



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**

**SISTEMA DE POSGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA DEL  
ECUADOR**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN SANIDAD VEGETAL**

**PROYECTO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO A LA  
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN SANIDAD VEGETAL**

**EFECTO ANTAGONISTA DE CEPAS DE TRICHODERMA  
SOBRE AGENTES CAUSALES EN EL CULTIVO DE MAÍZ**

**ING. AGR. MARÍA GERMANIA MENA PONCE**

GUAYAQUIL, ECUADOR

2022

# SISTEMA DE POSTGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR

## CERTIFICACIÓN

El suscrito, Docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Director **CERTIFICO QUE:** he revisado el Trabajo de Titulación, denominada: **EFECTO ANTAGONISTA DE CEPAS DE TRICHODERMA SOBRE AGENTES CAUSALES EN EL CULTIVO DE MAÍZ**, el mismo que ha sido elaborado y presentado por la estudiante, **Ing. María Germania Mena Ponce**; quien cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador para este tipo de estudios.

Atentamente,

---

Ing. Juan Javier Martillo García, MSc.  
Director de Tesis

Guayaquil, 25 de mayo del 2022

**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
SISTEMA DE POSTGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA  
DEL ECUADOR**

**EFFECTO ANTAGONISTA DE CEPAS DE TRICHODERMA SOBRE  
AGENTES CAUSALES EN EL CULTIVO DE MAÍZ.**

**ING. AGR. MARÍA GERMANIA MENA PONCE**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**APROBADA Y PRESENTADA AL CONSEJO DE POSTGRADO  
COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**MAGÍSTER EN SANIDAD VEGETAL**

**TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN**

**Ing. Wilmer Pilalao David, MSc  
PRESIDENTE**

**Ing. Freddy Veliz Piguave, MSc.  
EXAMINADOR PRINCIPAL**

**Ing. Antonio Gonzalo Alava, MSc  
EXAMINADOR PRINCIPAL**

**Ing. Juan Javier Martillo García, MSc.  
EXAMINADOR SUPLENTE**

## **AGRADECIMIENTOS**

Mis más sinceros agradecimientos al personal docente y administrativo de la de la Universidad Agraria del Ecuador, en especial a los docentes que me acompañaron en este proceso de aprendizaje.

A mis familiares, por su incondicional amor y apoyo que me impulsa siempre a seguir adelante.

A mi tutor Juan Javier Martillo por su gentil colaboración en el desarrollo de la presente.

De manera muy especial a mis amigos y compañeros, con los cuales compartí y viví esta etapa importante de mi desarrollo profesional.

A todas y cada una de las personas e instituciones que colaboraron gentilmente de una u otra manera para el desarrollo y cumplimiento de la presente investigación.

## DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación, realizado con mucho esfuerzo y dedicación está dedicado:

A Dios, principalmente por ser el eje principal en la vida de cada ser humano y por brindarme la sabiduría necesaria para seguir cumpliendo mis objetivos.

A la memoria de mi querido y siempre recordado abuelo Sr. Galo Ponce Villegas; por su amor y buenos consejos.

A mí querida Abuela por su amor, abnegación y sacrificio al haber dedicado los mejores años de su vida, colaborando conjuntamente con mi madre para hacer de mí una joven de valores y principios.

A mi madre por su amor y cariño que me ha acompañado de la mano en el transcurso de la vida; apoyándome y aconsejándome en cada paso que doy.

A mi hermano, con cuyo apoyo siempre cuento, fue un pilar fundamental en la realización de este trabajo, por su apoyo físico y emocional.

A los gestores silenciosos de este triunfo mis amigos más cercanos, por brindarme siempre su apoyo para seguir logrando las metas propuesta.

## **RESPONSABILIDAD**

La responsabilidad, derecho de la investigación, resultados, conclusiones y recomendaciones que aparecen en el presente Trabajo de Titulación corresponden exclusivamente al Autor/a y los derechos académicos otorgados a la Universidad Agraria del Ecuador.

Ing. María Germanía Mena

Ponce C. I. 1205432857

## RESUMEN

El presente estudio incluyó trabajo de campo en un cultivo de maíz en el recinto “Las cañitas” en el cantón Urdaneta y una segunda etapa en el laboratorio de fitopatología de la Universidad Agraria del Ecuador. Con el objetivo de evaluar el efecto antagonista de dos cepas de *Trichoderma* (*T. harzianum* y *T. viride*) sobre la roya (*Puccinia sorghi*) y tizón foliar (*Helminthosporium spp.*), agentes causales del cultivo de maíz. En campo, se emplearon para el estudio dos híbridos de maíz (Iniap H-551 y Trueno), por lo que se establecieron 6 tratamientos. Bajo la incidencia natural de los patógenos en estudio, la cepa *T. viride* y el híbrido Trueno demostraron un comportamiento estable. Sin embargo, los resultados no fueron significativos. Los resultados reflejaron que el tratamiento T4 (*T. viride* - Trueno) sobresalió para la variable índice de incidencia para los dos patógenos en estudio. En laboratorio, se valoró la efectividad del micoparásito de las dos cepas de *Trichoderma sp.* frente a los hongos fitopatógenos aislados de las plantas de maíz provenientes del ensayo de campo, a través de pruebas de antagonismo entre el agente micoparásito y el agente fitopatógeno, obteniendo un mayor antagonismo de los micoparásito frente a *Helminthosporium spp.* En el caso de *Puccinia sorghi* se evidenció que únicamente *T. viride* inhibió en gran manera su desarrollo. Por lo que se concluye en que las cepas de *Trichodermas* no ejerce un control eficaz en el manejo de las enfermedades evaluadas, debido a que estas no influyeron en su producción, ni en su rentabilidad.

**Palabras claves:** *Trichoderma*, roya, tizón, control biológico, aislamiento, laboratorio.

## SUMMARY

The present study included field work in a corn crop in "Las cañitas" in the Urdaneta canton and a second stage in the phytopathology laboratory of the Agrarian University of Ecuador. The objective was to evaluate the antagonistic effect of two *Trichoderma* strains (*T. harzianum* and *T. viride*) on rust (*Puccinia sorghi*) and leaf blight (*Helminthosporium spp.*), causal agents of the maize crop. In the field, two corn hybrids (Iniap H-551 and Trueno) were used for the study, so 6 treatments were established. Under the natural incidence of the pathogens under the study, the *T. viride* strain and the hybrid Trueno showed a stable behavior. However, the result weren't significant. The results showed that the T4 treatment (*T. viride* - Trueno) excelled for the incidence index variable for the two pathogens under study. In the laboratory, the effectiveness of the mycoparasite of the two strains of *Trichoderma sp.* against the phytopathogenic fungi isolated from the maize plants from the field trial was evaluated through antagonism tests between the mycoparasite and the phytopathogenic agent, obtaining a greater antagonism of the mycoparasite against *Helminthosporium spp.* In the case of *Puccinia sorghi*, it was shown that only *T. viride* greatly inhibited its development. Therefore, it is conclude that the strains of *Trichodermas* don't exert an effective control in the management of the evaluated diseases, because didn't influence their production nor their profitability.

**Key words:** *Trichoderma*, rust, leaf blight, biological control, isolation, laboratory.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>11</b>
Caracterización del tema .....	12
Planteamiento de la situación problemática.....	13
Justificación e importancia .....	13
Delimitación del problema.....	14
Formulación del problema .....	15
Objetivos.....	15
Hipótesis o idea a defender .....	15
Aporte técnico o conceptual.....	15
Aplicación práctica .....	16
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>17</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>17</b>
1.1 Estado del arte .....	17
1.2 Bases científicas y teóricas .....	19
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>38</b>
<b>ASPECTOS METODOLÓGICOS</b> .....	<b>38</b>
2.1 Métodos .....	38
2.2 Variables .....	40
2.3 Población y muestra.....	46
2.4 Técnicas de recolección de datos .....	46
2.5 Estadística descriptiva e inferencial .....	47
2.6 Diseño experimental .....	48
2.7 Cronograma de actividades .....	50
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>51</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>64</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	<b>67</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA CITADA</b> .....	<b>68</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>77</b>
<b>APÉNDICE</b> .....	<b>98</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Esquema del trabajo experimental de campo .....	77
Anexo 2. Obtención de muestras para ser cultivadas, Félix-Gastelum et al., (2018) .....	78
Anexo 3. Desinfección de muestras de tizón foliar, Félix-Gastelum et al., (2018)	78
Anexo 4. Siembra del corte del tejido, Chingaté et al., (2020) .....	79
Anexo 5. Aislamiento de las cepas del genero Trichoderma, Chingaté et al., (2020).....	80
Anexo 6. Preparación de medios de cultivo .....	81
Anexo 7. Preparación de las muestras para observar hongos microscópicos con Azul de lacto fenol .....	83
Anexo 8. Pruebas antagonistas de las cepas de Trichoderma contra P. sorghi, Chingaté et al., (2020).....	85
Anexo 9. Pruebas antagonistas de las cepas de Trichoderma contra Helminthosporium sp. mediante cultivos duales Howell (2003).....	87

## INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays L.*) duro es un cultivo de gran importancia económica y social, por su contribución tanto en la alimentación humana como la animal mediante la elaboración de alimentos balanceados principalmente. Reportes de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2020) indican que la producción de maíz en América Latina y el Caribe alcanzó un total de 203 890 134 toneladas, que corresponde a 1,41 % de incremento en comparación a la producción del año 2019.

En Ecuador se sembraron alrededor de 278 021 hectáreas en el 2020 y el rendimiento nacional fue de 4,31 t/ha (SIPA, 2021), lo cual representó un 34,2 % de disminución en comparación al año 2019 donde se obtuvo un rendimiento nacional de 6,56 t/ha en una superficie menor de 274 465 hectáreas (MAG, 2019).

El maíz es susceptible a varias enfermedades, que en alguna manera han causado pérdidas severas, como lo son la roya del maíz y el tizón que se expondrán en esta investigación. Por lo que a lo largo de la historia se ha intentado reducir el daño económico y estético causado por ellas, creando enfoques más precisos en los controles de las mismas, resultando estas a menudo severas y únicas, como la aplicación de pesticidas, fumigación de suelos o quemas (Porcuna, 2012).

Abordar los problemas de plagas y enfermedades en los cultivos no es nada fácil y cada vez resulta más difícil esta tarea, puesto que los agentes bióticos antes ya mencionados sufren modificaciones genéticas que hacen que estos sean resistentes y puedan sobrevivir a los plaguicidas. También son favorecidos por las condiciones ambientales, el tipo de suelo y la susceptibilidad de los materiales. Sin embargo, cuando se analizan el conjunto de causas que han podido favorecer el desarrollo o evolución de los mismos, se consideran otras medidas.

Una de las alternativas biológicas para manejar la incidencia de estos agentes causales y de la cual se ha obtenido buenos resultados, es la aplicación de *Trichoderma*, un hongo anaeróbico caracterizado por tener un comportamiento saprófito o parásito. El éxito de las cepas de *Trichoderma* como agentes de control biológico se debe a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir a condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para fortalecer a la planta a nivel radicular, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y eficiencia en promover el crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa (Hidalgo y Moran, 2020).

### **Caracterización del tema**

Se han desarrollado diferentes métodos de control para manejar los agentes bióticos ya mencionados que representan un alto impacto económico, que involucran principalmente la aplicación de pesticidas o plaguicidas que resultan altamente tóxicos, no solo para los seres humanos sino también para el medio ambiente. En la actualidad se dispone de alternativas biológicas para el manejo de las mismas, destacando la habilidad de los *Trichodermas* que sin ser novedosa se viene estudiando desde hace 20 años.

El uso de cepas de este género en el biocontrol de hongos y nematodos, ya sea por ataque enzimático directo sobre las masas de huevos y estados juveniles y adultos, o por estimulación hormonal de la defensa sistémica de las plantas en muy pocos casos no ha tenido éxito. Sin embargo, en muchos casos la aplicación de este hongo ha contribuido como un factor de contención que debe ser repetido a ciertos intervalos de uno a varios años.

La tarea de estudiar las diferentes especies de este género para su eficacia en determinados agentes causales no es nada fácil, por el contrario, es ardua y prolongada, aunque ya se han obtenido notables avances, todavía resta mucho trabajo para acercarse a la meta final.

## **Planteamiento de la situación problemática**

El cultivo de maíz es afectado por varias enfermedades, entre estas: curvularia, mancha de asfalto, tizón, cinta roja, carbón común y roya estas dos últimas causadas por los hongos *Helminthosporium sp.* y *Puccinia sorghi*, estas enfermedades causan lesiones en hojas, tallos y frutos, lo que contribuye en gran manera a la reducción de los rendimientos del cultivo (INIAP, 2020).

Existe un bajo rendimiento en la producción de maíz duro en Ecuador, una de las razones es por la afección de enfermedades. Por lo que existe un antecedente de alto índice de toneladas importadas en el periodo 2004 - 2021. De acuerdo con los datos del SIPA (2020) se registró 0 tm exportadas y 49 254 tm importadas, para este año 2021 (Enero - Febrero) 0 tm exportadas y 26 870 tm importadas reflejándose un balance comercial negativo de - 100,0% (SIPA, 2021). Por consiguiente, es de mucha importancia desarrollar y evaluar métodos de control biológico mediante cepas de *Trichoderma*, con el objetivo de reducir el daño económico y estético causado por las enfermedades e incrementar los niveles de producción.

En la presente investigación se intentará manejar los agentes causales ya antes mencionados de las enfermedades roya y tizón, mediante la aplicación de dos cepas de *Trichoderma*, ya que al ser un hongo antagonista tiene la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés (De Costo y Erabadupitiya 2005). La investigación se la realizará en condiciones de laboratorio y luego en campo, para determinar la eficacia del mismo en el cultivo.

## **Justificación e importancia**

Los agentes infecciosos (bacterias, hongos, virus) afectan en gran medida el desarrollo y potencial genético de los diferentes cultivos, reduciendo en gran manera los rendimientos. El control de los mismos se ha basado tradicionalmente en la aplicación de plaguicidas, los cuales muchas veces no solo actúan sobre el agente en estudios, sino que afectan a otros agentes muchas veces beneficiosos y

han contribuido al desarrollo de la inmuno – resistencia de estos agentes causales de enfermedades. Por tanto, surge la importancia de tomar y desarrollar vías de solución que estén siempre orientadas a la conservación ambiental, ya que es más sencillo prevenir proactivamente la aparición de una resistencia que recuperar la susceptibilidad de forma reactiva.

El potencial productivo del cultivo del maíz (*Zea mays*), ha aumentado cada año. Sin embargo, en varios países el rendimiento medio está todavía muy por debajo de lo que se puede producir, en gran parte por la incidencia de enfermedades. La roya y tizón son enfermedades comunes que atacan al cultivo de maíz, en el mercado disponen de tratamientos químicos para su manejo como son: Mezcla de estrobirulinas y triazoles; tebuconazole; epoxiconazole; mancozeb o propiconazole (INTA, 2010).

En los últimos años se ha dado un gran enfoque a optar por un manejo integrado de plagas y enfermedades con medidas preventivas junto con tratamientos biológicos. Implementar cepas de *Trichoderma* en los cultivos para combatir las enfermedades proporciona una de las alternativas más útiles y prometedoras en el amplio campo de control de enfermedades en plantas, evitando así los métodos comunes como las aspersiones, tratamiento de semilla, cirugía vegetal y demás que muchas veces resultan costosos e ineficaces, he aquí la importancia de estudiar, desarrollar e implementar métodos de control biológico basados en cepas de *Trichoderma* que contrarresten los métodos de control que merman las utilidades y que ahora son indispensables.

### **Delimitación del problema**

Esta investigación se realizó en el recinto “Las Cañitas”, cantón Urdaneta, provincia de Los Ríos, con una duración de 4 meses aproximadamente.

## **Formulación del problema**

¿Cómo manejar agentes causales en el cultivo de maíz mediante la aplicación de cepas de *Trichoderma spp.*?

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

- Evaluar el efecto antagonista de dos cepas de *Trichoderma* sobre los principales agentes causales de roya y tizón en el cultivo de maíz.

### **Objetivos específicos**

- Evaluar la efectividad de *T. harzianum* y *T. viride* sobre roya y tizón en condiciones de laboratorio.
- Verificar el efecto antagonista de *T. harzianum* y *T. viride* en los híbridos de maíz INIAP H-551 y Trueno, a través de la incidencia, la severidad y la eficacia en el control de roya y tizón, en la zona de Los Ríos.
- Valorar el efecto antagonista de *T. harzianum* y *T. viride* en la producción del maíz mediante el peso de los granos y el rendimiento.
- Analizar económicamente los tratamientos en base al rendimiento y costo de producción.

### **Hipótesis o idea a defender**

Al menos una de las cepas de *Trichoderma* evita la presencia de los agentes causales de la investigación.

### **Aporte técnico o conceptual**

Con la presente se intenta proporcionar información sobre una de las alternativas más prometedoras para el control de agentes causales en maíz, a saber la aplicación de cepas de *Trichoderma*, la misma que puede ser desarrollada

en diferentes enfermedades y cultivos con el fin de reducir costos de producción y contribuir a la conservación del medio ambiente.

### **Aplicación práctica**

El control de plagas y enfermedades representa un rubro importante en los costos de producción agrícola, por lo que desarrollar estrategias que minimicen tales costos representa un factor importante en la economía del país. Una posible alternativa biológica son los hongos antagonistas *Trichodermas*, para reducir en gran medida los ataques de los agentes infecciosos.

Por lo que esta investigación busca evaluar la actividad antagónica de dos cepas de *Trichoderma*, a fin de que los controles de plagas no representen un rubro significativo en los costos de producción y a la vez reducir el impacto ambiental que ha conllevado la aplicación de pesticidas. Con la finalidad de que los agricultores se abran a la posibilidad de nuevas alternativas que favorezcan a la investigación.

Los resultados de la presente se expondrán sea estos favorable, desfavorable o nulo. Por lo que se la presentará como una alternativa para que los estudiantes, profesionales y la comunidad en general puedan obtener una guía o ayuda en la investigación académica sobre la misma.

# CAPÍTULO 1

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 Estado del arte

Sloka, Shashi y Mohammad (2020) realizaron un estudio en la Universidad de Agricultura, Tecnología y Ciencias de Prayagraj, India. Con el objeto de determinar el comportamiento de *T. viride* junto con algunos aceites esenciales para el control del tizón *Exserohilum turcicum*, *Helminthosporium turcicum* en maíz. En condiciones de campo los tratamientos fueron: aceite de neem, aceite de eucalipto, aceite de clavo los tres aceites acompañados con *T. viride*. Los resultados mostraron un tratamiento combinado de aceite de clavo + *Trichoderma viride* al 5% seguido por aceite de Neem + *Trichoderma viride* @ 5% resultaron ser los más efectivos en la reducción de la enfermedad, a saber; aceite de clavo + *Trichoderma viride* @ 5% (17,99%) seguido de aceite de Neem + *Trichoderma viride* al 5% (19,74%).

De igual manera, Kumar et al., (2021) realizaron una investigación en el departamento de patología de plantas de Bihar, India. Con el objetivo de evaluar la acción fúngica de fungicidas, botánicos y bioagentes contra el tizón del maíz, causado por *Helminthosporium maydis*. Donde se evaluaron 9 fungicidas (5 sistémicos y 4 no sistémicos), 10 botánicos y 10 aislados de *Trichodermas*, todos los tratamientos bajo condiciones de laboratorio. Donde concluyeron en que todos los aislados de *Trichodermas* redujeron en gran manera el crecimiento micelial del tizón del maíz.

Además, Chingaté et al., (2020) ejecutaron un ensayo en el laboratorio de microbiología la Universidad de Cundinamarca, Colombia. Con el objetivo de estudiar y valorar la efectividad del micoparásito de *Trichoderma sp.* frente a *Puccinia sorghi*; *Cladosporium sp.*; *Alternaria sp* y *Verticillium sp.* aislados de las plantas de maíz. Se reflejó una incidencia y severidad más alta para la roya

(incidencia: 100 %; severidad: 100 %), por lo que en el cultivo de maíz se destacó como el agente causal que se presentó en todas las plantas evaluadas. Para lo cual, mediante pruebas de antagonismo entre el agente micoparásito y el agente fitopatógeno, obtuvieron como resultado que *Trichoderma sp.* Reflejo controles que fueron de 20 a 49%; demostrando una mayor eficacia frente a *Verticillium* y los demás agentes en un 49%, presentando antagonismo por competencia y antibiosis. En el caso de roya no funcionó el experimento.

Igualmente, Wang et al., (2015) llevo a cabo un ensayo sobre el control biológico del tizón de la hoja del maíz del sur por *Trichoderma atroviride* en la Universidad Jiao Tong de Shanghai, China. Donde determino que *T. atroviride* SG3403 podía causar la muerte de la hifa de *Cochliobolus heterostrophus* en las placas. La pulverización de la suspensión de conidios de *T. atroviride* sobre las hojas de plántulas de maíz protegió a la misma de la infección por el patógeno. El efecto de biocontrol se prolongó durante 30 días en el campo. En las hojas de maíz tratadas con *T. atroviride*, las actividades enzimáticas de la fenilalanina amoniaco liasa (PAL) y el superóxido dismutasa (SOD) alcanzaron el nivel más alto a las 24 h, la actividad enzimática de la catalasa (CAT) alcanzó el máximo a las 36 h después de la inoculación del patógeno *C. heterostrophus* raza O. Concluyendo en que *T. atroviride* indujo la expresión del gen de defensa del maíz contra la infección por patógenos.

Por otra parte, Tavera et al., (2017) desarrollaron una investigación en el invernadero del laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, México. Con la finalidad de analizar el efecto de 3 dosis de *T. harzianum* en *Z. mays* al 50% del fertilizante nitrogenado (FN). El experimento se realizó con 5 tratamientos, mediante las variables-respuesta fenología: Altura de planta (AP) y longitud radical (LR) y biomasa: Peso fresco y seco aéreo/radical (PFA/PFR)/ (PSA/PSR) a plántula y floración. Los resultados que obtuvieron son los siguientes: Con el inóculo de *T. harzianum* en *Z. mays* la germinación alcanzo un 92% estadísticamente diferente al 81% en *Z. mays* sin inocular y al 100% de FN o control relativo (CR). A plántula

*Z. mays* con *T. harzianum* a la dosis 40 g/100 g de semilla registró un PSA de 0.32 g, un PSR de 0.25 g estadísticamente diferentes a los 0.21 g de PSA, 0.19 g de PSR de *Z. mays* con el FN al 100% o CR. A floración con 40 g de *T. harzianum*/100 g de semilla reflejó 1.98 g de PSA y 1.29 g de PSR: Estadísticamente diferentes a los 1.65g de PSA y 1.00 g PSR de *Z. mays* con el FN al 100% o CR.

También, Jie et al., (2014) efectuó una investigación sobre mecanismo y aplicación de *Trichoderma spp.* en el control biológico de las enfermedades de maíz, en la Universidad Jiao Tong de Shanghai, China. Donde concluyeron en que de los once biofertilizantes producidos a partir de *Trichoderma spp.*, solo dos de estos pueden aplicarse en cultivos de maíz. Siendo altamente efectivos para controlar la pudrición del tallo y el tizón de la vaina; las eficacias de control de los gránulos variaron del 65% al 87% en condiciones de campo. Un *Trichoderma* pudo ofrecer un control del tizón de la hoja del maíz del sur en aproximadamente un 50% a 60%. Concluyendo en que la transducción a larga distancia de la respuesta de defensa del maíz desde la raíz hasta la hoja mediada por *Trichoderma spp.* sería un nuevo foco de estudios futuros.

Sucaticona (2018) realiza una investigación sobre la actividad antagónica de *Trichoderma spp* y *Lecanicillium spp* frente a la roya amarilla del café (*Hemileia vastatrix*) en condiciones de laboratorio, en la Universidad Nacional del Altiplano, Perú. Donde observó comportamientos de antagonismo de *Trichoderma* sobre la roya, debido a una invasión del micelio del *Trichoderma* sobre el patógeno en la lesión de la hoja. Describiendo que el ataque de *Trichoderma* sobre *H. vastatrix* en las hojas de un cafetal puede ser diferente al parasitismo clásico.

## **1.2 Bases científicas y teóricas**

### **1.2.1 Importancia del cultivo de maíz**

El maíz es un cultivo de suma importancia en Ecuador debido al significativo rol que desempeña en la seguridad alimentaria de la población. El maíz amarillo

duro, está destinado en un 80% a la producción de alimento balanceado, se produce mayormente en la región litoral y es el primer cultivo transitorio en importancia en relación con la superficie sembrada (300.000 ha). Su producción y rendimiento ha aumentado sostenidamente en los últimos 20 años, debido al uso de semilla certificada y a las tecnologías de manejo que las compañías privadas, el Ministerio de Agricultura y Ganadería y el Iniap han transferido a los productores (Zambrano et al., 2019).

En América Latina y el Caribe, se producen más de 220 millones de toneladas de maíz, siendo exportado y consumido por todo el mundo. La importancia del cultivo radica en el valor monetario que representa tanto para Ecuador como para los países vecinos, como también es importante a la hora de preparar alimentos como harinas, aceites, tortillas, bocaditos, entre otros. A la vez en la producción de aceite de cocina, las fibras de su hoja son usadas para tejer camisas, bolsas o canastas de compras, maletas, sombreros. En la actualidad, en Ecuador, se cultiva en diferentes ecosistemas, tanto en la costa, como en las zonas andinas de la sierra, siendo así el maíz uno de los cultivos más importantes del país (Farmagro S.A, 2015).

### **1.2.2 Taxonomía**

Según ISQUISA (2007), la taxonomía del maíz es la siguiente:

Reino: Plantae (vegetal)

División: Traqueofita

Clase: Angiospermae

Subclase: Monocotiledónea

Orden: Glumerales

Familia: Poaceae (gramíneas)

Género: *Zea*

Especie: *mays* (L)

### **1.2.3 Origen**

El cultivo del maíz tuvo su origen en América Central, especialmente en México, de donde se difundió hacia el norte hasta Canadá y hacia el sur hasta Argentina. La evidencia más antigua de su origen, ha sido encontrada por arqueólogos en el valle de Tehuacán (México) pero es posible que hubiese otros centros secundarios de origen en América. Este cereal era considerado un artículo esencial en las civilizaciones maya y azteca y tuvo un importante papel en sus creencias religiosas, festividades y nutrición; ambos pueblos incluso afirmaban que la carne y la sangre estaban formadas por maíz (Peretti, 2018).

A finales del siglo XV, tras el descubrimiento del continente americano por Cristóbal Colón, el maíz fue introducido en Europa a través de España. Difundiéndose así por los lugares de clima más cálido del Mediterráneo y posteriormente a Europa septentrional. Con años de estudio Mangelsdorf y Reeves, 1939 hicieron notar que el maíz podía ser cultivado en todas las regiones del mundo aptas para actividades agrícolas y que se recoge en algún lugar del planeta todos los meses del año. Crece desde los 58° de latitud norte en el Canadá y Rusia hasta los 40° de latitud sur en el hemisferio meridional. Se cultiva en regiones por debajo del nivel del mar en la llanura del Caspio y a más de 4 000 metros de altura en los Andes peruanos (Caballero et al., 2019).

### **1.2.4 Exigencias edafoclimáticas del cultivo de maíz**

El maíz duro requiere de temperaturas que oscilen entre 25 y 30°C, además exigente bastante la luz solar. En climas con humedades altas su producción es relativamente baja y con temperaturas mayores a los 30°C pueden ocurrir problemas ya que habría una mala absorción de nutrientes, minerales y agua (Sandoval, 2018).

#### **1.2.4.1 Suelo**

El maíz tiene la capacidad de adaptarse a una amplia variedad de suelos, pero los más idóneos para este cultivo son los de textura media (francos), fértiles,

bien drenados, profundos y con elevada capacidad de retención para el agua. El maíz, en general, crece bien en suelos con pH entre 5.5 y 7.8 fuera de estos límites suele aumentar o disminuir la disponibilidad de ciertos elementos y se produce toxicidad o carencia (Deras, 2015).

#### **1.2.4.2 Fertilización**

La fertilización es un factor indispensable debido a la poca fertilidad de los suelos para obtener una buena producción y calidad que es lo que se espera en la actualidad, por lo que hacer un uso adecuado de ellos es importante para una agricultura sostenible (Taco et al., 2017). Sin el uso de los fertilizantes, los rendimientos serían cada vez más bajos debido al empobrecimiento paulatino del suelo por la extracción de los nutrientes en las cosechas.

OECD (2003) recomienda un abonado de suelo rico en Potasio (K) y Fósforo (P). También un aporte de nitrógeno (N) en mayor cantidad principalmente en época de crecimiento vegetativo. La fertilización se efectúa según las características de la zona de plantación, basado en un análisis de suelo, por lo que no se sigue una fertilización rigurosa en todas las zonas por igual. No obstante se aplica un abonado muy flojo en la primera época de desarrollo de la planta hasta que está presente un número de 6 a 8 hojas. Es importante realizar una fertilización ajustándose a las necesidades presentadas por la planta de una forma controlada e inteligente (García Sepúlveda et al., 2019).

#### **1.2.4.3 Raíz**

La raíz del maíz presenta una estructura radicular compleja. En primera instancia, las raíces se forman endógenamente en el embrión, consiste en la raíz primaria y las raíces escutelares que aparecen durante la germinación. Las raíces escutelares seminales son una parte importante para la captación inicial de agua, nutrientes y para el establecimiento de la plántula en el suelo. Las raíces post-embriónicas se forman después de la germinación y crecen hasta formar un sistema radicular con muchas ramificaciones en las plantas adultas. El sistema

radicular post-embionario está formado por raíces de corona o nodales (RC) y de raíces aéreas (RA) que surgen tardíamente en los nodos del tallo (Torres, 2021).

Las raíces escutelares y las raíces de corona forman la estructura de anclaje de la raíz, mientras que las raíces laterales se encargan de aumentar el área de absorción en el suelo. La raíz primaria aparece después de la germinación y se hace visible cuando rompe la coleorriza, mientras que las raíces escutelares emergen del nodo escutelar (Singh et al., 2010).

#### **1.2.4.4 Agua**

La falta de agua es el factor más limitante en la producción de maíz. Este fenómeno se lo conoce como estrés hídrico o sequía y se presenta durante las primeras etapas (15 a 30 días) del cultivo puede ocasionar pérdidas de plantas jóvenes, reduciendo así la densidad poblacional o estancar su crecimiento. En general, el maíz necesita alrededor de 500 a 700 mm de precipitación bien distribuida durante el ciclo del cultivo. El maíz es muy sensible también al aniego o encharcamiento. Desde la siembra, hasta aproximadamente los 15-20 días, el aniego por más de 24 horas puede dañar el cultivo porque el meristemo está debajo de la superficie del suelo en esos momentos (Yanza, 2020).

#### **1.2.5 Principales enfermedades del cultivo de maíz**

El maíz está expuesto a muchas enfermedades desde el momento que se lo siembra hasta la cosecha, pero en la actualidad disponemos de variedades que presentan resistencia a ciertas enfermedades de mayor importancia debido al fitomejoramiento. Sin embargo, existen factores que van a favorecer el ataque de enfermedades como son: factores climáticos, labores del terreno, rotación de cultivos, y control fitosanitario (Camarillo, 2018).

##### **1.2.5.1 Mancha de café (*Physoderma maydis*)**

Prolifera en áreas de alta precipitación y altas temperaturas, atacando las hojas, las vainas, los tallos y, en ocasiones, las brácteas externas. Los primeros

síntomas aparecen en la lámina foliar con presencia de pequeñas manchas cloróticas dispuestas en forma de bandas alternas de tejido sano. Las manchas en la nervadura central son circulares, de color café oscuro, mientras que las lesiones en las láminas son sólo manchas cloróticas. Los nudos y los entrenudos muestran también lesiones de color café, ocasionan la pudrición del tallo y acame (Stoetzer y Robertson, 2018).

#### **1.2.5.2 Tizón Foliar (*Exserohilum turcicum*; *Helminthosporium turcicum*)**

El tizón de la hoja del maíz es una enfermedad importante de las hojas del maíz alrededor del mundo y se está extendiendo a nuevas áreas, como Alemania. *Exserohilum turcicum* y *Helminthosporium turcicum*, agentes causales, infectan y coloniza el tejido foliar y producen lesiones necróticas. El control de estos patógenos se ha basado en la aplicación de fungicidas y cultivares resistentes que muestran resistencia monogénica. Sin embargo, la expresión de los síntomas y los mecanismos de resistencia difieren en plantas que portan diferentes genes de resistencia (Navarro et al., 2020).

Las pérdidas de rendimiento por esta enfermedad en híbridos susceptibles pueden alcanzar hasta un 44% con niveles de gravedad de la enfermedad altos entre 52 y 100% durante la etapa de abolladura completa. Las pérdidas dependerán del nivel de resistencia del hospedador, gravedad de la enfermedad, etapa de crecimiento fenológico de la planta durante la infección y la posición de las hojas infectadas. Además, el patógeno es capaz de sobrevivir como clamidosporas en los desechos vegetales y el inóculo puede dispersarse por la lluvia y el viento. En condiciones de alta humedad, los conidios pueden germinar después de una hora en un amplio rango de temperatura (20–30 ° C) (Weems y Bradley, 2018).

Es favorecido por condiciones de alta humedad ambiental y temperaturas que fluctúan entre 18 a 27 ° C. Consiste en la aparición de manchas pequeñas, ligeramente ovaladas y acuosas que se producen en las hojas. Estas luego se

transforman en zonas necróticas alargadas. Los síntomas aparecen generalmente en las hojas inferiores aproximadamente una semana después de la infección. La longitud puede variar de 2,5 a 15,0 cm, y son mayormente de color cenizo, a veces verde-grisáceo o pardas. La expresión de los síntomas puede variar dependiendo del genotipo (Nuñez et al., 2019).

#### **1.2.5.3 Mildiu Velloso (*Sclerophthora rayssia*; *Peronosclerospora sacchari*)**

Conocido como “cenicillas”: Prolifera en áreas cálidas y húmedas, la expresión de los síntomas va a depender de la edad de la planta, la especie del patógeno y el medio ambiente, observándose un bandeo clorótico en las hojas y enanismo. El mildiú velloso presenta un crecimiento velloso (conidios) sobre o bajo la superficie de las hojas, ocurriendo a primeras horas de la mañana, este induce también a la mal formación de la espiga lo cual obstruye la producción de polen y formación de mazorcas (Loza, 2017).

#### **1.2.5.4 Complejo de Mancha de Asfalto (*Phyllachora maydis*; *Monographella maydis*)**

Esta enfermedad se presenta generalmente después de floración, sin embargo, bajo condiciones de siembras continuas se presenta en prefloración. Aunque se considera una enfermedad endémica, su severidad y facilidad de diseminación la ubican como una enfermedad muy agresiva, y si los factores climatológicos la favorecen puede ocasionar muerte prematura de la hoja y quemar el cultivo en corto tiempo. Los síntomas iniciales son pequeños puntos negros ligeramente elevados, que se distribuyen por toda la lámina foliar, posteriormente y de manera agresiva la infección puede diseminarse a las hojas superiores y a otras plantas. Finalmente, las lesiones se unen para formar grandes áreas necróticas. Si la enfermedad aparece en etapas tempranas al llenado, las mazorcas pierden peso y los granos se observan chupados, flácidos y flojos (Peñaherrera, 2011).

#### **1.2.5.5 Curvularia (*Curvularia sp.*)**

Se caracteriza por la presencia de manchas cloróticas muy pronunciadas. Estas manchas por lo general son circulares u ovaladas y pequeñas, de diámetro entre 0,8 - 3,0 mm (promedio 1,8); al inicio son de un color verde claro, de apariencia aceitosa; luego se destaca, en su centro, una pequeña área necrótica de un color castaño claro la cual, al aumentar de tamaño, se torna de un color grisáceo-blanquecino en su porción central, con un borde rojizo, mientras que, alrededor de toda la mancha, permanece un halo aceitoso, translúcido, apreciado especialmente cuando se observa contra la luz (INIAP, 2018).

#### **1.2.5.6 Carbón Común (*Ustilago maydis*)**

El hongo ataca las mazorcas, los tallos, las hojas y las espigas. Se presentan unas agallas blancas cerradas muy conspicuas que sustituyen a los granos individuales. Con el tiempo estas se rompen y liberan masas negras de esporas que infectarán las plantas de maíz en el siguiente ciclo. La enfermedad causa daños más graves en plantas jóvenes en estado activo de crecimiento pudiéndole producir enanismo o matarlas. El carbón común se distingue fácilmente del carbón de la espiga por la ausencia de tejidos vasculares que aparecen en forma de fibras en las mazorcas infectadas por este patógeno (Lanver et al., 2017).

#### **1.2.5.7 Roya (*Puccinia sorghi*)**

Las especies del género fúngico *Puccinia* causan enfermedades denominada roya; se encuentra entre los patógenos de cultivos más importantes. El hongo biotrófico obligado *Puccinia sorghi*, agente causal de la roya común del maíz, es responsable de pérdidas significativas en el rendimiento de maíz en las regiones templadas productoras de este cultivo en todo el mundo (Kim et al., 2021).

El maíz es afectado por varias especies de royas, siendo la más frecuente la roya común causada por *Puccinia sorghi* Schwein. Esta se manifiesta particularmente en las hojas, aunque puede afectar también el tallo y la envoltura de la mazorca. Se presenta en forma de pústulas circulares de color pardo o

amarillentas, esparcidas sobre las hojas y cuando esporulan se tornan de color café, rojizas o casi negras. Las pústulas son erupentes en su fase final y segregan un polvillo de color ladrillo o café. La infección generalmente inicia en las hojas bajas. La especie *P. sorghi* Schwein es favorecida por temperaturas entre los 16 a 23° C y alta humedad relativa. La especie *P. polysora* Underw, es favorecida por temperaturas cálidas (27° C) y alta humedad relativa (Ferreira y Miranda, 2020).

La roya común se presenta en todas las áreas de producción de maíz, coexistiendo con el cultivo. Es más predominante en elevaciones más altas y muy poco frecuente en temperaturas bajas, pero también se puede encontrar en áreas tropicales. Sus pústulas aparecen en la superficie tanto superior como inferior de las hojas y se caracterizan por presentar una forma alargada, de color marrón a marrón rojizo. Su distribución es de tropical a subtropical; sin embargo, si las condiciones ambientales les favorecen, puede extenderse a regiones templadas. Su uredia de forma redonda de color rojo anaranjado a marrón claro aparece en la superficie superior de la hoja (Ramirez et al., 2017).

### **1.2.6 Control biológico de agentes causales**

En los últimos años se ha despertado un gran interés por el control biológico de patógenos, debido en gran parte, a la creciente preocupación de la sociedad acerca del uso de pesticidas. Los gobiernos de numerosos países, así como los agricultores y los consumidores, son cada día más conscientes de la problemática respecto a la influencia que tienen los productos químicos en la inocuidad de los alimentos; en el ambiente; recursos naturales y biodiversidad.

En este aspecto, los llamados microorganismos antagonistas como el hongo *Trichoderma spp.*, representan una alternativa segura para el control de ciertos patógenos, ya que actúan a través de diversos mecanismos que incluyen la competencia por los nutrientes, el hiperparasitismo y la antibiosis de los patógenos. Se trata pues, de hongos benéficos que impiden el desarrollo de los hongos o nematodos causantes de enfermedades.

Este hongo *Trichoderma spp.* tiene la capacidad de tomar los nutrientes de los hongos patógenos; compite con ellos o los degrada. También se alimenta de los materiales orgánicos, degradándolos. Por ello, las incorporaciones de materia orgánica y compost resultan útiles, ya que favorecen su establecimiento en el suelo. El hongo requiere de humedad para poder germinar. Además, posee una velocidad bastante alta de crecimiento, por lo que es capaz de establecerse en el suelo y controlar enfermedades que afectan a los cultivos (Chiriboga, Gómez, y Garcés, 2015).

### **1.2.7 Trichoderma spp.**

Según NCBI (2010) *Trichoderma*, se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

Súper reino: Eucariota

Reino: Fungi

Filum: Ascomycota

Subfilum: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

Además, de acuerdo con la base de datos de UBIO, el género *Trichoderma* contiene 149 especies reportadas hasta el momento, entre las que se encuentran *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* (Vasquez, 2010).

El género *Trichoderma* fue identificado por Persoon en 1794. Posteriormente, Rifai hizo el primer agrupamiento en especies agregadas que se utilizan hasta la actualidad y revisó el género *Trichoderma* proponiendo nueve especies agregadas: *Trichoderma piluliferum* Webster & Rifai, *Trichoderma polysporum* (Link ex Pers) Rifai, *Trichoderma hamatum* (Bon) Bain, *Trichoderma koningii* Rifai, *Trichoderma aureoviride* Rifai, *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Trichoderma pseudokoningii* Rifai y *Trichoderma viride* Pers ex S. F Gray. Estas especies se identificaron teniendo en cuenta diferencias morfológicas y fisiológicas, como tipo de ramificación del conidióforo, forma del conidio, crecimiento y coloración de la colonia, entre otras (Cai y Druzhinina, 2021).

La acción de *Trichoderma* como micoparásito natural se demostró por Weindling en 1932, y su implementación en experimentos de control biológico empezó en 1970, en donde fueron más los estudios de campo para su uso en cultivos de hortalizas y ornamentales (Chet, 1990) (Villar et al., 2019). Estos hongos son saprofitos del suelo y la madera, de crecimiento muy rápido. Las especies de este género se encuentran ampliamente distribuidas por todas las latitudes, y se presentan naturalmente en diferentes ambientes, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición (Villar et al., 2019).

#### **1.2.7.1 Capacidad antagonista y estimuladora**

La capacidad antagonista de *Trichodermas* depende tanto de la especificidad de la cepa como de su modo de acción; es decir puede que un aislamiento sea más eficiente para el control de un patógeno que otro; por tal motivo, la especificidad debe ser evaluada (Andrade-Hoyos et al., 2019). Esto demostró que es imprescindible la selección de aislamientos promisorios para el control de un agente plaga, que incluye el estudio de los mecanismos relacionados con dicho control.

Entre los que se encuentran: Micoparasitismo, antibiosis, competencia (por espacio y nutrientes), desactivación de enzimas de los patógenos y otros (Acurio Vásconez et al., 2017). Unos años más tarde Harman (2006), informó nuevos mecanismos con los cuales *Trichoderma* ejerce su acción como antagonista y colonizador de las raíces:

- Aceleración del desarrollo del sistema radicular que posibilita la tolerancia al estrés por parte de la planta.
- Solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos.
- Estimulación del crecimiento vegetal.
- Inducción de resistencia.

#### **1.2.7.1.1 Competencia**

Un factor que influye para que exista competencia entre organismos vivos es la escasez o limitación de un requerimiento (espacio y/o nutrientes), por lo que se define a la competencia como la acción desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando su utilización reduzca la cantidad necesaria para los demás (Martínez et al., 2013). *Trichoderma* biológicamente está preparado para una colonización agresiva de los nutrientes disponibles en el suelo y para sobrevivir en forma de clamidosporas o conidios. Debido a su capacidad de crecimiento a rápida velocidad, esporulación abundante y rango amplio de sustratos sobre los que puede desarrollarse hace que sea muy eficiente como saprofito y cuando se usa como agente de control biológico (Romero-Rosales et al., 2021).

Sivan y Chet, 1989 citados por Martínez et al., (2013) plantean que la competencia por nutrientes de *Trichoderma*, se da principalmente por carbono, nitrato y hierro. La competencia evaluada bajo condiciones *in vitro* (cultivo dual), se da principalmente por espacio y en ella intervienen la velocidad de crecimiento de las cepas del antagonista y factores externos como tipo de sustrato, pH y temperatura, entre otros (Vanegas et al., 2019).

### **1.2.7.1.2 Micoparasitismo**

En el proceso de *Trichoderma* de interacción antagonista-patógeno, ocurre en cuatro etapas: Crecimiento quimiotrófico donde *Trichoderma* puede detectar a distancia a sus posibles hospedantes, Reconocimiento: Existe una alta especificidad del antagonista por su sustrato, Adhesión y enrollamiento: Ocurre por la asociación entre una azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno y Actividad lítica: Producción de enzimas líticas como quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas de *Trichoderma*. El micoparasitismo concluye con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante, mostrando síntomas de disgregación (Samaniego-Fernández et al., 2018).

Como mecanismo de acción el *Trichoderma*, forma una capa protectora en las raíces, creando una simbiosis, en donde se alimenta de los exudados de las raíces y a su vez estas son protegidas por el hongo, al mismo tiempo que reduce o elimina las fuentes de alimento del patógeno. El *Trichoderma* actúa como una barrera protectora para prevenir la entrada de patógenos a las raíces. Presentan una acción de hiperparasitismo, la cual consiste en parasitar a otro organismo de su misma naturaleza, es decir, lo utiliza como alimento y lo destruye. Compite por espacio y nutrientes con los hongos patógenos (López et al., 2010).

### **1.2.7.2 Producción de *Trichoderma spp.***

Existen cuatro formas fundamentales de producción de *Trichodermas*: cultivos bifásicos, fermentación en estado sólido, fermentación líquida estática y líquida agitada. Comúnmente, para la reproducción masiva de las cepas promisorias de *Trichoderma spp.* se utilizan métodos bifásicos, líquido-líquido y líquido-sólido. La bifásica es la más rápida, porque se produce el inóculo por fermentación líquida; que luego se usa para fermentar el sustrato sólido; además, está reportado que en medio líquido se producen sustancias promotoras del crecimiento de la planta como ácido indolacético, ácido giberélico, citoquininas y vitaminas (Pineda et al., 2017).

Una vez realizada su multiplicación en laboratorio se recomienda aplicarlo tan pronto como se adquiere. De no ser posible, debe permanecer en condiciones de refrigeración a temperaturas entre 1° y 10° C prolongando su almacenamiento hasta cuatro meses. Con la producción líquida se obtienen concentraciones de conidios de 2 - 3 x 10<sup>8</sup> por ml, y con la sólida de 2 - 3 x 10<sup>9</sup>/g. Se recomienda utilizar la dosis de un 1 litro por cada 19 litros de agua (Chiriboga, Gómez, y Garcés, 2015).

### **1.2.7.3 Condiciones de crecimiento**

Según Cucuk y Kivanci (2008) para el desarrollo adecuado de *Trichoderma* existen factores de tipo físico y nutricional como:

**Temperatura:** La temperatura óptima de crecimiento es de 25 - 30°C, pero a la vez tiene la capacidad de crecer en temperaturas que van de los 10-40°C.

**Luz:** Este hongo puede tener una buena esporulación al ser expuesto a 3 minutos de luz o de 10 - 30 segundos de luz UV a 366 nm pero es mejor al alternar luz y oscuridad (Nugra, 2018).

**pH:** Tiene un amplio rango de crecimiento en un pH entre 2 y 9, pero lo hace de forma óptima entre 4 y 7.

**Humedad:** Se adapta en medios con humedades de 20 -90% pero crece óptimamente en humedades entre 70 - 80%.

**Nutrición:** Gracias a la maquinaria de enzimas hidrolíticas como amilasas, celulasas, peptinasas, quitinasas, entre otras, *Trichoderma* es un degradador activo de sustratos como almidón, celulosa y peptina, las cuales son empleadas como fuente de crecimiento (Vanegas et al., 2019).

Para su óptimo crecimiento, es necesaria la adición de fuentes de carbono y nitrógeno, las cuales podemos encontrar en hidratos de carbono, urea, amoníaco ácidos grasos y aminoácidos y nitritos respectivamente. Adicionalmente puede ser suplementado con micro elementos y vitaminas en cantidades tolerables, estos pueden ser Cu, Fe, Mo, Mn, Zn y vitamina B (Pinto et al., 2021).

**Salinidad:** Se puede presentar o no crecimiento al ser expuesto a determinadas concentraciones de sales, en concentraciones mayores a 80 g/L inhibe el crecimiento, hasta 60g/L tiene un desarrollo mínimo y a 10g/L puede desarrollarse de manera óptima (Pinto et al., 2021).

#### **1.2.7.4 *Trichoderma harzianum* (Rifai)**

##### **Clasificación Taxonómica:**

- Familia: Fungi
- División: Ascomycota
- Subdivisión: Pezizomycotina
- Clase: Sordariomycetes
- Orden: Hypocreales
- Familia: Hypocreaceae
- Genero: *Trichoderma*
- Especie: *harzianum*

Según León (2009), *Trichoderma harzianum* es un hongo mico-parasítico, que crece y se ramifica en típicas hifas que oscilan entre 3 a 12  $\mu\text{m}$  de diámetro, dependiendo de las condiciones del medio en donde se esté reproduciendo. La esporulación asexual ocurre en conidios unicelulares de coloración verde generalmente, presentan de 3 a 6  $\mu\text{m}$  de diámetro.

A partir de que se identifica a *Trichoderma harzianum* (Rifai), como causante de las enfermedades en hongos comestibles en Norteamérica, Islas Británicas, India e Irlanda a principios de 1980, todas las investigaciones sobre este género se han dedicado a realizar pruebas de identificación basadas en las variaciones del polimorfismo del ADN ampliado al azar (Pérez-Torres et al., 2018).

Se han diferenciado cuatro formas biológicas, dentro del género *T. harzianum*: Th1, Th2, Th3y Th4. Esto se debe a que dentro de una especie, los principales criterios de diferenciación son el tamaño de la fiálide, forma y distribución pero éstos varían mucho en los agregados y entre las especies. Además, se dificulta un poco, porque en *T. harzianum*, produce dos tipos de esporulación y las proporciones cambian de acuerdo al tiempo de incubación y las condiciones del cultivo (Morales-Mora et al., 2020).

Microscópicamente *T. harzianum* presenta hifas ramificadas, septadas de las cuales se desprenden conidióforos también ramificados, de donde se desarrollan fiálides en forma de botella que producen los conidios. Cuando las condiciones del medio no son óptimas *T. harzianum* presenta clamidosporas terminales y/o intercalares como estructuras de resistencia (Vásquez, 2010).

*T. harzianum*, actúa invadiendo rápidamente el sustrato y obstaculizando el crecimiento del micelio, mediante la producción de toxinas y antibióticos, al mismo tiempo ocasiona un descenso del nivel de pH hasta 4-5, siendo estas condiciones más favorables para su desarrollo. Inicialmente se puede observar en el sustrato un moho de color blanco que torna a verde, adquiriendo posteriormente color gris verde-azulado debido a la abundante producción de conidios. Los propágulos (conidios, clamidosporas o fragmentos de micelio) pueden ser esparcidos por corrientes de aire, aerosoles, insectos, ácaros, herramientas, ropas, etc. (Pérez Torres et al., 2017).

#### 1.2.7.4 *Trichoderma viride* (Persoon)

##### Clasificación taxonómica.

- Familia: Fungi
- División: Ascomycota
- Clase: Sordariomycetes
- Subclase: Hypocreomycetidae
- Orden: Hypocreales
- Familia: Hypocreaceae
- Genero: *Trichoderma*
- Especies: *viride*

Fue la primera especie de *Trichoderma* descrita por Christian Hendrik Persoon en 1774. Se la puede encontrar fácilmente en alimentos, suelos de diferentes hábitats, madera en descomposición y cereales almacenados. Las colonias de *T. viride* a 20°C pueden alcanzar un diámetro de 7,5 cm en 5 días. Estas durante su desarrollo toman una coloración blanco amarillosa y más tarde se tornan blanco-verdosas con insertos de conidios en color verde oliva. Cuando las condiciones no son favorables, presenta estructuras de resistencia identificables por ser blancas y correosas (León et al., 2017).

Las colonias del hongo *T. viride* a 20° C son capaces de crecer hasta 7,5 cm en 5 días. Estas durante su crecimiento micelial presentan una blanco-verdosas con insertos de conidios de color verde oliva con textura fibrosa. Cuando las condiciones no son las apropiadas, estas presentan estructuras de resistencia identificables por ser blancas y fibrosas. (Vasquez, 2010).

Presentan hifas de pared rugosa, ramificadas, septadas y hialinas más finas que las de *T. harzianum*, que dan origen a los conidióforos ramificados -

piramidales, posee fiálides agrupadas (entre 2 y 4), en forma cilíndrica. En los conidios se observa una pared rugosa generalmente de forma globosa y rara vez elipsoidales, miden entre 3,6 - 4,8  $\mu\text{m}$ . En condiciones no favorables pueden presentar clamidosporas (Orellano, 2019).

Sánchez, Moreno y Páramo (2021) indican que *T. viride* presentan hifas más hialinas que *T. harzianum* y que sus conidióforos usualmente no son muy ramificados, con las ramas en pares o con tres verticillios aparentemente flexibles, mientras que los conidióforos de *T. harzianum* tienden a tener una forma verticilada, con una estructura piramidal. Respecto a las conidias *T. viride* presenta conidias de forma globosa a elipsoidal y *T. harzianum* presenta de forma subglobosa a ovoide.

### 1.3 Fundamentación legal

De acuerdo con Agrocalidad (2016) el Art. 1 de la Ley de Sanidad Vegetal, publicada en el Registro Oficial Suplemento Nro. 315, de 16 de abril del 2004, establece:

“Corresponde al Ministerio de Agricultura y Ganadería, a través del Servicio Ecuatoriano de Sanidad Vegetal (SESA), estudiar, prevenir y controlar las plagas, enfermedades y pestes que afecten los cultivos agrícolas y a la vez regular 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.”

El Art. 1 de la Resolución Nro. 0305 de 30 de diciembre del 2016, ha resuelto en la parte pertinente lo siguiente: “Actualizar el procedimiento para elaborar estudios de Análisis de Riesgo de Plagas (ARP) por vía de ingreso, para el establecimiento de requisitos fitosanitarios de importación de plantas, productos vegetales y artículos reglamentados”.

El Art. 11 de la Ley de Sanidad Vegetal sobre la participación y control social, señala: “Se constituirá el Consejo Consultivo de Sanidad Agropecuaria para la formulación, observación, seguimiento, veeduría y evaluación de las políticas públicas, el mismo que se integrará con ciudadanas y ciudadanos representantes de la sociedad civil, de las organizaciones de productores y consumidores en general, empresas públicas, privadas, comunitarias y mixtas, mediante el proceso de selección y designación, previsto en la Ley”.

En el capítulo 4 con el título de las campañas fitosanitaria nos indica lo siguiente: Art. 20.- En caso de aparecimiento de plagas o enfermedades inusitadas, con caracteres alarmantes y que amenacen los intereses agrícolas del país, el Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria las estudiará de inmediato, determinando las medidas de prevención y control a adoptarse.

## CAPÍTULO 2

### ASPECTOS METODOLÓGICOS

#### 2.1 Métodos

Se emplearon los métodos: deductivo – inductivo; analítico, sintético y exploratorio.

**Método inductivo:** Se aplicó este método con el objetivo de recolectar los datos para cumplir la hipótesis y objetivos, mediante la observación de los resultados obtenidos, conservando los principios y leyes de tipo en general.

**Método deductivo:** Permitió observar los cambios que ocurrieron en los procesos de laboratorio a medida que avance la investigación del control del hongo y posteriormente en el campo.

**Método analítico:** Permitió conocer la relación causa/efecto entre los tratamientos y el objeto de estudio.

**Método sintético:** Permitió construir y relacionar los resultados para la elaboración de discusión, conclusiones y recomendaciones bajo la perspectiva de totalidad de la presente investigación.

**Método exploratorio:** Se utilizó este método debido a la escasa información que se puede encontrar sobre el uso de *Trichodermas* para el control de hongos fitopatógenos en el cultivo de maíz.

Las muestras se tomaron realizando un recorrido por el ensayo establecido en campo, observando los síntomas de enfermedad por acción de los patógenos en estudio. Las partes que visualmente aparentaron daño en su tejido vegetal fueron recolectadas del total del área sembrada, equivalente a 4 320 plantas, se muestreó cerca del 2 % del cultivo, lo equivalente a 86 plantas; estas muestras recolectadas fueron guardadas y almacenadas en sobres de papel.

Posterior a esto, las muestras fueron llevadas al laboratorio para la identificación de los patógenos. En el caso de la roya, se implementó la técnica de impronta directa, la cual consiste en tomar una muestra del tejido vegetal afectado y con una pedazo de cinta transparente hacer presión sobre dicha área y posteriormente retirarla con cuidado; en una lámina se coloca una gota de azul de lactofenol para luego ubicar la cinta con la muestra del patógeno y poder realizar la observación en el microscopio a un aumento de 40X (Chingaté et al., 2020).

En el caso del tizón foliar, se tomaron fragmentos de hojas sintomáticas (4-5 cm de longitud) los cuales fueron desinfestados en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% por 2 min, luego lavados en agua destilada estéril por 3 min y secados con papel de filtro. Los fragmentos fueron colocados en cámaras húmedas por 48 h a 25 °C (Félix-Gastélum et al., 2018). De los conidios formados en el tejido de las hojas se procedió a la identificación en el microscopio y se obtuvieron cultivos monospóricos a través de su transferencia con una aguja de disección a placas de Petri con papa dextrosa agar (PDA).

Las especies del género *Trichoderma* son fáciles de aislar. Se procedió como señala Chingaté et al., (2020) para el aislamiento, realizar varias siembras en el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) hasta obtener el *Trichoderma* puro y no exista contaminación con otro microorganismo. Se incorporó una alícuota de 5 ul de ambas cepas en el medio de cultivo, en el caso de *T. harzianum* como su presentación fue en polvo, se diluyó previamente una pequeña cantidad en agua.

Para las pruebas de antagonismo, en el caso del tizón se tomaron partes del tejido del hongo reproducido en los medios de cultivo y se lo sembró en agar PDA junto con las cepas de *Trichoderma* por separado, para el posterior análisis de variables a los 7 días. Con excepción del tejido contaminado por roya, ya que este solo se reproduce en presencia de su hospedero y no puede reproducirse en medios de cultivo, por lo que tuvo que realizarse cámaras húmedas con fragmentos

de hojas contaminados con roya y el tratamiento de las cepas de *Trichoderma* se realizó por aspersión para las pruebas antagónicas (Chingaté et al., 2020).

En el ensayo en campo se realizaron 3 aplicaciones (20 - 40 - 60 días) de las cepas de *Trichoderma*, luego se determinó la incidencia y severidad de la roya y el tizón en el cultivo de maíz dos semanas después de la floración (65 dds), por lo que se tuvo en cuenta el número de plantas totales y cuántas de estas se encontraban sanas y enfermas, esto para incidencia; en el caso de la severidad, se utilizó una escala que se describe en el inciso 2.2.2.5 (INIAP, 2018).

## **2.2 Variables**

### **2.2.1 Variables independientes**

La variable independiente son las cepas *T. harzianum* y *T. viride*, en dos Híbridos de maíz (Iniap H-551 y Trueno) sobre *Helminthosporium sp.* y *Puccinia sorghi*, plagas del cultivo de maíz.

### **2.2.2 Variables dependientes**

En esta investigación se realizó en condiciones de laboratorio y campo. Las variables que se analizaron en laboratorio son las siguientes:

#### **2.2.2.1 Crecimiento promedio de los hongos en mm**

Esta variable se calculó en base al diámetro de la colonia fúngica de cada tratamiento con un calibrador vernier, tomando los datos a los 7 días. Para lo cual se siguió la metodología descrita por French y Hebert (1982) que consiste en dibujar una cruz en la cara posterior del plato petri, indicando cuatro radios de 45 mm, a los cuales se les nombró con letras minúsculas (a, b, c y d) y sobre los que se midió el avance o crecimiento del hongo.

### 2.2.2.2 Conteo de esporas

Se realizó el conteo con ayuda de la cámara de Neubauer y el microscopio, adicionando 10 mL de agua destilada por cada caja petri a los 7 días de vida del hongo. Luego con una pipeta se llenó la cámara con la suspensión de conidias y se cubrió con el cubreobjetos para observar en el microscopio. Se realizó el conteo por tratamientos, evaluando la cantidad de esporas producidas por el hongo, mediante la fórmula descrita por Cañedo y Ames (2004).

$$\text{Conidias/ml} = N^{\circ}/\text{conidias contadas} \times 25\,000 \times \text{Factor de dilución}$$

$$\text{Conidias total} = \text{Conidias/ml} \times \text{Vol. de la suspensión original de conidias}$$

### 2.2.2.3 Grado de micoparasitismo

A los 7 días de establecerse los tratamientos en el medio de cultivo, se aplicó una escala (Tabla 1) para determinar el grado de micoparasitismo de los aislados de las cepas de *Trichoderma spp.* contra los hongos *Helminthosporium sp.* y *P. sorghi*. Para el caso de tizón foliar se utilizó la técnica de cultivo dual descrita por (Howell, 2003). En un plato Petri con Papa Dextrosa Agar se colocó en un extremo un disco de 4 mm de diámetro con micelio de *Helminthosporium sp.*, luego se sembró al lado opuesto, a una distancia de 5 cm entre ambos, un disco de 4 mm de diámetro con micelio de *Trichoderma spp.* Para la roya se realizó cámaras húmedas para medir el grado de micoparasitismo del antagonista.

**Tabla 1. Escala para clasificar el grado de micoparasitismo de aislados de *Trichoderma spp***

<b>Grado</b>	<b>Descripción de micoparasitismo</b>	<b>Cubrimiento de la superficie del medio por el antagonista (%)</b>
1	El antagonista cubre totalmente el micelio del fitopatógeno	100%
2	El antagonista cubre 75% del micelio del fitopatógeno	75%
3	El Antagonista cubre 50% el micelio del fitopatógeno	50%
4	El Antagonista cubre 25% el micelio del fitopatógeno	25%

Elaborado por: Royse y Ries (1978).

Las variables que se analizaron en condiciones de campo son las siguientes:

#### 2.2.2.4 Índice de incidencia de *P. sorghi* (%)

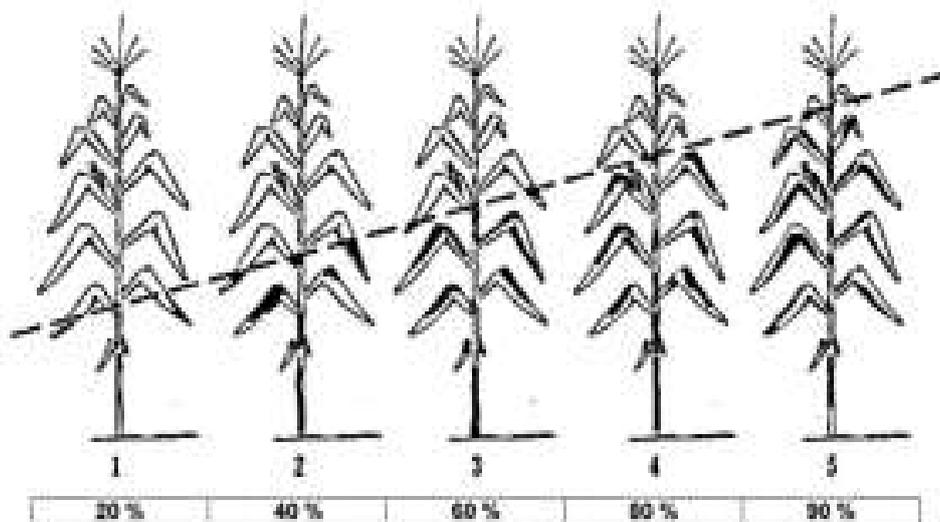
Este porcentaje se lo determinó en base al número de plantas que presentaran roya. Para lo cual se seleccionaron 30 plantas al azar. Se partió con la toma de datos una vez terminadas las aplicaciones correspondientes, acorde con la metodología propuesta por Arauz (1998).

$$I = \frac{\text{Total de plantas enfermas}}{\text{Total de plantas muestreadas}} \times 100$$

#### 2.2.2.5 Índice de severidad de *P. sorghi*

La severidad evalúa la frecuencia con la que se presentan las diferentes categorías de daño en relación con el total de plantas enfermas. Para esta variable, se utilizaron 5 categorías de severidad respecto al porcentaje de follaje afectado por roya; donde 1 indica la ausencia de la enfermedad y 5 una infección muy severa.

En la ilustración 1, que se expone a continuación se muestra la escala de calificación modificada en escala y porcentaje, para las principales enfermedades foliares, como los tizones y las royas del maíz (Gabriel et al., 2017).



**Ilustración 1.** Escala de severidad de las enfermedades foliares como tizón (*Helminthosporium* sp.) y roya (*Puccinia* sp.) en maíz

**Tabla 2.- Categorías de severidad para la evaluación de los daños producidos por *P. sorghi***

<b>Categoría de Severidad</b>	<b>Follaje afectado (%)</b>
1	0,1 - 20,0
2	21,0 - 40,0
3	41,0 - 60,0
4	61,0 - 80,0
5	81,0 - 100,0

Elaborado por: Mena (2021)

#### **2.2.2.5 Índice de incidencia de *Helminthosporium sp.* (%)**

Esta variable se la determinó en base al número de plantas que presenten tizón. Para lo cual se seleccionaron 30 plantas al azar. Se partió con la toma de datos una vez terminadas las aplicaciones correspondientes, acorde con la metodología propuesta por Arauz (1998).

$$I = \frac{\text{Total de plantas enfermas}}{\text{Total de plantas muestreadas}} \times 100$$

#### **2.2.2.6 Índice de severidad de *Helminthosporium sp.***

Corresponde a la proporción de las hojas cubiertas por el hongo en relación con el total de plantas enfermas. Para esta variable, se utilizaron 5 categorías de severidad respecto al porcentaje de plantas afectadas por tizón, modificada también a porcentaje; donde 1 indica la ausencia de la enfermedad y 5 una infección muy severa. Se utilizó la misma tabla y escala de severidad que se utilizó para roya.

#### **2.2.2.5 Peso de 100 granos**

Se tomó 100 semillas de cada parcela experimental y se procedió a pesar los granos de la misma. La media de cada tratamiento, se determinó en base a los datos de las 3 repeticiones de cada tratamiento.

### 2.2.2.6 Rendimiento por tratamiento en Kg/Ha

Se pesó en una balanza los granos obtenidos en cada parcela experimental, y posteriormente se registró el dato en Kilogramo por hectárea, cuyo peso se lo ajustó al 13% de humedad, mediante el empleo de la siguiente fórmula: (Intriago, 2013).

$$\text{Peso ajustado} = \frac{\text{Peso de grano} \times (100 - \text{Humedad del grano})}{100 - \text{Humedad deseada}}$$

$$\text{Rendimiento / Ha} = \frac{\text{Peso ajustado} \times 10000 \text{ m}^2}{\text{Area cosechada en m}^2}$$

### 2.2.2.7 Análisis económico

El costo de los tratamientos se lo calculó con el total de egresos y la utilidad, se obtendrá con la siguiente fórmula:

$$\mathbf{U = IB - CT}$$

IB = Ingreso Bruto

CT = Costos Totales

Relación Beneficio/Costo, se obtuvo utilizando la siguiente formula: (Vaquiro, 2006)

$$\text{Relación Beneficio / Costo} = \frac{\text{Ingresos Totales}}{\text{Costos Totales}}$$

### 2.2.3 Operacionalización de las variables

TIPO DE VARIABLE		DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	TIPO DE MEDICIÓN	INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN
INDEPENDIENTE	Cepas de <i>Trichoderma</i> en dos híbridos de maíz.	Una vez se obtuvieron las muestras de los patógenos, se llevaron al laboratorio para ser establecidas en medios de cultivo para determinar la eficacia de las cepas de <i>Trichoderma</i> , posterior a esto se evaluó en campo. Se registraron las	Evaluación de las cepas <i>T. harzianum</i> y <i>T. viride</i> en dos híbridos sobre el manejo de <i>Helminthosporium sp.</i> y <i>Puccinia sorghi</i>	Comportamiento de las cepas de <i>T. harzianum</i> y <i>T. viride</i> , y de los híbridos Iniap H-551 y Trueno	Cuantitativa	Metodología
DEPENDIENTE	Eficacia antagonista de las cepas de <i>Trichoderma</i> sobre el desarrollo de <i>Puccinia sorghi</i> y <i>Helminthosporium sp.</i>	diversas observaciones que se fueron manifestando en la investigación tanto en campo como en laboratorio.	Eficacia antagonista de las cepas de <i>T. harzianum</i> y <i>T. viride</i> sobre <i>Helminthosporium sp.</i> y <i>Puccinia sorghi</i> en condiciones de campo y laboratorio.	Crecimiento promedio de <i>Trichoderma spp.</i> en mm. Grado de micoparasitismo. Incidencia y severidad de los hongos. Rendimiento en kg/ha.	Cuantitativa/ Cualitativa	Metodología

### **2.3 Población y muestra**

Este estudio consistió en evaluar en condiciones de campo y laboratorio la competencia de 2 cepas de *Trichoderma spp.* (*T. harzianum* y *T. viride*) sobre los hongos patógenos *Helminthosporium sp* y *Puccinia sorghi*, los cuales fueron obtenidos de muestras de tejido vegetal, aislándolos en el laboratorio, donde se obtuvo el cultivo puro. Se establecieron tres repeticiones tomando un plato Petri como unidad experimental, los factores en estudios fueron: factor patógeno, factor antagonista.

El testigo se sembró individualmente en platos Petri, un inóculo de cada cepa de *Trichoderma spp.* y un inóculo de *Helminthosporium sp.* y *Puccinia sorghi*, todos en platos petri separados. Se incubaron a temperatura de 24°C a 26°C, hasta que el crecimiento del antagonista o del patógeno cubriera toda la superficie del medio de cultivo.

Para finalizar se determinó la efectividad de las dos cepas de *Trichoderma spp.* sobre la incidencia natural de *Helminthosporium sp.* y *Puccinia sorghi*, se estableció un ensayo en condiciones de campo con 24 parcelas experimentales, las cuales estuvieron establecidas en un área de 864 m<sup>2</sup> delineadas de acuerdo al Diseño Experimental que se utilizó, con una densidad poblacional de 180 plantas por cada parcela, en el periodo comprendido septiembre – diciembre 2021. La descripción de los tratamientos evaluados se encuentra en el inciso 2.6. Como testigo absoluto agua.

### **2.4 Técnicas de recolección de datos**

El proceso para calcular las variables independientes consistió en una vez tomadas las muestras en campo, lo siguiente fue trasladarlas hacia el laboratorio y empezar a medir las variables. Las muestras fueron tomadas y evaluadas mediante una tabla de datos donde estuvo establecida las diferentes variables independientes antes mencionadas.

Las evaluaciones en laboratorio se realizaron a los 7 días de establecerse los tratamientos. Los datos de competencia de los aislados de *Trichoderma spp.* se obtuvieron midiendo el avance del radio de crecimiento micelial del patógeno, del antagonista y el testigo, para obtener una medida de radio de crecimiento en mm.

La toma de datos en el medio de cultivo se dejó de tomar a los 7 días, cabe recalcar que los tratamientos se establecieron en un intervalo de 1 semana. También se clasificó el grado de micoparasitismo de los aislados de acuerdo a la escala propuesta por Royse y Ries (1978) (Tabla 1). Se realizaron observaciones, para determinar el tiempo en que los dos hongos entran en contacto entre sí.

Para medir el ritmo de crecimiento de cada cepa de *Trichoderma spp.* y de los hongos patógenos en Papa Dextrosa Agar en platos Petri de 90 mm, se utilizó un calibrador vernier. En campo el tipo de medición fue cuantitativa, por medición directa a los individuos en estudio, registrando los datos expresados por los mismos para su posterior análisis.

## **2.5 Estadística descriptiva e inferencial**

Los datos fueron valorados estadísticamente mediante el análisis de Varianza (ANDEVA) y la prueba de rango múltiple de Tukey para la comparación de medias. Estos análisis se realizaron previo a la comprobación de igualdad de varianzas y normalidad de los datos, todos al 5% de probabilidad de error tipo 1; utilizando el software Statistix 10.0. El modelo de ANDEVA que se aplicó a los datos, considerando el tipo de diseño experimental y el arreglo factorial propuesto, se detalla en la Tabla 4.

**Tabla 3. Esquema del Análisis de la varianza (ANDEVA)**

<b>Fuente de variación</b>	<b>Formula</b>	<b>Grados libertad</b>
Factor A	$(a - 1)(2 - 1)$	1
Error A	$(a - 1)(r - 1)(2 - 1)(4 - 1)$	3
Repeticiones	$(r - 1)(4 - 1)$	3
Factor B	$(b - 1)(3 - 1)$	2
Interacción AB	$(a - 1)(b - 1)(2 - 1)(3 - 1)$	2
Error b	$a(b - 1)(r - 1)2(3 - 1)(4 - 1)$	12
Total	$abr - 1$	23

Elaborado por: Fisher (1930).

## 2.6 Diseño experimental

En función de la propuesta del actual proyecto, se ha utilizado un diseño de tratamientos en arreglo de parcelas divididas, en el cual el factor que se ubicó en parcelas grandes corresponde a las variedades de maíz (Factor A) y el factor que se ubicó en parcelas pequeñas estuvo referido a las cepas de *Trichodermas* (Factor B). Considerando los niveles de cada uno de estos factores, este experimento tuvo un total de 6 tratamientos, los cuales se detallan en Tabla 3. El arreglo de tratamientos antes indicados se evaluó bajo un diseño de bloques completos al azar.

Las parcelas grandes tenían un ancho de 14,4 m y 6,0 m de longitud; mientras que las parcelas pequeñas tenían un ancho de 4,8 m y la longitud antes mencionada. El área útil en cada parcela pequeña tenía un ancho de 3,2 m y una longitud de 5,6 m, dentro de la cual se consideró un total de 112 plantas. Las características adicionales al área de ensayo pueden observarse del Croquis del Anexo.

**Tabla 4. Descripción de los tratamientos a evaluar en campo**

<b>Tratamientos</b>	<b>Variedades (Factor A)</b>	<b>Cepas (Factor B)</b>
1		b1: <i>T. harzianum</i> <sup>3</sup>
2	v1: Iniap H-551 <sup>1</sup>	b2: <i>T. viride</i> <sup>4</sup>
3		b3: Testigo
4		b1: <i>T. harzianum</i>
5	v2: Trueno <sup>2</sup>	b2: <i>T. viride</i>
6		b3: Testigo

Elaborado por: Mena (2021)

<sup>1</sup> Iniap H – 551: Híbrido triple de maíz tolerantes a enfermedades foliares; rendimiento de 140 quintales/ha.

<sup>2</sup> Trueno: Híbrido doble con niveles altos de tolerancia a enfermedades foliares como: Curvularia, Helminthosporium, Mancha de Asfalto y Cinta Roja.

<sup>3</sup> Producto BIOTRICH inoculante microbiano con acción fungicida; *Trichoderma harzianum* 1 x 10<sup>9</sup> ufc/gr.

<sup>4</sup> TRINKIO biopreparado de *Trichoderma viride* 2.5 x 10<sup>9</sup> ufc.

**Tabla 5. Descripción de los tratamientos a evaluar en laboratorio**

<b>Tratamientos</b>	<b>Cepas/ patógenos</b>
1	<i>T. harzianum</i> / <i>Helminthosporium</i> sp
2	<i>T. harzianum</i> / <i>Puccinia sorghi</i>
3	<i>T. viride</i> / <i>Helminthosporium</i> sp
4	<i>T. viride</i> / <i>Puccinia sorghi</i>
5	Testigo <i>T. harzianum</i>
6	Testigo <i>T. viride</i>
7	Testigo <i>Helminthosporium</i> sp
8	Testigo <i>Puccinia sorghi</i>

Elaborado por: Mena (2021)

## 2.7 Cronograma de actividades

<b>Actividades</b>	<b>2021</b>						<b>2022</b>		
	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Sept</b>	<b>Oct</b>	<b>Nov</b>	<b>Dic</b>	<b>Febrero</b>	<b>Abril</b>	<b>Junio</b>
Elaboración de sinopsis, revisión de metodología y Objetivos	X								
Presentación y Defensa de Anteproyecto	X	X							
Evaluar la eficacia antagonista de las cepas de <i>Trichoderma</i> en campo y laboratorio			X	X	X	X			
Evaluación de las variables independiente antes mencionadas.						X			
Toma de Datos					X	X			
Análisis Estadístico							X		
Trámites Post Grado								X	
Defensa de Tesis									X

## RESULTADOS

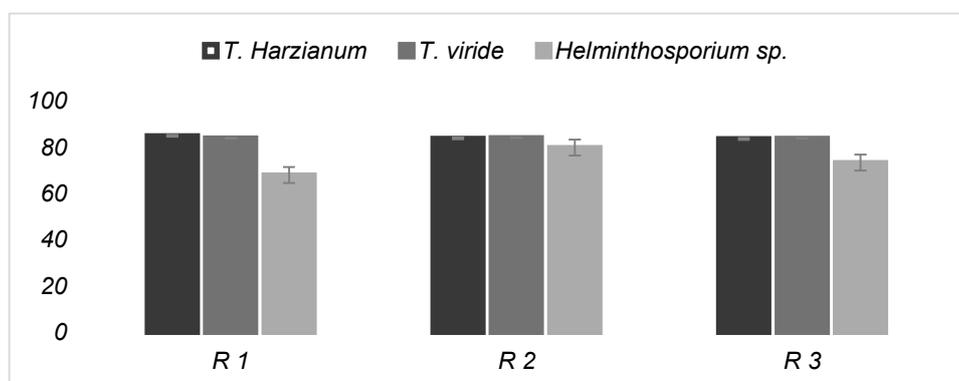
### Crecimiento promedio de los hongos en mm

Los promedios del crecimiento micelial están expresados en milímetros como se expresa en la tabla 6. Se procedió a cultivar por separado los hongos, permitiendo su normal desarrollo durante 7 días en el medio de cultivo PDA. Se pudo observar que *T. harzianum* presenta una coloración verde más fuerte que el *T. viride*, sin embargo cuando se realizó los cultivos duales, presentaron una coloración similar.

En el caso de *Helminthosporium sp.* Tomo un color blanco amarilloso con aspecto algodonoso. Se pudo observar que el T2 (*T. viride*) fue el que registró el mayor crecimiento con 87,06 mm, algo similar en el T1 (*T. harzianum*) cuyo halo micelial fue de 86,92 mm. Por último, el T3 (*Helminthosporium sp.*) obtuvo el menor crecimiento con 73,76 mm.

**Tabla 6. Crecimiento promedio de las cepas de *Trichoderma sp.* y el *Helminthosporium sp.* en condiciones *in vitro***

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO MICELIAL (mm)
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	86,92 mm
T2 ( <i>T. viride</i> )	87,06 mm
T3 ( <i>Helminthosporium sp.</i> )	73,76 mm
Promedio	69,49



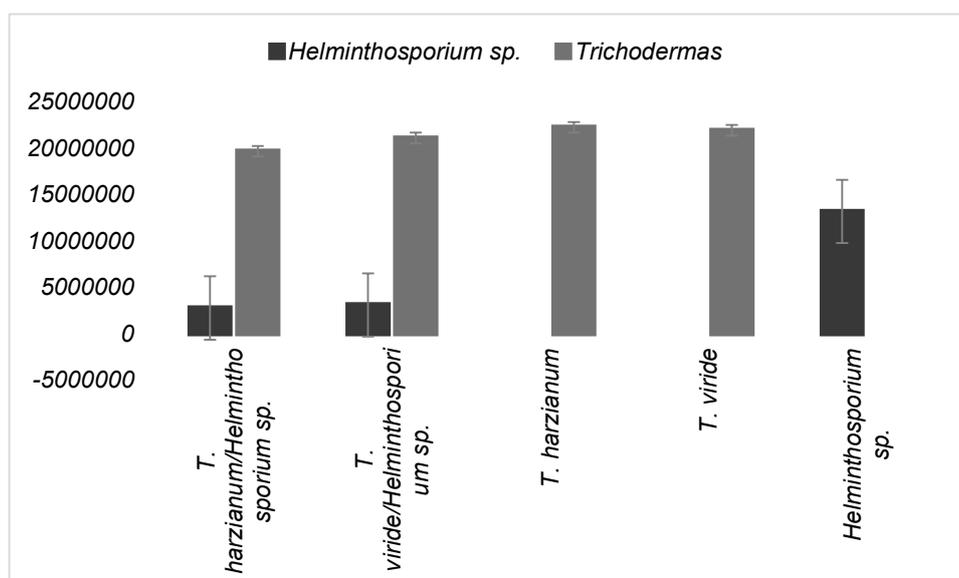
**Gráfico 1. Crecimiento promedio de los hongos *T. Harzianum*, *T. viride* y *Helminthosporium sp.* en mm.**

## Conteo de esporas

En la tabla 7 se puede observar el registro de producción de esporas totales de los hongos en estudio. Donde se observó que las cepas de *Trichoderma* sobresalieron, siendo el T1 (*T. harzianum*) quien alcanzó los mejores resultados con 22 250 000 conidios totales. El T6 (*Helminthosporium sp.*) reflejó los promedios más bajos respecto a esta variable.

**Tabla 7. Conteo de esporas de las cepas de *Trichoderma sp.* y el *Helminthosporium sp.* en condiciones *in vitro*, tanto en cultivos individuales como en cultivos duales.**

TRATAMIENTOS	CONTEO DE ESPORAS	
	<i>Helminthosporium sp.</i>	<i>Trichodermas</i>
T1 ( <i>T. harzianum</i> / <i>Helminthosporium sp.</i> )	2 750 000	19 665 000
T2 ( <i>T. viride</i> / <i>Helminthosporium sp.</i> )	3 082 500	21 082 500
T4 ( <i>T. harzianum</i> )		22 250 000
T5 ( <i>T. viride</i> )		21 915 000
T6 ( <i>Helminthosporium sp.</i> )	13 165 000	
Promedio		14 844 285,7



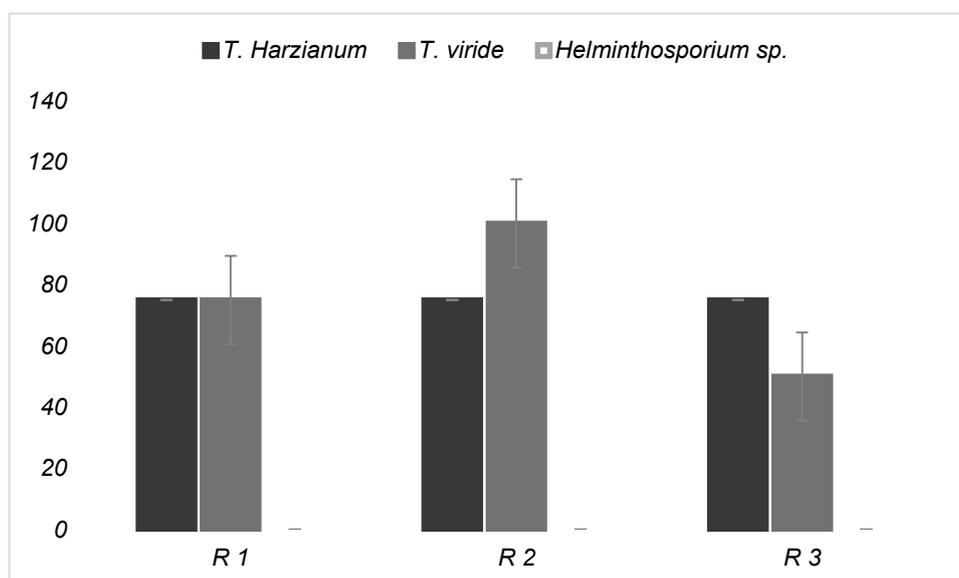
**Gráfico 2. Crecimiento promedio de los hongos *T. Harzianum*, *T. viride* y *Helminthosporium sp.* en mm.**

## Grado de micoparasitismo para Tizón foliar

Para el cumplimiento del primer objetivo de la investigación se procedió a evaluar el grado de micoparasitismo por parte de las cepas de *T. harzianum*, *T. viride* en el patógeno *Helminthosporium sp.* causante del tizón foliar en las plantas de maíz, cuyos resultados, expresados en porcentaje, se presentan en la Tabla 8. Se encontró que las especies *T. viride* y *T. harzianum* presentaron un grado de parasitismo similar (75 %).

**Tabla 8. Grado de micoparasitismo de las cepas de *Trichoderma sp.* para el control de *Helminthosporium sp.* en condiciones in vitro**

CEPAS	GRADO DE MICOPARASITISMO (%)
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	75 %
T2 ( <i>T. viride</i> )	75 %
T3 (Testigo)	0 %
Promedio	50



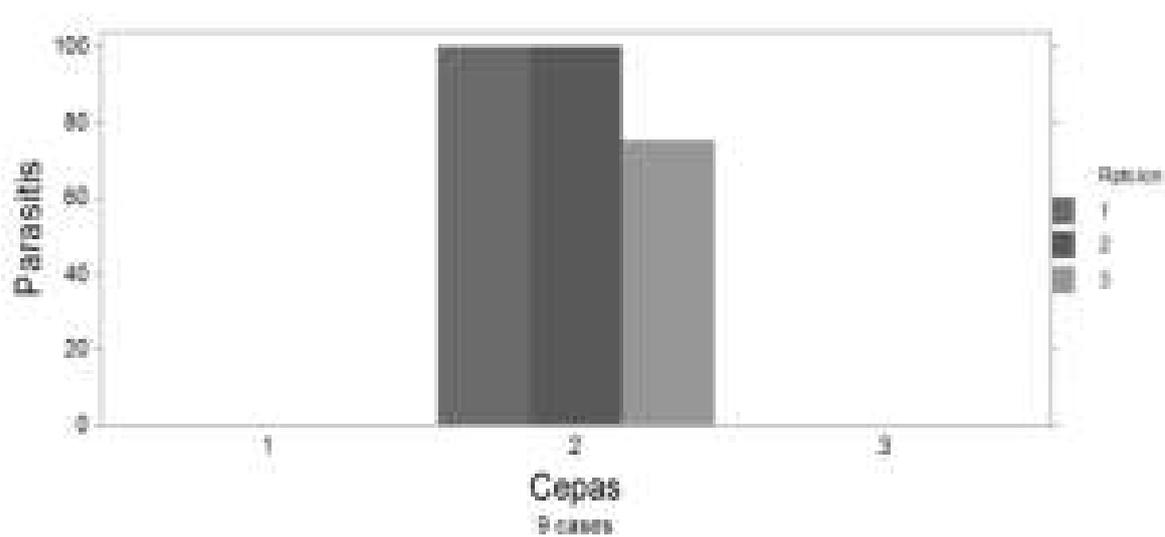
**Gráfico 3. Grado de micoparasitismo de las cepas de *Trichoderma sp.* para el control de *Helminthosporium sp.* en condiciones in vitro**

## Grado de micoparasitismo para Roya

Para el cumplimiento del primer objetivo de la investigación se procedió a evaluar el grado de micoparasitismo por parte de las cepas de *T. harzianum*, *T. viride* y el testigo en el patógeno *Puccinia sorghi* causante de la roya en las plantas de maíz, cuyos resultados, expresados en porcentaje, se presentan en la Tabla 6. Se encontró que la especie *T. viride* presentó el mayor grado de parasitismo (92%) mientras que *T. harzianum* no desarrolló ninguna actividad.

**Tabla 9. Grado de micoparasitismo de las cepas de *Trichoderma* sp. para el control de *Puccinia sorghi* en condiciones *in vitro***

CEPAS	GRADO DE MICOPARASITISMO (%)
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	0 %
T2 ( <i>T. viride</i> )	92 %
T3 (Testigo)	0 %
Promedio	30,66



**Gráfico 4. Grado de micoparasitismo de las cepas de *Trichoderma* para el control de *puccinia sorghi***

## Índice de incidencia de *Puccinia sorghi*

En las pruebas de campo, en los resultados del índice de incidencia de *P. sorghi* se observó significancia entre variedades ( $p= 0.0079$ ) y entre cepas ( $p= 0.0000$ ). El hongo *T. viride* fue el que presentó el menor porcentaje de incidencia de roya en las dos variedades de maíz, con un 1.75 % en la variedad Iniap H-551 y 1 % en la variedad Trueno (Tabla 7).

El tratamiento testigo en el cual no se aplicó ninguna cepa de *Trichoderma* presentó el mayor porcentaje de incidencia, siendo el más alto en la variedad Iniap H-551 con 8,25 % seguido de la variedad Trueno con 5,25 %. La acción controladora de las cepas de *Trichoderma* fue efectiva sobre la incidencia natural de roya, de acuerdo al porcentaje de incidencia del testigo. El principal síntoma de roya que presentaron las plantas fue las pústulas uredinosóricas de color naranja en el haz y el envés de las hojas (Anexo).

**Tabla 10. Porcentaje de incidencia de roya en los híbridos de maíz Iniap H-551 y Trueno sometidos a la aplicación de dos cepas de *Trichoderma*. Catarama, 2021.**

CEPAS	VARIEDADES	PROMEDIOS (%)
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	Iniap H-551	3,75 a
T2 ( <i>T. viride</i> )		1,75 a
T3 (Testigo)		8,25 b
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	Trueno	2 a
T5 ( <i>T. viride</i> )		1 a
T6 (Testigo)		5,25 a
Promedio		3,66
Significancia		**
CV(Bloques*Variedad)		19,28
CV(Bloques*Variedad*Cepas)		25,51

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey  $P \leq 0,05$ .

\*\* : Significante

## Índice de severidad de *Puccinia sorghi*

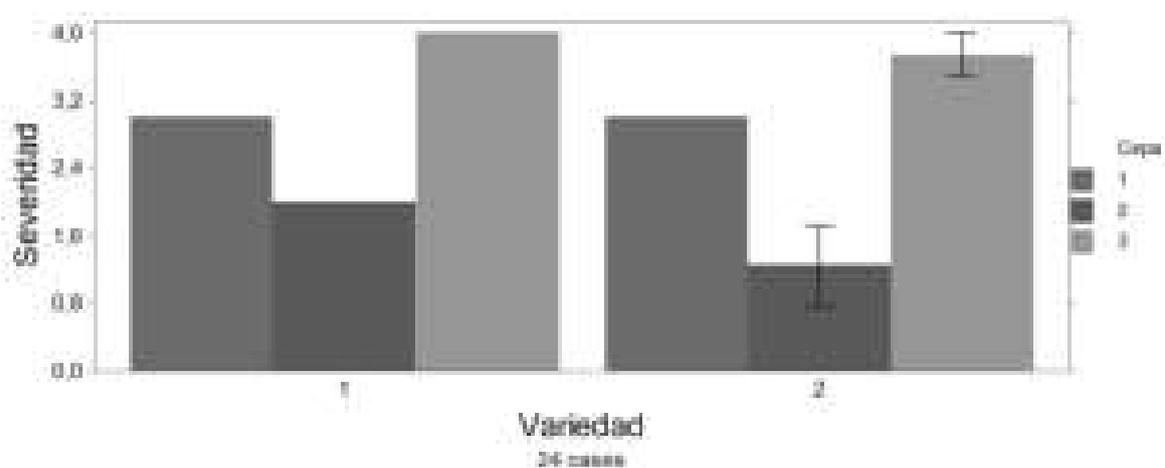
No hubo significancia entre variedades ( $p= 0.0917$ ), pero si entre cepas ( $p= 0.0000$ ). El hongo *T. viride* fue el que presentó el menor porcentaje de severidad de roya en las dos variedades de maíz (Tabla 8). La severidad de la roya, muestra que los testigos presentaron un valor de 4 en la escala, que corresponde al 80 % de daño en la planta. El resto de tratamientos ha presentado una variación de severidad entre el 20 % y el 60 % de daño en las plantas.

**Tabla 11. Índice de severidad de roya en los híbridos de maíz Iniap H-551 y Trueno sometidos a la aplicación de dos cepas de *Trichoderma*. Catarama, 2021.**

CEPAS	VARIETADES	PROMEDIOS (Escala)
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	Iniap H-551	3 a
T2 ( <i>T. viride</i> )		2 a
T3 (Testigo)		4 a
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	Trueno	3 a
T5 ( <i>T. viride</i> )		1 a
T6 (Testigo)		4 a
Promedio		2,83
Significancia		*
CV(Bloques*Variedad)		11,76
CV(Bloques*Variedad*Cepas)		17,15

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey  $P \leq 0,05$ .

\*: Significante



**Gráfico 5. Índice de Severidad de roya en maíz**

## Índice de incidencia de *Helminthosporium sp.*

Los resultados para incidencia de *Helminthosporium sp.* reportó significancia entre variedades ( $p=0.0115$ ), entre cepas ( $p=0.0000$ ) y para la interacción (variedad x cepa) ( $p=0.0325$ ). El hongo *T. viride* fue el que presentó el menor porcentaje de incidencia de tizón foliar en una de las variedades de maíz, con un 1.25 %, a saber en la variedad Trueno. Como se puede observar en la tabla, la variedad Trueno demostró mayor resistencia a la enfermedad, de modo que en ambos tratamientos con las dos cepas de *Trichoderma* reflejo los valores más bajos de incidencia de tizón foliar.

El testigo en el cual no se aplicó ninguna cepa de *Trichoderma* presentó el mayor porcentaje de incidencia, siendo el más alto en la variedad Iniap H-551 con 8 % seguido de la variedad Trueno con 4,75 %. La acción controladora de las cepas de *Trichoderma* no logró ser tan efectiva sobre la incidencia natural de tizón foliar, de acuerdo al porcentaje de incidencia del testigo el cual vario en las dos variedades, demostrando así las susceptibilidad o resistencia de estas. El principal síntoma de tizón foliar que presentaron las plantas, fue manchas extendidas, gris verdosas de 2,5 a 20 cm de longitud (Anexo).

**Tabla 12. Porcentaje de incidencia de tizón foliar en los híbridos de maíz Iniap H-551 y Trueno sometidos a la aplicación de dos cepas de *Trichoderma*. Catarama, 2021.**

CEPAS	VARIETADES	PROMEDIOS (%)
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	Iniap H-551	3,25 a
T2 ( <i>T. viride</i> )		2,5 a
T3 (Testigo)		8 b
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	Trueno	1,75 a
T5 ( <i>T. viride</i> )		1,25 a
T6 (Testigo)		4,75 a
Promedio		3,58
Significancia		**
CV(Bloques*Variedad)		24,61
CV(Bloques*Variedad*Cepas)		20,01

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey  $P \leq 0,05$ .

\*\* : Significante

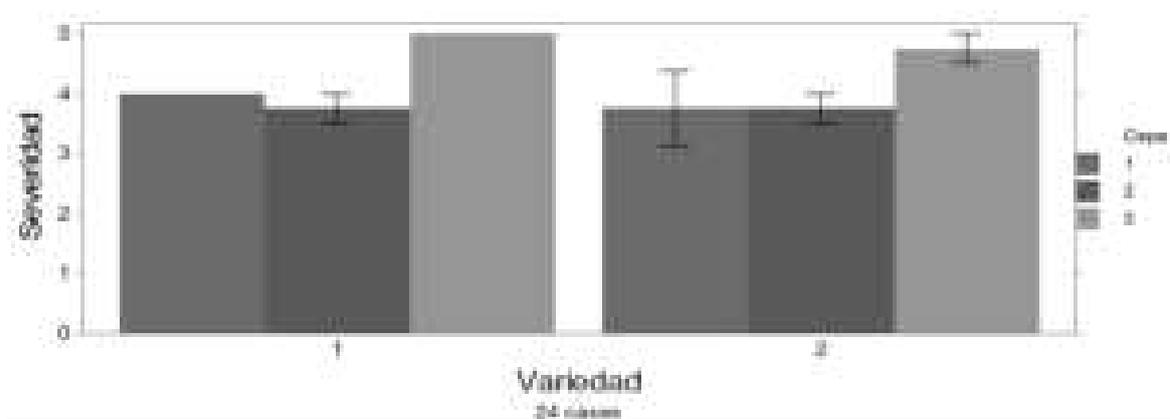
## Índice de severidad de *Helminthosporium sp.*

El análisis de varianza para el índice de severidad, no presentó significancia para los Factor A (variedad) ( $p=0,4950$ ) e Interacción (A x B) ( $p=0,9085$ ); mientras que para Factor B (cepas) si existió significancia ( $p=0,0094$ ). La severidad del tizón foliar, nos muestra que los testigos presentaron un valor de 5 en la escala, que corresponde al 90 % de daño en la planta, lo que posteriormente se reflejó en la muerte de las mismas. El resto de tratamientos a base de las cepas de *Trichoderma* presentaron una variación de severidad similar entre el 60 % y el 80 % de daño en las plantas.

**Tabla 13. Índice de severidad de roya en los híbridos de maíz Iniap H-551 y Trueno sometidos a la aplicación de dos cepas de *Trichoderma*. Catarama, 2021.**

CEPAS	VARIEDADES	PROMEDIOS (Escala)
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	Iniap H-551	4 a
T2 ( <i>T. viride</i> )		4 a
T3 (Testigo)		5 a
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	Trueno	4 a
T5 ( <i>T. viride</i> )		4 a
T6 (Testigo)		5 a
Promedio		4,17
Significancia		*
CV(Bloques*Variedad)		12,65
CV(Bloques*Variedad*Cepas)		15,75

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey  $P \leq 0,05$ .



**Gráfico 6. Índice de severidad del tizón foliar**

## Peso de 100 granos

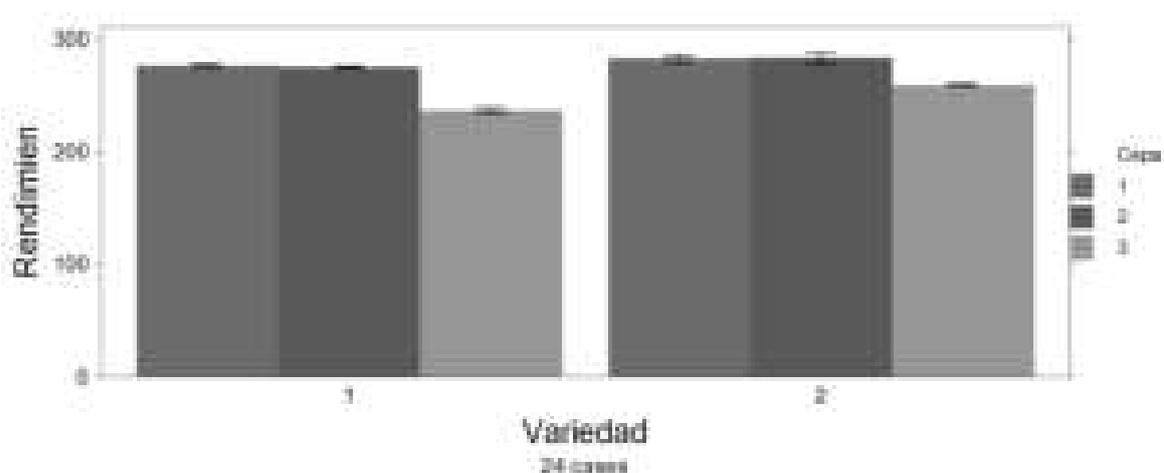
El análisis de varianza para el peso de 100 granos, presentó significancia para Factor A (variedad) ( $p=0.0100$ ), Factor B (cepas) ( $p=0.0000$ ) e Interacción (A x B) ( $p=0.0216$ ). Los datos reflejan que los testigos presentaron el peso de granos más bajo. El resto de tratamientos a base de las cepas de *Trichoderma* presentaron un peso similar que va entre 275 a 283 gramos. Siendo la variedad Trueno la que obtuvo los mejores resultados en cuanto a esta variable.

**Tabla 14. Peso de 1000 granos de los híbridos de maíz Iniap H-551 y Trueno sometidos a la aplicación de dos cepas de *Trichoderma*. Catarama, 2021.**

CEPAS	VARIEDADES	PROMEDIOS (Gramos)
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	Iniap H-551	276 a
T2 ( <i>T. viride</i> )		275 a
T3 (Testigo)		237 c
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	Trueno	283 a
T5 ( <i>T. viride</i> )		283 a
T6 (Testigo)		259 b
Promedio		278,61
Significancia		**
CV(Bloques*Variedad)		1,94
CV(Bloques*Variedad*Cepas)		1,99

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey  $P \leq 0,05$ .

\*\* : Significante



**Gráfico 7. Peso de 1000 granos de maíz**

## Rendimiento por tratamiento en kg/ha

El análisis de varianza para rendimiento, presentó significancia para Factor A (variedad) ( $p= 0.0000$ ) y B (cepas) ( $p= 0.0002$ ); mientras que para Interacción (A x B) no existió significancia ( $p= 0.7238$ ). En la prueba de Tukey al 5 % para la Interacción (A x B) del rendimiento en Kg (Tabla 12), presenta que en el rango “A” se ubica la Interacción T4V2 (*T. harzianum*- Trueno) con un valor de 29,11 Kg/parcela.

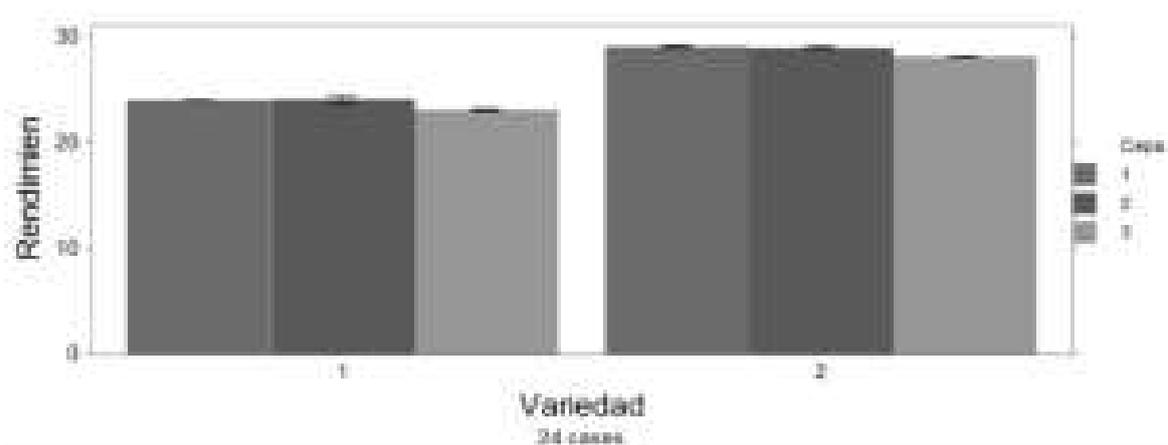
Mientras que en los rangos más bajos “C” y “D” se ubican la Interacción T1V1 (*T. harzianum* - Iniap H-551); T2V1 (*T. viride* – Iniap H-551) y T3V1 (Agua – Iniap H-551), las demás interacciones se ubican en rangos intermedios. Cabe mencionar que el porcentaje de humedad del grano de maíz a la cosecha fue del 14 %.

**Tabla 15. Rendimiento de los Híbridos de maíz Iniap H-551 y Trueno sometidos a la aplicación de dos cepas de *Trichoderma*. Catarama, 2021.**

CEPAS	VARIEDADES	PROMEDIOS KG	
		POR PARCELA	POR HECTAREA
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	Iniap H-551	23,95	8125 c
T2 ( <i>T. viride</i> )		24,07	8166 c
T3 (Testigo)		23	7802 d
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	Trueno	29,11	9875 a
T5 ( <i>T. viride</i> )		28,94	9815 a
T6 (Testigo)		28	9500 b
Promedio			26,19
Significancia			**
CV(Bloques*Variedad)			0,99
CV(Bloques*Variedad*Cepas)			1,35

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey  $P \leq 0,05$ .

\*\* : Significante



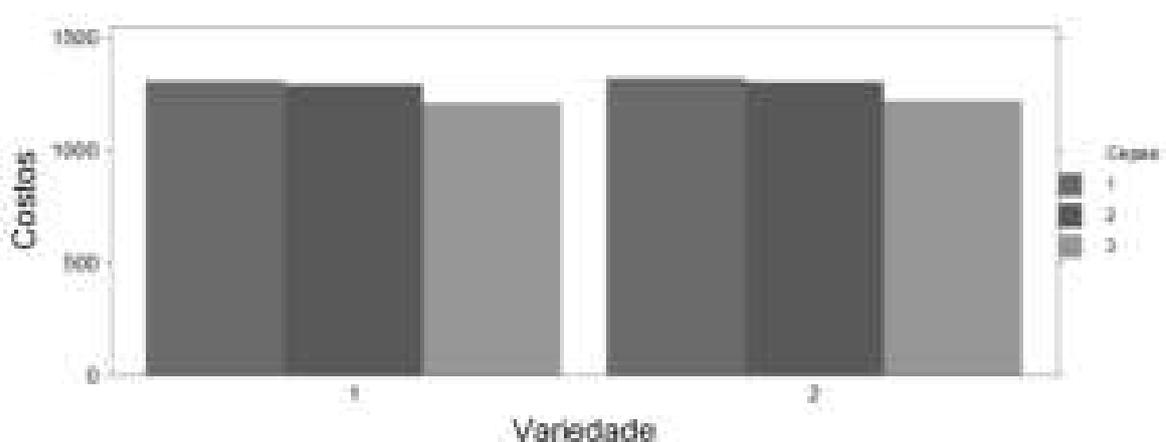
**Gráfico 8. Rendimiento por tratamiento en kg por parcela**

## Análisis económico

**Tabla 16. Costo de producción en USD dólares por hectárea de los tratamientos de estudio de los Híbridos de maíz Iniap H-551 y Trueno sometido a la aplicación de dos cepas de *Trichoderma sp.***

Concepto o Actividad	Unidad	Precio Unitario	CT/ Ha	Costo en USD por tratamiento					
				T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6
<b>Preparación de terreno</b>									
Arada (1 pase)	Hora	30	1	30	30	30	30	30	30
Rastra (2 pases)	Hora	30	2	60	60	60	60	60	60
Rosada (limpieza)	Jornal	10	1	10	10	10	10	10	10
<b>Control de malezas (Herbicidas - pre-siembra)</b>									
Amina	L	4,5	1	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Glifosato	L	4,5	2	9	9	9	9	9	9
Aplicación	Jornal	10	2	20	20	20	20	20	20
<b>Siembra</b>									
Iniap H- 551	Kg	2,46	15	37	37	37	37	37	37
Trueno	Kg	7,73	15	116	116	116	116	116	116
Sembradora	Hora	55	1	55	55	55	55	55	55
Colaborador	Jornal	10	1	10	10	10	10	10	10
<b>Primera fertilización a la siembra</b>									
10-30-10	Saco	38	4	152	152	152	152	152	152
Aplicación	Jornal	10	2	20	20	20	20	20	20
<b>Control de malezas (Herbicidas – post-emergente)</b>									
Atrazina	Kg	9	1	9	9	9	9	9	9
Nicosulfurom	32 Gr	4,5	2	9	9	9	9	9	9

Aplicación	Jornal	10	2	20	20	20	20	20	20
<b>Control de insectos</b>									
Tiodicard + Acetameprid	250 cc	20	1	20	20	20	20	20	20
Spinotoram	100 cc	15	1	15	15	15	15	15	15
Lufenuron	250 cc	16,25	2	32,5	32,5	32,5	32,5	32,5	32,5
Aplicación	Jornal	10	2	20	20	20	20	20	20
<b>Segunda fertilización</b>									
Amidas N36 – 12S	saco	42	3	126	126	126	126	126	126
Kieserita	saco	10	1	10	10	10	10	10	10
Aplicación	Jornal	10	2	20	20	20	20	20	20
<b>Fungicidas Biológicos</b>									
<i>T. harzianum</i>	100 Gr	17	1,5	76,5	-	-	76,5	-	-
<i>T. viride</i>	L	20	1	-	60	-	-	60	-
Aplicación	Jornal	10	2	20	20	-	20	20	-
<b>Tercera fertilización</b>									
Sulfato de amonio	saco	34	2	170	170	170	170	170	170
Aplicación	Jornal	10	2	20	20	20	20	20	20
<b>Cosecha</b>									
Costo por quintal	qq	0,60	-	48,75	49	46,81	59,25	58,89	57
<b>Terreno</b>									
Arriendo	Ha	170	1	170	170	170	170	170	170
<b>Total USD por hectárea</b>				<b>1310,2</b>	<b>1294</b>	<b>1211,8</b>	<b>1320,8</b>	<b>1303,9</b>	<b>1222</b>



**Ilustración 2. Costos totales de producción de los tratamientos**

La producción por kilogramos en la siembra de maíz Trueno en las condiciones del recinto “Las Cañitas”, con la interacción que sobresalió, T5 (T, viride/ Trueno) fue de 9 815 kg/ha, con un costo de producción total de \$ 1 303,89; que al ser vendido en \$ 14,60/45,36 kg en el cantón Urdaneta, tuvo un ingreso bruto de \$ 3 159,14 generando una utilidad de \$ 1 855,25/ha. La relación Beneficio-Costo fue de 2,42; lo cual indica que por cada unidad monetaria invertida, se obtiene \$ 2,42 de utilidad.

**Tabla 17. Análisis económico por hectárea, de los Híbridos de maíz Iniap H-551 y Trueno sometidos a la aplicación de dos cepas de Trichoderma. Catarama, 2021.**

Tratamientos	Parámetros					
	Costo de producción	Rendimiento Kg/ha	Precio (45,36 kg)	Ingreso bruto	Utilidad	Relación Beneficio/Costo
T 1	1310,25	8125	14,6	2615,19	1304,94	1,99
T 2	1294	8166	14,6	2628,39	1334,39	2,03
T 3	1211,81	7802	14,6	2511,22	1299,41	2,07
T 4	1320,75	9875	14,6	3178,46	1857,71	2,41
T 5	1303,89	9815	14,6	3159,14	1855,25	2,42
T 6	1222	9500	14,6	3057,76	1835,76	2,50

## DISCUSIÓN

De este análisis se resalta la importancia de los mecanismos de acción que presentan las diferentes cepas de *Trichoderma*. Este análisis es vital desde el punto de vista práctico, ya que permite una adecuada precisión a la hora de seleccionar cepas con mayor potencialidad para el control de diferentes patógenos, como es el caso del agente causal de la roya (*Puccinia sorghi*) y el tizón del maíz (*Helminthosporium spp.*), hongos que se presentan en condiciones de alta humedad ambiental, lo que coincide con Núñez et al., (2019) y Ferreira et al., (2020) quienes sostienen que estos hongos fitopatógenos se adaptan mejor en temperaturas que fluctúan entre 18 a 27 ° C. Dato que sirve de referencia para elegir la zona donde se procederá a realizar el muestreo, para la obtención de los mismos.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo experimental en condiciones de laboratorio, determinaron que la aplicación de las cepas de *Trichoderma*, a saber *T. harzianum* y *T. viride*, tienen capacidad de competencia y antagonismo in vitro frente al hongo del tizón foliar (*Helminthosporium spp.*). Esto corrobora lo manifestado por Acurio et al., (2017) quien indica que las cepas de *Trichoderma* son eficaces por su micoparasitismo, antibiosis, competencia (espacio y nutrientes) y desactivación de enzimas de los patógenos. A la vez que se relaciona con los resultados obtenidos por Kumar et al., (2021) donde evidenció que los 10 aislados de *Trichoderma* en estudio, redujeron en gran manera el crecimiento micelial del tizón foliar en laboratorio.

Respecto a la Roya (*P. sorghi*), los resultados en esta investigación demostraron que *T. viride* tiene capacidad de competencia y antagonismo en condiciones *in vitro* para este patógeno en un 92 %, ya que la presencia del hongo antagonista impidió el crecimiento del patógeno, a diferencia de *T. harzianum* cuyos resultados fueron negativos en un 0% de grado de micoparasitismo. Estos resultados difieren con Chingaté et al., (2020) quien en una investigación sobre la efectividad de *Trichoderma sp.* frente a patógenos del maíz, no funcionó frente a

roya, ya que no existió la mínima presencia de *Trichoderma sp.* en las cámaras húmedas, debido a que no presentó micelio ni crecimiento.

A su vez los resultados obtenidos en la investigación, respecto a roya concuerdan con Sucaticona (2018) quien en su investigación sobre la actividad antagonista de *Trichoderma spp* y *Lecanicillium spp* frente a la roya amarilla del café (*Hemileia vastatrix*) en condiciones de laboratorio, observó comportamientos de antagonismo de *Trichoderma* sobre la roya, debido a una invasión del micelio del *Trichoderma* sobre el patógeno en la lesión de la hoja. Describiendo que el ataque de *Trichoderma* sobre *H. vastatrix* en las hojas de un cafetal puede ser diferente al parasitismo clásico.

Referente a la microscopia de los agentes en estudio, se pudo observar que *T. harzianum* presenta hifas ramificadas y septadas de donde se desarrollan los fiálides que producen los conidios, lo que difiere con Vásquez (2010), quien en la identificación morfológica de *T. harzianum* evidenció el desarrollo de hifas ramificadas - aseptadas. Por otro lado *T. viride* presenta hifas ramificadas, septadas y hialinas más finas que *T. harzianum*, donde se podían observar fiálides agrupadas entre 2 y 4, corroborando lo manifestado por Sánchez, Moreno y Páramo (2021) quien en su investigación sobre identificación morfológica de las cepas de *Trichoderma* indican las diferencias entre *T. harzianum* y *T. viride* por sus hifas, sus conidióforos, fiálides y conidios.

El efecto de las cepas de *Trichoderma* sobre la incidencia natural de roya y tizón foliar no fueron tan efectivas, sin embargo, la cepa *T. viride* sobresalió con mayor potencial controlador para ambos patógenos en estudio. El tratamiento T2V2 (*T. viride* - Trueno) en las variables de incidencia para ambos patógenos, presentó el menor porcentaje de incidencia de 1 % (roya) y 1.25 % (tizón), en promedio. Lo que coincide con Sloka, Shashi y Mohammad (2020) quienes concluyeron en una investigación, que *T. viride* redujo el tizón foliar en maíz en un 19,74%, siendo eficaz para el control de la misma. Relacionado con Jie et al., (2014) quienes concluyeron

en que *Trichoderma sp.* ofrece un control del tizón foliar en maíz, en aproximadamente un 50% a 60%.

El testigo reflejo el comportamiento agronómico menos estable y la mayor incidencia de roya y tizón foliar, esto debido al no colocarse el programa de control de enfermedades con fungicidas biológicos a base de dos cepas de *Trichoderma*. Corroborando así, lo que mencionan Chiriboga, Gómez y Garcés (2015), quienes aseguran que los microorganismos antagonistas aseguran el control de ciertos patógenos causantes de enfermedades, y así logran que las plantas alcancen un buen desarrollo que se verá reflejado en su producción.

Realizado el trabajo experimental se puede mencionar que se pudo valorar el efecto antagonista de *T. harzianum* y *T. viride* en la producción de los híbridos en estudio, a saber Iniap H-551 y Trueno, al analizar los resultados de las variables rendimientos, debido a que se pudo observar que los híbridos presentaron cierto grado de resistencia, siendo Trueno quien reflejó mayor resistencia a los patógenos en estudio y un comportamiento agronómico más estable en los tratamientos donde tenía incorporado las cepas de *Trichoderma sp.*, sin embargo, las cepas no influyeron significativamente en los rendimientos ni en la rentabilidad, en relación con el testigo, por tanto se rechaza la hipótesis de la investigación. Esto difiere con lo que mencionan Tavera et al., (2017) quienes evaluaron el efecto de *Trichoderma* en variables de producción en maíz, junto con fertilizante nitrogenado, donde concluyeron que su participación influyó en un 71 %.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### CONCLUSIONES

De acuerdo con el análisis e interpretación de los datos experimentales, se delinearán las siguientes conclusiones:

1. *T. harzianum* y *T. viride* pueden usarse como agentes de control biológico, ya que demostraron tener capacidad de competencia y antagonismo *in vitro* frente a *Helminthosporium sp.*, por tanto, son eficaces para su control.
2. *T. harzianum* no es eficaz para el control *in vitro* de *Puccinia sorghi*, hubo presencia visual del antagonista, sin embargo, no inhibió el desarrollo del patógeno. *T. viride* es eficaz para el control de *Puccinia sorghi*, debido a que inhibió el desarrollo del patógeno *in vitro*.
3. En condiciones de campo, bajo la incidencia natural de los patógenos en estudio, las cepas de *T. viride* y *T. harzianum* no ejercen un control eficaz en el manejo de las enfermedades evaluadas.
4. Aparentemente el material vegetativo, en el actual estudio, presentó cierta tolerancia a las enfermedades evaluadas, debido a que éstas no influyeron en su producción, ni en su rentabilidad.

### RECOMENDACIONES

Analizadas las conclusiones, se recomienda:

1. Se recomienda desarrollar más ensayos que evalúen la eficacia antagonista de la cepa *T. viride* en el manejo de hongos foliares en el cultivo de maíz, debido a que en la actual investigación su acción fue insipiente, a pesar de que la bibliografía reporta resultados positivos para este hongo.
2. Utilizar híbridos de maíz que sean resistentes a enfermedades, con adecuado comportamiento para la zona de estudio.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Acosta, O. (2015). Comportamiento de *Trichoderma* spp. bajo diferentes condiciones de laboratorio. Ambato: Trabajo de pregrado: Universidad Técnica de Ambato.
- Acurio, D., España, K., (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*lolium perenne*) y trébol blanco (*trifolium repens*). La Granja. Revista de ciencias de la vida, 25(1), 53-61.  
<https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Agrocalidad. (2016). Expedir la siguiente codificación de la ley de la sanidad . Obtenido de agrocalidad web site: <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2015/04/LEY-DE-SANIDAD-VEGETAL.pdf>
- Alaniz, E. (2016). Resistencia de variedades de maíz a *Ustilago maydis*, en dos comunidades del estado de México. Universidad Autónoma del Estado de México, 31-32.
- Andrade, P., Luna, A., Osorio, E., Molina, E., Landero, N., Barrales, J., (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 10(6), 1259-1272.  
<https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>
- Caballero, A., Córdova, L., López, A., (2019). Validación empírica de la teoría multicéntrica del origen y diversidad del maíz en México. Revista fitotecnia mexicana, 42(4), 357-366.
- Cai, F., Druzhinina, S. (2021). In honor of john bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. Fungal diversity, 107(1), 1-69.  
<https://doi.org/10.1007/s13225-020-00464-4>

- Camarillo, M. (2018). Evaluación de hongos rizosféricos de maíz que inhiben el crecimiento de *Fusarium spp.* 1, 1041.
- Chingaté, G., Liévano, S., Cubillos, D. (2020). Evaluación de la efectividad de antagonismo de *Trichoderma sp.* sobre diferentes hongos fitopatógenos presentes en el cultivo de maíz (*Zea mays*). Ciencias agropecuarias, 6(1), 19-34. <https://doi.org/10.36436/24223484.279>
- Chiriboga, H., Gómez, G., Garcés, K. (2015). *Trichoderma* para el control biológico de enfermedades. Paraguay : Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
- Deras, H. (2015). Guía técnica para el cultivo de maíz. Obtenido de <http://repiica.iica.int/>: <http://repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf>
- FAO. (2020). fao.org. Obtenido de FAO web site: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Farmagro S.A. (2015). *Farmagro*. Obtenido de Farmagro web site: <https://www.farmagro.com/noticias/149-la-importancia-del-ma%C3%ADz-en-el-ecuador>
- Félix, R., Lizárraga, J., Maldonado, E., Leyval, Y., Herrera, G., Espinoza, S., (2018). Confirmación de la identidad de *exserohilum turcicum*, agente causal del tizón foliar del maíz en sinaloa. Revista mexicana de fitopatología, 36(3), 468-478. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1803-1>
- Ferreira, C., Miranda, H. (2020). Potential occurrence of *Puccinia sorghi* in corn crops in Paraná, under scenarios of climate change. International journal of biometeorology, 64(7), 1051-1062. <https://doi.org/10.1007/s00484-020-01880-6>

- Gabriel, J., Ortuño, N., Vera, M., Castro, C., Narvaez, W., Manobando, M. (2017). Manual para evaluación de daños de enfermedades en cultivos agrícolas. Jipijapa, Ecuador. 53 p: Grupo COMPAS, Universidad Estatal del Sur de Manabí.
- García, J. L., Cueto, J. A., Figueroa, U., Reta, D. G., (2019). Inhibidor de la nitrificación dmpp en la fertilización del maíz forrajero en la comarca lagunera. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(8), 1849-1861. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i8.2079>
- Hidalgo, R., Moran, I. (2020). *Trichoderma*: Hongo fungicida usado en tratamientos foliares del suelo y el control de diversas enfermedades producidas por hongos. *Revista: Caribeña de Ciencias Sociales*, 50-63.
- Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of currient. *Concepts Plant Diseases*. N 87, 4-10.
- INIAP. (2018). Manejo de enfermedades - *Curvularia*. Obtenido de Iniap.gob.ec: <http://tecnologia.iniap.gob.ec/images/rubros/contenido/maizd/8curvularia.pdf>
- INIAP. (11 de Noviembre de 2020). Protocolo para evaluación de ensayos de adaptabilidad y eficiencia en maíz duro. Iniap.gob. Obtenido de Iniap web site: <http://eva.iniap.gob.ec/web/maiz-duro/enfermedades-maiz-duro/>
- INTA. (2010). Enfermedades foliares reemergentes del cultivo de maíz: Royas (*Puccinia sorghi* y *Puccinia polysora*), Tizon foliar (*Exserohilum turcicum*) y Mancha foliar (*Kabatiella zae*). Actualización Técnica N° 2 – Maíz, Girasol y Sorgo, 90 - 92.

- Jie, C., Kai, D., Yongdong, G., Yaqian, I. (2014). Mechanism and application of *Trichoderma spp.* in biological control of corn diseases. *Mycosystema*, 33(6), 1154-1167.
- Kim, S., Broeck, I., Den V., Karre, S., Choi, H., Christensen, S., Wang, G., Jo, Y., Cho, W., Balint-Kurti, P. (2021). Analysis of the transcriptomic, metabolomic, and gene regulatory responses to *Puccinia sorghi* in maize. *Molecular plant pathology*, 22(4), 465-479. <https://doi.org/10.1111/mpp.13040>
- Kumar, C., Chand, P., Choudhary, C., Akhtar, N., Rai, B. (2021). In vitro evaluation of fungicides, botanicals and bio-agents against the maydis leaf light disease of maize caused by *Helminthosporium maydis*. *The Pharma Innovation Journal*, 10 (6): 399-406.
- Lanver, D., Tollot, M., Schweizer, G., Lo Presti, I., Reissmann, S., Ma, I., Schuster, M., Tanaka, S., Liang, I., Ludwig, N., Kahmann, R. (2017). *Ustilago maydis* effectors and their impact on virulence. *Nature reviews microbiology*, 15(7), 409-421. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.33>
- León, D., Cortés, A., Sarmiento, N. (2017). Evaluación de la actividad fungicida e identificación de compuestos orgánicos volátiles liberados por *Trichoderma viride*. *Revista colombiana de biotecnología*, 19(1), 63-70. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.65969>
- López, Y., Pineda, J., Hernández, A., Ulacio, D. (2010). Efecto diferencial de seis aislamientos de *Trichoderma* sobre la severidad de *Rhizoctonia solani*, desarrollo radical y crecimiento de plantas de maíz. *Bioagro*, 22(1), 37-42.
- Loza, A. (2017). Evaluación de híbridos de maíz dulce (*Zea mays L.*) var *Saccharata*, bajo dos distanciamientos de siembra para grano enlatado. Quito - Ecuador: Universidad Central del Ecuador.

- MAG. (2019). Mag web site. Obtenido de sipa.agricultura.gob.ec:  
<http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/sipa-estadisticas/estadisticas-productivas>
- MAG, CGINA. (2021). Sipa.agricultura.gob.ec. Obtenido de Magap web site:  
<http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/sipa-estadisticas/estadisticas-productivas>
- Martínez, B., Infante, D., Reyes, Y. (2013). *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de protección vegetal*, 28(1), 1-11.
- Morales, I., Andrade, P., Valencia, M., Romero, O., Silva, H., Contreras, C., (2020). Caracterización de hongos asociados al cultivo de fresa y efecto antagonista in vitro de *Trichoderma harzianum*. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(3), 434-449. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-7>
- Navarro, B., Hanekamp, H., Koopmann, B., Von Tiedemann, A. (2020). Diversity of expression types of ht genes conferring resistance in maize to *Exserohilum turcicum*. *Frontiers in plant science*, 11, 2056. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.607850>
- Nugra, A. (2018). Evaluación de sustratos orgánicos para la propagación del *Trichoderma spp.* Cuenca - Ecuador: Universidad Politecnica Salesiana .
- Núñez, B., Robledo, M., Calderón, A., Zavala, J., Rojas, H., Rincón, V., Colín, S. (2019). Rendimiento de grano y resistencia a tizón foliar (*Exserohilum turcicum*) de híbridos fértiles y androestériles de maíz. *Agrociencia*, 53(1), 73-88.
- Orellano, D. (2019). Efecto del glifosato sobre el crecimiento de *Trchoderma viride* en condiciones de laboratorio. Trujillo - Perú: Universidad Nacional de Trujillo.

- Pavone, D., Dorta, B. (2015). Diversidad del hongo *Trichoderma spp.* en plantaciones de maíz en Venezuela. *Interciencia* Vol. 40, 23-31.
- Pérez. E., Bernal. A., Milanés. P., Leiva. M., Sierra. Y., Cupull. R. (2017). Actividad antagónica de *Trichoderma harzianum rifai* sobre el agente causal del tizón del arroz (*Pyricularia grisea sacc.*). *Centro agrícola*, 44(3), 13-19.
- Pérez. E., Bernal. A., Milanés. P., Sierra. Y., Leiva, M., Marín. S., Monteagudo, O. (2018). Eficiencia de *Trichoderma Harzianum* (cepa a-34) y sus filtrados en el control de tres enfermedades fúngicas foliares en arroz. *Bioagro*, 30(1), 17-26.
- Peretti, L. (2018). El origen del maíz en relación a los dos géneros y la creación de la tierra fértil en el mito de Tlaltecuhli . Ibero-Amerikanisches Institut, Stiftung Preußischer Kulturbesitz, 8-19.
- Pinto, M., Arana, O., Ayala, E., Cogollo, E., Torecilla, J. (2021). *Trichoderma spp.* biocontrolador de marchitez vascular (*Fusarium spp.*) de la berenjena en el caribe colombiano: Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, 19(2), 158-169. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1847>
- Ramirez. Y., Kumar, I., Shabani, F. (2017). Global risk levels for corn rusts (*Puccinia sorghi* and *puccinia polysora*) under climate change projections. *Journal of phytopathology*, 165(9), 563-574. <https://doi.org/10.1111/jph.12593>
- Romero. T., Acuna. J., Azuara. A., Lázaro. M., Monteon, A., Vargas, H., Secundino. Y. (2021). Identificación y evaluación antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma spp.* sobre hongos fitopatógenos asociados al manchado del cáliz en jamaica (*hibiscus sabdariffa l.*). *Tropical and subtropical agroecosystems*, 24, 1-10.

- Samaniego. M., Harouna, M., Corbea, O., Rondón. J., Placeres. I., (2018). Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma spp.* antagonistas de patógenos del suelo. Revista de protección vegetal, 33(3). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=s1010-27522018000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=s1010-27522018000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=pt)
- Sanchez, M; Moreno, L; Páramo, L. (2021). Identificación morfológica y molecular de especies autóctonas *Trichoderma spp.*, aisladas de suelos de importancia agrícola. Revista de ciencia y tecnología El Higo, 11(01), pp. 26-42.
- Sandoval, E. (2018). Determinar el efecto de la dosis de tres herbicidas comerciales post- emergentes para el control de malezas en maíz (*Zea Mays. L*) en el distrito de Mórrope, región Lambayeque. Lambayeque - Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- SIPA. (15 de Abril de 2021). Ministerio de Agricultura y Ganadería. Obtenido de Ministerio de Agricultura y Ganadería Web site: <http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/sipa-estadisticas/estadisticas-productivas>
- Sloka, K., Shashi , T., Mohammad , F. (2020). Eco-friendly management of northern Corn leaf blight of maize (*Zea mays L.*). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 9(2): 1660-1663.
- Stoetzer, E., Robertson, A. (2018). Weather conditions ripe for physoderma brown spot and node rot and gray leaf spot. Integrated crop management news. <https://lib.dr.iastate.edu/cropnews/2488>
- Sucaticona. F. (2018). Actividad antagónica in vitro de los hongos *Trichoderma spp.* y *Lecanicillium spp.* frente al hongo de la roya amarilla del café (*Hemileia*

- vastatrix*) en condiciones de laboratorio. Tesis, Universidad Nacional del Altiplano, Perú.
- Taco, P., Soto, R., Reyes, V. (2017). Niveles de fertilización en dos variedades de maíz morado (*Zea mays L.*) en la localidad de Canaán-Ayacucho. Aporte santiaguino, ág. 39-50. <https://doi.org/10.32911/as.2017.v10.n1.181>
- Tavera, D., Hernández, J., Ulibarri, G., Sánchez, J. (2017). Inoculación de *Trichoderma harzianum* en *Zea mays* y su efecto a la adición del fertilizante nitrogenado al 50%. Journal of the selva andina research society, 8(2):115-123.
- Torres, A. (2021). Rendimiento de 18 híbridos de maíz (*Zea mays*) en las condiciones edafoclimáticas de la comuna San Marcos, Santa Elena. <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/5958>
- Vanegas, M., Pavas, M., Osorno, C. (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma spp.* y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. Actualidades biológicas, 41(111), 1-13. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>
- Villar, A., Ernst, O., Cadenazzi, M., Vero, S., Pereyra, S., Altier, N., Chouhy, D., Langone, F., Pérez, A. (2019). Efecto de la secuencia de cultivos sobre la población nativa de *Trichoderma spp.* en agricultura sin laboreo. Agrociencia (Uruguay), 23(1), 18-27. <https://doi.org/10.31285/agro.23.1.5>
- Wang, M., Ma, J., Fan, L., Fu, K., Yu, C., Gao, J., Li, Y., Chen, J. (2015). Biological control of southern corn leaf blight by *Trichoderma atroviride* sg3403. Biocontrol science and technology, 25(10), 1133-1146. <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1036005>

- Weems, D., Bradley, A. (2018). *Exserohilum turcicum* race population distribution in the north central United States. *Plant disease*, 102(2), 292-299. <https://doi.org/10.1094/pdis-01-17-0128-re>
- Yanza, P. (2020). Determinación del potencial agrícola del suelo para el cultivo de maíz, papa y frejól a través de datos edafoclimáticos en la parroquia Guaytacama. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6624>
- Zambrano, L., Yáñez, C., Sangoquiza, A., Limongi, R., Alarcón, F., Zambrano, E., Caicedo, B., Villavicencio, J., Cartagena, E., Parra, R., Azaquibay, R., Quimbiamba, V., Nieto, R., López, A., Tapia, B., Tacán, M., Villacrés, E., Garcés, S., Cañarte, E., Pinargote, F. (2019). Situación del cultivo de maíz en Ecuador: Investigación y desarrollo de tecnologías en el INIAP. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5457>

## ANEXOS

### **Anexo 1. Esquema del trabajo experimental de campo**

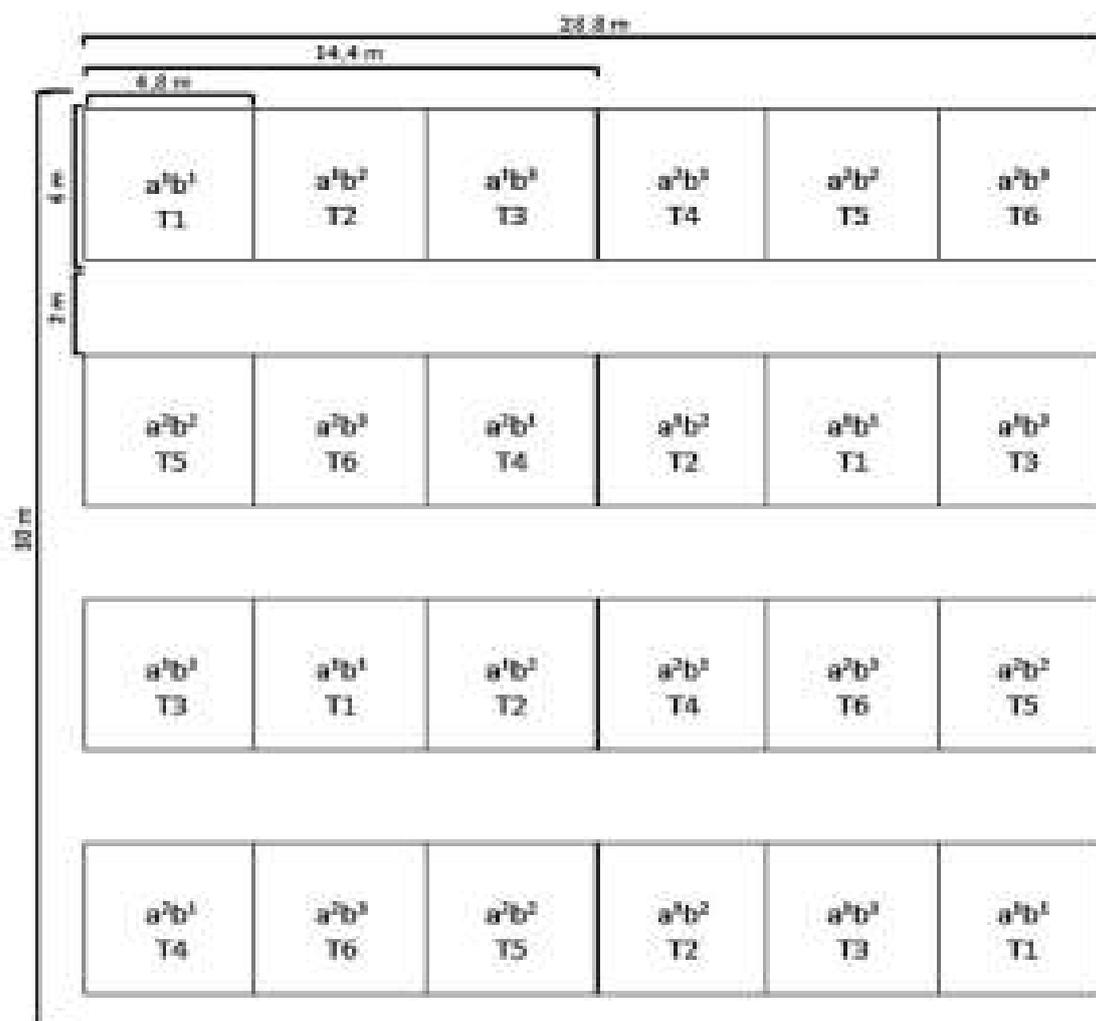
Factor A (Variedades): **a<sup>1</sup>** (Iniap H-551); **a<sup>2</sup>** (Trueno)

Factor B (Cepas y testigo): **b<sup>1</sup>** (*T. harzianum*); **b<sup>2</sup>** (*T. viride*); **b<sup>3</sup>** (Agua- testigo)

**Tabla 18. Esquema del experimento**

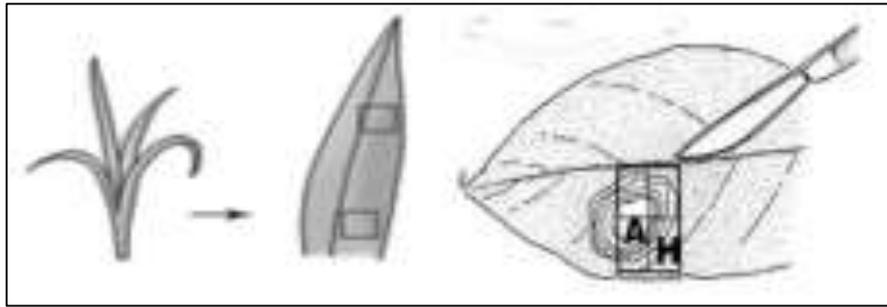
Bloque 1		Bloque 2		Bloque 3		Bloque 4	
a <sup>1</sup>	a <sup>2</sup>	a <sup>2</sup>	a <sup>1</sup>	a <sup>1</sup>	a <sup>2</sup>	a <sup>2</sup>	a <sup>1</sup>
b <sup>1</sup>	b <sup>2</sup>	b <sup>2</sup>	b <sup>2</sup>	b <sup>3</sup>	b <sup>1</sup>	b <sup>2</sup>	b <sup>2</sup>
b <sup>2</sup>	b <sup>1</sup>	b <sup>3</sup>	b <sup>1</sup>	b <sup>1</sup>	b <sup>3</sup>	b <sup>1</sup>	b <sup>3</sup>
b <sup>3</sup>	b <sup>3</sup>	b <sup>1</sup>	b <sup>3</sup>	b <sup>2</sup>	b <sup>2</sup>	b <sup>3</sup>	b <sup>1</sup>

Elaborado por: Mena (2021)



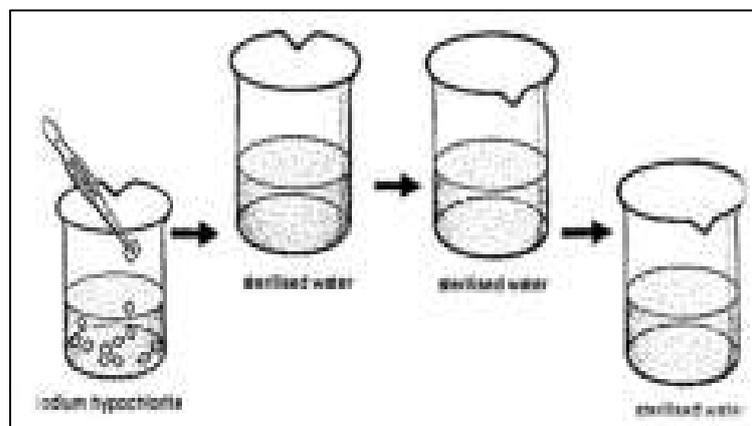
**Ilustración 3. Diseño de los tratamientos en parcelas divididas**

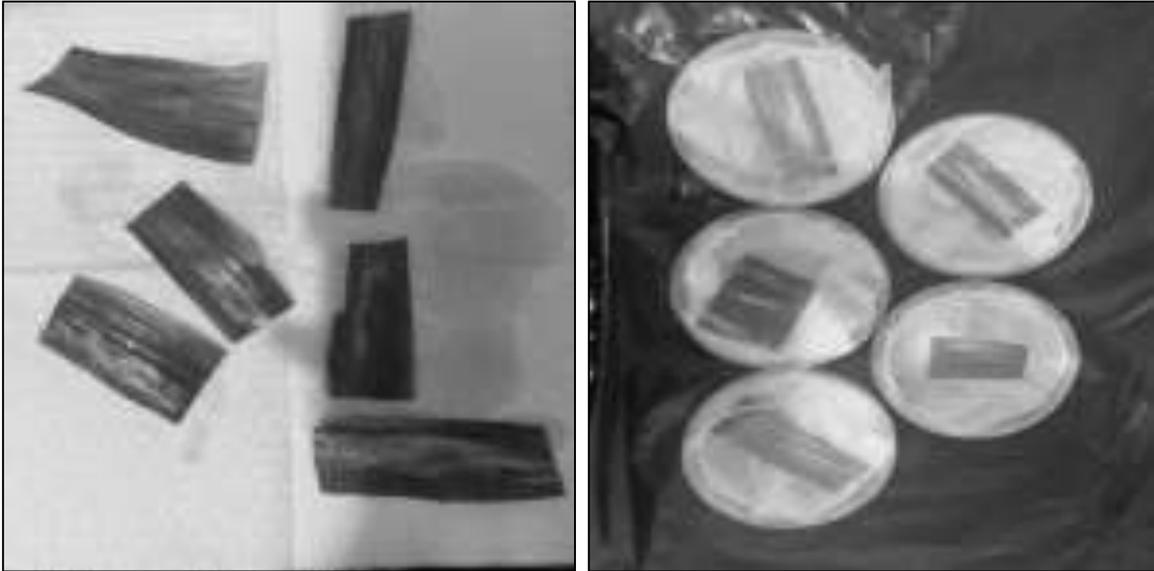
**Anexo 2. Obtención de muestras para ser cultivadas, Félix-Gastelum et al., (2018)**



**Ilustración 4. Muestras de roya y tizón foliar obtenidas en campo**

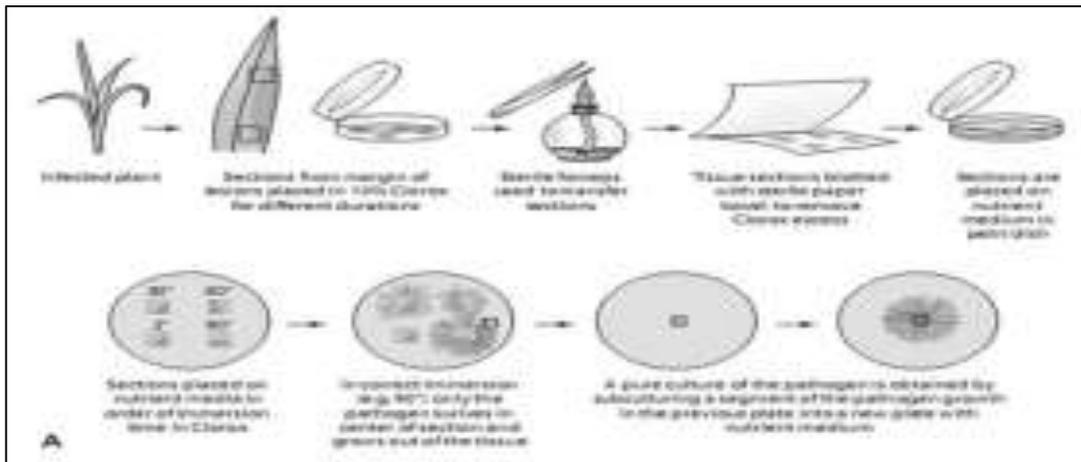
**Anexo 3. Desinfección de muestras de tizón foliar, Félix-Gastelum et al., (2018)**

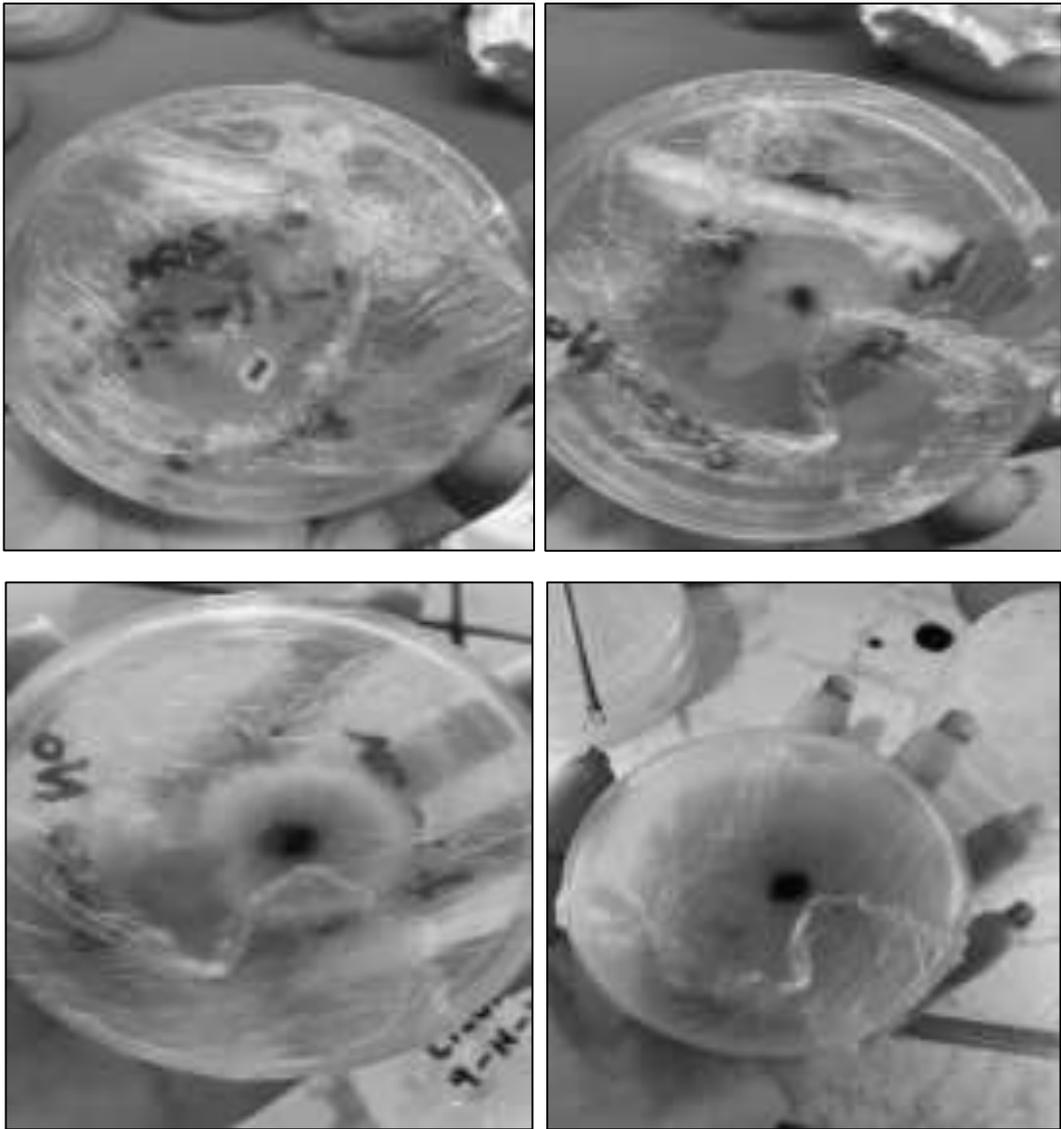




**Ilustración 10. Desinfección de las muestras y realización de cámaras húmedas**

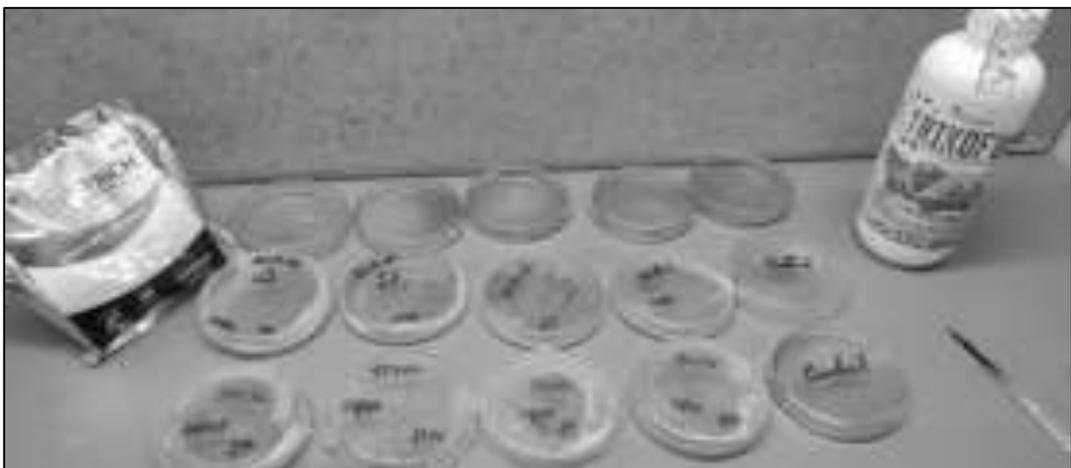
**Anexo 4. Siembra del corte del tejido, Chingaté et al., (2020)**

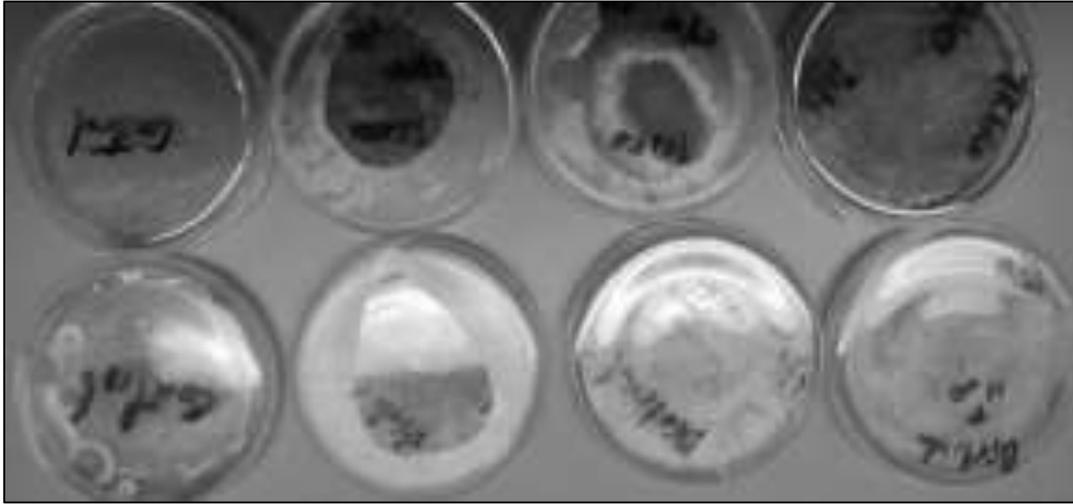




*Ilustración 11. Siembra del hongo Helminthosporium spp. y su desarrollo*

**Anexo 5. Aislamiento de las cepas del genero *Trichoderma*, Chingaté et al., (2020)**





**Ilustración 12. Aislamiento de las cepas de Trichoderma y su desarrollo 62 horas después**

### **Anexo 6. Preparación de medios de cultivo**

Para el cultivo de los hongos se utilizó agar papa dextrosa (APD), se consideró un número de 50 cajas Petri con un volumen de 20 ml cada caja, para evitar sobrantes.

39 gr de medio en 1000 ml = 1000 ml de medio líquido

20 ml de medio / Petri x 50 cajas Petri = 1000 ml

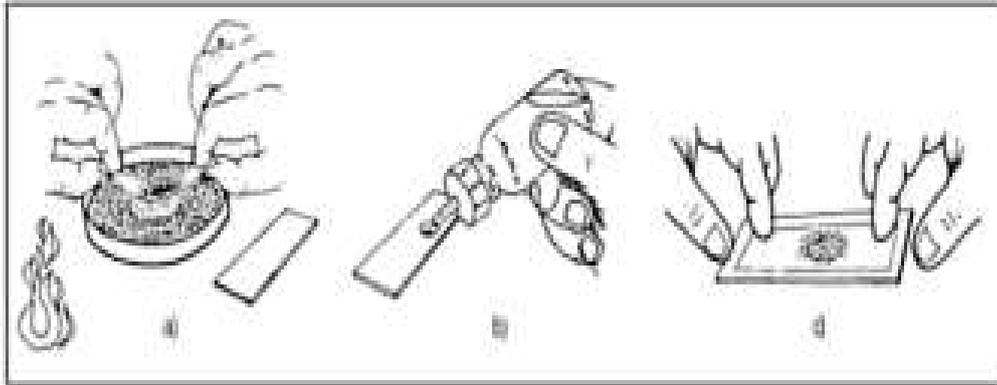
Preparación:

Se pesó 39 g del PDA y se lo disolvió bien en 1 litro de agua purificada en un vaso de precipitación resistente al calor, luego se solubilizó el medio agitándolo hasta no observarse grumos, adicionalmente se calentó la solución de medio a fuego lento para lograr la solubilidad completa. Posterior a esto se esterilizó el medio en el autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos a una presión de 15 PSI. Finalmente se dispenseo el medio en cajas Petri de 60 x 15 mm en una cámara de flujo.



***Ilustración 13. Preparación de medios de cultivos para el desarrollo de los hongos***

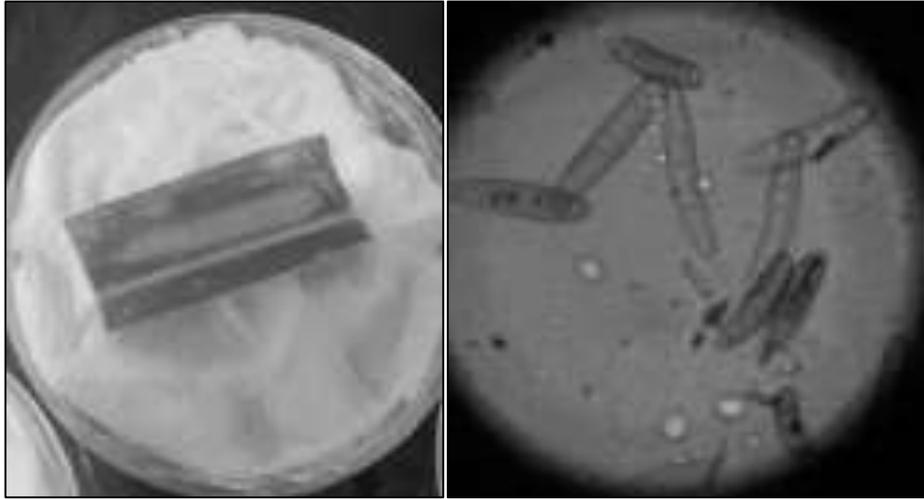
**Anexo 7. Preparación de las muestras para observar hongos microscópicos con Azul de lacto fenol**



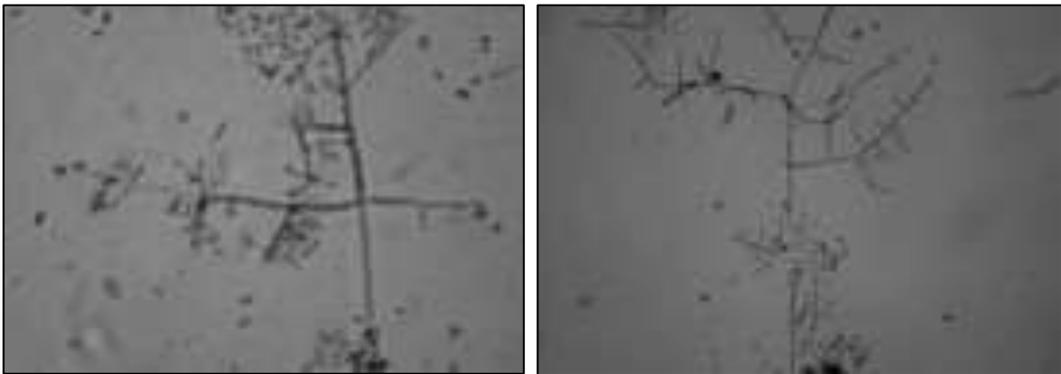
**Ilustración 14. Preparación de la muestra y observación en el microscopio**



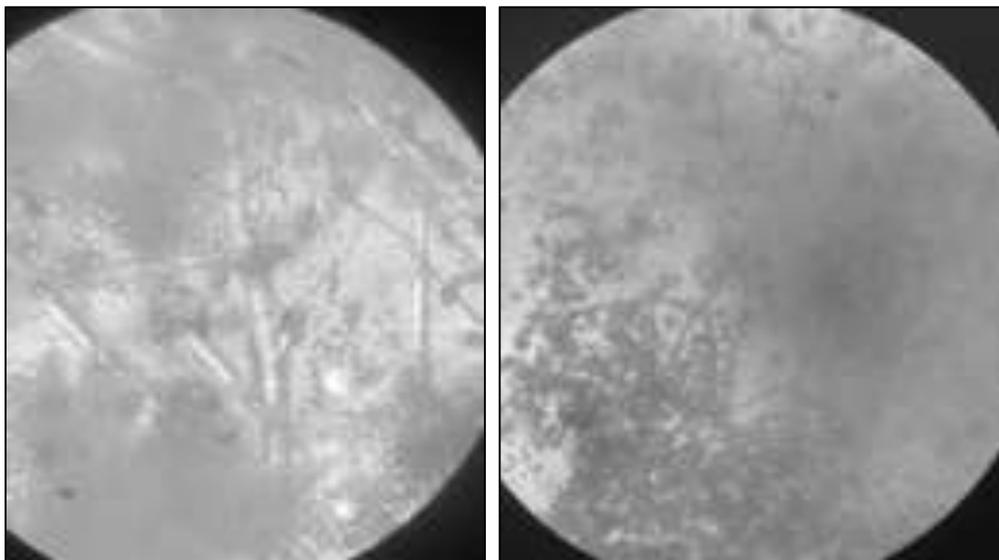
**Ilustración 15. Identificación de Puccinia sorghi.**



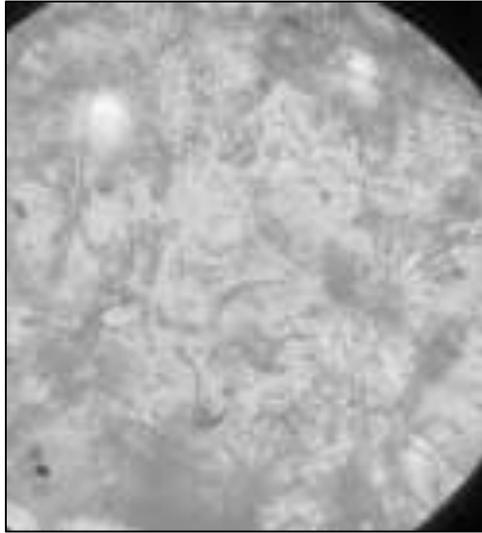
**Ilustración 16. Identificación del hongo *Helminthosporium* sp.**



**Ilustración 17. Microscopia de la estructura de *T. harzianum* y *T. viride***

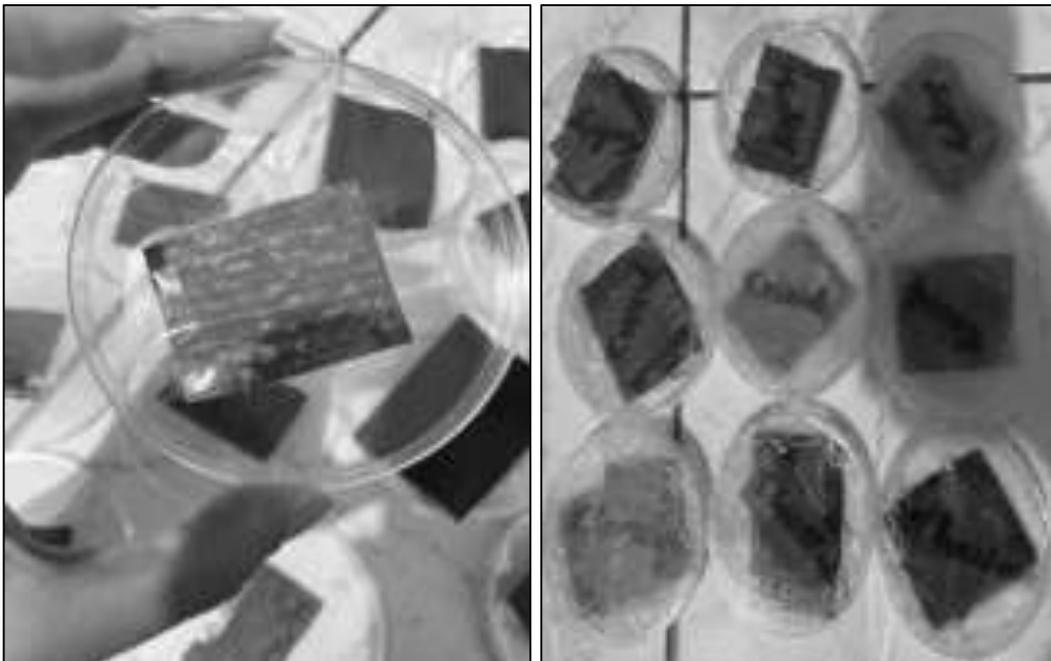


**Ilustración 18. Identificación del hongo *T. harzianum*. Img.1. Aumento 100x. Img.2. Aumento 40x.**



*Ilustración 19. Identificación del hongo T. viride observado a 100x Dpto.*

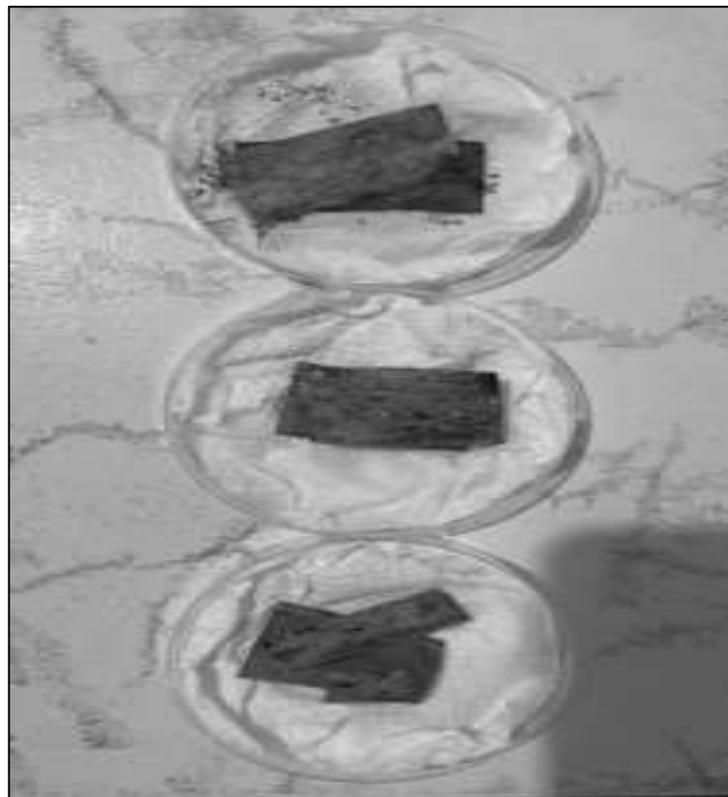
**Anexo 8. Pruebas antagonistas de las cepas de Trichoderma contra P. sorghi, Chingaté et al., (2020)**



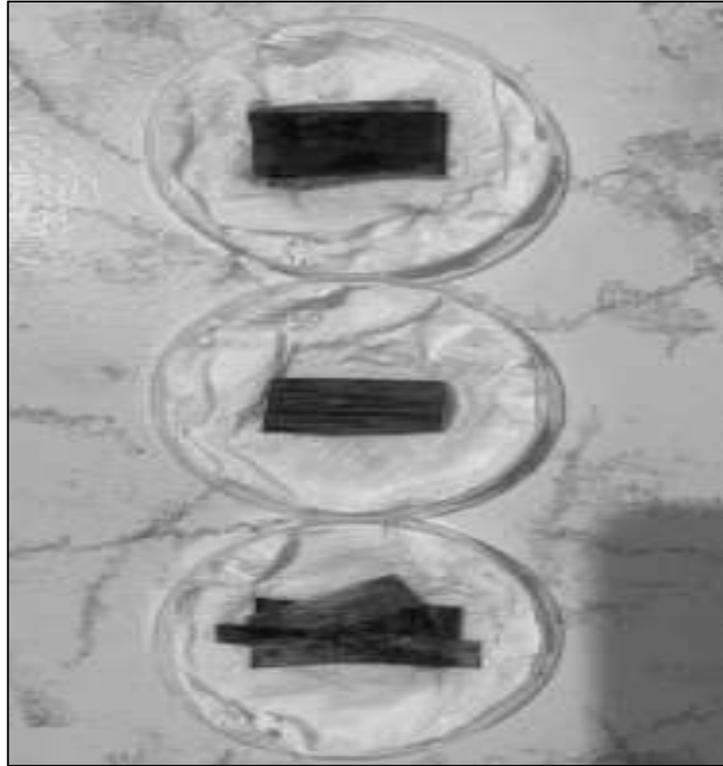
*Ilustración 20. Cámaras húmedas para las pruebas antagónicas de las cepas de Trichodermas contra roya*



***Ilustración 21. Testigo sin cepa de Trichoderma***

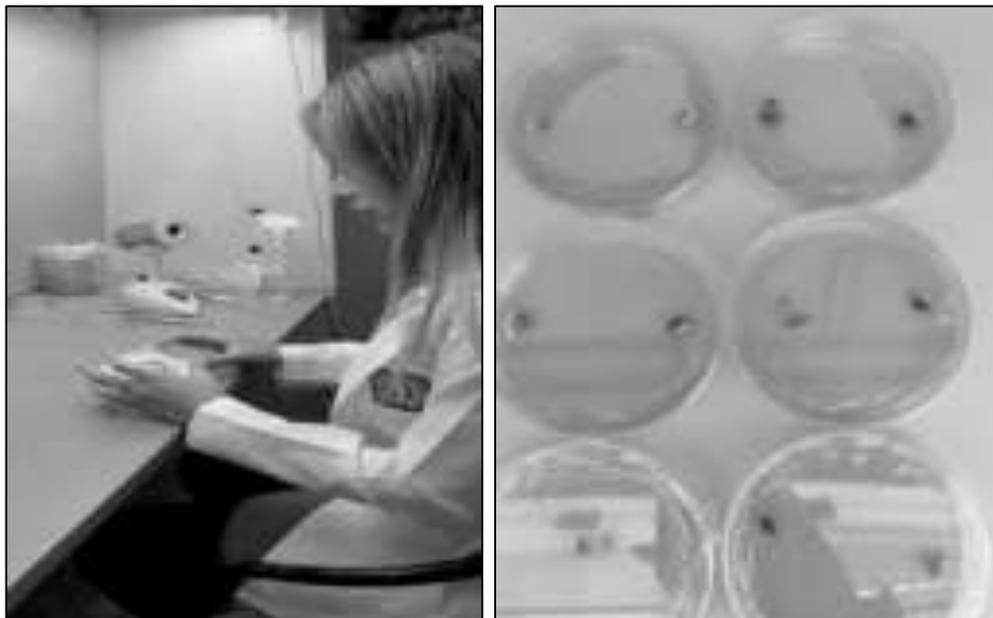


***Ilustración 22. Tratamiento con *T. harzianum*, presencia visual del antagonista, no inhibió el desarrollo del patógeno***

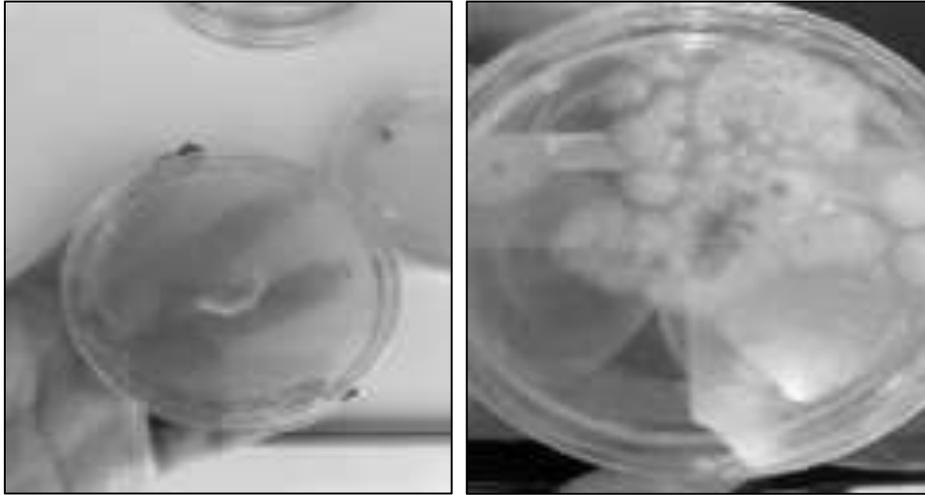


**Ilustración 23. Tratamiento con *T. viride*, presencia visual, inhibió el desarrollo del patógeno**

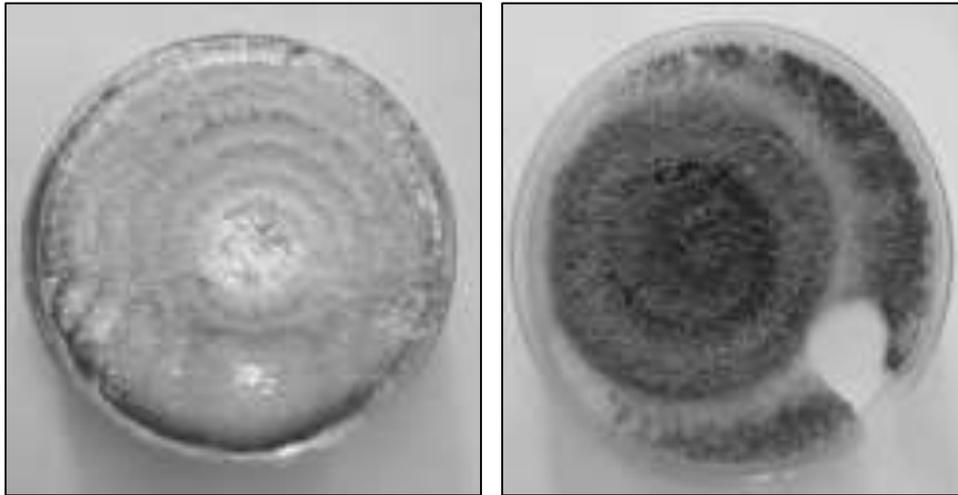
**Anexo 9. Pruebas antagonistas de las cepas de *Trichoderma* contra *Helminthosporium* sp. mediante cultivos duales Howell (2003)**



**Ilustración 24. Cultivos duales de las cepas de *Trichoderma* contra *Helminthosporium* sp.**



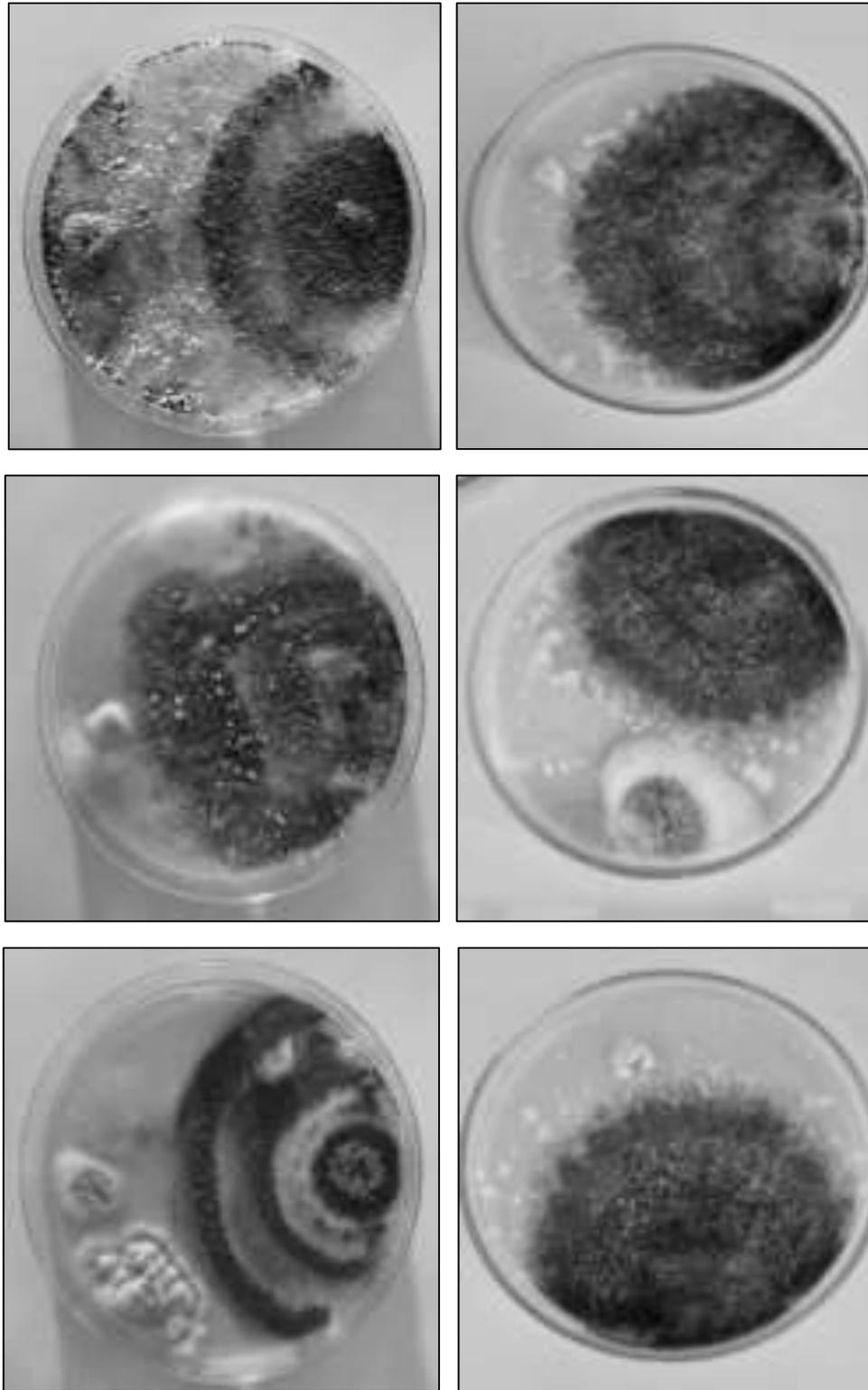
**Ilustración 25. Cultivos individuales de las cepas de Trichoderma a los 4 días. Img 1. *T. viride*; Img 2. *T. harzianum***



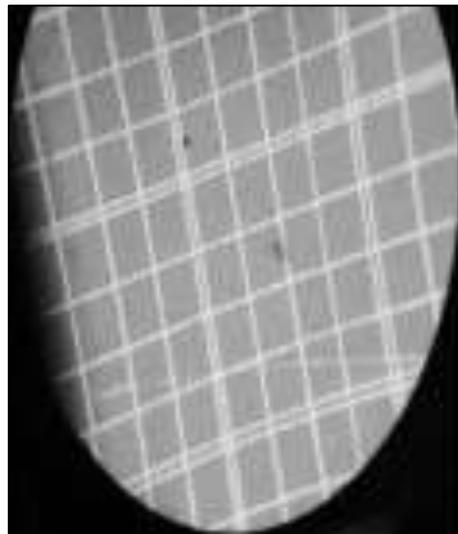
**Ilustración 26. Cultivos individuales de las cepas de Trichoderma a los 7 días. Img 1. *T. viride*; Img 2. *T. harzianum***



**Ilustración 27. Cultivos individuales de *Helminthosporium* sp.**



**Ilustración 28. Cultivos duales de las cepas de *Trichodermas* frente a *Helminthosporium* sp. Primera columna *T. viride* y la segunda columna *T. harzianum*.**



***Ilustración 29. Conteo de Esporas con la cámara Neubauer***



***Ilustración 30. Revisión de cultivos con el tutor.***



*Ilustración 31. Establecimiento de las parcelas*



*Ilustración 32. Siembra*



*Ilustración 33. Parcelas establecidas bajo el diseño parcelas divididas bajo un diseño de bloques completo al azar.*



*Ilustración 34. Cultivo de maíz estado V1*



*Ilustración 35. Gran porcentaje de germinación*



*Ilustración 36. Cultivo de maíz en estado V7*



***Ilustración 37. Cultivo de maíz en floración***



***Ilustración 38. Evaluación de las variables incidencia y severidad***



***Ilustración 39. Planta con grado 5 de severidad de roya***



***Ilustración 40. Síntomas de Tizón foliar***



*Ilustración 41. Última aplicación de tratamientos*



*Ilustración 42. Mazorcas en buen estado fisiológico*



***Ilustración 43. Peso del rendimiento por tratamiento***

## APÉNDICE

### ÍNDICE DE INCIDENCIA DE ROYA

Cepas	Índice de Incidencia de Roya					
	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 4	$\Sigma$	$\bar{y}$
Variedad V1 (Iniap H-551)						
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	5	3	3	4	15	3,75 a
T2 ( <i>T. viride</i> )	2	2	1	2	7	1,75 a
T3 (testigo)	7	8	10	8	33	8,25 b
$\Sigma$	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>55</b>	<b>4,58</b>
Variedad V2 (Trueno)						
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	2	1	3	2	8	2 a
T5 ( <i>T. viride</i> )	1	1	2	0	4	1 a
T6 (testigo)	5	4	6	6	21	5,25 a
$\Sigma$	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>33</b>	<b>2,75</b>

#### Split-plot AOV Table for Incidence of Roya

Source	DF	SS	MS	F	P
Bloques	3	3,000	1,0000		
Variedad	1	20,167	20,1667	40,33	0,0079
Error Bloques*Variedad	3	1,500	0,5000		
Cepas	2	123,083	61,5417	70,33	0,0000
Variedad*Cepas	2	5,083	2,5417	2,90	0,0936
Error Bloques*Variedad*Cepas	12	10,500	0,8750		
Total	23	163,333			

Grand Mean	3,6667
CV (Bloques*Variedad)	19,28
CV (Bloques*Variedad*Cepas)	25,51

Tukey: 2,23

### ÍNDICE DE INCIDENCIA DE TIZÓN FOLIAR

Cepas	Índice de Incidencia de Tizón					
	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 4	$\Sigma$	$\bar{y}$
Variedad V1 (Iniap H-551)						
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	3	4	2	4	13	3,25 a
T2 ( <i>T. viride</i> )	3	2	2	3	10	2,5 a
T3 (testigo)	8	7	9	8	32	8 b
$\Sigma$	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>55</b>	<b>4,58</b>
Variedad V2 (Trueno)						
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	2	1	2	2	7	1,75 a
T5 ( <i>T. viride</i> )	1	1	2	1	5	1,25 a
T6 (testigo)	5	4	6	4	19	4,75 a

$\Sigma$                       8                      6                      10                      7                      31                      2,58

**Split-plot AOV Table for Incidence of Tizón**

Source	DF	SS	MS	F	P
Bloques	3	1,500	0,5000		
Variedad	1	24,000	24,0000	30,86	0,0115
Error Bloques*Variedad	3	2,333	0,7778		
Cepas	2	95,083	47,5417	92,51	0,0000
Variedad*Cepas	2	4,750	2,3750	4,62	0,0325
Error Bloques*Variedad*Cepas	12	6,167	0,5139		
Total	23	133,833			

Grand Mean                      3,5833  
 CV(Bloques\*Variedad)                      24,61  
 CV(Bloques\*Variedad\*Cepas)                      20,01

Tukey: 1,71

**ÍNDICE DE SEVERIDAD DE ROYA**

Cepas	Índice de severidad de Roya					
	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 4	$\Sigma$	$\bar{y}$

Variedad V1 (Iniap H-551)

T1 ( <i>T. harzianum</i> )	3	3	3	3	12	3 a
T2 ( <i>T. viride</i> )	2	2	2	2	8	2 a
T3 (testigo)	4	4	4	4	16	4 a
$\Sigma$	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>36</b>	<b>3</b>

Variedad V2 (Trueno)

T4 ( <i>T. harzianum</i> )	3	3	3	3	12	3 a
T5 ( <i>T. viride</i> )	2	2	1	0	5	1 a
T6 (testigo)	3	4	4	4	15	4 a
$\Sigma$	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>32</b>	<b>3</b>

**Split-plot AOV Table for Severidad de roya**

Source	DF	SS	MS	F	P
Bloques	3	0,3333	0,1111		
Variedad	1	0,6667	0,6667	6,00	0,0917
Error Bloques*Variedad	3	0,3333	0,1111		
Cepas	2	20,5833	10,2917	43,59	0,0000
Variedad*Cepas	2	0,5833	0,2917	1,24	0,3252
Error Bloques*Variedad*Cepas	12	2,8333	0,2361		
Total	23	25,3333			

Grand Mean                      2,8333  
 CV(Bloques\*Variedad)                      11,76  
 CV(Bloques\*Variedad\*Cepas)                      17,15

Tukey: 1,14

## ÍNDICE DE SEVERIDAD DE TIZÓN

Cepas	Índice de severidad de Tizón					
	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 4	$\Sigma$	$\bar{y}$
Variedad V1 (Iniap H-551)						
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	4	4	4	4	16	4 a
T2 ( <i>T. viride</i> )	4	4	3	4	15	4 a
T3 (testigo)	5	5	5	5	20	5 a
$\Sigma$	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>51</b>	<b>4</b>
Variedad V2 (Trueno)						
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	5	2	4	4	15	4 a
T5 ( <i>T. viride</i> )	4	4	3	4	15	4 a
T6 (testigo)	5	5	5	4	19	5 a
$\Sigma$	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>49</b>	<b>4</b>

### Split-plot AOV Table for Severidad de Tizón

Source	DF	SS	MS	F	P
Bloques	3	1,0000	0,33333		
Variedad	1	0,1667	0,16667	0,60	0,4950
Error Bloques*Variedad	3	0,8333	0,27778		
Cepas	2	6,0833	3,04167	7,06	0,0094
Variedad*Cepas	2	0,0833	0,04167	0,10	0,9085
Error Bloques*Variedad*Cepas	12	5,1667	0,43056		
Total	23	13,3333			
Grand Mean		4,1667			
CV(Bloques*Variedad)		12,65			
CV(Bloques*Variedad*Cepas)		15,75			

Tukey: 1,57

### PESO DE 1000 GRANOS

Cepas	Peso de 1000 granos					
	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 4	$\Sigma$	$\bar{y}$
Variedad V1 (Iniap H-551)						
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	272	274	280	278	1104	276 a
T2 ( <i>T. viride</i> )	276	272	274	278	1100	275 a
T3 (testigo)	230	236	242	238	946	236,5 c
$\Sigma$	<b>778</b>	<b>782</b>	<b>796</b>	<b>794</b>	<b>3150</b>	<b>262,5</b>
Variedad V2 (Trueno)						
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	279	280	280	292	1131	282,7 a
T5 ( <i>T. viride</i> )	292	270	280	290	1132	283 a
T6 (testigo)	256	262	259	259	1036	259 b
$\Sigma$	<b>827</b>	<b>812</b>	<b>819</b>	<b>841</b>	<b>3299</b>	<b>274,9</b>

**Split-plot AOV Table for weight of 1000 grain**

Source	DF	SS	MS	F	P
Bloques	3	151,79	50,60		
Variedad	1	925,04	925,04	34,07	0,0100
Error Bloques*Variedad	3	81,46	27,15		
Cepas	2	5271,58	2635,79	92,35	0,0000
Variedad*Cepas	2	306,58	153,29	5,37	0,0216
Error Bloques*Variedad*Cepas	12	342,50	28,54		
Total	23	7078,96			

Grand Mean 268,71  
 CV(Bloques\*Variedad) 1,94  
 CV(Bloques\*Variedad\*Cepas) 1,99

Tukey: 12,68

**RENDIMIENTO POR TRATAMIENTO EN KG/parcela**

Cepas	Rendimiento por tratamiento en Kg/ha					
	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 4	Σ	ȳ
Variedad V1 (Iniap H-551)						
T1 ( <i>T. harzianum</i> )	24,08	23,90	23,82	24,00	95,8	23,95 c
T2 ( <i>T. viride</i> )	24,10	25,08	23,90	23,20	96,3	24,07 c
T3 (testigo)	23,32	23,10	23,00	22,80	92,2	23 d
Σ	<b>71,5</b>	<b>72,08</b>	<b>70,72</b>	<b>70</b>	<b>197,3</b>	<b>262,5</b>
Variedad V2 (Trueno)						
T4 ( <i>T. harzianum</i> )	28,90	29,32	29,10	29,12	116,4	29,11 a
T5 ( <i>T. viride</i> )	29,14	29,20	29,00	28,43	115,7	28,94 a
T6 (testigo)	27,99	28,00	28,14	28,09	112,2	28 b
Σ	<b>86,03</b>	<b>86,52</b>	<b>86,24</b>	<b>85,64</b>	<b>344,3</b>	<b>274,9</b>

**Split-plot AOV Table for Rendimiento**

Source	DF	SS	MS	F	P
Bloques	3	0,760	0,253		
Variedad	1	150,651	150,651	2240,58	0,0000
Error Bloques*Variedad	3	0,202	0,067		
Cepas	2	4,950	2,475	19,80	0,0002
Variedad*Cepas	2	0,083	0,042	0,33	0,7238
Error Bloques*Variedad*Cepas	12	1,500	0,125		
Total	23	158,144			

Grand Mean 26,197  
 CV(Bloques\*Variedad) 0,99  
 CV(Bloques\*Variedad\*Cepas) 1,35

Tukey: 0,8