

EFFECTIVIDAD DE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp. EN EL CONTROL DE LA FUSARIOSIS DEL TOMATE EN CONDICIONES *IN VITRO* E *IN VIVO*

Luis Salazar¹, Nelly Sanabria¹, Glenda Aponte¹, María Alcano¹, Rafael Herrera¹, Diana Colmenares¹, Melania Espinoza¹, Luis Alemán¹ y Sacramento Magaña¹

RESUMEN

La marchitez vascular, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, es una enfermedad que afecta la zona radical de plantas de tomate y avanza en forma sistémica. En esta investigación se evaluó la efectividad de *Trichoderma* spp. para el control de la fusariosis tanto *in vitro* como *in vivo*. Se usaron diez aislamientos del género *Trichoderma*, es decir, cuatro de *T. harzianum* (B2, C3, I9, J10), cuatro de *T. koningii* (D4, E5, G7, H8), uno de *T. longibrachiatum* (A1) y uno de *T. atroviride* (F6). Asimismo, se utilizaron cinco aislamientos del patógeno colectados en plantaciones de tomate. Para la prueba *in vitro* se colocaron los antagonistas y los patógenos en cultivos duales en platos de Petri, bajo un diseño completamente aleatorizado, y se evaluaron los porcentajes de inhibición de crecimiento y de esporulación. La evaluación *in vivo* se realizó con la aplicación de los aislamientos de *Trichoderma* spp. en plantas de tomate de la variedad Río Grande infectadas con *F. oxysporum* bajo condiciones de umbráculo. Se evaluó la severidad de la enfermedad usando un diseño completamente aleatorizado. Los aislamientos A1, I9, H8 y J10 presentaron los porcentajes más altos de inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, mientras que los aislamientos I9 y J10 correspondientes ambos a la especie *Trichoderma harzianum* fueron los que, en general, presentaron un mejor control al considerar el conjunto de las pruebas *in vitro* e *in vivo*.

Palabras clave adicionales: Control biológico, *Fusarium oxysporum*, marchitez

ABSTRACT

Effectiveness of *Trichoderma* spp. in the control of tomato plant wilt *in vitro* and *in vivo*

The vascular wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, is a disease that affects the root of tomato plants and moves systemically. In this research, the effectiveness of isolates of *Trichoderma* spp. for control of the disease, both *in vitro* and *in vivo*, was evaluated. We used ten isolates of the genus *Trichoderma*, as follows: four isolates of *T. harzianum* (B2, C3, I9, J10), four of *T. koningii* (D4, E5, G7, H8), one of *T. longibrachiatum* (A1), and one of *T. atroviride* (F6). Likewise, five isolates of the pathogen, collected from tomato fields, were used. For *in vitro* testing, antagonists and pathogens were placed in dual cultures in Petri dishes under a completely randomized design, and the inhibition percentages of growth and sporulation were evaluated. The *in vivo* evaluation was carried out by applying the isolates of *Trichoderma* spp. in tomato plants, Río Grande variety, infected with *F. oxysporum*, under greenhouse conditions. The severity of the disease was assessed using a completely randomized design. The isolates A1, I9, H8 and J10 had the highest percentage of growth inhibition of *F. oxysporum*, while I9 J10 isolates, both corresponding to *Trichoderma harzianum*, were those that, in general, showed the best control of *F. oxysporum* when considering the totality of the *in vitro* and *in vivo* tests.

Additional key words: Biological control, *Fusarium oxysporum*, plant wilt

INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) representa uno de los principales cultivos tanto a nivel mundial como nacional, debido a la importancia que tiene para el consumo fresco así como para su utilización en la agroindustria. Sin embargo, cada año los rendimientos son afectados

en gran parte por la incidencia de enfermedades causadas por hongos del suelo (Lugo et al., 2001; Jiménez y Sanabria, 2008). Entre estos hongos se presenta *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causante de la fusariosis o marchitez del tomate, el cual se ha reportado en diferentes siembras del estado Aragua y norte de Guárico (Lugo y Sanabria, 2001; Jiménez, 2004).

Recibido: Marzo 24, 2011

Aceptado: Noviembre 18, 2011

¹ Instituto de Botánica Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579, Maracay. Venezuela. e-mail: luisagronomía@gmail.com.ve; nellyhortensia@gmail.com

Debido a la importante necesidad de disminuir la incidencia de este patógeno en campo, aunado a la variabilidad que éste presenta en cuanto a razas y al uso irracional de fungicidas, se han desarrollado tecnologías que permiten disminuir de forma efectiva la enfermedad en campo al utilizar productos a base de microorganismos (Acosta y Garcés (2005), como por ejemplo especies del hongo *Trichoderma*, que ejerce un efecto de hiperparasitismo sobre este hongo. En esta investigación se evaluó la capacidad antagonista (agresividad) de los aislamientos de *Trichoderma* spp., tanto *in vitro* como *in vivo* con respecto a aislamientos de *F. oxysporum* procedentes del estado Aragua, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron pruebas *in vitro* e *in vivo* para la determinación de la capacidad antagonista de aislamientos de *Trichoderma* spp. con respecto a *F. oxysporum* en la Clínica de Enfermedades de Plantas del Instituto de Botánica de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela (UCV), en Maracay. Se tomaron muestras de aproximadamente 1 kg de suelo húmedo provenientes de la rizosfera en algunas zonas de producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.), del sur del estado Aragua y norte del estado Guárico, a partir de las cuales se realizaron los aislamientos de *Trichoderma* spp. Se obtuvieron ocho aislamientos a los cuales se agregaron otros dos que correspondieron a productos comerciales para el control biológico de enfermedades (Cuadro 1).

Cuadro 1. Denominación y procedencia de los aislamientos de *Trichoderma* spp.

Aislamiento	Cultivo	Lugar
A1	Tomate	El Sombrero, estado Guárico
D4	Tomate	El Sombrero, estado Guárico
E5	Tomate	El Sombrero, estado Guárico
F6	Sorgo	Palo Negro, estado Aragua
G7	Tomate	El Pao, estado Aragua
H8	Cebolla	Palo Negro, estado Aragua
I9	Sorgo	Palo Negro, estado Aragua
J10	Tomate	Camatagua, estado Aragua
B2	Producto comercial	
C3	Producto comercial	

B2: Trichobiol; C3: Aicatriderma

Se prepararon diluciones a partir de la

suspensión de cada muestra de suelo en agua destilada estéril. Las mismas fueron colocadas en placas de Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) e incubados a 28 °C por 24 a 48 horas utilizando cuatro réplicas. Se tomó parte del crecimiento del hongo y se sembró en cultivos monospóricos para la obtención del cultivo puro y a partir de allí replicar. Los aislamientos comerciales, en presentación sólida (polvo), fueron multiplicados en el medio de cultivo y se incubaron a la temperatura señalada.

Una vez obtenidos los aislamientos puros se procedió a su identificación taxonómica, a nivel de especie, considerando las características fundamentales descritas por Rifai (1969) y Bissett (1991). Para ello se utilizaron los aislamientos de 3-4 días y de 6-8 días de crecimiento en medio PDA, y se realizaron observaciones con la ayuda de una lupa estereoscópica.

Los aislamientos de *F. oxysporum* fueron obtenidos a partir de colectas de material vegetal de tomate con síntomas característicos de la enfermedad provenientes de algunas zonas de producción de tomate de los estados Aragua y Guárico (Cuadro 2).

Cuadro 2. Denominación y procedencia de los aislamientos de *Fusarium oxysporum*

Aislamiento	Lugar
El Pao	El Pao, estado Aragua
HLA05	El Sombrero, estado Guárico
VT05	Valle de Tucutunemo, estado Aragua
SE04	El Pao, estado Aragua
FPT05	Valle de Tucutunemo, estado Aragua

Para evaluar la capacidad antagonista de los aislamientos de *Trichoderma* spp. *in vitro* con respecto a *F. oxysporum* se realizaron enfrentamientos colocando de forma equidistante en bordes opuestos en platos de Petri con PDA, un disco de 5 mm de diámetro colonizado con el hongo patógeno de siete días de crecimiento y un disco de los aislamientos de *Trichoderma* spp., de tres días de crecimiento. Como testigo se colocó en plato de Petri con el mismo medio un disco colonizado con el hongo patógeno. Los tratamientos fueron incubados a 28 °C durante seis días. Se empleó un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones y se consideraron como testigo a cada uno de los aislamientos patogénicos. Las observaciones se

realizaron cada 24 horas por seis días consecutivos, y se evaluó el crecimiento radial de las colonias de ambos hongos, al igual que el número de conidios de *F. oxysporum* al final de la evaluación. Con estos datos se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) y el porcentaje de inhibición de esporulación (PIE) en el patógeno utilizando las fórmulas:

$PIC = [(C - T) / C] * 100$ y $PIE = [(C - E) / C] * 100$ donde PIC: porcentaje de inhibición de crecimiento, C: crecimiento del control, T: crecimiento del tratamiento, y PIE: porcentaje de inhibición de esporulación, C: esporulación del control, E: esporulación del tratamiento.

El análisis estadístico fue realizado utilizando el programa SAS versión 8 (Cary, NC). Al inicio se realizó un análisis exploratorio para buscar datos atípicos y visualizar el comportamiento en cuanto al control ejercido por todos los aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre cada uno de los aislamientos de *F. oxysporum* evaluados. En el caso del PIC se realizó análisis de varianza y prueba de Tukey; para la comparación entre los tratamientos y los testigos se usó la prueba de Dunnett. En el caso del PIE, donde se detectaron ligeras desviaciones respecto a la normalidad, los datos fueron analizados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, para lo cual se utilizó el programa Statistix versión 8.0.

Para evaluar *in vivo* la capacidad antagonista de *Trichoderma* spp. se probó la severidad de la enfermedad en plantas de tomate var. Río Grande cultivado en bandejas de semillero con sustrato estéril, conformado por aserrín de coco (60 %), humus de lombriz (20 %), arena (10 %), perlitas de poliestireno expandido (5 %) y cascarilla de arroz (5 %) bajo condiciones de umbráculo. Se aplicó agua estéril, y con el uso de un bisturí esterilizado se separó el micelio y los conidios del hongo. Al momento del trasplante, 25 días después de la siembra en semillero, las raíces de las plantas provenientes del semillero se lavaron con agua corriente, para eliminar el exceso de sustrato, se les hizo una ligera presión con la mano y se sumergieron por 15 minutos en la suspensión de conidios de cada aislamiento del patógeno. Paralelamente, se multiplicó cada aislamiento de *Trichoderma* spp., para lo cual se utilizó 50 g de cascarilla de arroz previamente lavada y esterilizada, 100 mL de agua destilada estéril y 2,5 g de glucosa, a lo cual se le agregaron 5 mL de

suspensión de conidios con concentración de 10^6 conidios·mL⁻¹; para ello se usaron colonias del hongo patógeno de cinco días de crecimiento, con la finalidad de incrementar las poblaciones con varios días de anticipación. Una vez aumentada la población del hongo patógeno se procedió a aplicar la suspensión del antagonista en la base de la planta tanto en semillero como al momento del trasplante. Se trasplantaron dos plantas por bolsa, se llevaron al umbráculo (28-30 °C y 75 % HR) y se aplicó riego interdiario.

Cada aislamiento de *Trichoderma* spp. con cada uno de los aislamientos del patógeno estuvo constituido por 10 plantas, y se consideraron tres testigos (de 10 plantas cada uno): (a) plantas inoculadas con el antagonista, (b) plantas inoculadas con agua destilada estéril y (c) plantas inoculadas con el patógeno. En total, se utilizaron 530 plantas de tomate (una de cada bolsa), completamente sanas.

En las plantas se evaluaron los síntomas de la marchitez por el patógeno a partir de las 48 horas hasta los 25 días después del trasplante, los cuales fueron clasificados según la escala de severidad propuesta por Marlatt et al. (1996), la cual le asigna clase 1 a la falta de síntomas en la planta, y clase 5 a la máxima severidad, la cual se corresponde con la muerte de la planta. En esta evaluación se utilizó un ensayo completamente aleatorizado y los análisis de los resultados se realizaron por la vía no paramétrica empleando la prueba de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron cuatro especies de *Trichoderma* pertenecientes a tres secciones (Cuadro 3). Los aislamientos presentaron valores de diámetro que oscilaron entre 3,0 a 6,42 cm y se encontró una variabilidad en cuanto a la producción de esporas desde 65.785 a 150.000 conidios·mL⁻¹.

Capacidad antagonista de *Trichoderma* spp. *in vitro*: El aislamiento A1 (*T. longibrachiatum*) ejerció el mejor control en cada uno de los aislamientos de *F. oxysporum* (Cuadro 4), ya que fue el que presentó el mayor porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) para todos los aislamientos del patógeno ($P \leq 0,05$), seguido por los aislamientos I9 (*T. harzianum*) y H8 (*T.*

koningii), y luego por J10 (*T. harzianum*) y G7 (*T. koningii*). No obstante, los dos productos comerciales, B2 y C3, presentaron valores muy bajos; la prueba de Dunnett determinó que el B2 fue superado por todos los aislamientos excepto F6 ($P \leq 0,002$), mientras que el C3 no fue superado por sólo D4, F6 y B2 ($P \leq 0,001$). Este resultado pudiera estar asociado con el tiempo de almacenamiento de estos productos comerciales, lo que pudo afectar su efectividad, a diferencia del resto de aislamientos, los cuales fueron probados inmediatamente después de colectados.

Cuadro 3. Identificación de las especies de *Trichoderma* utilizadas en los ensayos

Código de identificación	Especie taxonómica	Sección
A1	<i>T. longibrachiatum</i>	<i>Longibrachiatum</i>
B2	<i>T. harzianum</i>	<i>Pachybasium</i>
C3	<i>T. harzianum</i>	<i>Pachybasium</i>
D4	<i>T. koningii</i>	<i>Trichoderma</i>
E5	<i>T. koningii</i>	<i>Trichoderma</i>
F6	<i>T. atroviride</i>	<i>Trichoderma</i>
G7	<i>T. koningii</i>	<i>Trichoderma</i>
H8	<i>T. koningii</i>	<i>Trichoderma</i>
I9	<i>T. harzianum</i>	<i>Pachybasium</i>
J10	<i>T. harzianum</i>	<i>Pachybasium</i>

Cuadro 4. Inhibición del crecimiento (PIC) inhibición de esporulación (PIE) y severidad de los síntomas de la enfermedad causada por *F. oxysporum* según el control ejercido por los aislamientos de *Trichoderma* spp.

Aislamiento	PIC	PIE	Severidad
A1	53,44 a	68,88 cd	1,87 bcd
I9	38,01 b	84,21 a	1,77 cd
H8	38,00 b	71,94 bcd	2,26 a
J10	33,26 b	78,82 abc	1,70 cd
G7	32,34 b	46,87 e	2,26 a
E5	27,62 c	82,73 ab	1,88 bcd
D4	22,77 d	51,43 e	2,03 abc
C3	20,33 e	74,72 abcd	1,84 cd
F6	14,10 f	76,4 abc	1,67 d
B2	13,24 f	58,58 de	2,02 abc
Pruebas	Tukey ($P \leq 0,05$)	Kruskal-Wallis ($P \leq 0,001$)	

En relación al nivel de virulencia de los cinco aislamientos de *F. oxysporum*, tomando en consideración los que presentaron menor porcentaje de inhibición de crecimiento (Cuadro 5), se evidenció que el aislamiento VT05 fue el más virulento, superando estadísticamente ($P \leq 0,05$) a SE04 y El Pao, con relación al control

ejercido por parte de los diez aislamientos de *Trichoderma* spp. No se detectó efecto de interacción entre ambos factores en estudio.

Cuadro 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) y severidad de los síntomas de la enfermedad causada por *F. oxysporum* en función de los aislamientos del patógeno

Aislamiento	PIC	Severidad
SE04	32,6 a	2,05 b
El Pao	30,6 ab	2,30 a
HLA05	30,5 ab	2,38 a
FPT05	27,4 bc	2,12 ab
VT05	25,6 c	1,45 c
Pruebas	Tukey ($P \leq 0,05$)	Kruskal-Wallis ($P \leq 0,001$)

Con relación al porcentaje de inhibición de esporulación (PIE), el análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los aislamientos de *Trichoderma* spp., y no para el caso de los aislamientos de *F. oxysporum* ($P > 0,05$). El aislamiento I9 obtuvo el porcentaje más alto en comparación con el resto de los aislamientos. Le siguieron los aislamientos E5, J10, F6 y C3, en ese orden, con los que compartió un mismo grupo estadístico. El aislamiento B2 (comercial) no superó a ningún aislamiento, mientras que el C3 (comercial) sólo superó a los aislamientos D4 y G7 (Cuadro 4).

Lo anterior demuestra la capacidad antagonista de los aislamientos de *Trichoderma* sobre los patógenos probados, lo cual está relacionado con los mecanismos de acción que presente cada uno de los aislamientos. A diferencia de Harman et al. (1981), quienes sugieren que el micoparasitismo es el principal mecanismo de acción de *Trichoderma* spp., McAllister et al. (1994) indican que el mecanismo de acción del biocontrolador es la producción de antibióticos péptidos. Por su parte, Henis et al. (1983) resaltan que la capacidad de penetración es importante, pero no es la única propiedad requerida por *Trichoderma* spp. para ser un eficiente biocontrolador, ya que observaron que algunos esclerocios de *Sclerotium rolfsii* que fueron penetrados mantuvieron su firmeza y no fueron degradados en su interior. Valenzuela (2004) sugirió que el mecanismo de acción del antagonista es el micoparasitismo y la existencia de cierta especificidad en relación biocontrol-fitopatógeno. Por su parte, García y Zambrano (1991) sugirieron que la antibiosis parece ser el mecanismo de acción.

Con relación al PIC y el PIE se observa que los aislamientos I9 y J10, ambos de la especie *Trichoderma harzianum*, fueron los únicos que permanecieron dentro de los cinco mejores de cada grupo, y no hubo similitud entre los restantes. Igualmente, Jiménez (2004) reportó resultados disímiles entre ambas variables (PIC y PIE) cuando estudiaron el control de *Fusarium oxysporum* utilizando aislamientos de *T. harzianum*.

Capacidad antagonista de *Trichoderma* spp. *in vivo*: Al evaluar el grado de severidad de la enfermedad bajo condiciones de umbráculo se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0,001$) tanto entre los antagonistas como entre los patógenos. El aislamiento F6 de *Trichoderma* presentó el valor más bajo con relación a los cinco patógenos evaluados, seguido por los aislamientos J10, I9, C3 y A1 que también presentaron un control de los patógenos y no permitieron que éstos ocasionaran la muerte de la planta (Cuadro 4).

En los aislamientos G7, E5 y D4 se apreció un amarillamiento moderado, achaparramiento de la planta y posterior muerte de la misma, y a diferencia del resto de los aislamientos, los síntomas aparecieron de manera acelerada, lo que permitió ubicarlos en las clases 2 y 3. Por el contrario, en los aislamientos F6 e I9 los síntomas fueron de clase 1 a 2 y permanecieron así hasta la culminación del ensayo.

Diferentes experiencias han demostrado el efecto biocontrolador *in vivo* de *Trichoderma* spp. en tomate. Por ejemplo, *Trichoderma harzianum* (cepa A-34) ha sido muy efectiva en la lucha contra *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani* (Sandoval et al., 1995) y *Sclerotium rolfsii* (Reyes et al., 2002).

Entre los cinco aislamientos de *F. oxysporum* se encontró que HLA05 y El Pao fueron los que produjeron mayor severidad de los síntomas, superando estadísticamente ($P \leq 0,05$) a SE04 y VT05 (Cuadro 5). La sintomatología producida en las plantas de tomate varió desde un leve amarillamiento, necrosis interna y, en algunos casos, la muerte, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Marlatt (1996), quien describe los síntomas como amarillamiento y marchitamiento, obstrucción de tejido vascular y posterior muerte de la planta.

La variabilidad en la agresividad de los aislamientos de *F. oxysporum* pudiera atribuirse a

dos posibles causas: en primer lugar, a que se está en presencia de razas fisiológicas, como lo demostraron Anzola y Roman (1982) con la raza 2 en los estados Aragua y Guárico, ó a cambios ocurridos en la población del patógeno. Estos cambios pueden ocurrir en forma natural o debidos a la presión de selección por el uso intensivo de algunos cultivares con cierta variabilidad genética, diferente a la de los genes de resistencia (Lugo; INIA. Comunicación personal).

En este estudio se comprobó el efecto biocontrolador que poseen los aislamientos de *Trichoderma* evaluados. Las plantas inoculadas tanto por los antagonistas como por los patógenos presentaron síntomas leves en comparación con el testigo inoculado sólo con el patógeno, en el que la aparición de los síntomas fue más severa; esto sugiere que aunque las especies utilizadas como biocontroladoras no protegieron en su totalidad a las plantas inoculadas, éstas mostraron resistencia debida al efecto de los antagonistas. Harman (2002) señala que los aislamientos de *Trichoderma* pudieran no controlar ciertos patógenos, pero sí pueden proporcionar a las plantas mejor desarrollo radical, lo cual mejoraría su habilidad para resistir el efecto perjudicial del patógeno.

Se observó que las plantas inoculadas sólo con *Trichoderma* spp., evaluado como testigo, presentaron mayor proliferación de raíces adventicias, lo que concuerda con lo reportado por Acosta y Garcés (2005), quienes encontraron que aislamientos del antagonista permitieron reducir el daño de *R. solani* en plantas de papa y observaron mayor crecimiento radical, aunque no disminuyó la incidencia de la enfermedad. Asimismo, Chang et al. (1986) encontraron que *T. harzianum* presentó habilidad para incrementar el crecimiento radical en plantas de tomate.

CONCLUSIONES

Los aislamientos A1, I9, H8 y J10 presentaron los valores más altos para el PIC. Los productos comerciales B2 y C3 presentaron valores muy bajos, atribuido a un posible exceso del tiempo de almacenamiento que pudo afectar su agresividad para el control de los patógenos probados.

En general, los aislamientos I9 y J10 correspondientes a *Trichoderma harzianum*, fueron los que presentaron un mejor control de *Fusarium oxysporum* al considerar en conjunto las evaluaciones *in vitro* (PIC y PIE) e *in vivo*.

LITERATURA CITADA

1. Acosta, C. y E. Garcés. 2005. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp., con potencial biocontrolador de *Rhizoctonia solani* Kühn., en papa bajo condiciones de casa de malla. Acta Biológica Colombiana 10: 1-6.
2. Anzola, D. y G. Román. 1982. Evaluación de la tolerancia de 12 cultivares de tomate a las razas I, II, III de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Proceedings XXX Congreso de la Sociedad Americana de Ciencias Hortícolas. Región Tropical. Caracas. 15 p.
3. Bissett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma* II. Intrageneric classification. III. Section Pachybasium. IV. Additional notes on section Longibrachiatum. Canadian Journal of Botany 69:2357-2372; 2373-2414; 2418-2420.
4. Chang, C., R. Baker, O. Kleifeld e I. Chet. 1986. Increased growth of plants in presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Disease 70: 145-148.
5. García, R. y C. Zambrano. 1991. Evaluación del tipo de antagonismo de *Trichoderma harzianum* ante *Macrophomina phaseolina* in vitro. <http://www.redpav-polar.info.ve/fitopato/> (consulta del 14/02/2005).
6. Harman, G. 2002. *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum*. <http://www.iicasaninet.net/pub/sanveg/html/biocontrol/patogenos/trichoderma> (consulta del 5/03/2005).
7. Harman, G., I. Chet y R. Baker. 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seed as a biocontrol. Phytopathology 71: 569-572.
8. Henis, Y., P. Adams, J. Lewis y G. Papavizas. 1983. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. Phytopathology 73(12): 1043-1046.
9. Jiménez, C. 2004. Formulación y momento de aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai, para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) Snyder & Hansen causante de la marchitez en tomate en el estado Aragua. Tesis. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay. 92 p.
10. Jiménez, C. y N. Sanabria. 2008. Población final de *Trichoderma harzianum* en el control de la marchitez vascular en tomate causado por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Fitopatología Venezolana 21: 29-30.
11. Lugo, Z. y N. Sanabria. 2001. Características culturales y patogénicas en aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. procedentes de plantaciones comerciales de tomate. Agronomía Tropical 51(4): 519-530.
12. Lugo, Z., A. Díaz y N. Sanabria. 2001. Diversidad genética en aislamientos de dos razas de *F. oxysporum*. Fitopatología Venezolana 14: 26-30.
13. Marlatt, M., J. Correll y P. Kaufman. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in USA. Plant Disease 80: 1336-1342.
14. Mc Allister, C., I. García-Romero, A. Godeas y J. Ocampo, J. 1994. Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*: Effects on plants growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophyte inoculants. Soil Biology & Biochemistry 26(10): 1363-1367.
15. Reyes, A., B. Martínez, G. Rivero y G. Montejo. 2002. Actividad in vivo de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plántulas de tomate. Manejo de Plagas y Agroecología 66: 45-48.
16. Rifai, M. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Paper 116: 1156.
17. Sandoval, I., M. López y D. García. 1995. *Trichoderma harzianum* (cepa A-34): Un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y el pimiento. Bol. Técnico CID-INISAV (La Habana) Nº 3. 36 p.
18. Valenzuela, C. 2004. Evaluación de la capacidad biocontroladora de dos cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre aislados de hongos basidiomycetes asociados a muerte de brazos en kiwi. Tesis. Universidad de Talca. Talca. Chile. 43 p.