



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**CARRERA DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL ANTAGONISMO DE  
*Trichoderma harzianum* FRENTE A *Aspergillus flavus* Y  
*Fusarium verticillioides* PROVENIENTES DE MUESTRAS DE  
MAÍZ (*Zea mays*)**

**AUTOR**

LOPEZ SANCHEZ CHARLOTTE SOLANGE

**TUTOR**

ING. MORAN BAJAÑA JOAQUIN TEODORO, Ph.D

MILAGRO, ECUADOR

2026



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
CARRERA AGRONOMÍA**

**APROBACIÓN DEL TUTOR**

El suscrito, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: EVALUACIÓN IN VITRO DEL ANTAGONISMO DE *Trichoderma harzianum* FRENTE A *Aspergillus flavus* Y *Fusarium verticillioides* PROVENIENTES DE MUESTRAS DE MAÍZ (*Zea mays*), realizado por la estudiante LOPEZ SANCHEZ CHARLOTTE SOLANGE; con cédula de identidad N° 0940120124 de la carrera AGRONOMÍA, Ciudad Universitaria Milagro, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

---

ING. MORAN BAJAÑA JOAQUIN TEODORO. PhD  
Tutor

Milagro, 22 de abril del 2026



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA AGRONOMÍA**

**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN**

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “EVALUACIÓN IN VITRO DEL ANTAGONISMO DE *Trichoderma harzianum* FRENTE A *Aspergillus flavus* Y *Fusarium verticillioides* PROVENIENTES DE MUESTRAS DE MAÍZ (*Zea mays*)”, realizado por el (la) estudiante LOPEZ SANCHEZ CHARLOTTE SOLANGE, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

\_\_\_\_\_  
PhD. FREDDY GAVILÁNEZ LUNA  
**PRESIDENTE**

\_\_\_\_\_  
ING. NUÑEZ SERRANO MARLON, M.Sc  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

\_\_\_\_\_  
ING. CEDEÑO BERMEO JESSICA, M.Sc.  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

Milagro, 22 de abril del 2026

## AUTORIZACIÓN DE AUTORÍA INTELECTUAL

Yo, LOPEZ SANCHEZ CHARLOTTE SOLANGE, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre 'EVALUACIÓN IN VITRO DEL ANTAGONISMO DE *Trichoderma harzianum* FRENTE A *Aspergillus flavus* Y *Fusarium verticillioides* PROVENIENTES DE MUESTRAS DE MAÍZ (*Zea mays*), para optar el título de Ingeniero Agrónomo, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación. Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Milagro, 22 de abril del 2026

---

LOPEZ SANCHEZ CHARLOTTE SOLANGE  
C.I. 0940120124

## RESUMEN

El maíz (*Zea mays*) constituye uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y es una fuente fundamental de alimentación para humanos y animales. Sin embargo, su producción se ve afectada por diversas enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, entre los que destacan *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides*, organismos asociados además con la producción de micotoxinas que representan un riesgo para la seguridad alimentaria. Ante esta problemática, el uso de estrategias de control biológico surge como una alternativa sostenible frente al uso excesivo de fungicidas químicos. En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar in vitro la capacidad antagonista de *Trichoderma harzianum* frente a *A. flavus* y *F. verticillioides* aislados de muestras de maíz. El estudio se desarrolló bajo un diseño completamente al azar utilizando tres concentraciones de esporas del antagonista. Se evaluaron variables como el crecimiento radial de los patógenos, el porcentaje de inhibición radial, el sobrecrecimiento del antagonista, la formación de halos de inhibición y las interacciones microscópicas asociadas al micoparasitismo. Los resultados mostraron que *T. harzianum* redujo significativamente el crecimiento de ambos patógenos, observándose mayor efecto a medida que aumentó la concentración del antagonista. La mayor inhibición se registró con la concentración de  $10^6$  esporas, evidenciándose también altos porcentajes de sobrecrecimiento y presencia de micoparasitismo. *Fusarium verticillioides* presentó mayor susceptibilidad al antagonista en comparación con *Aspergillus flavus*. Estos resultados demuestran el potencial de *Trichoderma harzianum* como agente de control biológico para la reducción de patógenos en maíz y respaldan su posible aplicación en estrategias de manejo integrado de enfermedades y reducción de contaminación por micotoxinas.

**Palabras clave:** Control biológico, halos de inhibición, antagonista, micotoxinas, hongos patógenos

## ABSTRACT

Maize (*Zea mays*) is one of the most important crops worldwide and represents a key food source for both humans and animals. However, maize production is severely affected by diseases caused by phytopathogenic fungi, particularly *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*, which are also associated with the production of mycotoxins that threaten food safety. In this context, biological control strategies have emerged as sustainable alternatives to reduce the dependence on chemical fungicides. The objective of this study was to evaluate in vitro the antagonistic capacity of *Trichoderma harzianum* against *A. flavus* and *F. verticillioides* isolated from maize samples. The experiment was conducted under a completely randomized design using three spore concentrations of the antagonist. Variables evaluated included radial growth inhibition of the pathogens, percentage of radial inhibition, antagonist overgrowth, inhibition halos, and microscopic interactions related to mycoparasitism. The results showed that *T. harzianum* significantly reduced the growth of both pathogens, with stronger effects observed at higher spore concentrations. The highest inhibition levels were obtained at the  $10^6$  spore concentration, which also showed greater overgrowth and mycoparasitic interaction. *Fusarium verticillioides* proved to be more susceptible to the antagonist than *Aspergillus flavus*. These findings demonstrate the potential of *Trichoderma harzianum* as a biological control agent for maize pathogens and support its future application in integrated disease management strategies aimed at reducing crop losses and mycotoxin contamination.

**Keywords:** Biological control, inhibition halos, antagonist, mycotoxins, pathogenic fungi

## Índice general

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>vii</b>
Índice de figuras .....	x
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>12</b>
1.1 Antecedentes del problema .....	12
<b>2 MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
2.1 Estado del arte.....	16
<b>3 MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
3.1 Enfoque de la investigación .....	27
3.2 Metodología .....	27
3.3 Métodos y técnicas .....	29
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>32</b>
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	<b>38</b>
<b>6. CONCLUSIONES Y RECOMEDACIONES</b> .....	<b>40</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>42</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>49</b>

## Índice de tablas

Tabla 1. Distribución de los tratamientos .....	28
Tabla 2. Escala de Bell (1982) adaptada .....	30
Tabla 3. Esquema del ANOVA del experimento.....	31
Tabla 4. Resultados del crecimiento radial de los hongos patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> (mm).....	32
Tabla 5. Resultados del crecimiento radial de los hongos patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> (mm).....	32
Tabla 6. Resultados para el crecimiento radial de los patógenos desde las concentraciones del antagonista <i>T. harzianum</i> .....	33
Tabla 7. Resultados del porcentaje de la inhibición del crecimiento radial de los hongos patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> bajo el antagonismo de <i>T. harzianum</i> .....	33
Tabla 8. Resultados de la inhibición radial individual de los hongos patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> (%) .....	34
Tabla 9. Resultados del efecto de la inhibición radial (PICR) de los hongos patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> (%) en relación con la acción de las concentraciones del antagonista <i>T. harzianum</i> bajo estudio .....	34
Tabla 10. Resultados del efecto del porcentaje del sobrecrecimiento del antagonista (%) <i>T. harzianum</i> sobre los patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> .....	34
Tabla 11. Resultados del efecto en los patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> del sobrecrecimiento del antagonista (%) <i>T. harzianum</i> .....	35
Tabla 12. Resultados del efecto de las concentraciones del antagonista (%) <i>T. harzianum</i> en los patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> .....	35
Tabla 13. Resultados del halo de inhibición (mm) de los hongos patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> bajo el antagonismo de <i>T. harzianum</i> .....	35
Tabla 14. Resultados del efecto en el diámetro del halo de inhibición (mm) en los patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> bajo el antagonismo de <i>T. harzianum</i> .....	36
Tabla 15. Resultados del efecto de las concentraciones del antagonista <i>T. harzianum</i> en el halo de inhibición (mm) de los hongos patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> .....	36
Tabla 16. Resultados del micoparasitismo de <i>T. harzianum</i> sobre <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> .....	37

Tabla 17. Resultados del efecto en el diámetro del halo de inhibición (mm) en los patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> bajo el antagonismo de <i>T. harzianum</i> .....	37
Tabla 18. Resultados del efecto de las concentraciones del antagonista <i>T. harzianum</i> en el halo de inhibición (mm) de los hongos patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> .....	37
Tabla 19. Base de datos de la tesis .....	47

## Índice de figuras

Figura 1. Crecimientos de <i>T. harzianum</i> en medio PDA con antibióticos .....	54
Figura 2. Distribución de los tratamientos de enfrentamiento entre <i>T. harzianum</i> con <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> provenientes de muestras de maíz.....	55
Figura 3. Fotografía de <i>Aspergillus flavus</i> con tinción con azul de lactofenol visto con lente ocular de 40x .....	56
Figura 4. Realizando las mediciones radiales con calibrador de laboratorio .....	57
Figura 5. Midiendo los diámetros miceliares de los hongos bajo estudio .....	58
Figura 6. Vista al microscopio aumento 40x de <i>Fusarium verticillioides</i> .....	59
Figura 7. Preparando los materiales fúngicos para observar en el microscopio ..	60
Figura 8. Preparando las muestras del material vegetal (hojas y mazorcas de maíz) para la recolección de los hongos patógenos .....	61
Figura 9. Esterilizando el medio PDA para inocular los materiales vegetales sospechosos de contener los hongos patógenos.....	62
Figura 10. Inoculando los materiales vegetales en medio PDA con antibióticos para el aislamiento de los hongos patógenos provenientes de las muestras de maíz .	63

## Índice de anexos

Anexo 1. Anava de los resultados del crecimiento radial de los patógenos <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> .....	49
Anexo 2. Anava de los resultados de la Inhibición radial (PIRG) de <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> frente a <i>T. harzianum</i> en muestras de maíz.....	50
Anexo 3, Anava de los resultados del sobrecrecimiento del antagonista (%) <i>T. harzianum</i> sobre de <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> en muestras de maíz .....	51
Anexo 4. Anava de los resultados del halo de inhibición (mm) de <i>T. harzianum</i> sobre de <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> en muestras de maíz .....	52
Anexo 5. Anava de los resultados del nivel de Micoparasitismo (0-4) (Bell, 1982) de <i>T. harzianum</i> sobre de <i>A. flavus</i> y <i>F. verticillioides</i> en muestras de maíz .....	53

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes del problema

El maíz (*Zea mays*) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y representa una fuente clave de alimentación tanto para humanos como para animales. En el ámbito comercial, el maíz tiene una gran demanda como materia prima para la industria alimentaria, pecuaria y bioenergética. En países latinoamericanos como Ecuador, México, Colombia, Perú y Argentina, el maíz constituye un eje fundamental para la economía rural, además de ser estratégico en la seguridad alimentaria nacional, (González-León et al., 2022)

No obstante, uno de los principales retos para la sostenibilidad y rentabilidad del cultivo de maíz es el impacto de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, especialmente *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides*. Estos hongos afectan tanto la fase de desarrollo de la planta como la calidad del grano cosechado, comprometiendo su valor comercial y generando pérdidas económicas significativas (Chen et al., 2023).

El hongo *Aspergillus flavus* es un contaminante común del maíz almacenado, especialmente bajo condiciones de alta temperatura y humedad. Además de reducir la calidad del grano, *A. flavus* produce aflatoxinas, metabolitos altamente tóxicos y cancerígenos que representan un serio riesgo para la salud pública y una barrera comercial importante. La presencia de aflatoxinas en los granos puede impedir su comercialización tanto en el mercado nacional como internacional, donde existen normas estrictas de inocuidad alimentaria (Ren et al., 2022).

Por su parte, *Fusarium verticillioides*, es un hongo ampliamente distribuido en los campos de cultivo y puede infectar las plantas de maíz desde etapas tempranas. Además de provocar enfermedades como la pudrición del tallo y del grano, produce fumonisinas, otro grupo de micotoxinas asociadas con efectos tóxicos en humanos y animales. La infección con *F. verticillioides* puede disminuir considerablemente los rendimientos y reducir la viabilidad del grano como semilla o como producto industrial (Jambhulkar et al., 2022).

Las pérdidas ocasionadas por los hongos patógenos no solo se reflejan en menor volumen de producción, sino también en la desvalorización del grano por contaminación con micotoxinas, lo que lleva al rechazo en mercados exigentes. Además, el uso intensivo de fungicidas químicos incrementa los costos de

producción y representa un riesgo ambiental y toxicológico. En este contexto, el uso de alternativas sostenibles y biológicas se vuelve crucial (Mitrović et al., 2025).

*Trichoderma harzianum* es un hongo benéfico con capacidad antagonista frente a diversos patógenos de importancia agrícola. Su acción se basa en mecanismos como competencia por espacio y nutrientes, producción de enzimas líticas, micoparasitismo y la inducción de defensas en las plantas (Attia et al., 2025).

La evaluación *in vitro* del efecto de *T. harzianum* frente a *A. flavus* y *F. verticillioides* permite determinar su potencial como agente de control biológico, ofreciendo una alternativa ecológica y económica que puede ser integrada en sistemas de manejo sostenible del cultivo de maíz.

## **1.2 Planteamiento y formulación del problema**

### **1.2.1 Planteamiento del problema**

El cultivo de maíz (*Zea mays*) representa una fuente fundamental de ingresos para agricultores y agroindustrias, debido a su versatilidad como alimento humano, forraje animal y materia prima industrial. Sin embargo, uno de los principales obstáculos que limitan su productividad y calidad comercial es la presencia de enfermedades fúngicas causadas por patógenos como *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides*.

Estos hongos no solo reducen el rendimiento del cultivo en campo, sino que también contaminan los granos con micotoxinas como aflatoxinas y fumonisinas, respectivamente, las cuales son altamente tóxicas y están reguladas por normas internacionales. Como consecuencia, los granos infectados pierden valor comercial, son rechazados en mercados exigentes y representan un riesgo para la salud humana y animal.

A pesar de que existen fungicidas químicos para su control, su uso intensivo puede generar problemas ambientales, resistencia en los patógenos y costos adicionales para los productores. En este contexto, surge la necesidad de buscar alternativas más sostenibles y efectivas.

Una de estas alternativas es el uso de hongos antagonistas como *Trichoderma harzianum*, reconocido por su capacidad de inhibir a otros microorganismos fitopatógenos a través de mecanismos de competencia, antibiosis y micoparasitismo. Sin embargo, aún se requiere mayor evidencia experimental

que respalde su eficacia específica frente a *A. flavus* y *F. verticillioides*, particularmente en condiciones controladas *in vitro*.

### 1.2.2 Formulación del problema

¿Cuál es la eficacia *in vitro* de *Trichoderma harzianum* en la inhibición del crecimiento de *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides* aislados de muestras de maíz?

### 1.3 Justificación de la investigación

La búsqueda de métodos sostenibles para el control de enfermedades en cultivos agrícolas es una prioridad en la agricultura moderna. El uso de agentes de control biológico, como *T. harzianum*, ofrece una alternativa ecológica y potencialmente eficaz para reducir la incidencia de patógenos fúngicos y la acumulación de micotoxinas en el maíz. Este estudio contribuirá al conocimiento sobre la interacción entre *T. harzianum* y los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides*, proporcionando información valiosa para el desarrollo de estrategias de manejo integrado de enfermedades.

### 1.4 Delimitación de la investigación

**Tiempo:** El tiempo durante el cual se desarrolló el ensayo de investigación fue de 3 meses a partir del mes de septiembre del 2025 hasta diciembre del mismo año.

**Espacio:** El ensayo se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología de la “Ciudad Universitaria Milagro” de la Universidad Agraria del Ecuador.

**Población:** La población beneficiaria fueron los productores arroceros de la zona del litoral ecuatoriano.

### 1.5 Objetivo general

Evaluar *in vitro* la capacidad antagonista de *Trichoderma harzianum* frente a *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides* aislados de muestras de maíz.

### 1.6 Objetivos específicos

- Caracterizar cepas de *A. flavus* y *F. verticillioides* provenientes de muestras de maíz.
- Evaluar la capacidad antagonista de diferentes cepas de *T. harzianum* frente a los patógenos aislados mediante ensayos de cultivo dual.
- Analizar los mecanismos de inhibición empleados por *T. harzianum*, como micoparasitismo y producción de metabolitos antifúngicos.

### **1.7 Hipótesis**

*Trichoderma harzianum* no presenta actividad antagónica significativa *in vitro* frente a los hongos fitopatógenos *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides* aislados de maíz.

## 2 Marco teórico

### 2.1 Estado del arte

Guzmán et al., (2023) del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México (2024), en una revisión desarrollada por especialistas en biotecnología agrícola de distintas instituciones internacionales, recopilaron información actualizada sobre el uso de *Trichoderma* spp. como agente de control biológico (ACB) en la agricultura. El estudio tuvo como objetivo destacar los avances recientes en seis especies de *Trichoderma* ampliamente empleadas: *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. virens*, *T. longibrachiatum* y *T. viride*. Los resultados muestran que estas especies presentan mecanismos como micoparasitismo, antibiosis, producción de metabolitos secundarios y activación de defensas vegetales, lo que les permite inhibir fitopatógenos y, en algunos casos, nematodos y plagas. Además, su uso en bioformulaciones, solas o junto a bacterias promotoras del crecimiento vegetal, ha demostrado ser eficaz y sostenible. Esta revisión subraya el valor de *Trichoderma* como una alternativa viable a los pesticidas y fertilizantes químicos convencionales.

Stracquadanio et al., (2021) del Departamento de Ciencias Agrícolas de La Universidad Mediterránea de Reggio Calabria, en Italia, analizaron el potencial antifúngico de extractos obtenidos de *Trichoderma asperellum* IMI393899 (TE1) y *Trichoderma atroviride* TS (TE2) para el control de hongos micotoxigénicos en productos vegetales almacenados. El objetivo del estudio fue determinar la dosis efectiva de dichos extractos en la inhibición de la contaminación por hongos productores de micotoxinas en matrices vegetales como tomate, trigo y maíz. Las pruebas se realizaron en tomates contaminados con *Fusarium verticillioides* y *F. graminearum*, trigo contaminado con *Penicillium verrucosum*, y maíz contaminado con *Aspergillus flavus*. La eficacia fue evaluada a dos intervalos de tiempo: 4 y 11 días para tomate; 10 y 20 días para trigo y maíz. Los resultados demostraron que ambos extractos presentaron una inhibición significativa del crecimiento de los patógenos micotoxigénicos, reduciendo de forma importante las unidades formadoras de colonias (Log UFC/g) en comparación con el control. Además, los extractos disminuyeron la producción de micotoxinas de manera dosis-dependiente y con efecto prolongado. La ocratoxina A fue reducida por ambos tratamientos; sin embargo, solo el extracto TE2 logró reducir las aflatoxinas, mientras que el

tratamiento con TE1 promovió su síntesis. Este estudio confirma la eficacia de *Trichoderma asperellum* y *T. atroviride* como agentes de biocontrol en poscosecha, y sugiere su potencial aplicación como alternativa a los fungicidas sintéticos, reduciendo riesgos toxicológicos y pérdidas económicas en la cadena agroalimentaria.

Yazid et al., (2023) del Laboratorio de Inocuidad Alimentaria e Integridad de los Alimentos, perteneciente al Instituto de Agricultura Tropical y Seguridad Alimentaria de la Universidad Putra de Malasia evaluaron el potencial de especies fúngicas aisladas de cultivos de maíz en grano como antagonistas frente a hongos micotoxigénicos nativos y su producción de micotoxinas. El estudio fue desarrollado por investigadores del área de fitopatología y micología agrícola de una universidad malaya, con el objetivo de identificar cepas fúngicas con capacidad de inhibir el crecimiento de hongos productores de micotoxinas en maíz. Se realizó un ensayo de cultivo dual en medio específico de maíz (GMA), utilizando 12 cepas de hongos potencialmente antagonistas, entre ellos *Bjerkandera adusta*, *Penicillium janthinellum*, *Schizophyllum commune*, *Trametes cubensis*, *Trichoderma asperelloides*, *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. yunnanense*, contra siete cepas micotoxigénicas: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum*, productoras de aflatoxinas, ocratoxina A y fumonisinas, respectivamente. Los resultados demostraron que las especies de *Trichoderma* presentaron la mayor actividad inhibitoria del crecimiento fúngico (73–100 % de inhibición radial y 28/0 en índice de dominancia) frente a todas las cepas patógenas evaluadas. Asimismo, *B. adusta* y *T. cubensis* también mostraron actividad inhibitoria frente a algunas de las cepas micotoxigénicas. Respecto a la reducción de micotoxinas, todos los antagonistas evaluados mostraron diferentes niveles de eficacia. La aflatoxina B1 producida por *A. flavus* fue reducida a 0 ng/g por *P. janthinellum*, *T. cubensis* y *B. adusta*; la ocratoxina A generada por *A. niger* fue eliminada por *T. harzianum* y *T. asperellum*; las fumonisinas B1 y B2 producidas por *F. verticillioides* fueron reducidas a 59,4 y 0 µg/g por *T. harzianum*, *T. asperelloides* y *T. asperellum*, mientras que las fumonisinas producidas por *F. proliferatum* fueron reducidas por *T. asperelloides* y *T. harzianum* a 244,2 y 0 µg/g, respectivamente. Este trabajo representa el primer estudio que reporta la eficacia de *T. asperelloides* frente a FB1, FB2 y OTA; de *P. janthinellum* frente a AFB1; y

de *T. cubensis* también frente a AFB1, lo que lo posiciona como una contribución relevante en el campo del control biológico de micotoxinas en poscosecha.

Chen et al. (2023), investigadores del Laboratorio de Inocuidad Alimentaria e Integridad de los Alimentos del Instituto de Agricultura Tropical y Seguridad Alimentaria de la Universidad Putra en Malaysia, realizaron una revisión científica centrada en la ocurrencia y coocurrencia de *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides*, así como en la contaminación simultánea por sus principales micotoxinas: aflatoxina B1 (AFB1) y fumonisina B1 (FB1) en maíz. El objetivo del estudio fue proporcionar una visión actualizada sobre la distribución conjunta de ambos hongos y las consecuencias de la contaminación dual por AFB1 y FB1, destacando sus interacciones y su impacto sobre la seguridad alimentaria mundial. Los resultados indican que la contaminación por micotoxinas en maíz es un factor crítico que pone en riesgo la inocuidad alimentaria global, y que la ocurrencia de *A. flavus* y *F. verticillioides*, así como de sus respectivas toxinas, tiende a aumentar especialmente en países europeos con climas fríos. Los estudios analizados mostraron que, si bien las interacciones entre ambos hongos suelen ser antagónicas tanto in vitro como in planta, la contaminación por AFB1 y FB1 ha aumentado de forma significativa en la última década. En particular, se reporta un incremento del 32 % en la contaminación en Europa al comparar los períodos 2010–2020 con 1992–2009, lo cual representa una amenaza creciente para el cultivo de maíz en esa región. Esta revisión destaca la necesidad urgente de estrategias de control efectivas, entre ellas el uso de agentes de biocontrol como *Trichoderma* spp., para reducir la presencia de estos hongos y sus toxinas en la cadena alimentaria.

Yao et al., (2023) docentes de la Facultad de Agronomía, Universidad de Guizhou en Guiyang y del Centro de Desarrollo de Innovación en Ciencia y Tecnología de la Ciudad de Bijie en China, analizaron los mecanismos y aplicaciones del género *Trichoderma* en el control biológico de enfermedades causadas por hongos y nematodos en plantas. El objetivo del estudio fue describir los mecanismos mediante los cuales *Trichoderma* actúa como agente de control biológico, así como destacar su impacto positivo en el crecimiento vegetal y la sostenibilidad agrícola. Los resultados de la revisión indican que *Trichoderma* es ampliamente utilizado para el control de enfermedades del suelo, así como de enfermedades foliares y de espiga en diversas especies vegetales. Además de su

capacidad para prevenir enfermedades, se demostró que este hongo promueve el crecimiento de las plantas, mejora la eficiencia en la utilización de nutrientes, potencia la resistencia sistémica vegetal e incluso contribuye a la mitigación de la contaminación por agroquímicos. Los autores detallan que *Trichoderma spp.* actúa a través de múltiples mecanismos como competencia, antibiosis, antagonismo y micoparasitismo. También inducen resistencia sistémica en las plantas, lo que las hace más tolerantes a diversos tipos de estrés biótico. Su eficacia, bajo costo, seguridad y compatibilidad con el medio ambiente lo posicionan como un agente de control biológico ideal para distintos cultivos. Desde un enfoque aplicado, los investigadores destacan que uno de los principales retos y oportunidades está en establecer tecnologías diversificadas de aplicación de *Trichoderma*, lo cual representa una dirección clave para fortalecer su papel en el desarrollo agrícola sostenible.

Mitrović et al., (2025) del Colegio de Agronomía de la Universidad de Guizhou y del Centro de Desarrollo de Innovación en Ciencia y Tecnología de la ciudad de Bijie, en China, llevaron a cabo un estudio en 2023 con el objetivo de evaluar el potencial de *Trichoderma harzianum* K179 como agente de control biológico para proteger el maíz frente a dos importantes patógenos: *Fusarium graminearum* y *Aspergillus flavus*. El estudio se centró en la producción del biocontrolador en un biorreactor a escala de laboratorio, y su actividad antifúngica fue evaluada mediante ensayos de inhibición in vitro y pruebas de campo durante dos años consecutivos. Durante los ensayos a campo se monitoreó la severidad de la pudrición de mazorca, el rendimiento del grano y los niveles de micotoxinas, con el fin de determinar la eficacia del biopreparado de *Trichoderma*. Los resultados mostraron que *T. harzianum* K179 inhibió significativamente el crecimiento de ambos patógenos en laboratorio. En campo, los tratamientos con semillas inoculadas con el agente biológico redujeron la severidad de la enfermedad de la mazorca y aumentaron el rendimiento del grano en comparación con los tratamientos químicos y el control sin tratamiento. Además, las muestras de maíz provenientes de parcelas tratadas con *T. harzianum* presentaron concentraciones más bajas de micotoxinas clave, como fumonisinas y aflatoxinas. Este estudio confirma la eficacia de *T. harzianum* K179 como una herramienta sostenible dentro de las estrategias de manejo integrado de plagas, mejorando tanto la seguridad

alimentaria como la productividad, al tiempo que se reducen los riesgos ambientales asociados al uso de fungicidas sintéticos.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Trichoderma harzianum como agente de control biológico**

#### **2.2.1.1 Mecanismos de acción**

Oyesola et al., (2025) destaca que *T. harzianum* coloniza la rizósfera y superficie del grano con una tasa de crecimiento rápido, agotando recursos como azúcares, hierro y nitrógeno, lo que limita el establecimiento de patógenos fúngicos

Por su parte, Hugar y Nayaka, (2025) sostienen que *T. harzianum* secreta quitinasas, glucanasas y proteasas que degradan las paredes celulares de hongos patógenos como *Fusarium* spp. o *Rhizoctonia*, provocando micólisis y muerte del micelio invasor.

Guzmán-Guzmán et al., (2025), revelan que el biocontrolador produce metabolitos antifúngicos como gliotoxina, harzianic acid y peptaiboles, que alteran la integridad membranal y generan desbalance osmótico en patógenos.

Libera compuestos volátiles y solubles que inducen resistencia sistémica en las plantas, activando rutas dependientes de etileno, jasmonato y salicilato

#### **2.2.1.2 Importancia de *T. harzianum* en programas de manejo integrado de enfermedades en cultivos como maíz**

*T. harzianum* cepa K179, aplicado en semillas de maíz, redujo significativamente la pudrición de mazorca causada por *Aspergillus flavus* y *Fusarium graminearum*, aumentando rendimiento y disminuyendo micotoxinas (Mitrović et al., 2025).

El hongo biocontrolador demostró efectividad tanto en bioensayos *in vitro* como en ensayos de campo de dos años, validando su eficacia en condiciones reales y su compatibilidad con otras prácticas del IMI (Duarte-Leal et al., 2017).

Integrado con biochar, *T. harzianum* incrementó la supresión de enfermedades del suelo y mejoró la salud fisiológica de la planta en cultivos de maíz (Waheed et al., 2024). Algunos autores reportan que su uso repetido en rotaciones con maíz disminuye la presión de inóculo y retrasa la aparición de resistencias en patógenos (Yao et al., 2023). La bioformulación y aplicación comercial de *T. harzianum* se recomienda en programas nacionales de sanidad vegetal por su eficiencia, bajo costo ambiental y aceptación en cultivos orgánicos (Guzmán-Guzmán et al., 2025).

## **2.2.2 Fitopatogenicidad de *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides***

*A. flavus* y *F. verticillioides* colonizan el maíz tanto en fase de grano como poscosecha, reduciendo el peso de la cosecha y su valor comercial debido a la degradación del endospermo. *F. verticillioides* está asociado con la pudrición basal de la planta y el deterioro de la mazorca, mientras que *A. flavus* provoca grietas y decoloración, aumentando la susceptibilidad a infecciones secundarias (Waheed et al., 2024).

Estas especies patógenas pertenecen a los hongos toxigénicos y producen micotoxinas (fumonisinas y aflatoxinas) en niveles superiores a 20 mg/kg, lo que hace que el grano sea inadecuado para consumo humano o animal (Tiru et al., 2021). En zonas tropicales de América Latina, las condiciones de humedad alta ( $\geq 25\%$ ) y temperatura ( $\geq 30^\circ\text{C}$ ) favorecen el desarrollo y prevalencia de las esporas de *A. flavus* y *F. verticillioides* (Chen et al., 2023).

La contaminación del grano por estos hongos causa pérdidas entre 5 y 15 % del rendimiento agrícola en maíz, sumado a costos de control adicionales. Las aflatoxinas generadas por *A. flavus* son potentes hepatocarcinógenos en humanos, incluso en niveles por debajo de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , con efectos acumulativos a largo plazo (Yazid et al., 2023).

Las fumonisinas de *F. verticillioides* se asocian con porridge y leucemia equina/discautia en el ganado y consumos crónicos en humanos, afectando hígado y riñón. La ingestión de maíz contaminado causa inmunosupresión, aumento de infecciones respiratorias y gastrointestinales en poblaciones vulnerables. Las micotoxinas resisten métodos tradicionales de limpieza y cocción, por lo que los granos contaminados permanecen peligrosos para consumo .

El control de estos patógenos es prioritario en sistemas de seguridad alimentaria, donde la presencia de toxinas puede causar pérdidas económicas, sanitarias y rechazo comercial (Boonyaritthongchai et al., 2023).

## **2.2.3 Ensayos de antagonismo *in vitro***

### **2.2.3.1 Métodos del enfrentamiento dual en placa, medición de radio de inhibición, porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PICM)**

En enfrentamientos directos en PDA, se colocan discos de *Trichoderma* y del patógeno a una distancia estándar y se mide el crecimiento por contracción de

radio siendo especialmente útil para comparar la eficacia antagonista (Laith, 2018).

Según se ha explicado, los experimentos se desarrollan a 25 °C por 7 días, con mediciones cada 24 h, lo que permite obtener datos temporales sobre la velocidad de inhibición. Se requieren al menos tres repeticiones por tratamiento y testigo para garantizar validez estadística en el PICM. Los ensayos, generalmente se complementan con controles positivos (fungicida químico) y negativos (solo PDA) para validar la metodología (Voloshchuk et al., 2024).

### **2.2.3.2 Interpretación de halos de inhibición y crecimiento relativo**

Los halos de inhibición reflejan mecanismos de acción por antibiosis; campos limpios indican competencia y contacto físico. Mayor ancho del halo (>5 mm) correlaciona con una alta producción de metabolitos antifúngicos (Saravanakumar et al., 2017).

Las observaciones morfológicas del micelio patógeno dentro del halo pueden mostrar deformaciones, puntos claros de micólisis o ramas atrofiadas. El crecimiento relativo (velocidad radial en presencia del antagonista / testigo) < 0,5 se considera inhibición moderada, mientras que < 0,2 indica alta eficiencia. La estandarización del medio utilizado (pH, tipo de agar) es esencial ya que factores ambientales confunden los resultados (Karadzhova, 2024).

## **2.2.4 Importancia del maíz (*Zea mays*) como cultivo estratégico**

### **2.2.4.1 Relevancia económica y alimentaria en Ecuador y América Latina**

En Ecuador, el maíz es uno de los principales cultivos de ciclo anual, con una producción que supera 1,2 millones de toneladas en 2023 y genera empleo a más de 50 000 pequeños productores. En América Latina, el maíz representa el 60 % de las calorías consumidas por la población rural, siendo básico en dietas culturales antiguas (Analuisa et al., 2020).

Un incremento de 1 t/ha puede elevar los ingresos familiares hasta 15 %, lo que lo convierte en cultivo estratégico en planeación agraria. En Ecuador, la mayoría del maíz se produce en zonas vulnerables a inundación y sequía, por lo que requiere variedades adaptadas y manejo integrado. Los programas de mejoramiento nacional incluyen inoculación con microorganismos benéficos para reducir uso de agroquímicos (Zambrano y Andrade, 2021)

#### **2.2.4.2 Vulnerabilidad del maíz a enfermedades fúngicas en postcosecha y campo**

Durante almacenamiento, se realiza colonización por especies aerotolerantes como *Aspergillus spp.* y *Fusarium*, provocando pérdidas hasta del 30 % anual en silobolsas. En campo, enfermedades foliares y de raíz reducen hasta un 20 % del rendimiento si no se integran estrategias fitosanitarias (Larran et al., 2020).

El daño pre y poscosecha asociado a estos hongos se intensifica con cambios climáticos que aumentan la humedad relativa durante el secado del grano. El deterioro reduce la calidad nutrimental y valor comercial, provocando pérdidas económicas para el productor ecuatoriano. La introducción de *T. harzianum* y otras tecnologías biológicas es esencial para mitigar estos riesgos y fortalecer la inocuidad del maíz (Elmeihy et al., 2024).

#### **2.2.5 Control biológico vs. control químico**

##### **2.2.5.1 Ventajas del uso de agentes biológicos del género *Trichoderma* frente a fungicidas sintéticos**

*T. harzianum* tiene menor impacto ambiental, no deja residuos tóxicos en el grano y no genera resistencia en los patógenos. Mejora la estructura del suelo y el crecimiento raíz-plantar, efecto inexistente con fungicidas sintéticos. Puede aplicarse combinadamente con fungicidas bajos en riesgo toxicológico, reduciendo su dosis en hasta un 50 % (Madbouly et al., 2023).

Las cepas endófitas y comerciales presentan acción sistémica y protectora en semillas, estimulando la defensa local (Hardoim et al., 2015). Se ha expresado que son económicamente rentable para pequeños productores, pues su costo es < 25 % del de fungicidas convencionales (Mallaiah y Vidyasagar, 2020).

##### **2.2.5.2 Sustentabilidad, residuos y resistencia a fungicidas**

Los fungicidas sintéticos frecuentemente dejan residuos persistentes en suelo y agua, afectando comunidades no objetivo como polinizadores. Su uso prolongado provoca desarrollo de resistencia en patógenos como *Colletotrichum*, reduciendo su efectividad (Cournault et al., 2025).

El control biológico permite prácticas de agricultura sostenible, mejorando calidad del suelo y ciclos nutrientes . En sistemas integrados, la disminución de fungicidas disminuye el costo ambiental y la exposición toxicológica del aplicador (Savoie et al., 2019). Las empresas certificadoras de producciones orgánicas

permiten el uso de *Trichoderma* y excluyen fungicidas, fortaleciendo mercados diferenciados (Maurya et al., 2024).

## **2.2.6 Interacción entre microorganismos y plantas**

### **2.2.6.1 Relación rizósfera–microbiota del suelo**

La rizósfera tributa exudados como carbohidratos y aminoácidos que selectivamente favorecen colonización por *Trichoderma*, *Pseudomonas* y *Bacillus*. Estas comunidades microbianas forman redes funcionales que compiten con patógenos por nutrientes y producen sustancias inhibitoras (Tom y Patel, 2021).

La presencia de *T. harzianum* en rizósfera mejora agregación de suelo y disponibilidad de fósforo mediante solubilización. A nivel molecular se activan genes de defensa como defensinas, enzimas antioxidantes y fitoalexinas que previenen colonización. Se observa mayor biomasa radicular y eficiencia en uso del agua en cultivos inoculados con *T. harzianum* (Osorio et al., 2016).

### **2.2.6.2 Efectos indirectos de *T. harzianum* sobre la defensa inducida en las plantas.**

*T. harzianum* libera elicitores moleculares (péptidos, glucanos) que desencadenan resistencia sistémica inducida (ISR) mediada por JA y ET. La colonización induce expresión de genes PR (PR-1, PR-5) y enzimas peroxidasa, quitinasa y PAL que refuerzan la barrera contra patógenos. Incrementa niveles de fenoles y lignina en tejidos foliares y radicales, creando un entorno químico defensivo inhóspito para patógenos (Lu et al., 2020).

También se ha reportado que mejora la oxidación del sistema de señalización basada en ROS, activando respuestas hipersensibles y muerte programada celular en sitios de infección (Shahoud, 2025). El efecto ISR de *Trichoderma* persiste durante varias semanas, ofreciendo protección prolongada durante etapas críticas del desarrollo del maíz (Browne et al., 2025).

## **2.3 Marco legal**

### **LEY ORGANICA DE SANIDAD AGROPECUARIA**

TITULO PRELIMINAR Art. 1.- Objeto.- La presente Ley regula la sanidad agropecuaria, mediante la aplicación de medidas para prevenir el ingreso, diseminación y establecimiento de plagas y enfermedades; promover el bienestar animal, el control y erradicación de plagas y enfermedades que afectan a los vegetales y animales y que podrían representar riesgo fito y zoonosanitario. Regula también el desarrollo de actividades, servicios y la aplicación de medidas fito y zoonosanitarias, con base a los principios técnico-científicos para la protección y mejoramiento de la sanidad animal y

vegetal, así como para el incremento de la producción, la productividad y garantía de los derechos a la salud y a la vida; y el aseguramiento de la calidad de los productos agropecuarios, dentro de los objetivos previstos en la planificación, los instrumentos internacionales en materia de sanidad agropecuaria, que forman parte del ordenamiento jurídico nacional. La sanidad en materia de acuicultura y pesca, así como el aseguramiento de la calidad de sus productos se regularán en la Ley correspondiente. Art. 2.- Ambito de aplicación.- Las disposiciones de esta Ley son de orden público e interés social y de cumplimiento obligatorio dentro del territorio nacional de conformidad con la Ley. La provincia de Galápagos se rige por sus propias normas especiales; en consecuencia, además de lo dispuesto en la presente Ley, se observarán las normas contenidas en la Ley Orgánica del Régimen Especial de la Provincia de Galápagos. Art. 3.- Principios.- Constituyen principios de aplicación de esta Ley, los siguientes: a) Armonización: Establecer medidas fito y zoonosanitarias basadas en normas nacionales e internacionales comunes de varios países, con la finalidad de proteger la salud y vida de las personas, garantizar la soberanía alimentaria, el bienestar de los animales o preservar la inocuidad de los vegetales y facilitar el comercio internacional; b) Diversificación: Fortalecer la diversificación y la utilización de tecnologías limpias en la producción agropecuaria; c) Equivalencia: Cuando las regulaciones de sanidad agropecuaria expedidas en virtud de esta Ley, aunque difieran de otras similares de la normativa internacional se reconocerán como válidas por su jerarquía, a las internacionales cuando se logre el nivel adecuado de protección sanitaria y fitosanitaria; d) Evaluación de riesgo: Evaluación del nivel de riesgo existente para la salud de las personas y la protección de la sanidad agropecuaria; e) No discriminación: Trato igualitario a los productos importados como a los de producción nacional respetando la cláusula de la nación más favorecida del sistema multilateral de comercio, salvo los casos de excepción previstos en la Ley; f) Precautelatorio: Adoptar medidas fito y zoonosanitarias eficaces y oportunas ante la sospecha de un posible riesgo grave para la salud de las personas, plantas, animales o al medio ambiente, aún sin contar con evidencia científica de tal riesgo; g) Protección: Establecer medidas fito y zoonosanitarias previstas legal y técnicamente que garanticen la vida y la salud de las personas, los animales y la preservación de los vegetales, así como la protección contra otros daños resultantes de la entrada, radicación o diseminación de plagas o enfermedades; h) Prevención: Adoptar políticas públicas que precautelen la salud de las personas, de los animales y de las plantas, a través de medidas de prevención, control y mitigación de plagas y enfermedades; i) Seguridad alimentaria: Garantizar la sostenibilidad del acceso a los alimentos para las generaciones presentes y futuras; j) Solidaridad: Dotar de alimentos a las poblaciones víctimas de desastres naturales o antrópicos que pongan en riesgo el acceso a la alimentación. Los alimentos recibidos de ayuda internacional no afectarán la salud ni la producción y comercialización de alimentos producidos localmente; y, k) Transparencia: Notificar a nivel nacional e internacional información sobre las medidas fito y zoonosanitarias y su fundamento Art. 4.- De los fines.- La presente Ley tiene las siguientes finalidades: a) Garantizar el ejercicio de los derechos ciudadanos a la producción permanente de alimentos sanos, de calidad,

inocuos y de alto valor nutritivo para alcanzar la soberanía alimentaria; b) Impulsar procesos de investigación e innovación tecnológica en la producción de alimentos de origen vegetal y animal que cumplan las normas y desarrollo de estándares de bienestar animal, que mejoren el acceso a los mercados nacionales e internacionales; c) Fortalecer el vínculo entre la producción agropecuaria y el consumo local mediante la tecnificación de los procesos fito y zoonosanitarios de control y aseguramiento de la calidad de los productos agropecuarios; d) Garantizar que la cadena de producción pecuaria cumpla con los estándares de bienestar animal que se establezcan en el reglamento de esta Ley y buenas prácticas zoonosanitarias. Art. 5.- Derechos garantizados.- Esta Ley garantiza y procura a las personas, comunidades, pueblos, nacionalidades y colectivos el ejercicio de los derechos a la salud, a la alimentación, a un ambiente sano, equilibrado ecológicamente y los derechos de la naturaleza de conformidad con la Constitución y la Ley (Asamblea Nacional República del Ecuador, 2017. p.3).

### 3 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Enfoque de la investigación

##### 3.1.1 Tipo de investigación

La presente investigación fue de tipo aplicada, ya que buscó generar soluciones prácticas para el manejo biológico de hongos fitopatógenos que afectan el cultivo de maíz.

Asimismo, su planteamiento fue de tipo experimental en el laboratorio, pues se sometió a prueba la capacidad antagonista de *T. harzianum* frente a dos especies patógenas típicas del maíz bajo condiciones controladas, manipulando las variables involucradas.

El nivel de conocimiento fue explicativo, porque se pretendió comprender el efecto que posee el agente de control biológico sobre el crecimiento de los hongos patógenos lo que explica las interacciones observadas

##### 3.1.2 Diseño de investigación

El diseño de esta investigación fue experimental, ya que se realizó bajo condiciones controladas en laboratorio, manipulando deliberadamente la variable independiente (concentraciones de esporas de *Trichoderma harzianum*) observando su efecto sobre la variable dependiente (crecimiento de los hongos patógenos y otras variables).

#### 3.2 Metodología

##### 3.2.1 Variables

###### 3.2.1.1. Variable independiente

La variable independiente fue la acción de tres concentraciones de esporas de una cepa comercial de *T. harzianum*

###### 3.2.1.2. Variable dependiente

Las variables de respuesta fueron:

- Porcentaje de inhibición radial del crecimiento del patógeno
- Tasa de sobrecrecimiento del antagonista sobre el patógeno
- Observaciones microscópicas de interacción (micoparasitismo, enrollamiento de las hifas)
- Producción de halos de inhibición (difusión de metabolitos)

##### 3.2.2 Tratamientos

El planteamiento de los tratamientos descritos en la Tabla 1., permitió comparar dos patógenos clave del maíz con distinta biología y agresividad como lo

son *A. flavus* y *F. verticillioides*; y se exploró un gradiente logarítmico de inóculo del antagonista ( $10^4$ – $10^6$ ), típico en este tipo de bioensayos, además se controló la acción individual de los patógenos al medir su comportamiento por separado mediante su crecimiento basal cuyos resultados sirvieron de referencia para calcular el PIRG entre otras variables propuestas. Del T2 al T4 evaluaron el antagonismo de *T. harzianum* en 3 concentraciones frente al patógeno *A. flavus*. Los otros 3 tratamientos (T6 al T8) fueron similares pero para enfrentar a *F. verticillioides*. En ambos grupos el T1 y el T5 fueron controles para referenciar el crecimiento de ellos frente a Trichoderma.

**Tabla 1.**  
**Distribución de los tratamientos**

Tratamiento	Patógeno	Concentración (UFC/mL)
T1	<i>A. flavus</i>	Control (sin <i>T. harzianum</i> )
T2	<i>A. flavus</i>	$10^4$
T3	<i>A. flavus</i>	$10^5$
T4	<i>A. flavus</i>	$10^6$
T5	<i>F. verticillioides</i>	Control (sin <i>T. harzianum</i> )
T6	<i>F. verticillioides</i>	$10^4$
T7	<i>F. verticillioides</i>	$10^5$
T8	<i>F. verticillioides</i>	$10^6$

Elaborado por: La autora, 2026

### 3.2.3 Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente al azar con tratamientos correspondientes a una cepa comercial de *T. harzianum* enfrentadas a cada patógeno en ensayos de cultivo dual. El experimento alcanzó un total de 24 unidades experimentales (8 tratamientos × 3 repeticiones). Cada unidad experimental estuvo representada por una caja Petri de 15 cm de diámetro por 2.0-2.5 cm de altura.

### 3.2.4 Recolección de datos

#### 3.2.4.1. Recursos

Para este ensayo se utilizó los siguientes, insumos, reactivos y equipos de laboratorio:

- Autoclave
- Balanza digital
- Agitador magnético
- Incubadora

- Espátula
- pH metro
- Horno microondas
- Calibrador (Pie de Rey)
- Cajas de Petri
- Erlenmeyers
- Frascos de precipitados
- Microscopio óptico
- Agua destilada
- Reguladores de pH (NaOH y HCl)
- Rojo Congo
- Tetraciclina y/o amoxicilina
- Medio agar dextrosa de papa

### **3.3 Métodos y técnicas**

#### **3.3.1 Aislamiento de patógenos**

Se recolectaron muestras de maíz con síntomas de infección para obtener cepas de *A. flavus* y *F. verticillioides* en medio PDA.

Se utilizó una cepa comercial de *T. harzianum* y se cultivó en medio PDA

#### **Identificación morfológica y molecular**

Se identificó morfológicamente las cepas de *A. flavus*, *F. verticillioides* y *T. harzianum*. La identificación molecular se realizó mediante la amplificación de regiones específicas (Internal Transcriber Spacer ITS) mediante PCR y posterior secuenciación para confirmar la identidad de las cepas.

#### **Ensayos de antagonismo *in vitro***

Se realizaron pruebas de cultivo dual en placas de Petri con PDA, colocando a 4 cm de distancia un disco de micelio de *T. harzianum* y otro del patógeno. Las placas se incubaron a 25-28 °C durante 7 días.

#### **Evaluación de variables de respuesta**

- **Porcentaje de inhibición radial del crecimiento del patógeno.** Se midió la reducción del radio y el diámetro de la colonia del patógeno (*A. flavus* o *F. verticillioides*) en los cultivos duales o de enfrentamiento contra *T. harzianum*, respecto del crecimiento del patógeno sin antagonista. Esto proporcionó la determinación de la eficacia del biocontrolador en términos *in vitro*.

- **Tasa de sobrecrecimiento del antagonista sobre el patógeno.** Cuando se logró determinar la velocidad con la que *T. harzianum* invadió y cubrió la colonia del patógeno tras el primer contacto entre ambos microorganismos contribuyó a establecer los tiempos que tardó el antagonista vencer al patógeno.
- **Observaciones microscópicas de interacción (micoparasitismo, enrollamiento de las hifas).** Las evidencias de interacción directa como el enrollamiento de hifas de *T. harzianum* sobre hifas del patógeno, formación de apresorios, la penetración celular, la lisis o granulación del citoplasma del patógeno indicó el nivel de interacción que presentó el biocontrolador con el patógeno.
- **Producción de halos de inhibición (difusión de metabolitos).** Se midió los halos, que son las zonas claras, generalmente redondeadas, sin crecimiento del patógeno alrededor del inóculo en este caso son los “discos” impregnados con *T. harzianum* (proceso llamado antibiosis).

Empleo de la escala de Bell (1982) adaptada:

**Tabla 2.**

**Escala de Bell (1982) adaptada**

<b>Escala antagonista micoparasitismo</b>	
<b>Nivel</b>	<b>Descripción</b>
<b>0</b>	Sin antagonista normalmente es el material de control o testigo; morfología típica del patógeno.
<b>1</b>	Contacto hifal ocasional; sin enrollamiento; sin halo; crecimiento comparable al control.
<b>2</b>	Contacto hifal y enrollamiento evidente; sin halo apreciable; reducción de pigmentación o crecimiento aéreo.
<b>3</b>	Enrollamiento evidente; penetración/adhesión; deformación y vacuolización de hifas; halo tenue; reducción de esporulación.
<b>4</b>	Enrollamiento y penetración; deformación severa y vacuolización; lisis localizada; colapso hifal; halo tenue; reducción marcada del crecimiento aéreo.

Bell (1982).

**3.3.1 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los resultados, en cada una de las variables dependientes, previo a corroborar el cumplimiento de los supuestos de normalidad, se aplicó el análisis de varianza ANOVA, y se estableció las diferencias

significativas entre los tratamientos bajo estudio. De igual manera, para la comparación de medias se empleó el test de Tukey al 95% de confianza. Para el análisis y procesamiento de los resultados se utilizó el software estadístico Infostat. El esquema de análisis de varianza se presenta a continuación.

**Tabla 3.**  
**Esquema del ANOVA del experimento**

<b>Fuente de variación</b>		<b>GL</b>
Patógeno	$(p - 1)$	1
Concentración	$(c - 1)$	3
Patógeno*Concentración	$(p - 1) (c - 1)$	3
Error	$p * c (r - 1)$	16
Total	$tr - 1$	23

Elaborado por: La autora, 2026

#### 4. RESULTADOS

En la Tabla 4 se presentan los valores de crecimiento radial (mm) de *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides* en ausencia de *Trichoderma harzianum*. Se observa los diferentes crecimientos desde el T1 al T4 de *A. flavus* y del T5 al T8 para *F. verticillioides*. Se detectó significancia y se pudo observar que el crecimiento de los patógenos fueron menores a medida que se incrementó la concentración del antagonista frente al tratamiento control respectivo. Asimismo cabe mencionar que si se detectó significancia en las interacciones patógeno más concentración. El coeficiente de variación fue de 5,52 %.

**Tabla 4.**

**Resultados del crecimiento radial de los hongos patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* (mm)**

No.	Microorganismo	Concentración	Crecimiento radial (mm)
T1	<i>A. flavus</i>	Control (sin <i>T. harzianum</i> )	42,73a
T2	<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	27,47b
T3	<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	20,63c
T4	<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	13,73d
T5	<i>F. verticillioides</i>	Control (sin <i>T. harzianum</i> )	43,57a
T6	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	24,80b
T7	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	14,07d
T8	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	10,27d
	CV(%)		5,52

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 5 se presentan los resultados de la acción individual de los patógenos bajo estudio *A. flavus* y *F. verticillioides* donde se observa la significancia entre ellos para el crecimiento radial que fue de 26.14 mm y 23.18 mm respectivamente.

**Tabla 5.**

**Resultados del crecimiento radial de los hongos patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* (mm)**

Microorganismo	Crecimiento radial (mm)
<i>A. flavus</i>	26,14a
<i>F. verticillioides</i>	23,18a

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 6 se muestran los resultados de la acción de las concentraciones del antagonista *T. harzianum* sobre los patógenos analizados en el ensayo como son *A. flavus* y *F. verticillioides* donde se presentó significancia para el efecto de cada una de las cantidades de esporas del antagonista frente al crecimiento de los patógenos siendo la de nula concentración la de más alto crecimiento radial (43.15 mm) mientras que para las demás fue reduciéndose hasta llegar a 12.00 mm en la concentración de esporas más alta ( $10^6$ ).

**Tabla 6.**  
**Resultados para el crecimiento radial de los patógenos desde las concentraciones del antagonista *T. harzianum***

Concentración	Crecimiento radial (mm)
Control (sin <i>T. harzianum</i> )	43,15a
$10^4$	26,13b
$10^5$	17,35c
$10^6$	12,00d

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 7 se muestran los porcentajes de inhibición del crecimiento radial (PICR) de los patógenos evaluados. La significancia observada favorece a la concentración de  $10^6$  para la inhibición de ambos patógenos (*A. flavus* 67.83% y *F. verticillioides* 76.43 % respectivamente). El coeficiente de variación fue de 6,08 %.

**Tabla 7.**  
**Resultados del porcentaje de la inhibición del crecimiento radial de los hongos patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* bajo el antagonismo de *T. harzianum***

No.	Microorganismo	Concentración	Inhibición radial (PICR)
T2	<i>A. flavus</i>	$10^4$	35,73c
T3	<i>A. flavus</i>	$10^5$	51.70b
T4	<i>A. flavus</i>	$10^6$	67.83a
T6	<i>F. verticillioides</i>	$10^4$	43.10bc
T7	<i>F. verticillioides</i>	$10^5$	67.70a
T8	<i>F. verticillioides</i>	$10^6$	76.43a
	CV(%)		6.08

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 8 se observan los resultados de la inhibición radial (PICR) individual de los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides*. La mayor inhibición radial la presentó este último (62.41%) mientras que el primero fue de 51.76%. Cabe mencionar que no se observó efecto alguno en las interacciones analizadas

**Tabla 8.**  
**Resultados de la inhibición radial individual de los hongos patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* (%)**

<b>Microorganismo</b>	<b>Crecimiento radial (mm)</b>
<i>A. flavus</i>	51.76b
<i>F. verticillioides</i>	62.41 <sup>a</sup>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 9 se presenta el efecto de la acción de las concentraciones de esporas de *T. harzianum* como antagonista estudiado sobre la inhibición radial (PICR) de los hongos patógenos, se destaca que la de  $10^6$  fue de mayor inhibición (72.13%) mientras que la más baja  $10^4$  fue la de menor valor con 39.42%

**Tabla 9.**  
**Resultados del efecto de la inhibición radial (PICR) de los hongos patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* (%) en relación con la acción de las concentraciones del antagonista *T. harzianum* bajo estudio**

<b>Concentración</b>	<b>Inhibición radial</b>
$10^4$	39.42c
$10^5$	59.70b
$10^6$	72.13 <sup>a</sup>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 10 se muestran los resultados del porcentaje del sobrecrecimiento del antagonista (%) *T. harzianum* sobre los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides*. Estos datos, resaltan que el efecto combinado del antagonista con la mayor concentración de esporas ( $10^6$ ) presentó consecuentemente el mayor sobrecrecimiento tanto para *A. flavus* (86.57%) como para *F. verticillioides* (97.43%). El CV calculado fue de 4.76%.

**Tabla 10.**  
**Resultados del efecto del porcentaje del sobrecrecimiento del antagonista (%) *T. harzianum* sobre los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides***

<b>No.</b>	<b>MICROORGANISMO</b>	<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>SOBRECRECIMIENTO DEL ANTAGONISTA</b>
T2	<i>A. flavus</i>	$10^4$	29,50e
T3	<i>A. flavus</i>	$10^5$	63,07c
T4	<i>A. flavus</i>	$10^6$	86,57b
T6	<i>F. verticillioides</i>	$10^4$	42,83d
T7	<i>F. verticillioides</i>	$10^5$	71,10c
T8	<i>F. verticillioides</i>	$10^6$	97,43a
	CV(%)		4.76

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 11 se exhibe que el mayor efecto del sobrecrecimiento del antagonista recayó en *F. verticillioides* (70.46%) y el significativamente menor fue para *A. flavus* con 59.71%

**Tabla 11.**

**Resultados del efecto en los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* del sobrecrecimiento del antagonista (%) *T. harzianum***

<b>MICROORGANISMO</b>	<b>SOBRECRECIMIENTO DEL ANTAGONISTA</b>
<i>A. flavus</i>	59.71b
<i>F. verticillioides</i>	70.46 <sup>a</sup>

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 12 se resalta que la mayor concentración del antagonista (10<sup>6</sup>) presentó la significancia más alta con 72.13% mientras que la menor fue para 10<sup>4</sup>.

**Tabla 12.**

**Resultados del efecto de las concentraciones del antagonista (%) *T. harzianum* en los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides***

<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>SOBRECRECIMIENTO DEL ANTAGONISTA</b>
10 <sup>4</sup>	39.42c
10 <sup>5</sup>	59.70b
10 <sup>6</sup>	72.13a

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

Elaborado por: La autora, 2026

Los diámetros de los halos de inhibición expresados en milímetros, originados en las pruebas duales se presentan en la Tabla 13. Se encontró significancia entre las medias de los tratamientos, donde la concentración de 10<sup>5</sup> fue apropiada para el mayor halo de inhibición para ambos patógenos (*A. flavus* 2.89 mm y *F. verticillioides* 2.57 mm respectivamente). Contrariamente, la concentración 10<sup>4</sup> fue la de peor comportamiento. El coeficiente de variación calculado fue de 12,04 %.

**Tabla 13.**

**Resultados del halo de inhibición (mm) de los hongos patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* bajo el antagonismo de *T. harzianum***

<b>No.</b>	<b>Microorganismo</b>	<b>Concentración</b>	<b>Halo de inhibición (mm)</b>
T2	<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	1,90c
T3	<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	2,89a
T4	<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	2,65ab
T6	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	1,13d
T7	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	2,57abc
T8	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	1,94bc
	<b>CV(%)</b>		12.04

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 14 se muestran los resultados del efecto en el diámetro del halo de inhibición (mm) en los patógenos *A. Flavus* y *F. Verticillioides* bajo el antagonismo de *T. Harzianum* y se evidencia que el mayor efecto lo presentó *A. flavus* con 2.48 mm mientras que *F. verticillioides* fue de 1.88 mm

**Tabla 14.**

**Resultados del efecto en el diámetro del halo de inhibición (mm) en los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* bajo el antagonismo de *T. harzianum***

<b>MICROORGANISMO</b>	<b>Halo de inhibición (mm)</b>
<i>A. flavus</i>	2.48a
<i>F. verticillioides</i>	1.88b

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 15 se evidencia la significancia del efecto de las concentraciones del antagonista sobre el halo de inhibición (mm) y se muestra que  $10^5$  fue superior a las demás con 2.73 mm.

**Tabla 15.**

**Resultados del efecto de las concentraciones del antagonista *T. harzianum* en el halo de inhibición (mm) de los hongos patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides***

<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>Halo de inhibición (mm)</b>
$10^4$	1.52c
$10^5$	2.73a
$10^6$	2.30b

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 16 se presentan los resultados del micoparasitismo de *T. harzianum* sobre *A. flavus* y *F. verticillioides*. En ella se puede observar la significancia estadística a favor de las concentraciones más altas ( $10^6$ ), las cuales fueron superiores en el micoparasitismo para ambos patógenos con valores de 3.00 para *A. flavus* y 4.00 para *F. verticillioides* considerando como referencia la escala de Bell (1982), mientras que los menores resultados fueron consecuentemente y en el mismo orden de los hongos bajo estudio, para las menores concentraciones ( $10^4$ ). El CV calculado fue de 16.01

Tabla 16.

**Resultados del micoparasitismo de *T. harzianum* sobre *A. flavus* y *F. verticillioides***

No.	Microorganismo	Concentración	Micoparasitismo (Bell, 1982)
T2	<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	2,33b
T3	<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	2,67b
T4	<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	3,00ab
T6	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	2,33b
T7	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	3,33ab
T8	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	4,00a
	CV(%)		16.01

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 17 se expone el efecto del micoparasitismo el cual fue estadísticamente y significativamente mayor para *F. verticillioides* (3.22) mientras que para *A. flavus* fue de 2.67 según la escala utilizada.

Tabla 17.

**Resultados del efecto en el diámetro del halo de inhibición (mm) en los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides* bajo el antagonismo de *T. harzianum***

MICROORGANISMO	Micoparasitismo (Bell, 1982)
<i>A. flavus</i>	2.67b
<i>F. verticillioides</i>	3.22a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Elaborado por: La autora, 2026

En la Tabla 18 se muestra que la concentración estadísticamente superior y con mayor efecto en micoparasitismo fue para la 10<sup>6</sup> con 3.50 mientras que la más baja fue la de 10<sup>4</sup> con 2.33 de acuerdo con la escala de referencia.

Tabla 18.

**Resultados del efecto de las concentraciones del antagonista *T. harzianum* en el halo de inhibición (mm) de los hongos patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides***

CONCENTRACIÓN	Micoparasitismo (Bell, 1982)
10 <sup>4</sup>	2.33b
10 <sup>5</sup>	3.00ab
10 <sup>6</sup>	3.50a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Elaborado por: La autora, 2026

## 5. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos destacan que la aplicación de *T. harzianum* logró inhibir el crecimiento radial de los patógenos bajo estudio *A. flavus* y *F. verticillioides* frente a los tratamientos control.

Estos resultados permiten interpretar que *T. harzianum* posee una alta actividad de antagonismo frente a patógenos a nivel *in vitro*, resaltando que el antagonista combina dos variables importantes como lo son el micoparasitismo y la antibiosis, lo cual concuerda con lo reportado por Yazid et al. (2023), quienes observaron inhibiciones superiores al 60 % frente a *F. verticillioides* mediante ensayos de cultivos duales.

Las observaciones realizadas indican que *A. flavus*, mostró una mayor susceptibilidad frente al antagonista. Estos datos confirman la capacidad como antagonista de *T. harzianum* frente a ambos hongos micotoxigénicos.

Asimismo, los reportes ratifican la importancia de *Aspergillus flavus*, la misma que radica no solo en su efecto destructivo ocasionado al grano de maíz sino en la producción de aflatoxinas, clasificadas por el Centro de Investigación para el Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) como carcinógenos del grupo 1. Por su parte, Chen et al. (2023) informan que la expansión geográfica de *A. flavus* se ha intensificado bajo escenarios del cambio climático, aumentando el riesgo de contaminación en regiones tradicionalmente templadas. En estas premisas, la acción inhibitoria del crecimiento micelial observada en los tratamientos T2, T3 y T4 evidencia el potencial de *T. harzianum* como herramienta preventiva en etapas pre y poscosecha para *A. flavus*

Frente a lo reportado por los mismos autores, es consecuente destacar que la inhibición más significativa y observada contra *F. verticillioides* coincide con algunos estudios que indican que este patógeno es altamente sensible a enzimas degradadoras de pared celular producidas por *Trichoderma*, como quitinasas y glucanasas.

La producción de metabolitos secundarios con actividad antifúngica representa un componente clave según se ha reportado. Al respecto, Stracquadanio et al. (2021) demostraron que extractos de especies de *Trichoderma* reducen significativamente el crecimiento de *A. flavus* y *F. verticillioides* en matrices vegetales, además de disminuir la producción de micotoxinas en condiciones

controladas. Los resultados obtenidos respaldan la hipótesis de que la inhibición observada no solo responde a la competencia física, sino también a antibiosis desarrollada por metabolitos bioactivos.

Por otra parte, la formación de halos de inhibición es coincidente con la producción de metabolitos secundarios antifúngicos por parte de *T. harzianum*, lo cual ha sido observado con frecuencia en Trichoderma en pruebas duales a nivel *in vitro*, esto incluye compuestos volátiles y no volátiles que poseen efectos de inhibición sobre los patógenos bajo estudio (*A. flavus* y *Fusarium spp*).

En consecuencia, de lo expresado, las observaciones microscópicas evidencian el micoparasitismo realizado por *T. harzianum* sobre *A. flavus* y *F. verticillioides* concuerda con lo reportado por Yao et al. (2023) quien informa que los mecanismos descritos como es el enrollamiento y la lisis de las hifas ambas constituyen rasgos característicos de la acción antagonista de *T. harzianum* sobre hongos patógenos para las plantas.

Cabe destacar que un aspecto relevante es la posible variabilidad en la respuesta entre *A. flavus* y *F. verticillioides* frente a *T. harzianum*. Algunos estudios similares frente a la presencia de ataque de Fusarium en maíz han mostrado que diferentes especies de Trichoderma presentan distintos niveles de inhibición, con tasas que oscilan entre 60% y 80% en cultivos duales. Ante esto, Cournault et al., (2025) señalan que esta variabilidad puede estar asociada a diferencias estructurales en la pared celular del patógeno, producción diferencial de enzimas líticas y resistencia intrínseca del hospedero.

Los autores, Chen et al. (2023), manifiestan que desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, estos resultados son relevantes debido a la importancia de *A. flavus* y *F. verticillioides* como productores de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas respectivamente) en maíz y siendo esta gramínea el principal grano cultivado en la costa ecuatoriana por lo que el realizar el control biológico de estos patógenos representa una estrategia sostenible para reducir la contaminación por micotoxinas utilizando el antagonista estudiado a nivel *in vivo*.

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMEDACIONES

### 6.1 CONCLUSIONES

- El hongo *Trichoderma harzianum* constituye un agente biológico altamente eficiente en el control *in vitro* de hongos fitopatógenos, específicamente *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides*, evidenciado no solo por la inhibición del crecimiento radial, sino también por su capacidad de sobrecrecimiento competitivo. Este comportamiento confirma que el antagonismo observado no es un fenómeno aislado, sino el resultado de una interacción compleja entre mecanismos biológicos que actúan de manera sinérgica.
- El éxito de *T. harzianum* radica en la combinación de múltiples estrategias de acción, entre las que destacan el micoparasitismo directo, evidenciado por el enrollamiento y lisis de hifas, y la producción de metabolitos antifúngicos, responsables de la formación de halos de inhibición. Esta dualidad funcional posiciona al antagonista como una herramienta biotecnológica robusta, capaz de actuar tanto por contacto directo como mediante inhibición química, lo que incrementa su eficacia frente a diferentes condiciones ambientales y tipos de patógenos.
- La variabilidad en la respuesta de los patógenos frente al antagonista permite inferir que la susceptibilidad diferencial entre especies fúngicas está asociada a factores estructurales y bioquímicos, como la composición de la pared celular y la capacidad de respuesta frente a enzimas líticas. En este sentido, aunque *Fusarium verticillioides* mostró mayor sensibilidad, la capacidad inhibitoria sobre *Aspergillus flavus* adquiere especial relevancia debido a su impacto en la seguridad alimentaria, considerando su producción de aflatoxinas altamente carcinogénicas.

Los resultados obtenidos, la discusión y conclusiones planteadas permiten rechazar la hipótesis nula “*Trichoderma harzianum* no presenta actividad antagónica significativa *in vitro* frente a los hongos fitopatógenos *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides* aislados de maíz” y aceptar la alternativa que indica lo contrario, “*Trichoderma harzianum* si presenta actividad antagónica significativa *in vitro* frente a los hongos fitopatógenos *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides* aislados de maíz”

## 6.2 RECOMEDACIONES

- Validar integralmente el potencial de *Trichoderma harzianum* en condiciones reales de producción, mediante ensayos *in vivo* y a nivel de campo. Esta transición permitirá evaluar la estabilidad de su efecto antagonista frente a variables ambientales complejas, como temperatura, humedad, interacción con microbiota nativa y prácticas agronómicas, factores que no pueden ser completamente replicados en condiciones *in vitro*.
- Profundizar en estudios orientados a cuantificar el impacto directo del antagonista en la reducción de micotoxinas, particularmente aflatoxinas y fumonisinas, no solo en condiciones controladas sino también durante el almacenamiento del grano. Este enfoque es clave para consolidar el valor de *T. harzianum* no solo como agente de control fitopatológico, sino como una herramienta estratégica en la seguridad alimentaria y la salud pública, especialmente en regiones donde el maíz constituye un cultivo base.
- Investigar y desarrollar formulaciones biotecnológicas eficientes, que optimicen la viabilidad, persistencia y eficacia del antagonista en campo. Esto incluye la evaluación de diferentes vehículos, concentraciones, frecuencias de aplicación y compatibilidad con otros componentes del manejo integrado de enfermedades. La integración de *T. harzianum* en programas de manejo agrícola debe abordarse desde un enfoque sistémico, considerando su interacción con fertilización, riego y otros agentes biológicos.
- Ampliar el espectro de estudio hacia otros cultivos de importancia económica, como el banano u otras gramíneas, con el fin de determinar la versatilidad del antagonista y su potencial escalabilidad. Esta proyección permitirá posicionar a *Trichoderma harzianum* como un componente clave dentro de los modelos de producción agrícola sostenible, alineados con las tendencias actuales de reducción de agroquímicos y promoción de soluciones basadas en la biotecnología

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Analuisa-Aroca, I., Caicedo, S., Rodríguez, M., & Paredes, P. (2020). Análisis primario de las cadenas de valor en el maíz Portoviejo, Ecuador. *Eca Sinergia*, 11(1), 44–57. [https://doi.org/https://doi.org/10.33936/eca\\_sinergia.v%vi%i](https://doi.org/https://doi.org/10.33936/eca_sinergia.v%vi%i).
- Asamblea Nacional República del Ecuador. (2017). Ley Orgánica De Sanidad Agropecuaria. *Boletín Oficial Del Estado*, SAN-2017-0, 14–15. <https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-09/Documento Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria.pdf>
- Attia, M. S., El-Wakil, D. A., Hashem, A. H., Al-Askar, A. A., AbdElgawad, H., Alotaibi, R. S., Abdel-Kader, S. A., & Abdelaziz, A. M. (2025). Investigating the activity of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* to mitigate *Fusarium* wilt disease of diverse cultivars of *Vicia faba*. *Scientific Reports*, 15(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-99381-2>
- Bell, D. K., Wells, H. D., & Markham, C. R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72(4), 379–382. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>
- Browne, W. A., Mwashasha, M., & Agnes, K. (2025). Evaluation of the Antagonistic Potential of *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum* against *Fusarium* Wilt of Banana (FWB), under in vitro conditions. *Int. j. Adv. Multidisc. Res. Stud.*, 5(3), 470–478. <http://ir.jkuat.ac.ke/handle/123456789/6781>
- Chen, X., Abdallah, M. F., Landschoot, S., Audenaert, K., De Saeger, S., Chen, X., & Rajkovic, A. (2023). *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides* and Their Main Mycotoxins: Global Distribution and Scenarios of Interactions in Maize. *Toxins*, 15(9), 1–21. <https://doi.org/10.3390/toxins15090577>
- Cournault, Q., Gibot-Leclerc, S., Monnier, N., & Steinberg, C. (2025). Modes of action and inhibitory activity of *Trichoderma* species on potato and tomato pathogenic *Phytophthora infestans*: A review. *Fungal Biology Reviews*, 52(January). <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2025.100414>
- Duarte-Leal, Y., Lamz-Piedra, A., & Martínez-Coca, B. (2017). Antagonismo in vitro de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Revista de Protección Vegetal*, 32(3), 00–00. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v32n3/rpv03317.pdf>
- Elmeihy, R. M., Hewedy, O. A., Alhumaidi, M. S., Altammar, K. A., Hassan, E. O.,

- & El-Debaiky, S. A. (2024). Co-inoculation of *Trichoderma viride* with *Azospirillum brasilense* could suppress the development of *Harpophora maydis*-infected maize in Egypt. *Frontiers in Plant Science*, 15(February), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1486607>
- González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2022). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25, 1–14. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520>
- Guzmán-Guzmán, P., Etesami, H., & Santoyo, G. (2025). *Trichoderma*: a multifunctional agent in plant health and microbiome interactions. *BMC Microbiology*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04158-2>
- Guzmán-Guzmán, P., Kumar, A., de los Santos-Villalobos, S., Parra-Cota, F. I., Orozco-Mosqueda, M. del C., Fadiji, A. E., Hyder, S., Babalola, O. O., & Santoyo, G. (2023). *Trichoderma* Species: Our Best Fungal Allies in the Biocontrol of Plant Diseases—A Review. *Plants*, 12(3), 1–35. <https://doi.org/10.3390/plants12030432>
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293–320. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00050-14>
- Hugar, A., & Nayaka, S. (2025). *Trichoderma harzianum* isolate AKH-5 enhances defense response in *Cajanus cajan* (L.) millsp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *udum* and promotes plant growth. *Microbe (Netherlands)*, 8(July), 100454. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100454>
- Jambhulkar, P. P., Raja, M., Singh, B., Katoch, S., Kumar, S., & Sharma, P. (2022). Potential native *Trichoderma* strains against *Fusarium verticillioides* causing post flowering stalk rot in winter maize. In *Crop Protection* (Vol. 152). <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105838>
- Karadzhova, N. (2024). In vitro study of *Trichoderma* isolates – potential antagonists of *Sclerotinia sclerotiorum* and other soil pathogens causing root and stem rots on pepper (*Capsicum annuum* L.). *Agricultural Sciences*, 16(40), 52–62. <https://doi.org/10.22620/agrisci.2024.40.005>
- Laith Khalil Tawfeeq Al-Ani. (2018). *Trichoderma*: Beneficial Role in Sustainable

- Agriculture by Plant Disease Management. In I. Naveen Kumar Arora, Environmental Microbiology, School for Environmental Science, Babasaheb Bhimrao Ambedkar University, Lucknow, Uttar Pradesh (Ed.), *Plant Microbiome: Stress Response* (Issue February, pp. 105–125). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5514-0>
- Larran, S., Santamarina Siurana, M. P., Roselló Caselles, J., Simón, M. R., & Perelló, A. (2020). In vitro antagonistic activity of trichoderma harzianum against Fusarium sudanense causing seedling blight and seed rot on wheat. *ACS Omega*, 5(36), 23276–23283. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c03090>
- Lu, Z. xiang, Tu, G. ping, Zhang, T., Li, Y. qian, Wang, X. hua, Zhang, Q. guo, Song, W., & Chen, J. (2020). Screening of antagonistic Trichoderma strains and their application for controlling stalk rot in maize. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(1), 145–152. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62734-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62734-6)
- Madbouly, A. K., Rashad, Y. M., Ibrahim, M. I. M., & Elazab, N. T. (2023). Biodegradation of Aflatoxin B1 in Maize Grains and Suppression of Its Biosynthesis-Related Genes Using Endophytic Trichoderma harzianum AYM3. *Journal of Fungi*, 9(2), 1–18. <https://doi.org/10.3390/jof9020209>
- Mallaiah, B., & Vidyasagar, B. (2020). In Vitro Evaluation for Antifungal Activity of Native Isolates of Trichoderma viride Against Maize Stalk Rot Pathogen Incited by Fusarium verticillioides. *Trends in Biosciences*, 13(7), 388–393. [https://www.researchgate.net/profile/Mallaiah-Bedika/publication/348692823\\_In\\_vitro\\_Evaluation\\_for\\_Antifungal\\_Activity\\_of\\_Native\\_Isolates\\_of\\_Trichoderma\\_viride\\_against\\_Maize\\_Stalk\\_Rot\\_Pathogen\\_Incited\\_by\\_Fusarium\\_verticillioides/links/602e13b3299bf1cc26d2539c/In-vitro-Evaluation-for-Antifungal-Activity-of-Native-Isolates-of-Trichoderma-viride-against-Maize-Stalk-Rot-Pathogen-Incited-by-Fusarium-verticillioides.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Mallaiah-Bedika/publication/348692823_In_vitro_Evaluation_for_Antifungal_Activity_of_Native_Isolates_of_Trichoderma_viride_against_Maize_Stalk_Rot_Pathogen_Incited_by_Fusarium_verticillioides/links/602e13b3299bf1cc26d2539c/In-vitro-Evaluation-for-Antifungal-Activity-of-Native-Isolates-of-Trichoderma-viride-against-Maize-Stalk-Rot-Pathogen-Incited-by-Fusarium-verticillioides.pdf)
- Maurya, S., Ntakirutimana, R., Debnath, B., Rana, M., Kaushik, D., & Srivastava, S. (2024). Trichoderma and Their Secondary Metabolites – A Potential Approach in Plant Disease Management. *Biopesticides International*, 20(1), 21–33. <https://doi.org/10.59467/BI.2024.20.21>
- Mitrović, I., Čanak, P., Tančić Živanov, S., Farkaš, H., Vasiljević, M., Čujić, S., Zorić, M., & Mitrović, B. (2025). Trichoderma harzianum in Biocontrol of Maize Fungal Diseases and Relevant Mycotoxins: From the Laboratory to the Field. *Journal of Fungi*, 11(6), 416. <https://doi.org/10.3390/jof11060416>

- Osorio Hernández, E., Hernández Castillo, f. D., Rodríguez Herrera, R., Varela fuentes, s. E., Estrada Drouaillet, B., & López santillán, J. A. (2016). Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani* in vitro. *Investigación y Ciencia*, 2(67), 5–11. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- Oyesola, O. L., Kinge, R. T., & Obembe, O. O. (2025). *Trichoderma*: A Review of its Mechanisms of Action in Plant Sustainable Disease Control. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1492(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1492/1/012008>
- Ren, X., Branà, M. T., Haidukowski, M., Gallo, A., Zhang, Q., Logrieco, A. F., Li, P., Zhao, S., & Altomare, C. (2022). Potential of *Trichoderma* spp. for Biocontrol of Aflatoxin-Producing *Aspergillus flavus*. *Toxins*, 14(2), 1–20. <https://doi.org/10.3390/toxins14020086>
- Saravanakumar, K., Li, Y., Yu, C., Wang, Q. Q., Wang, M., Sun, J., Gao, J. X., & Chen, J. (2017). Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of *Fusarium* Stalk rot. *Scientific Reports*, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01680-w>
- Savoie, J.-M., Mata, G., Atanasova Penichon, V., & Foulonge-Oriol, M. (2019). Using mushroom-forming fungi in preventing and reducing mycotoxins in cereal products. *Scientia Fungorum*, 49(July), e1256. <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1256>
- Shahoud, M. A. I. A. R. (2025). Investigating the effects of *Trichoderma harzianum* and plant compost on maize growth and *Fusarium* root rot management under greenhouse conditions. *Religious Studies*, 6, 2. <https://doi.org/10.30493/DAS.2024.475340>
- Stracquadano, C., Luz, C., La Spada, F., Meca, G., & Cacciola, S. O. (2021). Inhibition of mycotoxigenic fungi in different vegetable matrices by extracts of *trichoderma* species. *Journal of Fungi*, 7(6). <https://doi.org/10.3390/jof7060445>
- Tiru, Z., Sarkar, M., Pratim Chakraborty, A., Pal, A., & Mandal, P. (2021). In vitro antagonistic study of maize root colonizing fungal isolates against *fusarium moniliforme* causing ear rot disease of maize. *Journal of Tropical Life Science*, 11(2), 133–139. <https://doi.org/10.11594/jtls.11.02.02>
- Tom, A., & Patel, S. I. (2021). Dynamic association of *Fusarium verticillioides* with maize and its biological control. *The Pharma Innovation Journal*, 10(7), 1010–

1019.

<https://www.thepharmajournal.com/archives/?year=2021&vol=10&issue=7&ArticleId=6999%0Ainternal-pdf://454/archives.html>

Voloshchuk, N., Irakoze, Z., Kang, S., & Kellogg, J. J. (2024). Three Ecological Models to Evaluate the Effectiveness of *Trichoderma* spp. for Suppressing Aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Toxins*, 16(314).

<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/toxins16070314>

Waheed, Z., Anwar, W., Anjum, T., Abbas, M. T., Akhter, A., Hashem, A., Kumar, A., & Abd-Allah, E. F. (2024). Pyrolysed maize feedstock utilization in combination with *Trichoderma viride* against *Macrophomina phaseolina*. *Scientific Reports*, 14(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70975-6>

Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J., & Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 14(May), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>

Yazid, S. N. E., Tajudin, N. I., Razman, N. A. A., Selamat, J., Ismail, S. I., Sanny, M., & Samsudin, N. I. P. (2023). Mycotoxigenic fungal growth inhibition and multi-mycotoxin reduction of potential biological control agents indigenous to grain maize. *Mycotoxin Research*, 39(3), 177–192.

<https://doi.org/10.1007/s12550-023-00484-4>

Zambrano, C., E., A. A. M. (2021). Productividad y precios de maíz duro pre y post COVID-19 en el Ecuador. *UNIVERSIDAD Y SOCIEDAD | Revista Científica de La Universidad de Cienfuegos*, 2(4), 1147–1152.

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2218-36202021000400143&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2218-36202021000400143&script=sci_arttext)

**Tabla 19.**  
**Base de datos de la tesis**

Trat	Rep	Patógeno	Concentración <i>T. harzianum</i> (UFC/mL)	Crecimiento radial del patógeno (mm)	Crecimiento control promedio (mm)	Inhibición radial (PIRG)	Sobrecrecimiento del antagonista (%)	Halo de inhibición (mm)	Micopar. (0-4)
T1	1	<i>A. flavus</i>	0	43,3	42,73	0,0	0,0	0,00	0
T1	2	<i>A. flavus</i>	0	42,3	42,73	0,0	0,0	0,00	0
T1	3	<i>A. flavus</i>	0	42,6	42,73	0,0	0,0	0,00	0
T2	1	<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	29,5	42,73	0,3	32,4	1,63	2
T2	2	<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	27,4	42,73	0,4	30,5	2,03	3
T2	3	<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	25,5	42,73	0,4	25,6	2,05	2
T3	1	<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	20,9	42,73	0,5	65,1	3,07	3
T3	2	<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	18,7	42,73	0,6	62,8	3,16	2
T3	3	<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	22,3	42,73	0,5	61,3	2,43	3
T4	1	<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	12,6	42,73	0,7	85,0	2,91	3
T4	2	<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	15,2	42,73	0,6	85,6	2,67	3
T4	3	<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	13,4	42,73	0,7	89,1	2,37	3
T5	1	<i>F. verticillioides</i>	0	44,7	43,57	0,0	0,0	0,00	0
T5	2	<i>F. verticillioides</i>	0	43,3	43,57	0,0	0,0	0,00	0
T5	3	<i>F. verticillioides</i>	0	42,7	43,57	0,0	0,0	0,00	0
T6	1	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	25,0	43,57	0,4	46,6	1,35	2
T6	2	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	25,9	43,57	0,4	41,0	1,11	3
T6	3	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	23,5	43,57	0,5	40,9	0,94	2
T7	1	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	13,8	43,57	0,7	70,9	2,56	3
T7	2	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	12,7	43,57	0,7	68,7	2,30	3

T7	3	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	15,7	43,57	0,6	73,7	2,85	4
T8	1	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	10,4	43,57	0,8	100,0	1,99	4
T8	2	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	9,4	43,57	0,8	92,3	1,84	4
T8	3	<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	11,0	43,57	0,7	100,0	1,99	4

Elaborado por: La autora, 2026

## Anexos

### Anexo 1. Anava de los resultados del crecimiento radial de los patógenos *A. flavus* y *F. verticillioides*

#### Análisis de la varianza del crecimiento radial de los patógenos

##### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
CRP (mm)	24	0,99	0,99	5,52

##### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3440,99	7	491,57	265,47	<0,0001
Patógeno	52,81	1	52,81	28,52	0,0001
Concentración	3346,58	3	1115,53	602,44	<0,0001
Patógeno*Concentración	41,61	3	13,87	7,49	0,0024
Error	29,63	16	1,85		
Total	3470,62	23			

##### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,17767

Error: 1,8517 gl: 16

Patógeno	Medias	n	E.E.
<i>A. flavus</i>	26,14	12	0,39 A
<i>F. verticillioides</i>	23,18	12	0,39 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

##### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,24772

Error: 1,8517 gl: 16

Concentración	Medias	n	E.E.
0	43,15	6	0,56 A
10 <sup>4</sup>	26,13	6	0,56 B
10 <sup>5</sup>	17,35	6	0,56 C
10 <sup>6</sup>	12,00	6	0,56 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

##### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,84664

Error: 1,8517 gl: 16

Patógeno	Concentración	Medias	n	E.E.
<i>F. verticillioides</i>	0	43,57	3	0,79 A
<i>A. flavus</i>	0	42,73	3	0,79 A
<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	27,47	3	0,79 B
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	24,80	3	0,79 B
<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	20,63	3	0,79 C
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	14,07	3	0,79 D
<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	13,73	3	0,79 D
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	10,27	3	0,79 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 2. Anava de los resultados de la Inhibición radial (PIRG) de *A. flavus* y *F. verticillioides* frente a *T. harzianum* en muestras de maíz

### Análisis de la varianza de la Inhibición radial (PIRG)

#### IR (%)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IR (%)	18	0,96	0,95	6,08

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3849,11	5	769,82	63,97	<0,0001
Patógeno	510,93	1	510,93	42,46	<0,0001
Concentración	3272,76	2	1636,38	135,99	<0,0001
Patógeno*Concentración	65,41	2	32,70	2,72	0,1063
Error	144,40	12	12,03		
Total	3993,51	17			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,56292

Error: 12,0333 gl: 12

Patógeno	Medias	n	E.E.
<i>F. verticillioides</i>	62,41	9	1,16 A
<i>A. flavus</i>	51,76	9	1,16 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,34313

Error: 12,0333 gl: 12

Concentración	Medias	n	E.E.
10 <sup>6</sup>	72,13	6	1,42 A
10 <sup>5</sup>	59,70	6	1,42 B
10 <sup>4</sup>	39,42	6	1,42 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,51365

Error: 12,0333 gl: 12

Patógeno	Concentración	Medias	n	E.E.
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	76,43	3	2,00 A
<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	67,83	3	2,00 A
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	67,70	3	2,00 A
<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	51,70	3	2,00 B
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	43,10	3	2,00 B C
<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	35,73	3	2,00 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Anexo 3, Anava de los resultados del sobrecrecimiento del antagonista (%) *T. harzianum* sobre de *A. flavus* y *F. verticillioides* en muestras de maíz

#### Análisis de la varianza Sobrecrecimiento del antagonista (%)

##### SA (%)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
SA (%)	18	0,99	0,98	4,76

##### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9928,68	5	1985,74	206,98	<0,0001
Patógeno	519,49	1	519,49	54,15	<0,0001
Concentración	9388,08	2	4694,04	489,27	<0,0001
Patógeno*Concentración	21,10	2	10,55	1,10	0,3643
Error	115,13	12	9,59		
Total	10043,81	17			

##### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,18135

Error: 9,5939 gl: 12

Patógeno	Medias	n	E.E.
F. verticillioides	70,46	9	1,03 A
A. flavus	59,71	9	1,03 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

##### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,77090

Error: 9,5939 gl: 12

Concentración	Medias	n	E.E.
10 <sup>6</sup>	92,00	6	1,26 A
10 <sup>5</sup>	67,08	6	1,26 B
10 <sup>4</sup>	36,17	6	1,26 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

##### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,49477

Error: 9,5939 gl: 12

Patógeno	Concentración	Medias	n	E.E.
F. verticillioides	10 <sup>6</sup>	97,43	3	1,79 A
A. flavus	10 <sup>6</sup>	86,57	3	1,79 B
F. verticillioides	10 <sup>5</sup>	71,10	3	1,79 C
A. flavus	10 <sup>5</sup>	63,07	3	1,79 C
F. verticillioides	10 <sup>4</sup>	42,83	3	1,79 D
A. flavus	10 <sup>4</sup>	29,50	3	1,79 E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Anexo 4. Anava de los resultados del halo de inhibición (mm) de *T. harzianum* sobre de *A. flavus* y *F. verticillioides* en muestras de maíz

#### Análisis de varianza del Halo de inhibición (mm)

#### HI (mm)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HI (mm)	18	0,88	0,84	12,04

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,31	5	1,26	18,31	<0,0001
Patógeno	1,61	1	1,61	23,43	0,0004
Concentración	4,51	2	2,26	32,73	<0,0001
Patógeno*Concentración	0,18	2	0,09	1,32	0,3033
Error	0,83	12	0,07		
Total	7,13	17			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,26960

Error: 0,0689 gl: 12

Patógeno	Medias	n	E.E.
A. flavus	2,48	9	0,09 A
F. verticillioides	1,88	9	0,09 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,40431

Error: 0,0689 gl: 12

Concentración	Medias	n	E.E.
10 <sup>5</sup>	2,73	6	0,11 A
10 <sup>6</sup>	2,30	6	0,11 B
10 <sup>4</sup>	1,52	6	0,11 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,71989

Error: 0,0689 gl: 12

Patógeno	Concentración	Medias	n	E.E.
A. flavus	10 <sup>5</sup>	2,89	3	0,15 A
A. flavus	10 <sup>6</sup>	2,65	3	0,15 A B
F. verticillioides	10 <sup>5</sup>	2,57	3	0,15 A B C
F. verticillioides	10 <sup>6</sup>	1,94	3	0,15 B C
A. flavus	10 <sup>4</sup>	1,90	3	0,15 C
F. verticillioides	10 <sup>4</sup>	1,13	3	0,15 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 5. Anava de los resultados del nivel de Micoparasitismo (0-4) (Bell, 1982) de *T. harzianum* sobre de *A. flavus* y *F. verticillioides* en muestras de maíz

Análisis de la varianza del Micoparasitismo (0-4)

### Micoparasitismo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Micoparasitismo	18	0,70	0,58	16,01

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,28	5	1,26	5,65	0,0066
Patógeno	1,39	1	1,39	6,25	0,0279
Concentración	4,11	2	2,06	9,25	0,0037
Patógeno*Concentración	0,78	2	0,39	1,75	0,2153
Error	2,67	12	0,22		
Total	8,94	17			

### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,48418

Error: 0,2222 gl: 12

Patógeno	Medias	n	E.E.
<i>F. verticillioides</i>	3,22	9	0,16 A
<i>A. flavus</i>	2,67	9	0,16 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,72610

Error: 0,2222 gl: 12

Concentración	Medias	n	E.E.
10 <sup>6</sup>	3,50	6	0,19 A
10 <sup>5</sup>	3,00	6	0,19 A B
10 <sup>4</sup>	2,33	6	0,19 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,29285

Error: 0,2222 gl: 12

Patógeno	Concentración	Medias	n	E.E.
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>6</sup>	4,00	3	0,27 A
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>5</sup>	3,33	3	0,27 A B
<i>A. flavus</i>	10 <sup>6</sup>	3,00	3	0,27 A B
<i>A. flavus</i>	10 <sup>5</sup>	2,67	3	0,27 B
<i>F. verticillioides</i>	10 <sup>4</sup>	2,33	3	0,27 B
<i>A. flavus</i>	10 <sup>4</sup>	2,33	3	0,27 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )



**Figura 1. Crecimientos de *T. harzianum* en medio PDA con antibióticos**  
Elaborado por: La autora, 2026



Figura 2. Distribución de los tratamientos de enfrentamiento entre *T. harzianum* con *A. flavus* y *F. verticillioides* provenientes de muestras de maíz  
Elaborado por: La autora, 2026

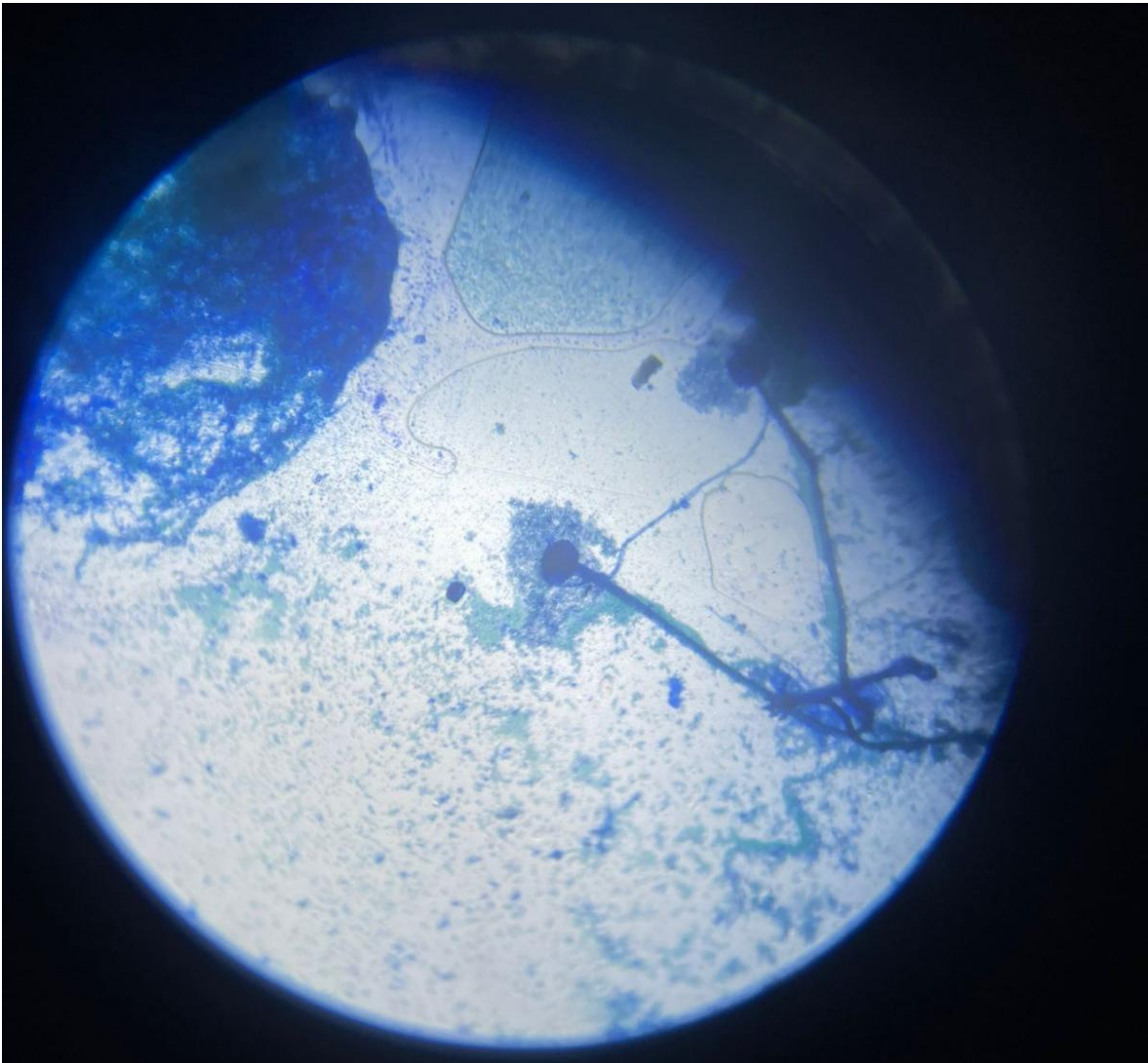


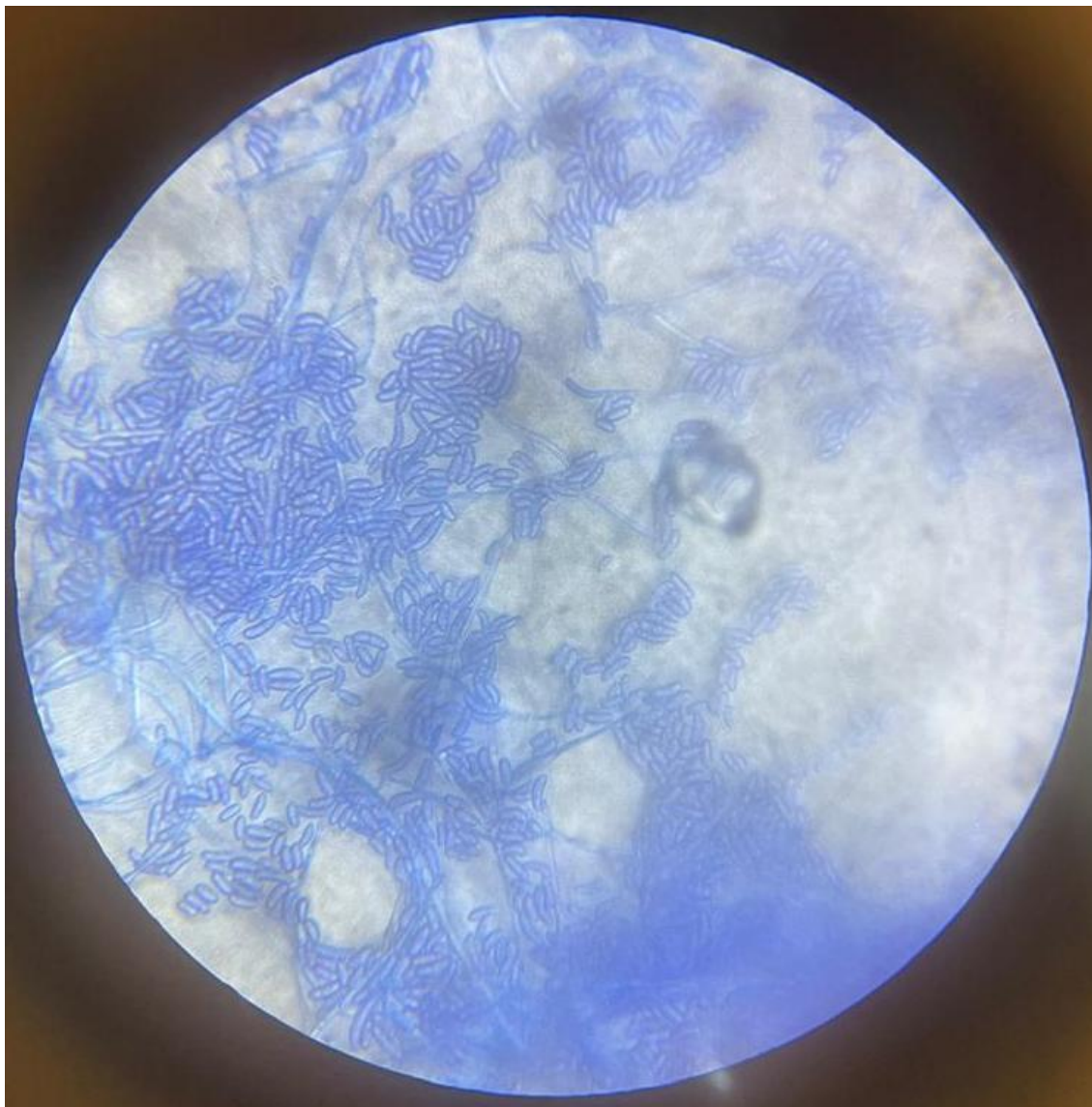
Figura 3. Fotografía de *Aspergillus flavus* con tinción con azul de lactofenol visto con lente ocular de 40x  
Elaborado por: La autora, 2026



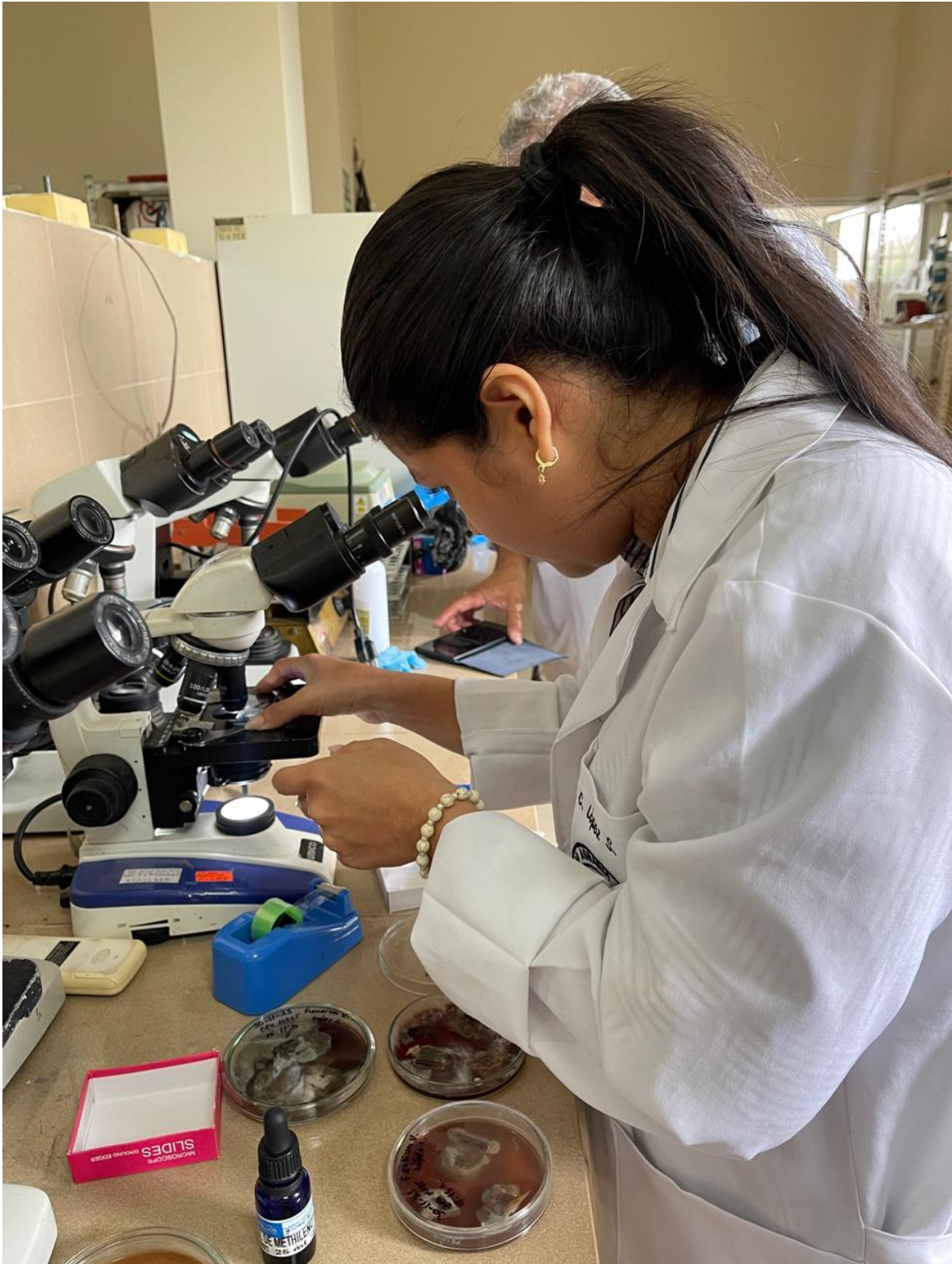
**Figura 4. Realizando las mediciones radiales con calibrador de laboratorio**  
Elaborado por: La autora, 2026



**Figura 5. Midiendo los diámetros miceliarios de los hongos bajo estudio**  
Elaborado por: La autora, 2026



**Figura 6. Vista al microscopio aumento 40x de *Fusarium verticillioides***  
Elaborado por: La autora, 2026



**Figura 7. Preparando los materiales fúngicos para observar en el microscopio**  
Elaborado por: La autora, 2026



**Figura 8. Preparando las muestras del material vegetal (hojas y mazorcas de maíz) para la recolección de los hongos patógenos**  
**Elaborado por: La autora, 2026**



**Figura 9. Esterilizando el medio PDA para inocular los materiales vegetales sospechosos de contener los hongos patógenos  
Elaborado por: La autora, 2026**



**Figura 10. Inoculando los materiales vegetales en medio PDA con antibióticos para el aislamiento de los hongos patógenos provenientes de las muestras de maíz**

**Elaborado por: La autora, 2026**