

**EFFECTO DE COMPUESTOS VOLÁTILES EMITIDOS POR *TRICHODERMA*  
SPP. SOBRE *FUSARIUM VERTICILLIOIDES* NIRENBERG Y *ASPERGILLUS*  
*FLAVUS* LINK AISLADOS DE MAÍZ.**

Angelica Inojosa<sup>1</sup>, Rosa Silva<sup>1</sup>, Iraima Rodríguez<sup>1</sup>, Nohants Rumbos<sup>1</sup> y Rossana Figueroa<sup>2</sup>

Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, <sup>1</sup>Instituto de Química y Tecnología. <sup>2</sup>Instituto de Ingeniería Agrícola. Apdo. 4579. Maracay, 2101, Venezuela. E-mails: iraima1408@gmail.com

**RESUMEN**

Inojosa, A., Silva, R., Rodríguez, I., Rumbos, N. y Figueroa R. 2013. Efecto de compuestos volátiles emitidos por *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium verticillioides* Nirenberg y *Aspergillus flavus* Link aislados de maíz. Fitopatol. Venez.

Se evaluó *in vitro* el efecto de compuestos volátiles emitidos por 4 aislamientos de *Trichoderma* spp. [2 de *T. harzianum* (BAPSOS, I9), uno de *T. croseum* (06142) y otro de *T. koningii* (Santa María)] sobre *Fusarium verticillioides* Nirenberg y *Aspergillus flavus* Link aislados de maíz, mediante la aplicación de 3 pruebas de efectividad antagónica (PEA), [desecadores (D), botellas planas (BP) y cajas Petri (CP)], realizándose 4 repeticiones/prueba con sus respectivos testigos para cada especie antagonista y moho contaminante. Se estudiaron las variables tamaño de

la colonia (TC) y densidad de esporas (DE) a partir de las cuales se determinaron los porcentajes de inhibición de crecimiento (PIC) y de esporas (PIE). Los datos obtenidos se analizaron por vía paramétrica aplicando las pruebas de comparación de medias de Walles-Duncan y pruebas de comparación entre tratamientos y sus testigos de Dunnett's con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ . Se encontraron diferencias significativas en las variables TC y DE en las PEA y en las especies antagónicas con un  $p<0,05$ . El efecto inhibitorio de *Trichoderma* sobre *F. verticillioides* y *A. flavus* sólo se evidenció en BP y CP. En general, se observó una disminución del TC y la DE en ambos mohos contaminantes. Al comparar los tratamientos con sus testigos se evidenció que BAPSOS, disminuyó el TC de *F. verticillioides* con un PIC de 35,38% y Santa María inhibió la esporulación de la colonia con un PIE de 58%, mientras que I9 generó una disminución del TC y DE de *A. flavus* con un PIC de 16,67% y un PIE de 71,71% respectivamente.

**Palabras clave:** granos de maíz, mohos deteriorativos, mohos toxigénicos, pruebas de efectividad antagónica.

**EFFECT OF VOLATILE COMPOUNDS EMITTED BY *TRICHODERMA* SPP.  
NIRENBERG *FUSARIUM VERTICILLIOIDES* AND *ASPERGILLUS FLAVUS*  
LINK ISOLATED MAIZE**

Inojosa, A., Silva, R., Rodríguez, I., Rumbos, N. y Figueroa, R. 2013. Effect of volatile compounds emitted by *Trichoderma* spp. Nirenberg *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus flavus* Link isolated maize. Fitopatol. Venez.

**ABSTRACT**

Was evaluated *in vitro* the effect of volatile compounds emitted from 4 isolates of *Trichoderma* spp. (2 of *T. harzianum*, *T. croseum* one and another of *T. koningii*) on *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus flavus* Link Nirenberg isolated maize, by applying three tests of antagonistic effects (dry, flat bottles and Petri dishes) performing 4 replicates per test to their respective controls for each species antagonist and mould pollutant. Variables were studied colony size and density of spores as well as the percentages of inhibition of growth (PIC) and percentage of inhibition of spores (PIE). The data were analyzed by parametric way so that applied the Waller-Duncan test and tests of Dunnett's comparison between treatments with their witnesses, with a significance level of  $\alpha = 0.05$ . Significant differences in variables colony size and density of spores in the evidence of effectiveness and antagonistic species with a  $p < 0.05$ . In tests which showed the inhibitory effect of *Trichoderma* on *F. verticillioides* and *A. flavus* were in flat bottles and Petri dishes. In general, there was a decrease in colony size and density of fungal spores for both moulds pollutants. When comparing treatments with their

witnesses revealed that the species *T. harzianum* (BAPS), decreased the colony size of *F. verticillioides* with a PIC of 35.38% and *T. koningii* (Santa Maria) inhibited sporulation of the colony with a PIE of 58%, while *T. harzianum* (I9) resulted in a decrease in the size and density of spores in the colony of *A. flavus* with a PIC of 16.67% and 71.71% respectively PIE.

**Key words:** antagonistic effectiveness testing, corn kernels, deteriorative moulds, toxigenic molds.

## INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) constituye, junto con el arroz y el trigo, uno de los principales alimentos del mundo. Su uso se centra no sólo en la alimentación humana sino en la animal (7). Las enfermedades ocasionadas por hongos pueden reducir considerablemente el rendimiento y su calidad cuando coinciden en el campo una variedad de maíz susceptible, un nivel alto de inóculo del patógeno y condiciones ambientales adecuadas para su desarrollo (7, 12). En Venezuela, se ha encontrado en el almacenamiento, una elevada contaminación con hongos de campo (*Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*) y con micotoxinas producidas por estos hongos. Ello representa un problema para la industria del maíz en el mundo por las enormes implicaciones que tienen tanto en la calidad del grano como en la salud pública y animal (11).

Para inhibir el desarrollo de hongos, se ha empleado de manera tradicional la aplicación de productos químicos que evitan la germinación de las esporas, así como el desarrollo del micelio en el sustrato susceptible a ser contaminado con micotoxinas (16). Su uso en la producción de maíz y otros cultivos, implica la acumulación de residuos tóxicos en los alimentos y en el ambiente con serias consecuencias para la salud humana (19).

Para disminuir el uso de los agroquímicos, se ha tratado de implementar dentro del manejo integrado de algunos cultivos el uso del control biológico, el cual se basa en la utilización de microorganismos antagónicos de ciertos hongos que generan daños en las plantas cultivadas, sin ocasionar contaminación al medio ambiente. Por tal razón, el hombre ha hecho intentos por aumentar su efectividad (15, 19). *Trichoderma* es un hongo de gran interés biotecnológico por ser un agente de biocontrol que se adapta a numerosos ambientes y cultivos, y por ser una fuente inagotable de genes y de enzimas hidrolíticas de diferentes sustratos. Posee varios mecanismos de control que no sólo incluyen la acción directa sobre los patógenos (competencia por sustrato y espacio) sino también, la emisión de compuestos volátiles y no volátiles. Dennis y Webster (4), detectaron que la actividad antibiótica de algunos aislamientos de *Trichoderma*, se debía a la producción de compuestos volátiles, y notaron que los aislamientos más activos poseían un fuerte olor a coco, posiblemente relacionado con la actividad antagonista. Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático,

debilitando al patógeno y lo hacen más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un "hiperparasitismo" de origen enzimático (10).

El uso de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos y mohos productores de micotoxinas, (*Aspergillus* y *Fusarium*) es principalmente desde el campo, ya que es allí donde los granos de maíz se contaminan con sus esporas (22). En condiciones favorables, los hongos *Fusarium* y *Aspergillus* colonizan el maíz de forma endofítica, sin causar síntomas. Sin embargo, cuando las plantas padecen estrés por sequía, deficiencias de nutrientes y altas temperaturas, estos hongos producen grandes cantidades de micotoxinas (9).

Por lo anteriormente señalado, se consideró importante evaluar el efecto que tienen los compuestos volátiles emitidos por *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium verticillioides* Nirenberg y *Aspergillus flavus* Link aislados de maíz. Para ello se aplicaron "in vitro" 3 métodos que permitieran comparar y constatar el efecto inhibitorio de los metabolitos volátiles producidos por 4 aislamientos de *Trichoderma* sobre el crecimiento y esporulación de esos mohos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Instituto de Química y Tecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. Trabajo que consistió en medir la capacidad "in vitro" de *Trichoderma* spp. de producir metabolitos volátiles frente a *F. verticillioides* y *A.*

*flavus* aislados de maíz, para ello se emplearon 3 PEA [desecadores (D), botellas planas (BP) y cajas Petri (CP)] con el fin de observar cual de ellos permitía medir con mayor eficiencia la actividad inhibitoria de 4 aislamientos de *Trichoderma* y observar cual de ellos actuaba mejor sobre los mohos mencionados a los 7 d de enfrentamiento. En tal sentido, se cumplieron los siguientes pasos:

**Aislamiento e identificación de *Fusarium verticillioides* y *Aspergillus flavus*.**

El aislamiento de *F. verticillioides* fue donado por el Laboratorio de Micotoxicología de la Facultad de Agronomía, mientras que *A. flavus* se obtuvo mediante el método de siembra directa a partir de una muestra de maíz amarillo recolectada del sur del estado Aragua. Se sembraron de 10 a 12 granos sobre el medio malta sal agar (pH 5,8), previa desinfección con NaClO al 3,27% durante 30 seg y posterior lavado con agua destilada estéril. A los 7 d de incubación a temperatura ambiente del Laboratorio, se examinaron bajo una lupa estereoscópica, para seleccionar el moho en referencia, sembrarlo en Czaped Agar y confirmar posteriormente su especie (11). Para ello, 7 dds, se describieron las características macro y microscópicas de los mohos, mediante observación y medición de estructuras de valor taxonómico a partir de preparados microscópicos y posterior comparación con la clave micológica correspondiente (20).

**Aislamiento del *Trichoderma*.** Los 4 aislamientos de *Trichoderma* spp fueron facilitados por la Clínica de Diagnóstico de Enfermedades en plantas de la Facultad de Agronomía. Estos aislamientos se obtuvieron a partir de muestras de

suelo, provenientes de diferentes zonas del estado Aragua. El método de siembra utilizado fue el de incorporación en placas y su aislamiento se realizó en el medio papa dextrosa agar (PDA), a una temperatura de 28 °C y un período de 3 a 5 d. La identificación de las especies aisladas se realizó mediante una descripción macroscópica de la colonia y microscópica de las estructuras fúngicas y su comparación con una clave micológica (5). Finalmente, los aislamientos fueron transferidos a tubos de ensayos con PDA en cuña para su conservación a temperatura de refrigeración. Los aislamientos utilizados fueron: 2 de *T. harzianum* (BAPSOS e I9); uno de *T. croseum* (06142) y otro de *T. koningii* (Santa María).

**Pruebas de efectividad antagónica (PEA).** Para determinar y comparar la efectividad antagónica producida por los compuestos volátiles emitidos por *Trichoderma* spp sobre *F. verticillioides* y *A. flavus* se utilizaron 3 métodos de enfrentamiento *in vitro* (D, BP y CP) combinando los 4 aislamientos de *Trichoderma* spp con las 2 especies de mohos aisladas de maíz (Fig. 1). Se emplearon 4 repeticiones por tratamiento y sus respectivos testigos. Las variables evaluadas fueron tamaño de la colonia (TC) medida en cm y densidad de esporas (DE) expresada en número de conidios/ml de solución a los 7 d de enfrentamiento. A partir de ellas, se determinaron los porcentajes de inhibición de crecimiento (PIC) y de inhibición de esporulación (PIE), de acuerdo a lo indicado por Flores (5).



**Usando desecador.** Se utilizaron 5 desecadores para cada moho y se colocó en el fondo de cada uno, una caja Petri con una colonia de *Trichoderma* sp. de 6 d de crecimiento y en el soporte del mismo 4 cajas Petri con una colonia de 3 d de crecimiento de los hongos *F. verticillioides* ó *A. flavus*, según correspondiera. El testigo consistió de un desecador con sólo 4 placas de los hongos en estudio (*Aspergillus* o *Fusarium*) sin colocar a *Trichoderma* en el fondo del mismo (13).

**Usando botellas planas colocadas de manera horizontal.** Para ello se utilizaron 4 pares de BP comunicadas entre sí a través de un tubo de vidrio acoplado a un corcho horadado en la boca de las mismas. La conexión se realizó una vez que los aislamientos de *Trichoderma* y los hongos aislados de maíz cumplieron 6 y 3 d de crecimiento en PDA, respectivamente. Las uniones fueron selladas con papel parafilm, para impedir la fuga de gases. El testigo consistió en la misma técnica antes descrita, pero sin colocar *Trichoderma* en una de las botellas (3).

**Usando cajas Petri.** El sistema consistió de cajas Petri separadas con una película plástica (envoplast®) que permitió el intercambio de gases e impidió la migración de esporas entre placas. El acople de las placas y la colocación de la película plástica se realizó cuando *Trichoderma* y *Fusarium* o *Aspergillus* tenían 6 y 3 d de crecimiento, respectivamente y manteniendo al hongo antagonista en la parte inferior del sistema. El testigo consistió en el mismo procedimiento indicado pero sin colocar a *Trichoderma* (22).

La razón por la cual los aislamientos de *Trichoderma* tuvieron más días de crecimiento que los otros hongos bajo estudio, fue con la finalidad de permitir que se generara una concentración adecuada de los metabolitos volátiles producidos en ese lapso de tiempo que pudieran incidir sobre el crecimiento y la esporulación de *F. verticillioides* y *A. flavus* (3).

### **Evaluación de la esporulación en las pruebas de efectividad antagónica *Trichoderma* spp Vs *F. verticillioides* ó *A. flavus*.**

Culminadas las PEA de *Trichoderma* y los otros hongos, luego de siete días de enfrentamiento, se determinó la DE de *F. verticillioides* y *A. flavus* bajo enfrentamiento o testigo, según correspondiera utilizando la cámara de Neubauer, según la metodología descrita por French y Hebert (6). Igualmente se determinó el TC a partir de la medición de su diám en cm.

### **Análisis Estadístico**

El análisis de los resultados se realizó usando un diseño totalmente al azar con arreglo factorial 4x3 con 4 repeticiones para cada hongo en estudio (*Aspergillus* y *Fusarium*). Los tratamientos se conformaron de la combinación de 4 aislamientos de hongos antagonistas y 3 PEA (D, BP y CP) más un testigo en cada uno. Se realizaron análisis de varianza vía paramétrica y pruebas de comparación de medias Waller-Duncan y pruebas de comparación de Dunnett's, entre cada tratamiento con sus respectivos testigos bajo un nivel de significancia de 0,05. Se utilizó para el análisis el software SAS versión 6.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Aislamiento e identificación de los hongos presentes en los granos de maíz.**

Tomando en consideración los datos obtenidos (caracterización macrométrica de la colonia y micrométrica de las estructuras fúngicas de valor taxonómico) y la comparación con la clave micológica especializada (20), se corroboró que las especies bajo estudio, corresponden a *Fusarium verticillioides* Nirenberg y a *Aspergillus flavus* Link.

### **Pruebas de efectividad antagónica (PEA).**

***Fusarium verticillioides*.** Los resultados indican una marcada variabilidad en la respuesta de los hongos contaminantes evaluados ante la presencia de diversos aislamientos de *Trichoderma* y modalidades de enfrentamiento entre especies. En tal sentido, los efectos que sobre el TC y DE de *F. verticillioides* tuvieron los diferentes sistemas de enfrentamiento (hongo contaminante/hongo antagonista) o PEA fueron estadísticamente diferentes al 5% (Cuadro 1).

La mayor efectividad antagónica *in vitro* sobre el TC de *F. verticillioides*, se observó al utilizar BP como sistema de enfrentamiento logrando alcanzar la colonia sólo 3,672 cm de diám en promedio. Similar comportamiento aunque menor se obtuvo al utilizar D (3,744 cm) y el menor efecto antagónico se obtuvo en enfrentamientos en CP (4,634 cm). Esto podría deberse a la mayor

concentración de compuestos volátiles que produjo el antagonista dentro de las BP (3).

Así mismo, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los efectos que los diferentes aislamientos de *Trichoderma* tuvieron sobre el TC. Los dos grupos de aislamientos estadísticamente diferentes, *Trichoderma harzianum* (I9) y *T. koningii*, mostraron tener las mayores efectividades antagónicas *in vitro* sobre *F. verticillioides*, limitando el crecimiento de sus colonias a sólo 3,73 y 3,84 cm de diam, respectivamente. No obstante, el PIC respecto de los tratamientos testigos, al utilizar BP fue mayor cuando el aislamiento del hongo antagonista era *T. harzianum* (BAPSOS) lográndose una reducción del 35,38% del TC luego de 7 días de enfrentamiento, seguido de *T. harzianum* (I9) (30,43%), *T. croseum* (18,83%) y por último *T. koningii* con 9,69%. Los PIC obtenidos en esta investigación, son menores a los encontrados en otro estudio donde se evaluó la capacidad antagónica de *T. koningii* sobre *F. oxysporum*. Se encontró un PIE de 59,64% evidenciándose que dicho valor es significativamente mayor al obtenido en nuestro ensayo (17).

Se han identificado algunos antibióticos y enzimas producidas por hongos del género *Trichoderma*, como quitinaza, 1-3 glucanasa, proteasas y carboximetilcelulosa responsables de degradar la pared celular e intervenir en el micoparasitismo (1,19,22). Otro metabolito volátil como el 6 PAP, ha sido utilizado como criterio para seleccionar cepas de *Trichoderma* biológicamente activas (18,

21). Aun cuando en este trabajo no se identificaron metabolitos secundarios volátiles de *Trichoderma* spp se pudo observar que estos posiblemente fueron los responsables de disminuir el TC y la DE de *F. verticillioides*.

Se encontraron además, diferencias estadísticas ( $p < 0,05$ ) entre las cantidades de conidios/ml (DE) desarrollados por *F. verticillioides* cuando fue sometido a las diferentes PEA, no así entre enfrentamientos con diferentes aislamientos del hongo antagonista, incluso con sus respectivos testigos.

En la PEA usando CP, la DE alcanzó 6,373 conidios/ml, siendo la mejor de las tres pruebas. Con D y BP, la DE fue 6,579 y 6,583 conidios/ml, respectivamente, sin diferencias entre si (Cuadro 1).

A pesar de no existir un marcado efecto del tipo de aislamiento de *Trichoderma* sobre el desarrollo de conidios, independientemente de la PEA evaluada, *T. koningii* fue capaz de reducir la esporulación del patógeno con un PIE de 58%, cuando se utilizaron CP, seguido de *T. harzianum* (BAPSOS) con 48%, *T. croseum* con 46% y *T. harzianum* (I9) con 34%.

***Aspergillus flavus***. El TC y la DE de *A flavus* fueron afectadas de manera significativa ( $p < 0,05$ ) cuando se varió la forma de enfrentar el hongo contaminante al antagonista. El TC mostró valores medios estadísticamente similares entre sí cuando se utilizaron D y CP (3,534 y 3,773 cm, respectivamente), pero diferentes

de los alcanzados por el mismo hongo utilizando BP, donde la efectividad antagonica fue mayor con desarrollo de la colonia de apenas 2,353 cm de diam. Un efecto contrario se observó en cantidad de conidios/ml formados. La PEA donde se observó mayor efecto sobre la esporulación fue CP y la menor fue BP (Cuadro 2).

La combinación del hongo contaminante (*A. flavus*) con los diferentes aislamientos del hongo antagonista, comparado con sus respectivos testigos, no mostró efecto alguno sobre el TC y sólo cuando se utilizaron BP para la PEA se observaron PIC apenas superiores al 15% (16,67%) el cual se obtuvo en el tratamiento con *T. harzianum* (I9) como antagonista. Un estudio realizado por Mejias *et al.* (2008) (14), donde evaluaron la acción de compuestos volátiles de *T. harzianum* sobre *A. flavus*, encontraron que hubo una disminución de crecimiento de la colonia del hongo contaminante con un PIC de 20-23%, el cual es ligeramente superior a lo que se obtuvo en esta investigación. También fueron inferiores a los indicados por Páez y Sanabria (17) los cuales señalaron una inhibición de crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* de 13 a 53,44% e inhibición de esporulación de 46,87% a 84,21%, trabajando en pruebas de enfrentamiento *in vitro* con aislamientos de *Trichoderma* provenientes de diferentes localidades del estado Aragua; y Hernández *et al.*, 2006, quienes al evaluar *in vitro* el antagonismo de especies de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L.) merr.), encontraron que el porcentaje de inhibición

de crecimiento de la colonia *Fusarium subglutinans* con *Trichoderma harzianum* fue de un 48%.

La esporulación por su parte, fue afectada en gran medida cuando se varió el aislamiento del hongo antagonista ( $p < 0,05$ ). Valores de PIE de *A. flavus* mayores a 70% (71,71%) se alcanzaron al enfrentarlo a *T. harzianum* (I9) utilizando CP, seguido de *T. koningii*, *T. harzianum* (BAPSOS) y *T. croseum* con 55,82, 52,18 y 31,92%, respectivamente, en comparación a sus testigos.

Borrego y Silva (2), realizaron un estudio donde aplicaron pruebas antagónicas *in vitro* utilizando 2 especies de *Trichoderma*, una de *T. harzianum* y otra de *T. viride* con los aislamientos de los hongos *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus repens*, entre otras especies fúngicas y obtuvieron que las especies de *Trichoderma* presentaron gran capacidad antagónica sobre los hongos mencionados anteriormente, alterando el crecimiento y esporulación.

Sobre la base de los resultados obtenidos, se puede señalar que existe diferencias en la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp frente a *A. flavus* y *F. verticillioides* medida por su habilidad de disminuir el TC y reducir la producción de sus conidios. Ello demuestra que los compuestos volátiles emitidos por *Trichoderma* son parte importante dentro de los mecanismos de control que tienen los hongos biocontroladores.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Andreu, F., Cupull, R., Mayea, S. y Reunoso, M. 1992. Relaciones antagónicas sobre el crecimiento micelial de *Alternaria solani* por *Trichoderma* spp y *Verticillus* spp. Centro Agrícola 19(2-3): 114-116.
2. Borrego, C.; Silva, H. 2005. Efecto de *Trichoderma in vitro* en los microorganismos patógenos descomponedores de la materia orgánica de un suelo oxisol clase IV del piedemonte llanero. (en línea). Revista Orinoquia. 9(2): 6-14. Consultado julio 2009. Disponible en: [http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=57069&id\\_seccion=3257&id\\_ejemplar=5772&id\\_revista=195](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=57069&id_seccion=3257&id_ejemplar=5772&id_revista=195)
3. Dal, G., Monaco, C. y Chaves, A. 1997. Efecto de los metabolitos volátiles de *Trichoderma hamatum*, sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos procedentes del suelo. Revista Iberoamericana de Micología 14:131-134.
4. Dennis, L. and Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* III Hyphal interaction. Trans. Br. Mycol. Soc. 57:363-369.
5. Flores, J. 2008. Capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma* spp., frente a *Rhizoctonia solani* Kühn y *Fusarium moniliforme* Sheldon. Trabajo de grado. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 16 p.



6. French, E. y Hebert, T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. Editorial IICA. 176-179 p.
7. González, U. 1995. El maíz y su conservación. 1ª edición, Distrito Federal, México. Pp. 11-29.
8. Hernández, A., Sierra, A. y Carr, A. 2006. Evaluación *in vitro* del antagonismo de especies de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L) Merr). (en línea). Fitosanidad. 10(2):25-30. Consultado Jul. 2009 Disponible en: [www.inisav.cu/fitosanidad/2006/Revista2-06.pdf](http://www.inisav.cu/fitosanidad/2006/Revista2-06.pdf)
9. Mahuki, G. y Mejía, S. 2010. Generación y validación de variedades de maíz tolerantes a sequía como medio de estabilizar productividad y disminuir el daño por micotoxinas como consecuencia del cambio climático (en línea). Informe CIMMYT. México. Consultado Feb. 2011. Disponible en: [www.fontagro.org/category/proyecto/andes](http://www.fontagro.org/category/proyecto/andes)
10. Martínez, B., Fernández, L. y Solano, T. 1994. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. Cultivos tropicales 15(3):54.

11. Mazzani, C., Borges, O., Luzón, O., Barrientos, V. y Quijada, P. 2000. *Fusarium moniliforme*, fumonisinas y *Aspergillus flavus* en granos de híbridos de maíz en el estado Guárico, Venezuela. Revista de Facultad de Agronomía (LUZ) 17: 185-195.
12. Mazzani, C, Luzón, O. y Chavarri, M. 2004. *Aspergillus flavus* asociado a *Epitragus* (Coleoptera: Tenebrionidae) en maíz bajo riesgo en Turén, estado Portuguesa, Venezuela. Entomotrópica 19(3):157-159.
13. Mejias, L. 2004. Estudio sobre la factibilidad de uso de *Trichoderma harzianum* para el control de *Aspergillus flavus* en granos de maíz almacenados. Tesis Mag. Sc. Caracas, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 133 pp.
14. Mejias, L., Alvarado, R., Martínez, A. y Dorta, B. 2008. Inhibición del crecimiento de *Aspergillus flavus* y producción de aflatoxina B1 en granos de maíz almacenados bajo la acción de compuestos volátiles de *Trichoderma harzianum* Rifai. Interciencia 33(3):219-222.
15. Montes, E. 2007. El control biológico y la protección de los cultivos (en línea). Revista Digital de la Universidad de Salamanca, España. (0):1-4. Consultado Feb 2009. Disponible en: <http://enred.usal.es/index.php/content/view/81/42/>.

16. Moreno, E. y Vásquez, M. 2000. Uso de sales del ácido propiónico para inhibir la producción de aflatoxinas en granos almacenados de maíz. *Agrociencia* 34(49): 477-484.
17. Páez, M. y Sanabria, N. 2007. Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 24: 27-31.
18. Pezet, R., Pont, V. and Tabacchi, R. 1999. Simple analyses of pentyl-a-pyrone, a mayor antifungal metabolite of *Trichoderma* spp., useful for testing the antagonistic a activity of these fungi. *Phytochemical Analyses* 10:285-288.
19. Rodríguez, V. 2002. Efecto antagónico y biocontrolador de algunos microorganismos saprofíticos contra *Rhizoctonia solani* un fitopatógeno causante del damping off en plantas de tomate. Tesis Mag. Sc. Lima, Perú, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 105 pp.
20. Samson, R., Hoekstra, E., Frisvad, J. and Filtenborg, O. 1995. Introduction to food- Borne fungi 4<sup>ta</sup> edición 60-119.
21. Scarselletti, R., and Faull. L. 1994. In vitro activity of pentyl-a-pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* fs *lycopersici*. *Mycological Research* 98:1207-1209.

22. Stefanova, M., Leiva, A., Larrinaga, L. y Coronado, F. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Revista Facultad de Agronomía (LUZ) 16: 509-516.

Cuadro 1. Valores medios del tamaño de la colonia (TC) y densidad de esporas (DE) de *F. verticillioides* bajo diferentes pruebas de efectividad antagónica (PEA) con *Trichoderma*.

PEA	TC (cm)	DE
Botellas planas	3,672 b <sup>(1)</sup>	6,583 a
Desecadores	3,744 b	6,579 a
Cajas Petri	4,634 a	6,373 b

(1) Letras diferentes indican diferencias estadísticas al 5%

Cuadro 2. Valores medios del tamaño de la colonia (TC) y densidad de esporas (DE) de *A. flavus* bajo diferentes pruebas de efectividad antagónica (PEA) con *Trichoderma*.

PEA	TC (cm)	DE
Botellas planas	2,353 b <sup>(1)</sup>	6,414 a
Desecadores	3,534 a	6,036 b
Cajas Petri	3,778 a	5,724 c

(1) Letras diferentes indican diferencias estadísticas al 5%



Figura 1. Prueba de efectividad antagónica (PEA) de *Trichoderma* spp. Vs *Aspergillus flavus* o *Fusarium verticillioides* usando: A) Desecadores, B) Botellas planas y C) Cajas Petri.