⁶
 T₃: STS10⁴ T₇: TI
 T₄: ST10⁴ T₈: TSI

Cuadro 8.- Coeficientes de variación para las variables de plantas de tomate inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Tratamiento	Peso Seco de Raíces (g)	Peso Seco Parte Aérea (g)
T ₁	94.281	48.492
T ₂	43.700	43.289
T ₃	72.976	36.564
T ₄	81.985	22.623
T ₅	81.650	25.243
T ₆	94.281	33.107
T ₇	142.96	74.971
T ₈	40.825	17.474

T₁: STS10² T₅: STS10⁶
 T₂: ST10² T₆: ST10⁶
 T₃: STS10⁴ T₇: TI
 T₄: ST10⁴ T₈: TSI

En este caso particular, se observan altos coeficientes de variación para el peso seco de raíces en algunos tratamientos; esto puede deberse al hecho de que una vez que se someten éstas al secado en estufa, pierden humedad y por ende disminuye su peso, muchas veces de manera drástica, lo cual, produce un incremento en dichos coeficientes.

Se realizó también un análisis de correlación entre las variables evaluadas aplicando la prueba de correlación de Pearson.

En relación a la variable **altura de plantas (cm)**, tal y como se observa en la **Figura 22**, la mayor altura se alcanzó con el tratamiento 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y al momento del transplante), mientras que la menor altura se obtuvo con el tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum*

aplicada en semillero, transplante y semanal), no existiendo diferencias significativas entre el resto de los tratamientos ($p > 0.05$).

En cuanto al seguimiento de esta variable en el tiempo, se observó que las diferencias entre los tratamientos aplicados fueron apreciables a partir del cuarto mes después del transplante, donde ya las plantas habían alcanzado un considerable desarrollo. En la **Figura 23** se aprecia la evolución de la altura de las plantas para cada tratamiento, evaluada desde el inicio del ensayo hasta la cosecha.

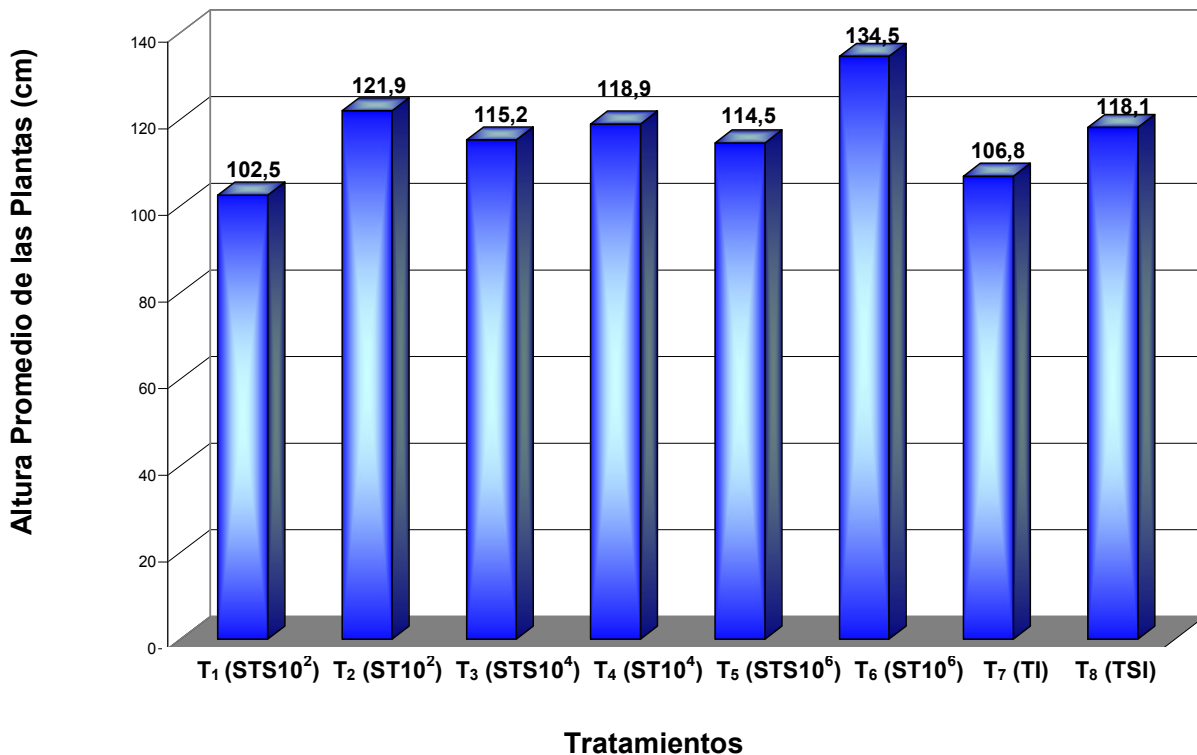


Figura 22.- Altura promedio (cm) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

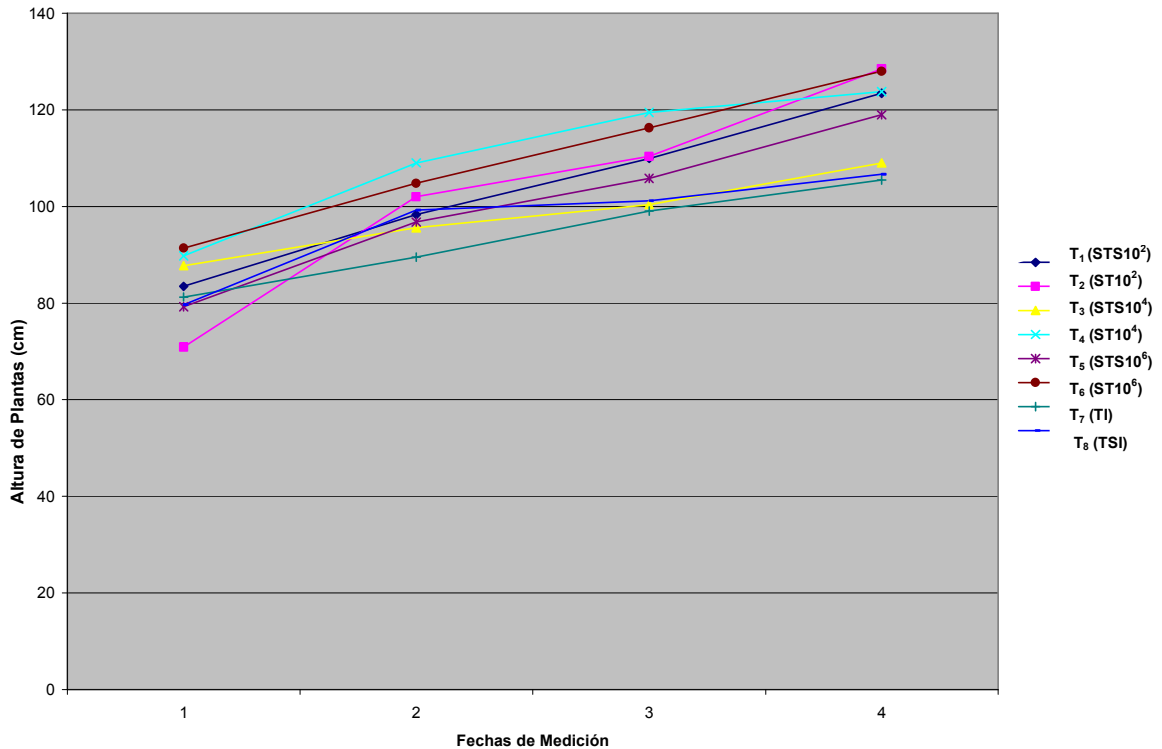


Figura 23.- Altura promedio (cm) en el tiempo de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Santander *et al* (2003) señalan que, en un ensayo realizado para observar el control de *Rhizoctonia solani* en tomate FIR-593 con la incorporación de la cepa 650 de *T. harzianum*, en forma de pellets y a una concentración de 3.6×10^5 UFC/g en suelo inoculado con el patógeno, se encontró que el tamaño de las plantas se favoreció con la presencia del biocontrolador, lo cual coincide con los resultados obtenidos.

La **variable longitud de raíces (cm)** expresó su máximo valor con el tratamiento 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante), seguido del tratamiento 8 (testigos sin inocular); no existiendo diferencias significativas entre todos los tratamientos aplicados ($p > 0.05$). Los resultados se aprecian en la **Figura 24**.

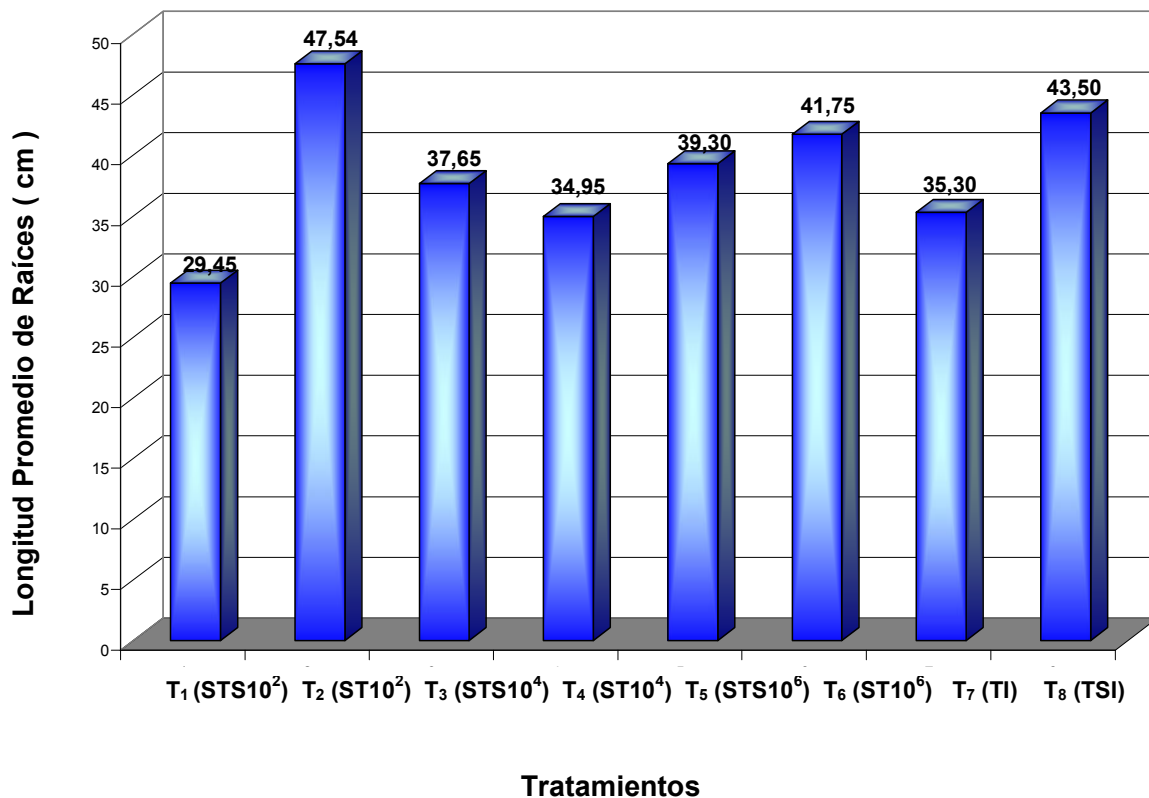


Figura 24.- Longitud promedio de raíces (cm) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

La variable **peso fresco de raíces (g)**, obtuvo el mayor valor con el tratamiento 8 (testigos sin inocular), mientras que de las plantas inoculadas, el mejor tratamiento fue el 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante). El menor peso fue registrado con el tratamiento 7 (testigos inoculados), como se

observa en la **Figura 25**, sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$).

En cuanto a la correlación de esta variable respecto a las demás, la misma resultó positiva para el número de frutos por planta; dado que la existencia de una mayor superficie radical, aumenta las posibilidades de una exitosa absorción de agua y nutrientes y favorece el crecimiento vegetativo, lo que por ende garantiza una eficiente fase reproductiva de la planta, cumpliéndose la floración y formación del fruto.

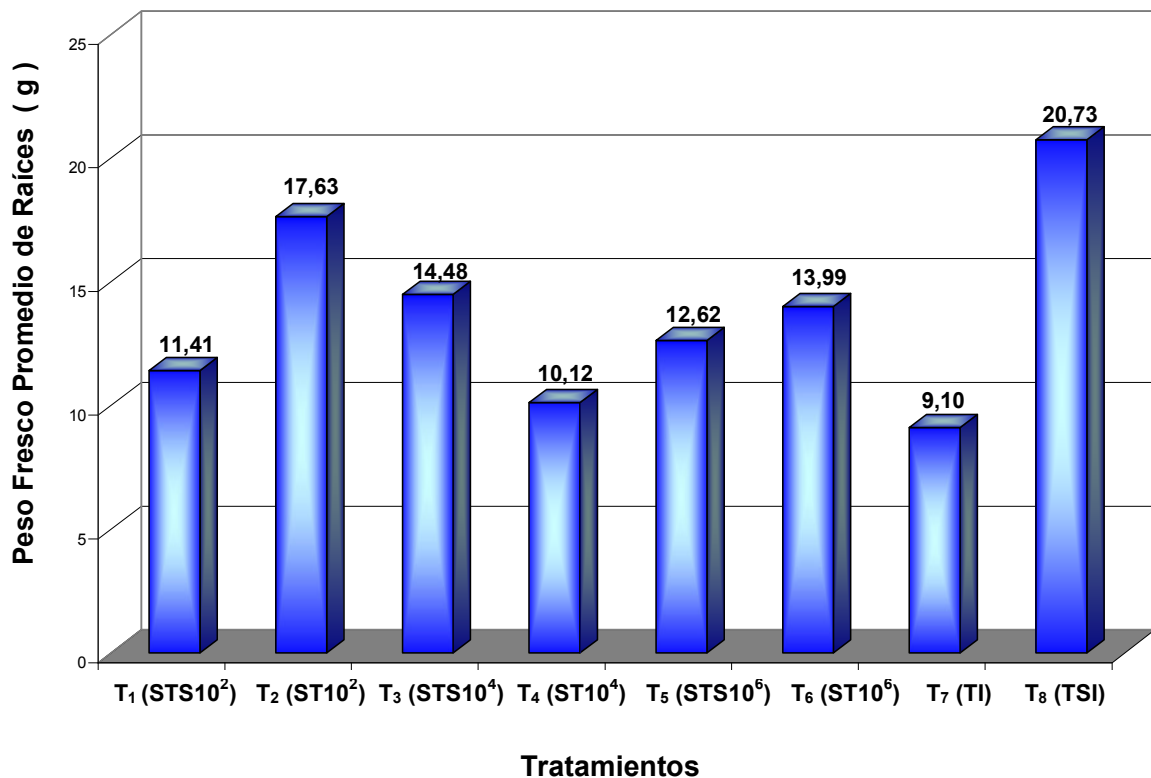


Figura 25.- Peso fresco promedio de raíces (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

La variable **peso seco de raíces (g)** alcanzó su máxima expresión con el tratamiento 8 (testigos sin inocular), presentando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con los tratamientos 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero, transplante y semanal), 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante) y 7 (testigos inoculados), registrándose el menor peso en el tratamiento 4, tal y como se observa en la **Figura 26**.

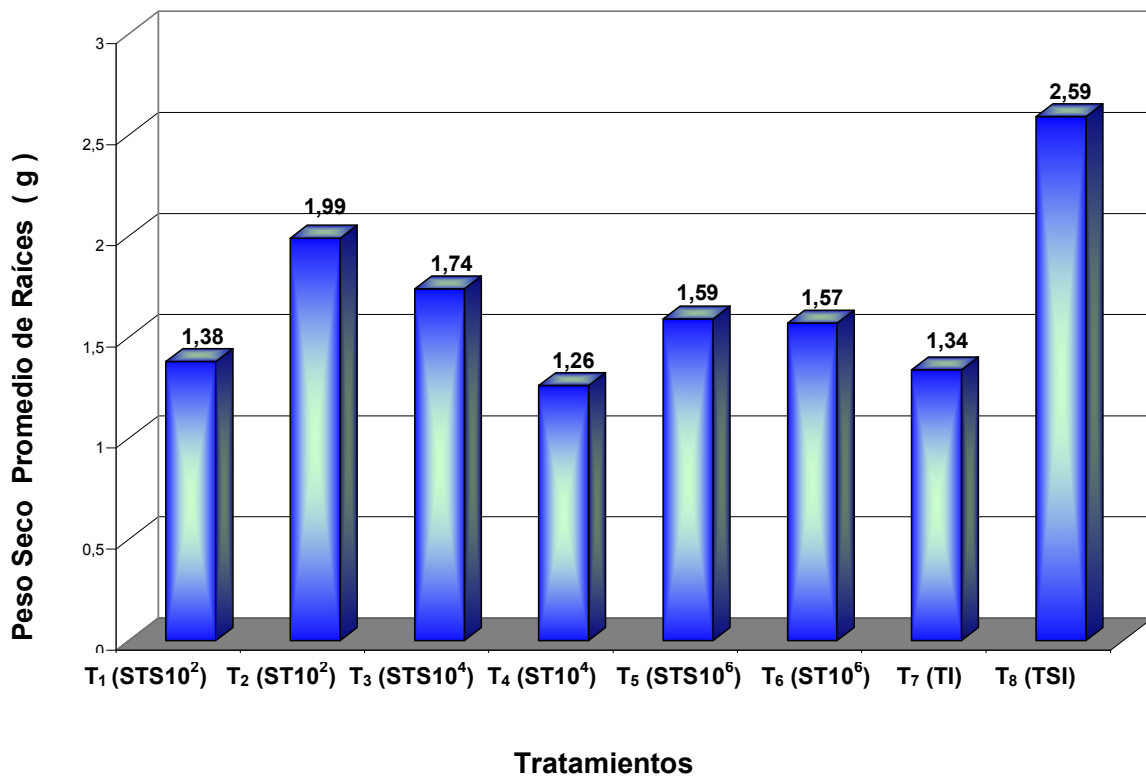


Figura 26.- Peso seco promedio de raíces (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Esta variable presentó correlación positiva tanto con la altura de plantas como con el número de frutos; la cual resulta lógica, puesto que, una mayor superficie radical proporciona a la planta un sistema adecuado para en primera instancia, garantizar la absorción de agua y nutrientes, y posteriormente, la ocurrencia de los procesos de crecimiento y desarrollo, desarrollando mayor masa vegetal, incrementando su

altura y garantizando el llenado del fruto una vez que se ha iniciado la fase reproductiva.

En cuanto a la variable **peso fresco de la parte aérea (g)**, como se aprecia en la **Figura 27**, a pesar de no encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$) el máximo valor se alcanzó con el tratamiento 8 (testigos sin inocular), mientras que de las plantas inoculadas, los mejores tratamientos fueron el 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante) y 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante). La menor expresión de esta variable se observó en el tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero, transplante y semanal).

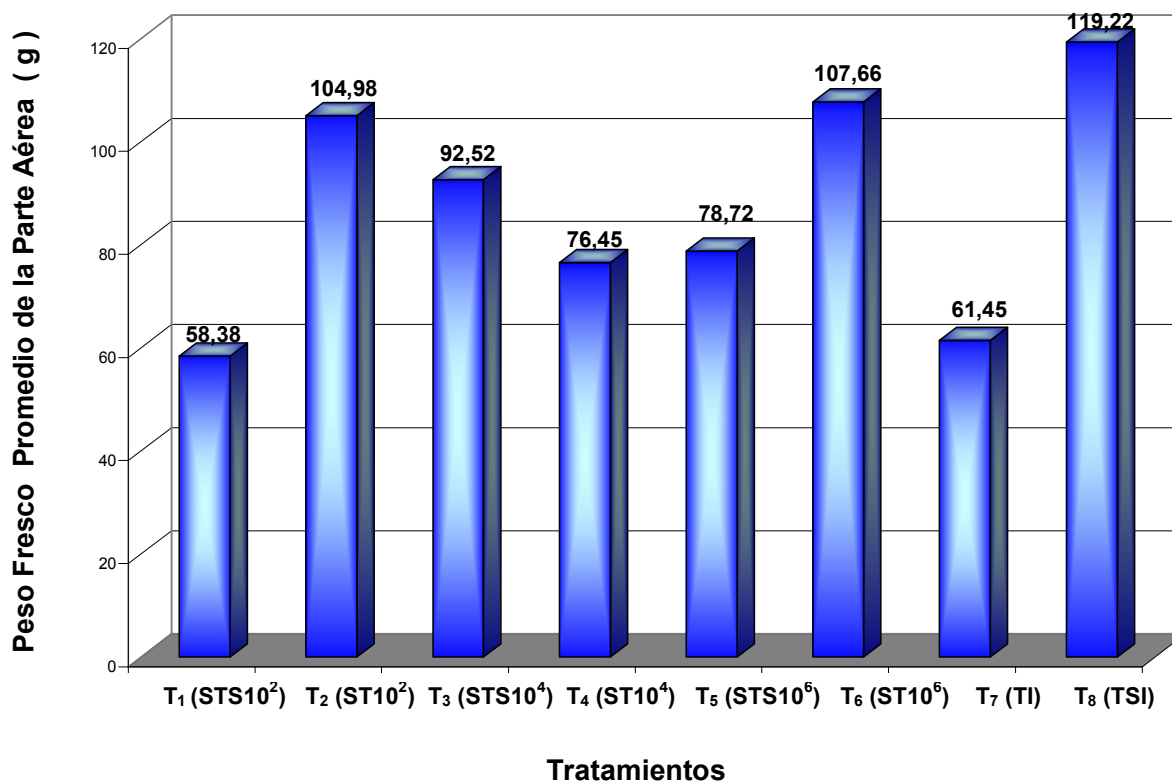


Figura 27.- Peso fresco promedio de la parte aérea (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

En relación a la variable **peso seco de la parte aérea (g)**, los mejores tratamientos fueron el 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante), 8 (testigos sin inocular), 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero, transplante y semanal) y 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre estos tratamientos, mientras que el menor peso se obtuvo en el tratamiento 7 (testigos inoculados). Los resultados se aprecian en la **Figura 28**.

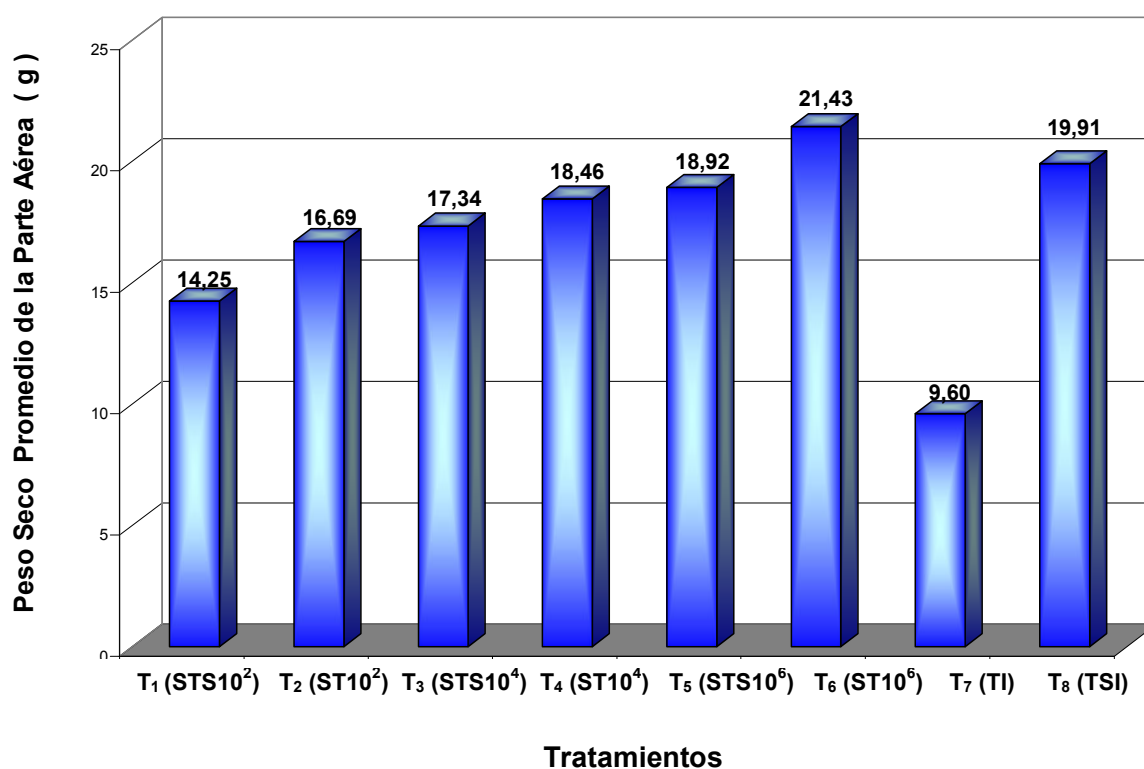


Figura 28.- Peso seco promedio de la parte aérea (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Con respecto a las variables de la parte aérea, se observa que las mismas se ven favorecidas por la aplicación en semillero y transplante, independientemente de la dosis aplicada, cobrando importancia la frecuencia de aplicación del biocontrolador.

El incremento en la expresión de las variables vegetativas con la aplicación de *T. harzianum* respecto a las plantas no tratadas, coincide con lo reseñado por Riquelme (2005), quien aplicando *T. harzianum* a una concentración de 10^9 conidios/ml de solución en plantas de *Fragaria chiloensis*, mediante inmersión de raíces al momento del transplante y una nueva aplicación en floración, observó el aumento del peso fresco tanto de la lámina foliar como de la corona, raíz primaria y secundaria. Acota además la autora que se incrementó significativamente el peso seco de lámina, del pecíolo y de la raíz principal y secundaria.

Para las variables del fruto, se tomó la medición efectuada en la última cosecha, excepto para el número de frutos y el rendimiento (kg), variables para las cuales se tomó en consideración el número total de frutos obtenidos durante todo el ensayo. Es necesario destacar que para esta cosecha, no se desarrollaron frutos aptos en el tratamiento 6 (10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante). Las variables fueron analizadas vía paramétrica, aplicando la prueba de medias de Tukey, tal y como se muestra en el **Cuadro 9**, mientras que los coeficientes de variación de dichas variables se presentan en el **Cuadro 10**.

Cuadro 9.- Prueba de Medias de Tukey para las variables de los frutos de plantas de tomate inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Ancho de Frutos (cm)	Largo de Frutos (cm)	Peso de Frutos (g)	Número de Frutos
T ₅ 5.00 a	T ₅ 6.50 a	T ₄ 61.00 a	T ₄ 3.45 a
T ₁ 4.80 a	T ₁ 6.20 a	T ₁ 56.00 a	T ₅ 2.67 a
T ₄ 4.75 a	T ₄ 6.20 a	T ₂ 53.33 a	T ₈ 2.67 ab
T ₂ 4.67 a	T ₂ 5.67 a	T ₅ 50.00 a	T ₃ 2.35 ab
T ₇ 4.50 a	T ₈ 5.50 a	T ₃ 38.33 a	T ₆ 2.35 ab
T ₈ 4.42 a	T ₃ 5.00 a	T ₈ 36.67 a	T ₁ 2.17 ab
T ₃ 4.17 a	T ₇ 4.00 a	T ₇ 30.00 a	T ₂ 1.97 ab
T ₆ -----	T ₆ -----	T ₆ -----	T ₇ 0.97 b

*Las letras iguales significan que no existen diferencias significativas entre tratamientos. $\alpha = 0.05$

T₁: STS10² T₅: STS10⁶
 T₂: ST10² T₆: ST10⁶
 T₃: STS10⁴ T₇: TI
 T₄: ST10⁴ T₈: TSI

Cuadro 10.- Coeficientes de variación para las variables de frutos de tomate de plantas inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Tratamiento	Ancho de Frutos (cm)	Largo de Frutos (cm)	Peso de Frutos (g)	Número de Frutos
T ₁	11.226	9.1141	35.855	95.928
T ₂	9.7991	17.495	37.952	100.93
T ₃	13.184	13.763	15.811	102.69
T ₄	17.078	15.993	35.392	77.928
T ₅	13.333	23.968	42.552	94.416
T ₆	22.059	23.864	58.947	93.204
T ₇	13.333	10.526	28.571	166.66
T ₈	20.779	19.613	37.528	102.08

T₁: STS10² T₅: STS10⁶
 T₂: ST10² T₆: ST10⁶
 T₃: STS10⁴ T₇: TI
 T₄: ST10⁴ T₈: TSI

En este caso particular, se observan altos coeficientes de variación para el número de frutos; incidiendo en esta respuesta, el hecho de que en cada cosecha efectuada, se obtuvo un número distinto de frutos, encontrándose incluso cosechas donde no se produjeron frutos para algunos de los tratamientos evaluados, lo cual, produce un incremento en dichos coeficientes.

En cuanto a la variable **ancho de fruto (cm)**, tal y como se aprecia en la **Figura 29**, la misma alcanzó el máximo valor con el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero, transplante y semanal), no existiendo diferencias significativas entre todos los tratamientos aplicados ($p > 0.05$).

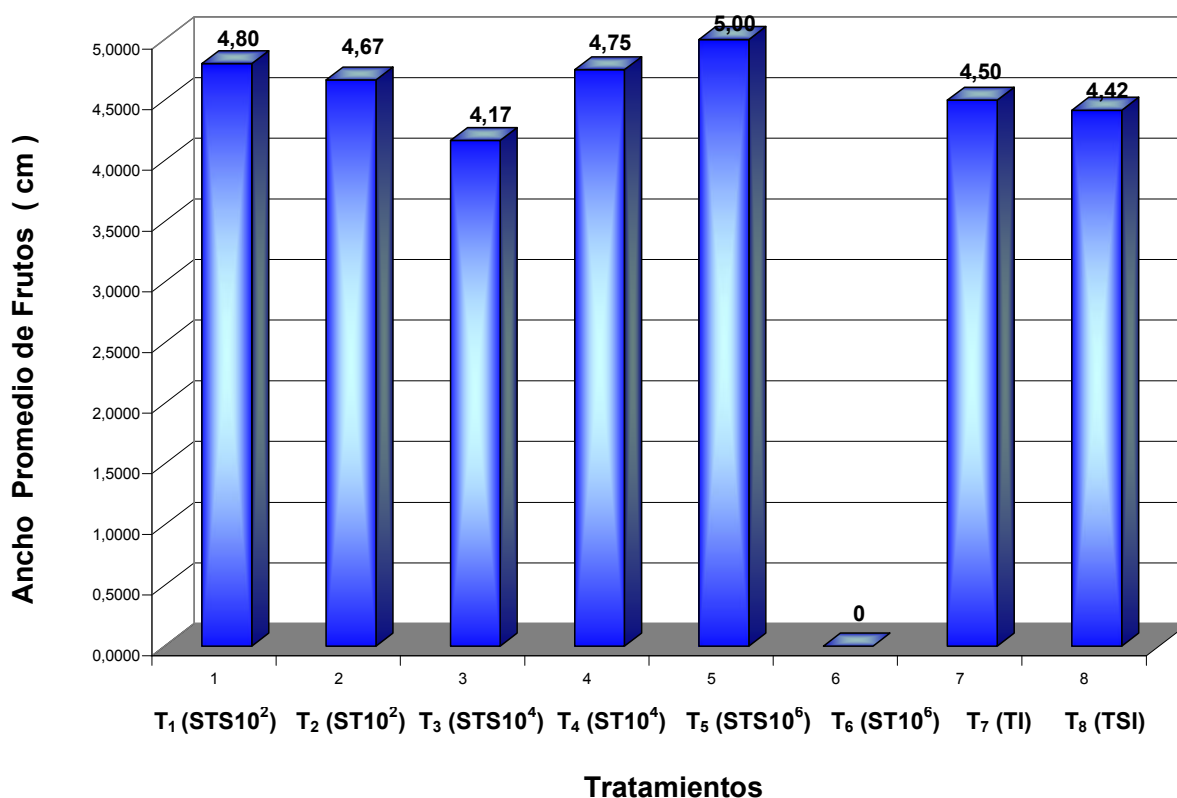


Figura 29.- Ancho promedio de frutos (cm) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

En relación a la variable **largo de fruto (cm)**, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($p > 0.05$), encontrándose el mayor valor en el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), como se observa en la **Figura 30**.

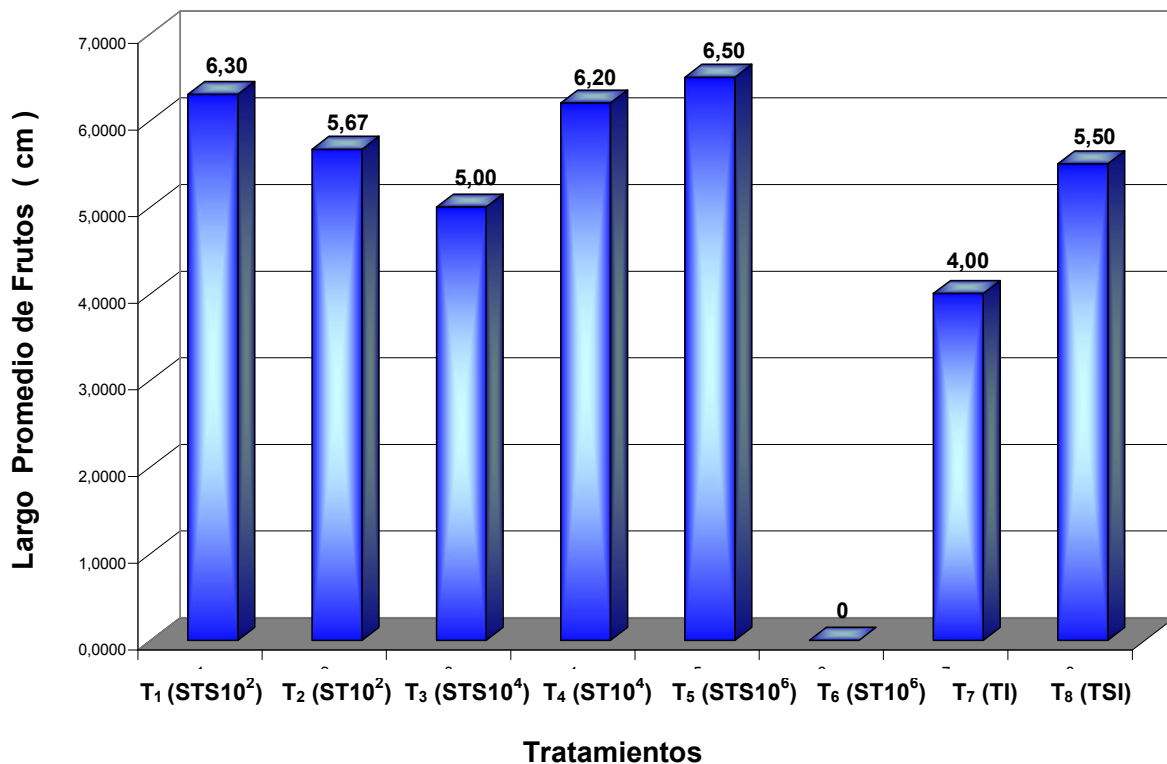


Figura 30.- Largo promedio de frutos (cm) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

En el caso de la variable **peso de fruto (g)**, como se refleja en la **Figura 31**, se observó el mayor peso en los frutos correspondientes al tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), no encontrándose diferencias significativas entre la totalidad de los tratamientos aplicados ($p > 0.05$).

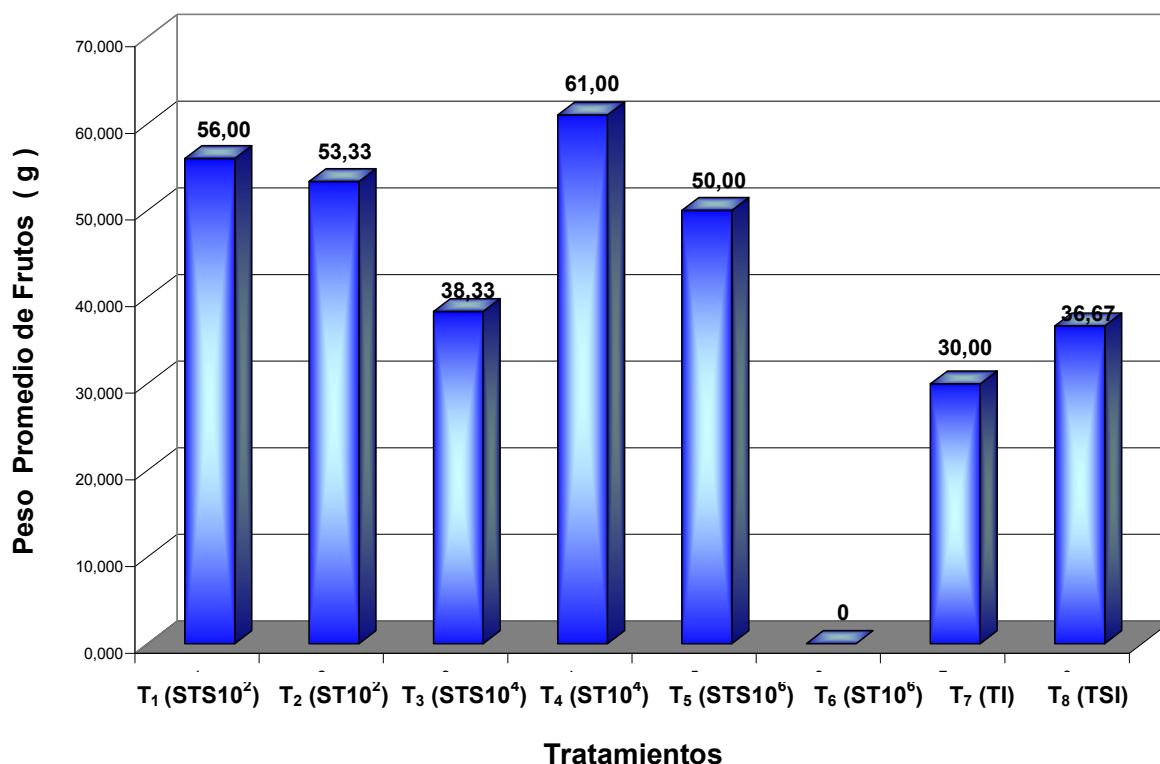


Figura 31.- Peso promedio de frutos (g) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Para la variable **número de frutos por planta**, se observó que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$), entre los tratamientos 3 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), y 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), mientras que el menor valor se registró en el tratamiento 7 (testigos inoculados). Los resultados se muestran en la **Figura 32**.

En lo que respecta a las variables de fruto, las mismas se ven favorecidas por la aplicación constante del biocontrolador; de hecho, resulta interesante como la mayor parte de las variables analizadas se benefician con la aplicación

consecuente de *T. harzianum*, incrementándose la absorción de nutrientes como consecuencia de un mejor desarrollo radicular, lo cual incide sobre el desarrollo de la parte aérea de la planta y en consecuencia, sobre la formación de frutos en las plantas tratadas con este biocontrolador.

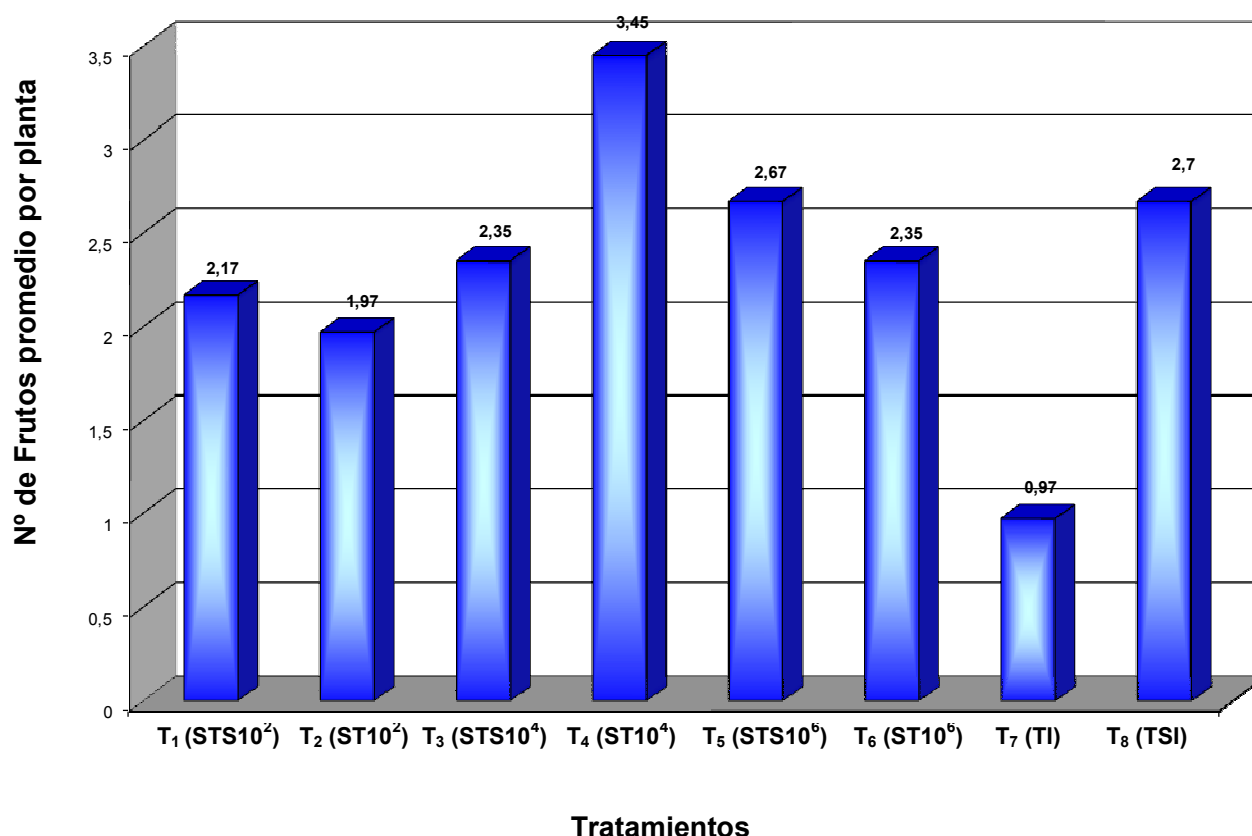


Figura 32.- Número de frutos promedio por planta de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

En relación a variable **rendimiento (kg)**, el mayor rendimiento se logró con el tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante), seguido del tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero, transplante y semanal), mientras que el menor rendimiento se alcanzó con el tratamiento 7 (testigos inoculados), como se observa en la **Figura 33**.

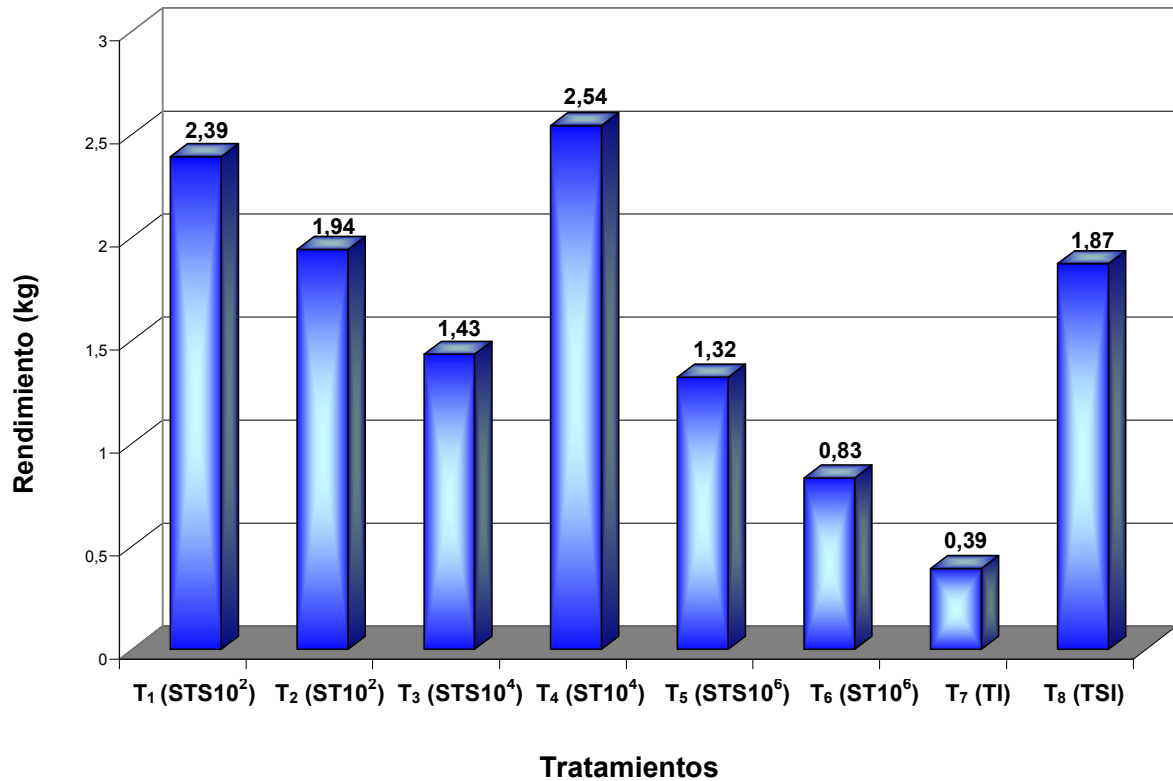


Figura 33.- Rendimiento (kg) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).

Requejo *et al* (2003) encontraron en tomate cv Floradade, rendimientos de 0.81 kg/planta con sustrato compuesto por perlita y turba sin aplicación de biocontrolador, siendo éste similar al obtenido en esta investigación con el tratamiento 6 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicada en semillero y transplante), el cual de hecho fue uno de los más bajos rendimientos, con 0.83 kg/planta, seguido del tratamiento control. Con el resto de los tratamientos, los rendimientos oscilaron entre 1.32 y 2.54 kg/planta.

5.2.2.- Efecto de *T. harzianum* sobre el control de *S. rolfsii*.

En cuanto a la variable **mortalidad de plantas (%)**, se observó que la misma fue nula para los tratamientos 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), 3 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal) y 8 (testigos sin inocular), mientras que la mayor mortalidad fue registrada con los tratamientos 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal) y 7 (testigos inoculados), con un 40% y 50% de mortalidad, respectivamente.

Estos resultados son reflejados en la **Figura 34**.

En el caso de *S. rolfsii*, por tratarse de un patógeno que actúa de manera digestiva o macerativa y ataca a plantas adultas; lógicamente las no inoculadas presentaron una mortalidad nula, más sin embargo, resultante interesante el hecho de que al proteger dichas plantas con el biocontrolador desde la fase de plántulas y continuar la aplicación de éste tanto al momento del transplante como después del mismo, no sólo se logra una mortalidad nula, evitando que el hongo afecte a las plantas de manera muy rápida, como suele suceder, sino que también se ven favorecidas variables como el número y peso de frutos obtenidos en cada cosecha.

En la **Figura 35** se observa cómo se vieron afectadas las plantas inoculadas con *S. rolfsii* y las plantas que además de inoculadas fueron protegidas con el tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal).

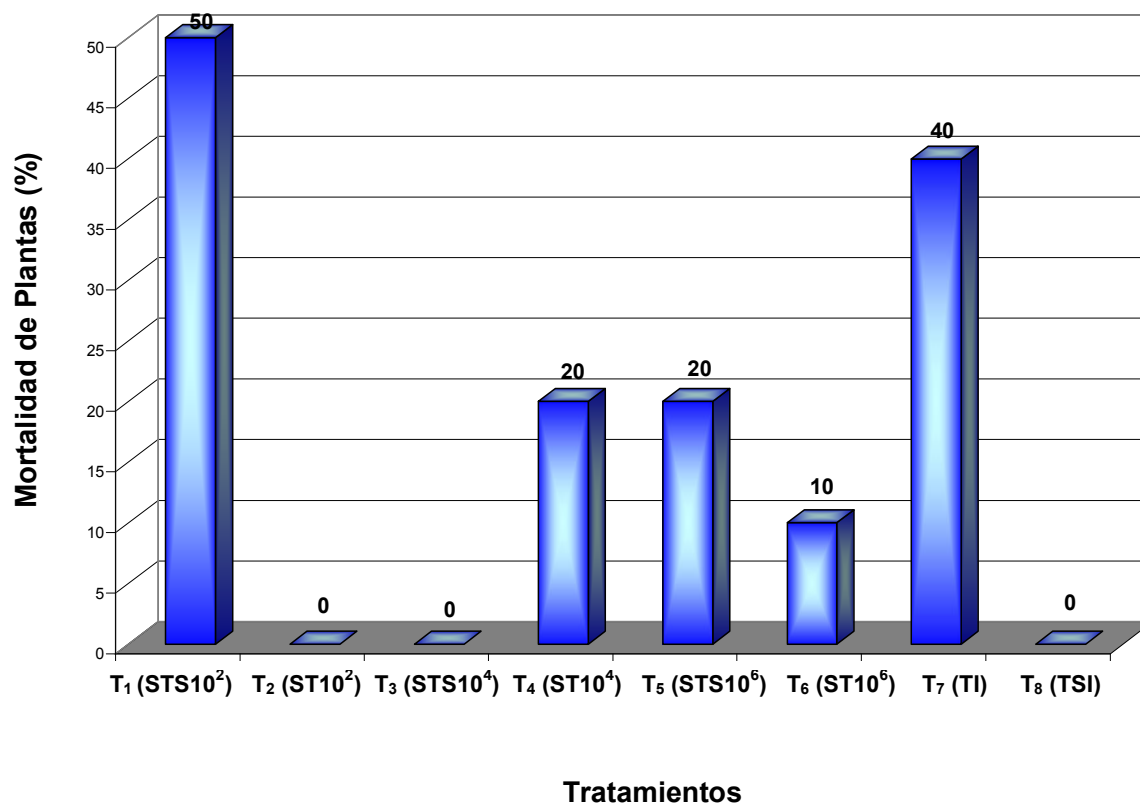


Figura 34.- Mortalidad (%) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Rio Grande inoculadas con *Sclerotium rolfsii* y tratadas con *Trichoderma harzianum* en diferentes dosis y momentos de aplicación: semillero y transplante (ST); semillero, transplante y semanal (STS); testigo inoculado (TI); testigo sin inocular (TSI).



Figura 35.- Plantas inoculadas con *S. rolfsii*.

A.- Síntomas de marchitamiento en las plantas inoculadas y aplicación de *T. harzianum* en concentración 1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal.

B, C.- Síntomas de marchitamiento severo en las plantas inoculadas sin aplicación del biocontrolador,

D.- Formación de esclerocios jóvenes en la base de los tallos de las plantas afectadas.

Los resultados obtenidos por Latunde-Dada (1993) trabajando con plantas de tomate de los cultivares Ife N° 1 e Ibadan Local, desarrolladas en suelo inoculado sin aplicación de *T. koningii*, son similares a los obtenidos en esta investigación, pues las plantas resultaron severamente afectadas, encontrándose al final del ensayo, alrededor de un 70% de mortalidad.

Coincide también el hecho de que los tallos de las plantas sobrevivientes se mostraron marchitos y con rupturas, mientras que las hojas se encontraban deterioradas y marchitas. En contraste, las plantas inoculadas y protegidas con *T.koningii* no mostraron síntomas, permanecieron sanas durante todo el ensayo y no murieron, siendo significativamente altas, con más hojas y mayor número de frutos.

Por otra parte, Elad (2000) reseña que utilizando el producto comercial Trichodex (aislamiento T39 de *T. harzianum*) aplicado con riego por aspersión para el control de *Botrytis cinerea* en melón cv. Muhasan y tomate cv. 144, sembrados en potes bajo condiciones de invernadero, se redujo efectivamente la infección en tallos y hojas, encontrándose una mortalidad de 50%, lo cual coincide también con los resultados obtenidos.

Como se aprecia, el hongo *T. harzianum*, ofrece un efectivo control sobre *S. rolfsii* con la aplicación de las dosis correspondientes a los tratamientos 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante) y 3 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal).

Respecto al control de este patógeno, Hoynes *et al* (1999) señalan que los esclerocios de *S. rolfsii* tratados con sodio metano son degradados por aislamientos de *T. harzianum*. A pesar de que la dosis de sodio metano resulta subletal, su uso en conjunto con este controlador biológico ha demostrado una notable disminución de los esclerocios, disminuyendo por ende la incidencia de la enfermedad.

5.2.3.- Concentración Efectiva de *T. harzianum*, Tiempo de Protección y Momento de Aplicación más adecuado

En función de los resultados obtenidos, se observó que el control de la podredumbre blanca causada por el hongo *S. rolfsii* con *T. harzianum*, es efectivo a partir de la menor concentración evaluada (1×10^2 UFC/g). Sin embargo, la época de aplicación más adecuada, la comprende la aplicación en semillero, transplante y semanal, lo que garantiza la menor mortalidad de plantas.

Todos las concentraciones de *T. harzianum* utilizadas, en sus diferentes momentos de aplicación, excepto el tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal) ofrecieron una eficiente protección a las plantas inoculadas desde el semillero hasta la cosecha, hasta por más de cinco meses después del transplante.

En el caso particular del control de *S. rolfsii* con *T. harzianum*, las dosis más efectivas fueron las correspondientes a los tratamientos 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante) y 3 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal).

Strashnow *et al* (1985) indican que *T. harzianum* aplicado en semillero, redujo en un 47% la incidencia de la enfermedad causada por *Rhizoctonia solani* en zanahoria, en preemergencia. Igualmente, fue capaz de controlar la población del patógeno en suelo reinfestado y replantado con caraota.

Sin embargo, es necesario acotar, que fue en el caso del tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), donde se observó mayor número de frutos por planta y mayores rendimientos, pese a encontrarse un 20% de mortalidad con este tratamiento.

Latunde-Dada (1993) acota que, en un ensayo empleando los cultivares de tomate Ife N° 1 e Ibadan Local, la introducción de *T. koningii* en el suelo a una concentración de 1×10^4 UFC/g en semillero y luego una semana previo al trasplante, resultó en un efectivo control de *S. rolfsii*.

5.3.- Concentración Efectiva de *T. harzianum*, Tiempo de Protección y Momento de Aplicación más adecuada para el control de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *S. rolfsii* Sacc.

Tanto en el caso de las plantas inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* como en el caso de las plantas inoculadas con *S. rolfsii*, se pudo observar que el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, trasplante y semanal) si bien contribuyó a la expresión favorable de algunas variables inherentes a la planta y los frutos, no fue la más eficiente en cuanto al rendimiento (kg), número de frutos por planta y peso de los frutos, variables que se favorecieron con la aplicación del tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y trasplante).

A pesar de probarse una misma serie de tratamientos para el control de ambos patógenos con el uso del hongo *T. harzianum*, se demuestra que en función del patógeno, algunas concentraciones y épocas de aplicación son más efectivas.

Otro aspecto resaltante es que en algunas investigaciones, se han probado concentraciones muy elevadas de *Trichoderma*; tal es el caso del trabajo realizado por Adekunle *et al* (2001), en el cual además se probaron tres especies de *Trichoderma*: *T. harzianum* a una concentración de 2×10^{10} UFC/ml, *T. koningii* a una concentración de 6.8×10^7 UFC/ml y *T. spp.* a una concentración de 1.8×10^7 UFC/ml a fin de controlar el patógeno *Macrophomina phaseolina* en semillas de frijol sembradas en suelo bajo condiciones de invernadero.

Los resultados arrojaron una reducción considerable de los síntomas de damping-off en las semillas tratadas con *T. harzianum* 2×10^{10} UFC/ml por 10 minutos, controlando hasta en un 77% a los 21 días de iniciado el ensayo. En el caso de *T. koningii*, cuya concentración fue menor, el mejor control se evidenció en las semillas tratadas con este biocontrolador por espacio de 40 minutos, con un 77.5% a los 21 días de iniciado el ensayo. Los resultados con *T. spp.* no mostraron diferencias significativas en relación al tiempo de tratamiento de las semillas, siendo menos eficientes que los de las otras especies de *Trichoderma*.

De manera similar al efecto que tiene el tiempo de exposición de las semillas a las soluciones de *Trichoderma* en el trabajo descrito, en esta investigación ese efecto lo cumplió la época de aplicación; de hecho, se pueden establecer ciertas analogías, dado que en ambos casos se ha observado que concentraciones menores pueden ser más efectivas, si se aplican con mayor frecuencia en el caso de cultivos establecidos o por mayor tiempo en el caso de protección de semillas previo a la siembra.

VI.- CONCLUSIONES

6.1.- *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

- ❖ En función de los resultados obtenidos, se observó que el control del marchitamiento vascular causado por el hongo *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* con *T. harzianum* Rifai, fue efectivo a partir de la menor concentración evaluada (1×10^2 UFC/g).
- ❖ El hongo *T. harzianum* Rifai, demostró un efectivo control sobre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, con la aplicación de las tres dosis evaluadas en los tres momentos de aplicación: semillero, transplante y semanal, garantizando además la menor mortalidad de plantas.
- ❖ Todas las concentraciones de *T. harzianum* Rifai utilizadas, en sus diferentes momentos de aplicación, ofrecieron una eficiente protección a las plantas inoculadas desde el semillero hasta la cosecha, hasta por más de cinco meses después del transplante.
- ❖ El crecimiento de las plantas inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* se favoreció con el tratamiento 5 (1×10^6 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal), excepto para la variable altura de las plantas, siendo mejor el tratamiento 2 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante).
- ❖ Para las variables de frutos, los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante); obteniéndose mayor número de frutos por planta y mayores rendimientos.

6.2.- *Sclerotium rolfsii* Sacc.

- ❖ En función de los resultados obtenidos, se observó que el control con *T. harzianum* Rifai de la podredumbre blanca causada por el hongo *S. rolfsii*, fue efectivo a partir de la menor concentración evaluada (1×10^2 UFC/g). Sin embargo, la época de aplicación más adecuada, la comprende la aplicación en semillero, transplante y semanal, lo que garantiza la menor mortalidad de plantas.
- ❖ Todas las concentraciones de *T. harzianum* Rifai utilizadas, en sus diferentes momentos de aplicación, excepto el tratamiento 1 (1×10^2 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero, transplante y semanal) ofrecieron una eficiente protección a las plantas inoculadas desde el semillero hasta la cosecha, hasta por más de cinco meses después del transplante.
- ❖ El crecimiento de las plantas inoculadas con *S. rolfsii* Sacc. se favoreció con la aplicación de *T. harzianum* Rifai, a partir de la menor concentración evaluada (1×10^2 UFC/g) para cada una de las diferentes variables evaluadas.
- ❖ Para las variables de frutos, fue en el caso del tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante), donde se observó mayor número de frutos por planta y mayores rendimientos, pese a encontrarse un 20% de mortalidad con este tratamiento.

6.3.- *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *S. rolfsii* Sacc.

- ❖ Tanto en el caso de las plantas inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* como en el caso de las plantas inoculadas con *S. rolfsii*, se pudo observar que las variables rendimiento (kg), número de frutos por planta y peso de los frutos, se favorecieron notablemente con la aplicación del tratamiento 4 (1×10^4 UFC/g de *T. harzianum* aplicado en semillero y transplante).
- ❖ Se demuestra que en función del patógeno, el cultivo y las condiciones bajo las cuales se desarrolla el mismo, algunas concentraciones y épocas de aplicación son más efectivas, a pesar de probarse una misma serie de tratamientos para el control de ambos patógenos con el uso del hongo *T. harzianum*.
- ❖ Con la incorporación de *T. harzianum* en el cultivo de tomate cv. Río Grande, no sólo se disminuye la incidencia de las enfermedades causadas por los patógenos bajo estudio, sino que además se potencia la productividad de las plantas; además de ofrecer al consumidor productos agrícolas más sanos, llevando a cabo una producción sin la aplicación de productos químicos y más cónsona con el medio ambiente.

VII.- RECOMENDACIONES

- ❖ El uso de *T. harzianum* se recomienda ampliamente para el control de los patógenos *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Sclerotium rolfsii* en tomate cv. Río Grande, siendo efectivo su efecto a partir de la dosis de 1×10^2 UFC/g.
- ❖ Se sugiere la aplicación del biocontrolador en las tres épocas evaluadas: semillero, transplante y semanal, a fin de proteger adecuadamente el cultivo contra el efecto de los patógenos antes mencionados y garantizar una eficiente producción de frutos, de calidad comercial y de mayor aceptabilidad por el consumidor.
- ❖ Para el control de ambos patógenos evaluados en el cultivo de tomate cv. Río Grande, se recomienda realizar este tipo de ensayo en condiciones de campo, hasta la cosecha, aplicando la misma serie de tratamientos o bien evaluando un rango más amplio de concentraciones de *T. harzianum*.
- ❖ Es necesario mantener un estudio continuo de los efectos de los biocontroladores como *T. harzianum* sobre cultivos de interés agrícola, dado que la incorporación de este hongo en el suelo favorece la productividad del cultivo, haciendo posible mayores rendimientos, además de proteger al cultivo en el tiempo contra el ataque de fitopatógenos, todo ello de manera cónsona con el medio ambiente y garantizando mejores condiciones para la salud y seguridad ocupacional en el campo, como para la seguridad del consumidor final de los productos agrícolas.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ◆ ABDELZAHER, H. 2004. Occurrence of damping-off of wheat caused by *Pythium diclinum* Tokunaga In El-Minia, Egypt and its possible control by *Gliocladium roseum* and *Trichoderma harzianum*. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 37: 147-159.

- ◆ ACEVEDO, R. 1992. Control integrado de la pudrición blanca del ajo (*Sclerotium cepivorum* Berk). Resumen. Rev. Fac. Agron. (Maracay). 18: 120-121.

- ◆ ADEKUNLE, A; CARDWELL, K; FLORINI, D; IKOTUN, T. 2001. Seed treatment with *Trichoderma* species for control of damping-off of cowpea caused by *Macrophomina phaseolina*. Biocontrol Science and Technology. 11: 449-457.

- ◆ AGRIOS, G. 1998. Fitopatología. Editorial Limusa. México, D.F. 838 p.

- ◆ AGROBICA. 2005. Productos biológicos para la protección sanitaria de sus cultivos. Tricobiol®. Valencia, Venezuela. Folleto informativo.

- ◆ AHMED, A; PÉREZ-SÁNCHEZ, C; EGEA, C; CANDELA, M. 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. Plant Pathology. 48: 58–65.

- ◆ ANZOLA, D; ROMÁN, G. 1982. Evaluacion de la tolerancia de cultivares de tomate a diversas razas de *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*. Agronomía Tropical. 32(1-6): 261-272.

- ◆ ARCIA, M. 2003. El Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. Consideraciones Y Estrategias Generales. En: Curso Manejo Integrado de Enfermedades. Maracay, Venezuela. 11 p.
- ◆ BARRETO, T; ARCIA, A. 1991. Efecto del pH sobre la germinación y crecimiento *in vitro* de *Sclerotium rolfsii*. En: Resúmenes XII Congreso Venezolano de Fitopatología. Sociedad Venezolana de Fitopatología. Fitopatol. Venez. 4(2):45-68.
- ◆ BENÍTEZ, T. 2005. [18 octubre 2005]. Científicos sevillanos diseñan un tomate transgénico resistente a las infecciones por hongos. Universidad de Sevilla. España. [en línea]. <http://dialogo.ugr.es>
- ◆ BIOCONTROL. 2004. [19 septiembre 2005]. La Agricultura Biológica. Colombia. [en línea]. <http://www.control-biologico.com>
- ◆ BLUM, L; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 2004. Effect of organic amendments on sclerotial germination, mycelial growth, and *Sclerotium rolfsii*-induced diseases. Fitopatol. Bras. 29 (1):66-74.
- ◆ BUDGE, S; WHIPPS, J. 1991. Glasshouse trials of *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma* species for the biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in celery and lettuce. Plant Pathology. 40: 59-66.
- ◆ CAB Internacional. 2003. Crop Protection Compendium. Wallingford, United Kingdom.
- ◆ CASTELLANO, G. 1999. Variedades de pimentón tolerantes a la pudrición blanca en condiciones naturales de infección. FONAIAP Divulga. 61 (1): 18.

- ◆ CIDEIBER. 1997. [28 noviembre 2005]. Venezuela. Actividades del sector primario. Sector agrícola vegetal. [en línea]. <http://www.cideiber.com>
- ◆ CILLIERS, A.J; HERSELMAN, L; PRETORIUS, Z. 2000. Genetic variability within and among mycelial compatibility groups of *Sclerotium rolfsii* in South Africa. *Phytopathology*. 90 (9): 1026-1031.
- ◆ CILLIERS, A.J; PRETORIUS, Z.A; VAN WYK, P.S. 2003. Integrated Control of *Sclerotium rolfsii* on Groundnut in South Africa. *J. Phytopathology* 151: 249–258.
- ◆ COLE, J; ZVENYIKA, Z. 1988. Integrated control of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* in tobacco transplants with *Trichoderma harzianum* and triadimenol. *Plant Pathology*. 37:271-277.
- ◆ COVENTRY, E; NOBLE,R; MEAD,A; MARIN,F; PEREZ, J; WHIPPS,J. 2006. Allium white rot suppression with composts and *Trichoderma viride* in relation to sclerotia viability. *Phytopathology*. 96 (9): 1009-1020.
- ◆ DAVIS, M; DINHAM, B. 2002. [21 octubre 2005]. Producción sostenible de tomate. Reseñas sobre el manejo de plagas. Nº 13. Pesticidas Action Network. Londres, Reino Unido. [en línea]. <http://www.pan-uk.org>
- ◆ DE CAL, A; PASCUAL, S; LARENA, I; MELGAREJO, P. 1995. Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Plant Pathology*. 44: 909-917.
- ◆ DE LA CRUZ, J; HIDALGO-GALLEGO, A; LORA,J; BENITEZ, T; PINTOR-TORO, J. 1992. Isolation and characterization of three chitinases from *Trichoderma harzianum*. *Eur. J. Biochem*. 206: 859-867.

- ◆ DÍAZ POLANCO, C; CASTRO, J. 1977. Estudios sobre el control biológico de *Sclerotium rolfsii*. *Agronomía Tropical*. 27 (5): 539-547.
- ◆ ELAD, Y. 2000. *Trichoderma harzianum* T39 preparation for biocontrol of plant diseases - control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. *Biocontrol Science and Technology*. 10: 499- 507.
- ◆ ELAD, Y; ZIMAND, G; ZAQS, V; ZURIEL, S; CHET, I. 1993. Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. *Plant Pathology*. 42: 324-332.
- ◆ ESTERIO, M; AUGER, J; CARO, V; ALVAREZ, E; MATURANA, G; ARROYO, A. 1998. [19 septiembre 2005]. Compatibilidad de Trichodex 25% WP (*Trichoderma harzianum* Rifai) con nueve fungicidas comúnmente utilizados en programas de manejo fitosanitario en vides (*Vitis vinifera* L.) en Chile por medio de estudios *in vitro*. En: Resúmenes VII Congreso de Fitopatología. *Fitopatología*. 33 (2): 82-93. [en línea]. <http://alerce.inia.cl/sochifit/VII.html>
- ◆ ESTERIO, M; AUGER, J; ALVAREZ, E; DROGUETT, A; CARO, V; MATURANA, G;. 1998. [19 septiembre 2005]. Efecto de fungicidas de uso habitual en Chile en uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) sobre *Trichoderma harzianum* Rifai (TRICHODEX 25 % WP) a través de ensayos de campo y laboratorio (estudio *in vivo*) En: Resúmenes VII Congreso de Fitopatología. *Fitopatología* 33 (2): 82-93. [en línea]. <http://alerce.inia.cl/sochifit/VII.html>

- ◆ EZZIYANI, M; PÉREZ , C; AHMED, S; REQUENA, M; CANDELA, M. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el bioncontrol de *Phytophthora capsici* em plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de Biología*. 26: 35-45.
- ◆ FANG, J; TSAO, P. 1995. Efficacy of *Penicillium funiculosum* as a biological control agent against *Phytophthora* root rots of *Azalea* and *Citrus*. *Phytopathology*. 85: 871–878.
- ◆ FAO. 2006. [30 mayo 2006]. Tomato: Area Harv, Yield and Production. FAOSTAT Database Results. □ en línea □. <http://www.fao.org>
- ◆ FERNÁNDEZ - LARREA, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 62: 96-100.
- ◆ FLORES, A. 1983. Tomate: generalidades, cultivares, semilleros, siembra y transplante. Aporque, poda y empacado. Cosecha y Manejo Post-Cosecha. En: Tomate, Pimentón, Ají y Berenjena. Serie Petróleo y Agricultura. Nº 3. FUSAGRI. 127 p.
- ◆ FRAVEL, D; OLIVAIN, C; ALABOUVETTE, C. 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. Research review. *New Phytologist*. 157: 493-502.
- ◆ GAJARDO, A; PÉREZ, L. 1999. [18 octubre 2005]. Formulaciones de *Trichoderma* para el control de patógenos vegetales. En: Resúmenes IX Congreso Nacional de Fitopatología. Chile. [en línea]. <http://www.alerce.inia.cl>

- ◆ GARIBALDI, A; GILARDI, G; GULLINO, M. 2006. First report of southern blight incited by *Sclerotium rolfsii* on potato (*Solanum tuberosum*) in Northern Italy. *Plant Dis.* 90: 1114.
- ◆ GHERBAWY, Y; YASER, M. 2003. Fungicides and some biological controller agents effects on the growth of *Fusarium oxysporum* causing paprika wilt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection.* 36: 235-245.
- ◆ GONZÁLEZ, R. 2004. Control biológico de *Fusarium solani* en tomate mediante el empleo de los bioantagonistas *Paenibacillus lentimorbus* y *Trichoderma spp.* *Revista Latinoamericana de Ciencias de la Agricultura.* 31 (1): 21-28.
- ◆ GONZÁLEZ, R; MONTEALEGRE, J; HERRERA, Y. 2004. Control biológico de *Fusarium solani* en tomate mediante el empleo de los Bioantagonistas *Paenibacillus lentimorbus* y *Trichoderma spp.* *Cien. Inv. Agr.* 31 (1): 21-28.
- ◆ GONZÁLEZ-CÁRDENAS, J; MARURI-GARCÍA, J; GONZÁLEZ-ACOSTA, A. 2005. Evaluación de diferentes concentraciones de *Trichoderma spp.* contra *Fusarium oxysporum* agente causal de la pudrición de plántulas en papaya (*Carica papaya* L.) en Tuxpan, Veracruz, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 5 (1): 45-47.
- ◆ GONZÁLEZ-SALGADO, C; RODRÍGUEZ, L; ARJONA, C; PUERTAS, A; FONSECA, M. 1999. Efecto de la aplicacion de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* 14 (1-2): 297-306.

- ◆ GRONDONA, I; HERMOSA, M.R; GOMISI, M.D; GARCÍA BENAVIDES, P; GARCÍA-ACHA, I; MONTE, E. 1995. Control Biológico de hongos del suelo que afectan a las semillas y plántulas. En: Alternativas del bromuro de metilo en la agricultura. Seminario Internacional. Junta de Andalucía. Conserjería de Agricultura y Pesca. Colección Congresos y Jornadas. Nº 44-97. Almería, España. pp. 43-53.
- ◆ HARMAN, G.E. 2001. [25 octubre 2005]. *Trichoderma spp.*, including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system). Biological Control: A guide to natural enemies in North America. Cornell University. [en línea]. <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol>
- ◆ HARMAN, G.E; HOWELL, C; VITERBO, A; CHET, I; LORITO, M. 2004. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews*. 2: 43-55.
- ◆ HARTMAN, J; FLETCHER, J. 1991. *Fusarium* crown and root rot of tomatoes in the UK. *Plant Pathology*. 40: 85-92.
- ◆ HERRERA, R. 2005. [26 julio 2007]. Control biológico de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Fusarium solani* en tomates bajo invernaderos. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. [en línea] <http://mazinger.sisib.uchile.cl/>
- ◆ HOYNES, C; LEWIS, J; LUMSDEN, R; BEAN, G. 1999. Biological control agents in combination with fertilization or fumigation to reduce sclerotial variability of *Sclerotium rolfsii* and disease of snap beans in the greenhouse. *J. Phytopathology*. 147: 175-182.

- ◆ HYSEK, J; VACH, M; BROZOVA, J; SYCHROVA, E; CIVINOVA, M; NEDELNIK, J; HRUBY, J. 2002. The influence of the application of mineral fertilizers with the biopreparation supresivit (*Trichoderma harzianum*) on the health and the yield of different crops. Archiv. Phytopath. Pflanz. 35: 115-124.
- ◆ IAB. 2005. [20 octubre 2005]. Investigaciones y Aplicaciones Biotecnológicas. *Trichoderma harzianum*. [en línea]. <http://www.iabiotec.com>
- ◆ JEEVA, M; HEGDE, V; MAKESHKUMAR, T; NAIR,R; EDISON, S. 2005. New Disease Report: *Dioscorea alata*, a new host of *Sclerotium rolfsii* in India. Plant Pathology. 54: 575.
- ◆ JONES, J.P. 2001. La Fusariosis vascular del tomate. En: JONES, J.B; JONES, J.P; STALL, R.E; ZITTER, T.A. Plagas y Enfermedades del Tomate. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi-Prensa. México. pp. 15.
- ◆ KLEIFELD, O; CHET, I. 1992. *Trichoderma harzianum*—interaction with plants and effect on growth response. Plant and Soil. 144(2): 267-272.
- ◆ KLEIFELD, O; ELAD, Y; SIVAN, A; CHET, I. 1983. Biological control of *Aspergillus niger* and the influence of *Trichoderma harzianum* on plant growth. Phytoparasitica 11:3-4.
- ◆ LARENA, I; SABUQUILLO, P; MELGAREJO, P; DE CAL, A. 2003. Biocontrol of *Fusarium* and *Verticillium* wilt of tomato by *Penicillium oxalicum* under greenhouse and field conditions. J. Phytopathology. 151: 507-512.

- ◆ LATUNDE-DADA, A. 1993. Biological control of southern blight disease of tomato caused by *Sclerotium rolfsii* with simplified mycelial formulations of *Trichoderma koningii*. *Plant Pathology*. 42: 522-529.
- ◆ LOBO DE SOUZA, M. 2000. Microorganismos para uso na agricultura. En: Relatorio do Workshop Recursos Geneticos de Microorganismos. Apoio Prometo BRA/96/025 – SUDAM/PNUD. Belém, Brasil. pp. 24-27.
- ◆ LUGO, Z. 1998. Identificación de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) Snyder & Hansen procedentes de algunas zonas productoras del estado Aragua y Norte de Guárico. Tesis de Maestría. Fac. Agronomía. U.C.V. Maracay, Venezuela. 100 p.
- ◆ McCARTER, S.M. 2001. La Podredumbre Negra. En: JONES, J.B; JONES, J.P; STALL, R.E; ZITTER, T.A. Plagas y Enfermedades del Tomate. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi-Prensa. México. pp. 22-23.
- ◆ MULLEN, J. 2005. [29 noviembre 2005]. Southern Blight. Plant Disease Lessons. [en línea]. <http://www.apsnet.org>
- ◆ NOGUÉS, S; COTXARRERA, L; ALEGRE, L; TRILLAS, M. 2002. Limitations to photosynthesis in tomato leaves induced by *Fusarium* wilt. *New Phytologist*. 154: 461-470.
- ◆ PÁEZ, A; PAZ, V; LÓPEZ, J.C. 2000. Crecimiento y respuestas fisiológicas de plantas de tomate cv. Río Grande en la época mayo-julio. Efecto del sombreado. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 17: 173-184.

- ◆ PEÑA, C; MORENO, D. 1997. Evaluación de trece cultivares de híbridos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), en Tocarón, Aragua – Venezuela. Revista Forestal Venezolana. 41 (1): 45-52.
- ◆ REQUEJO, R; ESCOBEDO, L; GARCÍA, H. 2003. [26 julio 2007]. Producción y calidad de tomate bajo el sistema de cultivo sin suelo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México. [en línea]. <http://www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/ingenieria/rendphaseol.pdf>.
- ◆ RIQUELME, R. 2005. [23 noviembre 2007]. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* sobre el crecimiento aéreo y radical en *Fragaria chiloensis* (L.) Duch. sometida a condiciones de estrés. Resumen Tesis de Grado. Universidad de Talca. Chile. [en línea]. <http://hdl.handle.net/1950/1490>.
- ◆ RODRÍGUEZ, I; ACEVEDO, R. 1991. Tolerancia de *Trichoderma spp* a dosis letales de los fungicidas Iprodione, Vinclozolin y Triadimefón. En: Resúmenes XII Congreso Venezolano de Fitopatología. Sociedad Venezolana de Fitopatología. Fitopatol. Venez. 4 (2): 45-68.
- ◆ RODRÍGUEZ, I; ARCIA, A. 1994. Caracterización fisiológica de dos aislamientos de *Sclerotium rolfsii* Sacc., procedentes de El Sombrero, Edo. Guárico y de La Misión, Edo. Portuguesa. En: Resúmenes XIII Congreso Venezolano de Fitopatología. Sociedad Venezolana de Fitopatología. Cuadernos de Agronomía. 1 (6): 57-91.
- ◆ RODRÍGUEZ-MOLINA, M; MEDINA, I; TORRES-VILA, L; CUARTERO, J. 2002. Vascular colonization patterns in susceptible and resistant tomato cultivars inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 0 and 1. Plant Pathology. 52: 199-203.

- ◆ ROJAS, D. 2000. Manual Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en el cultivo del Tabaco. Bigott. Valencia, Venezuela. 18 p.
- ◆ RUOCCO, M; PANE, F; RITIENI, A; LANZUISE, S; AMBROSINO, P; MARRA, R; WOO, S.L; CILIENTO, R; SORIENTE, I; FERRAIOLI, F; SCALA, F; LORITO, M. 2004. Use of *Trichoderma spp.* for biological control of *Fusarium proliferatum* a livestock feed contaminant. Abstract. In: Journal of Plant Pathology. Special Issue. 86 (4): 295 - 340.
- ◆ SAMUELS, G. 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state and ecology. Phytopathology. 96 (2): 195-206.
- ◆ SANTANDER, C; MONTEALEGRE, J; HERRERA, R. 2003. Control biológico de *Rhizoctonia solani* en tomate en suelos previamente sometidos a solarización y bromuro de metilo. Cien. Inv. Agr. 30 (2): 107-112.
- ◆ SEHUSA. 2005. Línea de Productos 2005. Agroinsumos Bio-Racionales. Biocop T[®]. División SEHUSA Agrícola (DSA). Jalisco, México. Folleto Informativo.
- ◆ SERRA, S; DA SILVA, G. 2005. Biological and physiological characterization of *Sclerotium rolfsii* isolates, obtained from green pepper in the State of Maranhão. Fitopatol. Bras. 30 (1): 61-66.
- ◆ SIVAN, A; CHET, I. 1986. Biological Control of *Fusarium spp.* in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. J. Phytopathology, 116: 39 - 47.

- ◆ STEFANOVA, M; LEIVA, A; LARRINAGA, L; CORONADO, M. F. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma spp.* para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 16: 509-516.
- ◆ STRASHNOW, Y; ELAD, Y; SIVAN, A; CHET, I. 1985. Integrated control of *Rhizoctonia solani* by methyl bromide and *Trichoderma harzianum*. Plant Pathology. 34:146-151.
- ◆ TRUJILLO, M; FIGUEROA, M; CORBEA, O; PÉREZ, M; PLACERES, I; AVILA, N. 2006. [15 mayo 2006]. Posibilidades del antagonista *Trichoderma harzianum* para el manejo del “tizón temprano” (*Alternaria solani* Sor) en papa. Revista Avanzada Científica. Vol. 9. Nº 1. CIGET Matanzas. Cuba. [en línea]. <http://www.atenas.inf.cu>
- ◆ WATTERSON, J. 1985. Tomato Diseases. A practical guide for seedsmen, growers and agricultural advisors. Petoseed Co., Inc. Breeders Growers. California. U.S.A. 47 p.
- ◆ ZAVALETA-MEJÍA, E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. Revista Terra. 17 (3): 201-207.