

Evaluación de la efectividad de antagonismo de *Trichoderma sp.* sobre diferentes hongos fitopatógenos presentes en el cultivo de maíz (*Zea mays*) en condiciones *in vitro*

Evaluation of the antagonism effectiveness of *Trichoderma sp.* on different phytopathogenic fungi present in corn (*Zea mays*) crops under *in vitro* conditions

Érika Juley González^{1*}; Kevin Stiven Liévano¹; Danny Daniel Cubillos¹

Cómo citar este artículo: Gonzalez-Chingate, E. J., Liévano, K. S., y Cubillos D. D., (2019). Evaluación de la efectividad de antagonismo de *Trichoderma sp.* sobre diferentes hongos Fitopatógenos presentes en el cultivo de maíz (*Zea mays*) en condiciones *in vitro*. *Revista Ciencias Agropecuarias*, 6(1), 19 – 34. DOI: 10.36436/24223484.279

¹ Universidad de Cundinamarca,
Facultad de Ciencias
Agropecuarias, extensión
Facatativá, Colombia

* Correo de correspondencia:
erikajuley24@gmail.com

Resumen

El presente estudio incluyó trabajo de campo en un cultivo de maíz y una segunda etapa en el laboratorio de microbiología la Universidad de Cundinamarca. En campo, se encontraron diferentes agentes de roya incluyendo *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.* y *Verticillium sp.* por parte de enfermedades fúngicas. Respecto a enfermedades bacterianas, mediante técnicas de tinciones se sugiere la presencia de actinomicetos causantes de la pudrición blanda, responsables de la pérdida de flor del maíz. Se calculó una incidencia y severidad más alta causada por la roya (incidencia: 100 %; severidad: 100 %), por lo que en este cultivo se destacó como el agente causal que se presentó en todas las plantas evaluadas. Se valoró la efectividad del micoparásito de *Trichoderma sp.* frente a los hongos fitopatógenos aislados de las plantas de maíz, a través de pruebas

Palabras clave: maíz, Trichoderma, competencia, incidencia, severidad.

Keywords: Corn, Trichoderma, Competition, Incidence, Severity.

de antagonismo entre el agente micoparásito y el agente fitopatógeno obteniendo un mayor antagonismo del micoparásito frente a *Verticillium* y los demás agentes en un 49 %, presentando antagonismo por competencia y antibiosis.

Abstract

This study included work in crop corn and afterwards in microbiology lab from University of Cundinamarca. We found different etiological agents of rust including Alternaria sp., Cladosporium sp., and Verticillium sp. as fungal diseases. Regarding bacterial diseases, we suggest the presence of actinomycetes causing soft rot through staining analysis, responsible for the loss of cornflower. We assessed a high incidence and severity in the crop caused by rust (incidence: 100%; severity: 100%), since it was present in all tested plants. Consequently, the effectiveness of the Trichoderma sp. mycoparasite was evaluated against phytopathogenic fungi isolated from corn plants through antagonism tests were performed between the mycoparasitic agent and the phytopathogenic agent. We observed a greater antagonism of the mycoparasite against verticillium and the other agents by 49 %, presenting antagonism by competition and antibiosis.

Introducción

El maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia *Poaceae* y se cree que se originó en América Latina, especialmente el género *Zea*. El tallo de la planta es catalogado como robusto y presenta entre 15 a 30 hojas alargadas y robustas (1). El maíz es el tercer cultivo con mayor importancia mundial y anualmente se han tenido registros de producciones de hasta 850 millones de toneladas, debido a que es un alimento esencial de la canasta básica familiar y especialmente para América Latina. Es un cultivo característico de pequeños productores, añadiendo el hecho de que su venta es segura (2).

Las enfermedades foliares en maíz no causan mayor pérdida económica en el cultivo, a

excepción de la aparición de la mancha de asfalto y estas se ven en mayor cantidad después del tiempo de fructificación de la mazorca, cuando estas atacan el cultivo anterior a este período, las pérdidas se ven reflejadas en el rendimiento de la producción. Las enfermedades más comunes de encontrar en campo en el cultivo de maíz son: roya (*Puccinia sorghi*), mancha foliar por curvularia (*Curvularia lunata*), tizón foliar (*Helmintosporium turcicum*), mancha del asfalto (*Phyllachora maydis* y *Monographella maidys*) y pudrición bacteriana del tallo (*Erwinia carotovora*) (1). Aunque existe diversidad de controles para estas enfermedades, el método más rápido y con buenos resultados es el control químico. Actualmente una de las enfermedades que mayor problema presenta en los cultivos es la mancha del asfalto, la cual está representando un

gran desafío para los productores al momento de controlar, ya que los fungicidas utilizados hasta el momento no resultan ser los más efectivos; los fungicidas más usados son de doble mezcla e incluyen Estrobilurina y Triazol (3). Con respecto a la roya, que es considerada una de las enfermedades más comunes en el maíz, también es frecuente el uso de fungicidas sistémicos para contrarrestar enfermedades foliares, aunque sean consideradas como leves (4). De manera que el uso de estos químicos tiene impactos negativos en lo ambiental y aún más cuando estos se usan de forma indiscriminada, causando contaminación de agua y residuos volátiles (atmósfera), que al presentarse una lluvia se llevan a otras zonas, de forma que su afectación es a diferentes zonas de un ecosistema (5), por lo que buscar alternativas al uso de químicos se vuelve necesario y posible, y una de ellas es el uso de hongos antagonistas.

Se conoce que en campo existen diversidad de agentes fitopatógenos que afectan las producciones agrícolas en gran medida, pero lo que no se sabe es que en la misma naturaleza existen hongos con efectos antagonistas sobre otros, lo cual contribuye a la atenuación de los daños causados por dichas enfermedades producidas por los agentes fitopatógenos, de los cuales un ejemplo de estos hongos antagonistas es *Trichoderma* sp. (6).

El hongo *Trichoderma* sp. se caracteriza por ser saprófito, es decir que tiene la capacidad de sobrevivir en el suelo con diferentes cantidades de materia orgánica. Este hongo micoparásito tiene una amplia distribución debido a su alta capacidad enzimática para degradar sustratos y su resistencia a inhibidores microbianos, pero en la literatura se encuentran pocos estudios acerca de la supervivencia y reproducción de este microorganismo además de su proliferación en la rizosfera de la planta (4). *Trichoderma* ha sido catalogado como un gran biocontrolador

debido a sus diferentes mecanismos de acción; los principales son la competencia de nutrientes, el micoparasitismo o hiperparasitismo y la antibiosis, las cuales tienen acción directa frente al agente fitopatógeno (6).

Trichoderma sp. se puede tener de dos formas: una en producto formulado y la otra como producción por bioaumentación, con el aislamiento del hongo de la zona productiva; en ambos casos se debe tener en cuenta que *Trichoderma* sp. no eliminará la enfermedad en su totalidad.

Por lo que el objetivo del trabajo fue evaluar la efectividad de antagonismo de *Trichoderma* sp. sobre diferentes hongos fitopatógenos presentes en el cultivo de maíz (*Zea mays*) en condiciones *in vitro*, donde se evaluó e identificó los agentes causales de enfermedades presentes en el cultivo de maíz, se determinó la capacidad de antagonismo de *Trichoderma* sp. a diferentes concentraciones en los hongos fitopatógenos en condiciones *in vitro* y finalmente se comprobó la presencia de *Trichoderma* sp. en las pruebas de antagonismo *in vitro* de los hongos fitopatógenos.

Materiales y métodos

Muestreo e identificación

Se realizó un muestreo en la finca La Escuelita de la vereda La Tribuna, 50 km vía a Albán, en Facatativá, con una altitud de 2586 m s. n. m. y una temperatura media de 14° C con un cultivo de maíz establecido hace 4 meses. Las muestras se tomaron realizando un recorrido por el cultivo y observando síntomas de enfermedad por acción de patógenos como hongos o bacterias. Las partes que visualmente aparentan daño en su tejido vegetal fueron recolectadas, del total de área sembrada, equivalentes a 25 600 plantas/

fanegada, se muestreó cerca del 5 % del cultivo, lo equivalente a 1280 plantas; estas muestras recolectadas fueron guardadas y almacenadas en sobres de papel.

A continuación, se presentan las fórmulas aplicadas para determinar la incidencia y severidad de las enfermedades presentadas en el cultivo de maíz, por lo que se tuvo en cuenta el número de plantas totales y cuántas de estas se encontraban sanas y enfermas, esto para incidencia; en el caso de la severidad, se enfocó el conteo en la planta para determinar el número de hojas sanas y enfermas por cada una de ellas (7).

Fórmulas:

Incidencia:

$$I = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Número de plantas sanas}} * 100$$

Severidad:

$$S = \frac{\text{Número de hojas enfermas}}{\text{Número de hojas sanas}} * 100$$

Posterior a esto se identificaron los agentes causales de las enfermedades, por lo que las muestras fueron llevadas al laboratorio. En el caso de la identificación de hongos fitopatógenos, se implementó la técnica de impronta directa, que consiste en tomar una muestra del tejido vegetal afectado por el patógeno y con cinta transparente hacer presión sobre dicha área y posteriormente retirarla con cuidado; en una lámina se coloca una gota de azul de lactofenol para luego ubicar la cinta con la muestra del patógeno y realizar la observación en el microscopio a un aumento de 40X.

Para la identificación de bacterias se implementó la técnica de tinción de Gram, inicialmente tomando la muestra vegetal que presentaba la pudrición por bacteria, se realizó la siembra en agar nutritivo de una pequeña parte del material infectado por bacteria, se llevó a un período de incubación de 24 horas con una temperatura de 27 °C, después se tomó una muestra de la colonia formada alrededor de la parte vegetal y se realizó una nueva siembra por método de estrías de la colonia, esto en Agar Nutritivo, la cual fue puesta en incubadora por 24 horas más. Pasado este tiempo, se tomaron las cajas y con ayuda de un asa bacteriológica se retiró una muestra de una estría de las colonias y se frotó en una lámina con una gota de agua con el fin de diluir la muestra y con ayuda de calor fijar la muestra. Posterior a la fijación de la muestra, se procedió a realizar la tinción de Gram, de acuerdo con la metodología (8); luego las muestras son llevadas a observación bajo microscopio a 100X.

Pruebas de antagonismo: se tomaron partes vegetales y se clasificaron según la sintomatología que presentaban, los períodos de incubación correspondieron a 8 días a temperatura ambiente. El tejido vegetal infectado con cada uno de los agentes fitopatógenos fue sembrado por separado en agar PDA con excepción del tejido contaminado por roya, ya que esta solo se reproduce en presencia de su hospedero; se implementó cámara húmeda para forzar su reproducción obteniendo 3 repeticiones por cada agente patógeno encontrado (*verticillium*, *cladosporium* y roya). Para realizar el montaje de evaluación en el control de los agentes fitopatógenos mediante el controlador fúngico *trichoderma*, se experimentó con 3 concentraciones diferentes en cada enfermedad evaluada; las concentraciones corresponden a $1^2 = 6 \text{ ml}/2$, $1^5 = 6 \text{ ml}/5$ y $1^{10} = 6 \text{ ml}/10$. La evaluación de estos resultados fue

realizada 8 días después de aplicar el hongo y la manera de medición fue por el área ocupada por el controlador y por el fitopatógeno. Mediante la confrontación de las dos especies (fitopatógeno y controlador) fue dual en caja de Petri, poniendo a cada lado de la caja el hongo correspondiente (Tabla 1).

Tabla 1. Concentraciones de hongos utilizadas en los tratamientos del estudio.

Hongo	Concentraciones		
	1 [^] 2	1 [^] 5	1 [^] 10
Cladosporium sp.	Cladosporium sp.	Cladosporium sp.	Cladosporium sp.
Verticillium sp.	Verticillium sp.	Verticillium sp.	Verticillium sp.
Alternaria sp.	Alternaria sp.	Alternaria sp.	Alternaria sp.

Prueba estadística

La prueba estadística Tukey se realizó con el programa IBM SPSS statistics 25.

Resultados y discusión

1. Evaluar e identificar los agentes causales de enfermedades presentes en el cultivo de maíz

El muestreo realizado en campo de las plantas de maíz permitió identificar la sintomatología de cada enfermedad presentada en cada planta, como se puede ver en la Figura 1. Las enfermedades se presentaron en las inflorescencias, hojas y tallos con necrosis, manchas, pústulas y pudriciones; de acuerdo con el conteo por cama se determinaba cuántas plantas se encontraban sanas y cuántas enfermas, y a cada planta muestreada se tomaba el número de hojas afectadas y totales, según cada enfermedad. Se clasificaron por sintomatología, que después de ser identificadas en laboratorio se definía el agente causa, para obtener 5 agentes causales (ver Tabla 2).



Figura 1. Sintomatología de enfermedades en el cultivo de maíz a. inflorescencia del maíz con presencia de pústulas de color rojizo anaranjado; b. Tallo afectado por bacteriosis; c. Mazorca afectada por bacteriosis; d,e. Hojas de maíz con presencias de pústulas de color rojizo anaranjado; f. Pérdida de flor femenina por presencia de bacteriosis.

De acuerdo con los resultados de la Tabla 2, se designa como enfermedad primaria a la roya debido a que se encuentra presente en todas las plantas evaluadas durante el muestreo (Figura 2

y Figura 3); además de esto, sus porcentajes de incidencia y severidad están en los límites que se pueden alcanzar. Aunque los actinomicetos están presentes en menor número de plantas,

se debe controlar lo más rápido posible, pues su efecto se traduce en la pérdida total de la planta en cuanto a producción debido a que causa la pérdida de la flor.

Tabla 2. Porcentajes de incidencia y severidad presentados en el cultivo de maíz de acuerdo con el agente causal.

Agente causal	# plantas enfermas	# hojas enfermas	% Incidencia	% Severidad
Roya	1280	13	100	100
Alternaria sp.	1103	12	86,17	92,31
Cladosporium sp.	762	11	59,53	84,62
Verticillium sp.	627	11	48,98	84,62
Actinomicetos	542	9	49,14	69,23

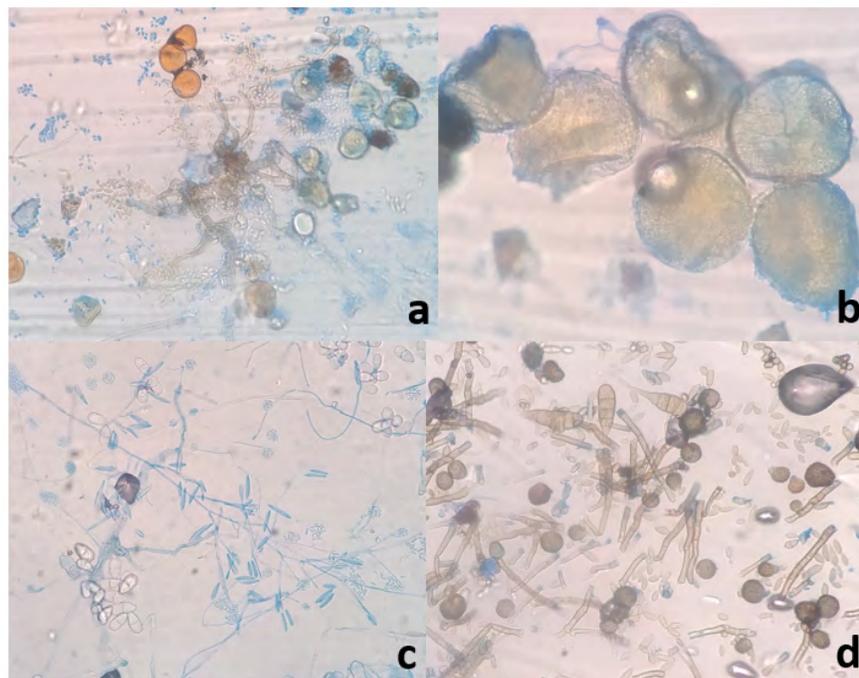


Figura 2. Hongos fitopatógenos presentes en el cultivo de maíz. a. Roya, *Cladosporium sp* y *Verticillium sp*; b. No identificado c. *Verticillium sp*, *Fusarium sp* y *Alternaria sp* (primeras fases); d. *Alternaria sp*, *Cladosporium sp* y *Roya*.

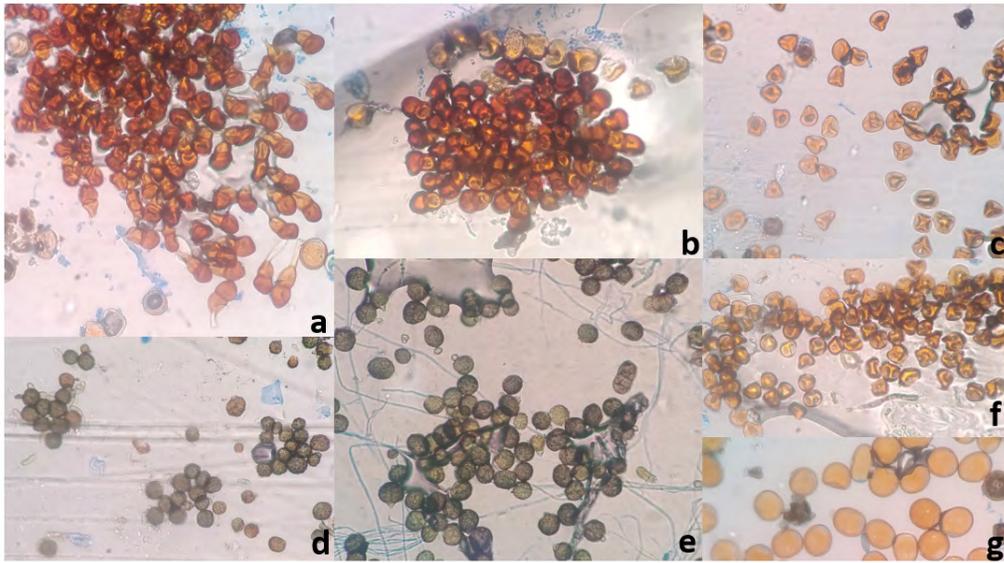


Figura 3. Agente causal de enfermedad en el cultivo de maíz, roya. a-b. *Puccinia caricina*, a. uredosporas y teliosporas de dos células y uredospora de *Hemileia sp.*, b. Teliosporas de dos células de *Puccinia caricina* y, c-f. uredosporas de *Puccinia sp.*, d-e *Uromyces geranii* uredosporas, g. *Puccinia sorghi* urediniosporas.

Se presentaron esporas de diferentes estados de desarrollo con presencia de hongos como *Verticillium sp.*, roya y *Cladosporium sp.* (Figura 4). Se encontraron esporas hialinas con formas alargadas similares a las formas del arroz y con

micelio demateaceo y septado (Figura 5). Las esporas hialinas mostraron acumulaciones formando grupos de forma redonda con micelio septado hialino (Figura 6).

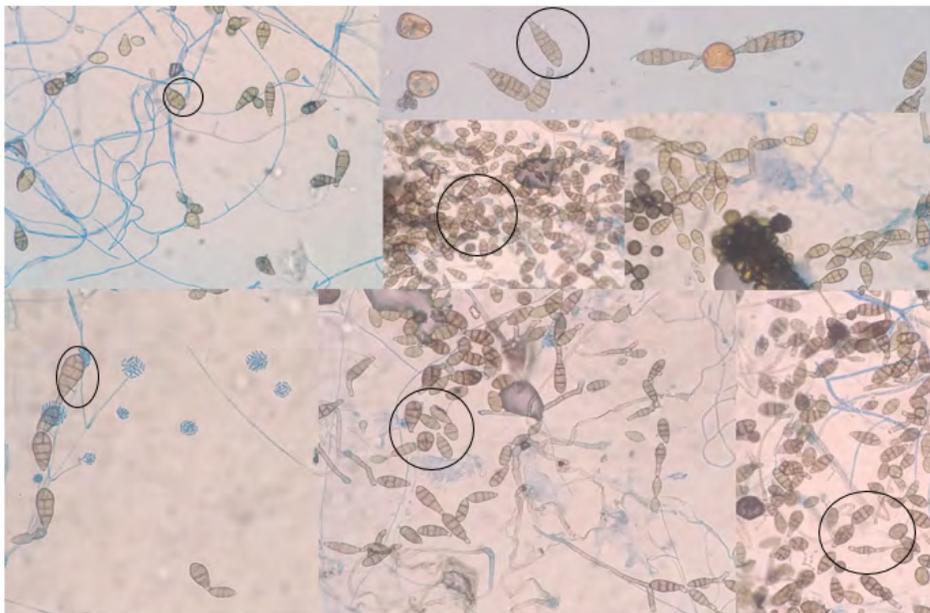


Figura 4. Agente causal *Alternaria sp.*

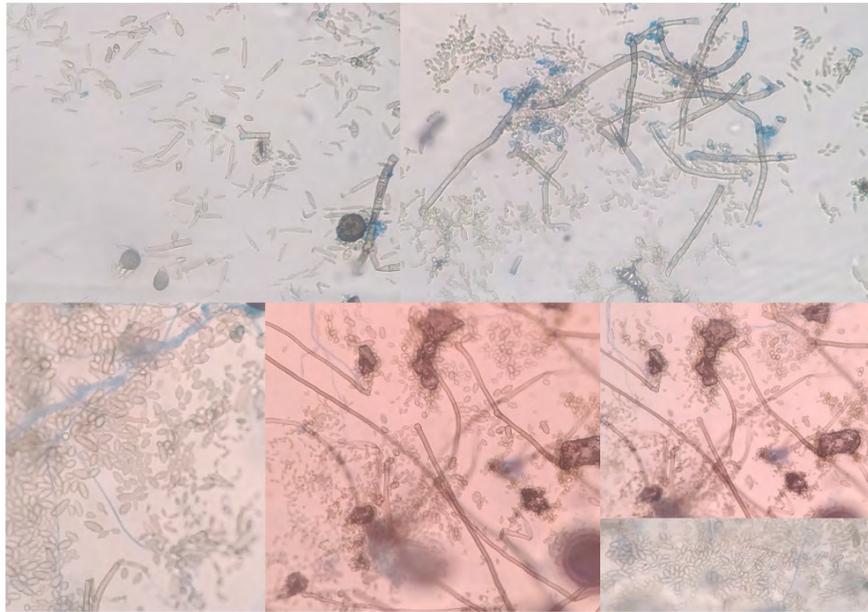


Figura 5. Visualización al microscopio de *Cladosporium* sp.

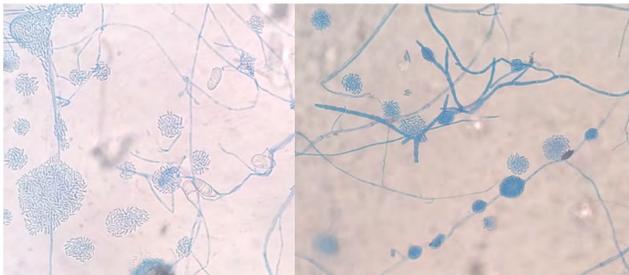


Figura 6. Visualización al microscopio de *Verticillium* sp.

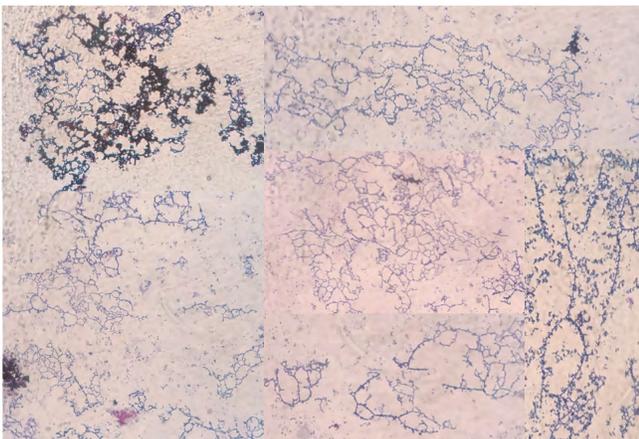


Figura 7. Actinomicetos presentes en el cultivo de maíz.

En la tinción de Gram, realizada en el cultivo de maíz con presencia de pudriciones blandas en tallos y mazorcas, se observaron cadenas de color morado, bacilos y cocos Gram positivos (Figura 7).

Se detectó la presencia de nemátodos foliares en maíz, dentro de las improntas directas realizadas se hallaron tres con características morfológicas diferentes, pero no se detalla con gran claridad si hay presencia de estilete (Figura 8).

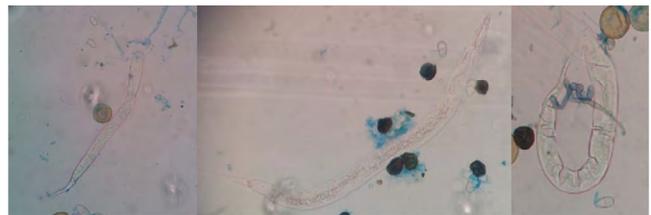


Figura 8. Nemátodos foliares en el cultivo de maíz.

2. Determinar la capacidad de antagonismo de *Trichoderma sp.* a diferentes concentraciones en los hongos fitopatógenos en condiciones *in vitro*

La capacidad de antagonismo se determinó en los agentes causales de *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.* y *Verticillium sp.*, en los cuales se realizó un análisis de varianza y se determinó el porcentaje de área ocupado por el fitopatógeno y *Trichoderma sp.* (Tabla 3).

De acuerdo con la prueba de Tukey no hay diferencias significativas entre los tratamientos. Como se puede detallar en la Tabla 4, las medias obtenidas son muy similares dentro de cada concentración aplicada.

El porcentaje de antagonismo se relacionó con el área ocupada por cada uno de los hongos según cada concentración utilizada. Como se puede ver en la Tabla 5, la mejor concentración fue 1[^]2, debido a que hubo un mayor crecimiento de *Trichoderma sp.* (Figura 9).

Tabla 3. ANOVA para la comparación para el efecto de *Trichoderma vs fitopatógeno*. gl: grados de libertad; Sig: significancia.

Tratamiento	Comparación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Trichoderma	Entre grupos	1,32	2	0,66	0,982	0,428
	Dentro de grupos	4,05	6	0,67		
	Total	5,38	8			
Patógeno	Entre grupos	4,93	2	2,46	3,3	0,108
	Dentro de grupos	4,48	6	0,74		
	Total	9,42	8			

Tabla 4. Prueba de Tukey comparación de medias, de acuerdo con el análisis de varianza, en el hongo 1: *Alternaria sp*, hongo 2: *Cladosporium sp* y el hongo 3: *Verticillium sp*. Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos utilizando 3 como tamaño de la muestra de la media armónica.

Hongo	n	<i>Trichoderma</i>	Patógeno
		Subconjunto para alfa= 0,05	
1	3	2,93	4,16
2	3	3,5	4,3
3	3	3,86	5,8
Sig.		0,40	0,13

Tabla 5. Porcentaje de antagonismo de *Trichoderma sp* de acuerdo con cada hongo fitopatígeno.

Concentración	Hongo	% antagonismo <i>Trichoderma</i>	% antagonismo patógeno
1 [^] 10	<i>Cladosporium sp.</i>	20,43	36,56
1 [^] 5	<i>Cladosporium sp.</i>	35,48	53,76
1 [^] 2	<i>Cladosporium sp.</i>	38,71	48,39
1 [^] 10	<i>Alternaria sp.</i>	31,18	68,82
1 [^] 5	<i>Alternaria sp.</i>	38,71	61,29
1 [^] 2	<i>Alternaria sp.</i>	43,01	56,99
1 [^] 10	<i>Verticillium sp.</i>	30,11	58,06
1 [^] 5	<i>Verticillium sp.</i>	45,16	34,41
1 [^] 2	<i>Verticillium sp.</i>	49,46	41,94

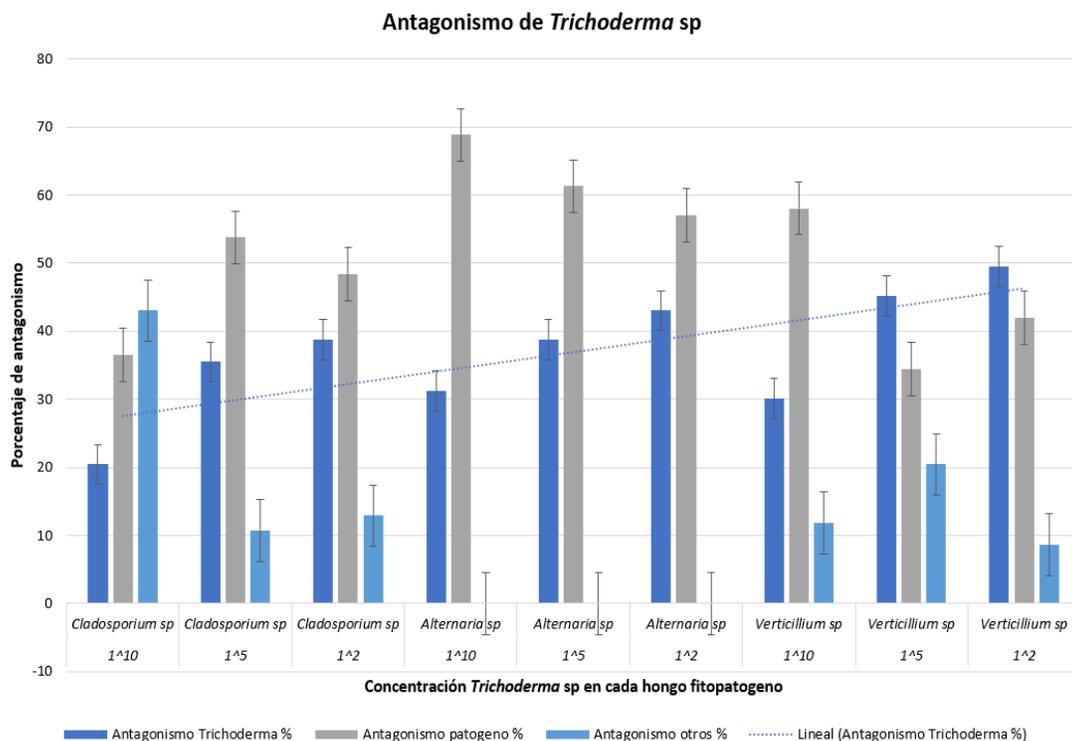


Figura 9. Antagonismo de *Trichoderma sp* en cada uno de los hongos fitopatígenos evaluados.

Verticillium: los resultados obtenidos de la prueba de antibiosis (9) muestran que *Trichoderma* tiene la capacidad de crecer *in vitro* y competir con el hongo *Verticillium dahliae* Kleb funcionando como micoparásito y reduciendo de forma significativa la enfermedad del olivo en campo. Como se puede detallar en la Figura 9, *Trichoderma* sp. logró un porcentaje de antagonismo de menos del 50 %, pero este fue aumentando progresivamente a medida de que la concentración se intensificaba, por lo que de alguna forma sí funciona, de manera que es necesario aumentar la concentración para lograr mejores resultados, debido a la actividad enzimática que presentan los aislamientos hacia el patógeno. Así mismo, se menciona (10) que muchas especies del género *Trichoderma* son agentes de control biológico potenciales contra un gran número de patógenos. Entre las enzimas líticas que producen las especies de *Trichoderma*, se reportan a las quitinasas, glucanasas (11 y 12), proteasas y celulasas; algunas están relacionadas con el fenómeno de antibiosis y micoparasitismo al degradar la pared celular y micoparasitar al hospedante (13).

Alternaria: las concentraciones aplicadas de *Trichoderma* sp. sobre *Alternaria* sp. no fueron significativas, debido a que *Alternaria* sp. tiene gran habilidad competitiva, aunque a mayor concentración se logra ejercer mayor control por parte de *Trichoderma* sp. y como se menciona en el estudio (14), *Trichoderma* sp. detuvo el crecimiento de este patógeno, formando así un halo blanco que podrían ser fitotoxinas del fitopatógeno como mecanismo de defensa (15). Presentó también hiperparasitismo, pero en una proporción muy baja con respecto al patógeno.

Y también, como afirman (16), a mayor producción de enzimas hidrolíticas del hongo *Trichoderma* sp., mayor es la probabilidad de inhibir el crecimiento del patógeno, esto

por la degradación de la pared celular, lo que disminuye la germinación de esporas de estos fitopatógenos.

Además de esto, (17) indicaron que *Trichoderma* sp. tiene mecanismo de acción denominado antibiosis debido a que produce compuestos inhibitorios como metabolitos volátiles, enzimas extracelulares: cutinasas, peptinasas, glucanasas y quitinasas, y otras identificadas como no volátiles como: isocianatos, pirones, trichocinas y péptidos, por lo que de alguna forma su actividad antagónica sí se ve reflejada. De igual forma, como en *Verticillium*, es necesario aumentar las concentraciones de *Trichoderma* sp. (Figura 10).

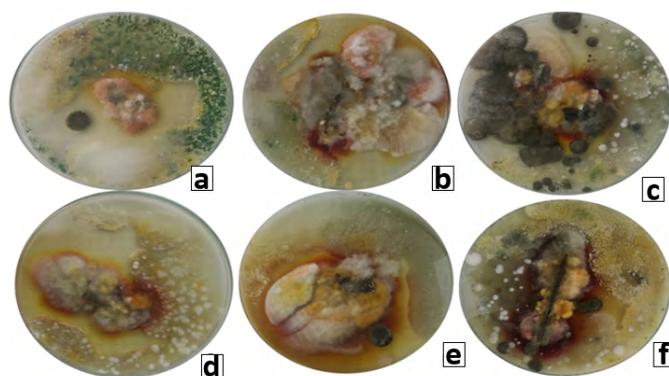


Figura 10. Comportamiento de antagonismo de *Trichoderma* sp. sobre los patógenos: a-c. *Verticillium* sp.; b-e. *Alternaria* sp.; c-f. *Cladosporium* sp.

Los tipos de antagonismo evidenciados en cada uno de los hongos fitopatógenos se relacionan a la competencia, de acuerdo con la forma distribución de *Trichoderma* en la caja de Petri (Figura 11). Como en el caso de la Figura 10, en el cual la caja A muestra una sustancia amarilla que divide a *Verticillium* de *Trichoderma*, que tal vez se relacione con antibiosis, pero las medidas se tomaron como si fueran dos patógenos que compitieran por espacio y en los otros casos se puede detallar también una competencia

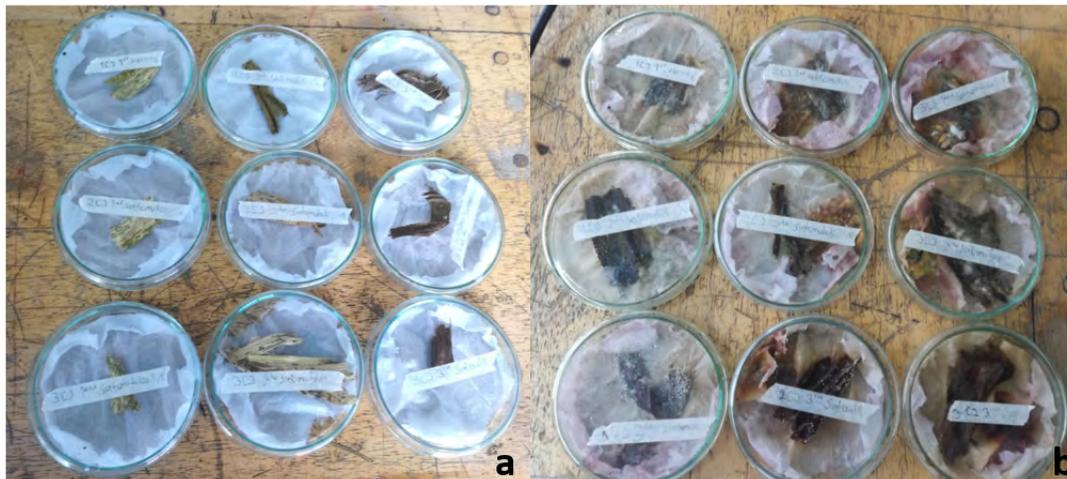


Figura 11. Comportamiento de la aplicación de *Trichoderma sp* en roya.

a. Cámara húmeda antes de realizar la aplicación; **b.** Cámara húmeda sin la presencia de *Trichoderma sp*.

por espacio, lo que sucedió en *Alternaria sp.* y *Cladosporium sp.*

Roya: en esta investigación el control no funcionó y esto puede deberse a que dentro de la identificación se hallaron bastantes especies de roya, lo que puede hacer de esta población más resistente a *Trichoderma sp.* y lo que es muy evidente en las cámaras húmedas, ya que no existe la mínima presencia de *Trichoderma sp.* en las cajas, como se detalla en la Figura 11, y también puede deberse a que *Trichoderma sp.* no tenga la capacidad de desarrollarse sin medio, ya que no tiene de qué alimentarse. Otras investigaciones (18) indican que mientras menor sean los días al contacto, es mayor la agresividad que existe por parte del hongo antagonista y menor la resistencia del fitopatógeno; esto se debe a las pruebas de antagonismo realizadas en (19) y se establece que se puede inferir que el hongo *Trichoderma sp.* resultó ser un hongo con alta capacidad antagonista, y según (20), en su estudio halló un posible antagonismo de cepas de *Trichoderma* sobre *Hemileia vastatrix*

como resultado de una invasión del micelio de *Trichoderma* sobre el patógeno en la lesión de la hoja. Así también indican que el ataque de *Trichoderma* sobre *H. vastatrix* en las hojas de un árbol en el cafetal puede ser diferente al parasitismo clásico.

3. Comprobar la presencia de *Trichoderma sp.* en las pruebas de antagonismo in vitro

Como se puede observar en la Figura 12, se halló la presencia de *Trichoderma* en el caso de tres de los hongos fitopatógenos: *Alternaria sp.*, *Verticillium sp.* y *Cladosporium sp.*, exceptuando la roya que no presentó micelio ni crecimiento de *Trichoderma sp.*

Conclusiones

- Se hallaron cuatro agentes causales en el muestreo realizado en el cultivo de maíz, entre ellos roya (*Puccinia caricina*, *Puccinia sp.*, *Hemileia sp.*, *Uromyces geranii* y *Puccinia*

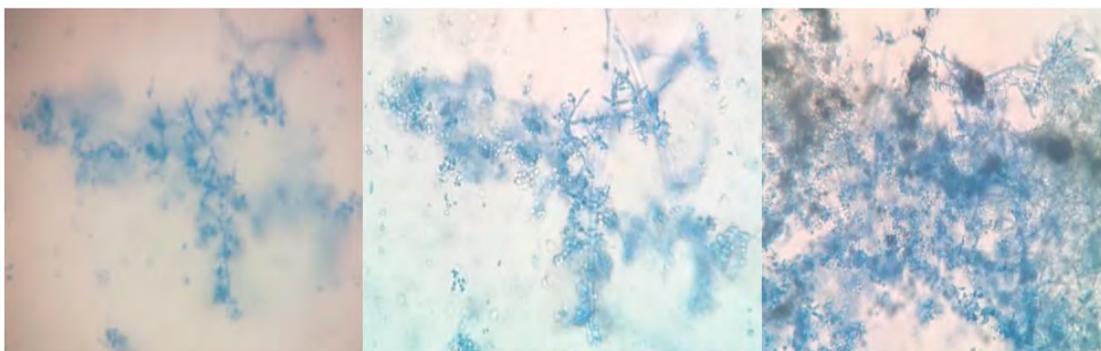


Figura 12. Presencia de *Trichoderma sp* en los medios de cultivo Fotografías de la presencia de *Trichoderma sp* en las pruebas de antagonismo con los hongos fitopatógenos *Verticillium sp*, *Alternaria sp* y *Cladosporium sp* exceptuando la roya, ya que el hongo no pudo colonizar la cámara húmeda

sorghi), *Alternaria sp.*, *Verticillium sp.* y *Cladosporium sp.*, pero es importante resaltar que la presencia de actinomicetos en el cultivo de maíz genera las pérdidas directas en producción, ya que al presentarse la pudrición blanda en la flor femenina, produce la pérdida de la mazorca que es la que realmente es significativa en lo económico, por lo que la prevención de esta es importante, porque hacer un correctivo representará pérdidas de producción.

- Se puede concluir que el hongo *Trichoderma sp.* puede usarse como agente de control biológico, ya que es eficaz en el control de *Verticillium sp.*, aunque estos reporten controles en los otros hongos fitopatógenos, en esta investigación no funcionó y puede deberse a la cantidad de concentración, por lo que es de gran importancia tener en cuenta las concentraciones para aplicar de este, para conocer su efecto antagónico positivo.
- Se pudo evidenciar la presencia de *Trichoderma sp.* en los ensayos de tres de los agentes causales dentro de los que están *Alternaria sp.*, *Verticillium sp.* y *Cladosporium sp.* con porcentajes de antagonismo diferentes de acuerdo con la concentración. De forma contraria para el caso de la roya no hay presencia visual ni microscópica de *Trichoderma*, ya que la roya se encontraba en cámara húmeda, por lo que la habilidad antagónica de este patógeno es alta en comparación con *Trichoderma sp.* y también debido a que *Trichoderma* no disponía de un medio para alimentarse.
- Finalmente es importante tener en cuenta que esta evaluación fue *in vitro* y puede que las condiciones *in vivo* o en campo alteren los resultados del control de hongos fitopatógenos, por lo que es importante y necesario evaluar en campo la aplicación de *Trichoderma sp.* y verificar su efectividad.

Referencias

1. Deras H. Guía técnica. El cultivo de maíz. s. f. Disponible en: <http://repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf>
2. Ortigoza J., López C, González, J. Guía técnica cultivo de maíz. 2019. San Lorenzo, Paraguay. Disponible en: https://www.jica.go.jp/paraguay/espanol/office/others/c8h0vm0000ad5gke-att/gt_04.pdf
3. Carmona M, Sautua F. Sanidad de los cultivos, cómo y cuándo aplicar fungicidas para evitar roya y tizón en maíz. 2009. Disponible en: https://www.clarin.com/rural/aplicar-fungicidas-evitar-roya-tizon-maiz_0_SkzSaSPyf.html
4. Ventimiglia L, Torrens L. (2015). Aplicación de fungicida en maíz: efecto del genotipo, momento e intensidad de la aplicación. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_9_de_julio_aplicacin_de_fungicida_en_maz_efecto_.pdf
5. García-Gutiérrez C, Rodríguez-Mesa. GD. Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. Ra Ximhai. 2012;8(3b):1-10. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/461/46125177005.pdf>
6. Martínez B, Infante D, Reyes Y. Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. 2013. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100001
7. González G. Análisis de incidencia y severidad de fitopatologías. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de grado. Microbiología agrícola y veterinaria. 2007.
8. Rodríguez P, Arenas R. Hans Christian Gram y su tinción. 2018. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
9. Barroso-Albarracín R, Chaki M, Carreras A, Pérez-Artés E, Valderrama R, et al. Trichoderma harzianum como agente de control biológico frente a la Verticilosis del olivo. 2014. Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/159328>

10. Jakobs D, Geremia RA, Goldman GH, Kaomen O, Van Montagy M, Herrera EA. Study of the expression of b-(1-3) glucanase of *Trichoderma harzianum*. *Petria*. 1991;1:125-126.
11. Bruce A, Srinivasan U, Stanines HJ, Highley TL. Chitinase and laminarinase production in liquid cultura by *Trichoderma* spp., and their role in biocontrol of Wood decay fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1995;35(4):337-353. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00047-3](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00047-3)
12. Benhamou N, Chet I. Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997;63(5):2095-2099. <https://doi.org/10.1128/AEM.63.5.2095-2099.1997>
13. Schickler H., Chet I. Heterologous chitinase gene expression to improve plant defense against phytopathogenic fungi. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 1997;19:196-201. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900447>
14. Caiza Sango SE. Evaluación *in vitro* de la capacidad antagónica de *Trichoderma* comercial (*Trichoderma harzianum*) y *Trichoderma* nativo (*Trichoderma* sp.) frente a los patógenos *Alternaria* sp., *Fusarium oxysporum* y *Heterosporium echinolatum* del cultivo de clavel (*Dianthus caryophyllus*). Bachelor's thesis, Quito. 2017.
15. Moreno M, González I, Marín de Santos R, García T. Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. *Nutrición Hospitalaria*. 2012;27(6):1772-1781. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n6/03revision02.pdf>
16. Shalini R, Prem LK, Sudheer K, Alok KS, Pramod WR. Identification, characterization and phylogenetic analysis of antifungal *Trichoderma* from tomato rhizosphere. *Springer Plus*. 2016;5(1939):1-16. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3657-4>
17. Guédez C, Cañizalez L, Castillo C, Olivar R. Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Sociedad Venezolana de Microbiología*.

2012;1(32):44-49. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/pdf/rsvm/v32n1/art09.pdf>

18. Michel A. Cepas nativas de *Trichoderma* spp. (Euscomycetes: hypocreales), su antibiosis y micoparasitismo sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum* (Hyphomycetes: Hyphales). Tesis doctoral, Universidad de Colima, México. 2001.
19. Rolz C, De León L, Paniagua O. Evidencia de un antagonismo in vitro de especies de *Trichoderma* contra *Hemileia vastatrix* (Roya del café). Rev. 25 de la Universidad del Valle de Guatemala. 2013;61-65.
20. Sucaticona Vilca F. Actividad antagónica in vitro de los hongos *Trichoderma* spp. y *Lecanicillium* spp. frente al hongo de la roya amarilla del café (*Hemileia vastatrix*) en condiciones de laboratorio. Tesis, Universidad Nacional del Altiplano, Perú. 2018.