

## Efecto del formulado comercial de *Trichoderma harzianum* en semillas de trigo

### Effect of commercially formulated *Trichoderma harzianum* fungus on wheat seeds

Ingrid A. Morinigo-Villan; Gustavo D. Vega-Britez; Nelson D. Lesmo-Duarte; José A. Velázquez-Duarte, Karem H. Gennaro-Campos y Jorge D. Alvarenga-Serafini

Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Agrarias, Pedro Juan Caballero, Paraguay

\*Autor de correspondencia: [gda\\_vega@hotmail.com](mailto:gda_vega@hotmail.com)

#### Resumen

.....  
**Palabras clave:**  
*Triticum aestivum*;  
 agente biológico;  
 bioestimulantes;  
 fitopatógenos

El trigo es uno de los cereales de mayor importancia en el mundo para el consumo humano y las enfermedades fúngicas y su control representa un gran desafío. Buscando alternativas de control biológico, este experimento se realizó con el objetivo de evaluar los efectos de diferentes dosis del formulado comercial a base de *Trichoderma harzianum* Rifai (1969), sobre la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas. Se utilizó dos métodos de siembra: en Blotter test y siembra en almácigo, empleándose un diseño completamente al azar, compuesto con cinco tratamientos y ocho repeticiones de 50 semillas, totalizando 400 semillas, con tres diferentes dosis del producto (100, 200, 300 mL/100 kg de semilla), más el testigo absoluto y el químico (Carbendazín + Thiram). Los resultados fueron sometidos al ANAVA y al test de Tukey al 5 % de error. Los géneros de hongos identificados en las semillas de trigo fueron *Rhizopus* spp. y *Aspergillus flavus*, en el testigo prevalecieron hongos del género *Rhizopus* spp., mientras las aplicaciones de diferentes dosis de *T. harzianum* permitieron la disminución de sus colonias. Según el nivel de control, fueron satisfactoria las tres dosis del formulado comercial utilizado, además de influenciar positivamente en el porcentaje de germinación de las semillas con relación al testigo y el mayor índice de velocidad de emergencia fue observado con la aplicación de *T. harzianum* a una dosis de 300 mL/100 kg de semilla. *T. harzianum* puede ser utilizado como bioestimulantes de las plantas con buena capacidad antagónica contra los fitopatógenos que desarrollan enfermedades en semillas de trigo.

#### Abstract

.....  
**Key words:**  
*Triticum aestivum*;  
 biological agent,  
 biostimulant;  
 phytopathogens

Wheat is one of the most important cereals in the world for human consumption therefore fungal diseases and its control represents a great challenge. This experiment was carried out with the objective of looking for an alternative biological control agent, it was undertaken evaluating the effects of different doses of the commercially formulated *Trichoderma harzianum* Rifai (1969), fungal base, on quality physiological and sanitary selected wheat seeds. Two different planting methods were employed: in the Blotter test, sowing in seedbed, using a completely random array, applying five treatments with eight repetitions of 50 seeds, reaching a total of 400 seeds, with three different doses of the product (100, 200, 300 mL/100 kg seeds), including the absolute test subject and the chemical composition (Carbendazín + Thiram). The results were subjected to the ANAVA and the Tukey test allowing for a 5 % error margin. The fungal genera identified in the wheat seeds were *Rhizopus* spp. and *Aspergillus flavus*, in the control subject, The *Rhizopus* spp. genus fungi prevailed, while the application of different doses of *T. harzianum* resulted in a decrease of these colonies. According to the level of control, the three doses of the commercial formula applied were satisfactory, in addition to positively influencing the germination percentage of the seeds in relation to the control and the higher index of growth speed was observed after applying *T. harzianum* at a 300 mL/100 kg of seed dosage. *T. harzianum* can be used as a biostimulant in plants with a good antagonistic capability against phytopathogens that cause disease in wheat seeds.

## Introducción

La producción de trigo (*Triticum aestivum* L.) se ha convertido en una de las producciones más importantes en el Paraguay, con una producción de 700,000 toneladas anual provenientes de 428,648 hectáreas, aparte de cubrir la demanda interna, el excedente es exportado (Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas, 2018). Sin embargo, muchos de estos cultivos son afectados por enfermedades fúngicas que les causan daño en todo el mundo, lo que representa una amenaza a la seguridad alimentaria mundial. No obstante, el tratamiento de estas enfermedades se realiza normalmente mediante la utilización de defensivos químicos, que puede generar un impacto negativo a las personas como también al medio ambiente (Adnan *et al.*, 2019).

Con base a lo anterior, ha surgido una alternativa ecológica eficiente capaz de reemplazar el uso de productos sintéticos en el tratamiento de semillas, lo que ha llevado a los investigadores a centrarse en el control biológico de las enfermedades fúngicas a través de agentes de control biológico, como los hongos antagonistas. Estos incluyen varios géneros de hongos que controlan y erradican eficientemente las enfermedades fúngicas en las plantas, entre estas se destacan las pertenecientes a el género *Trichoderma*; que además, desempeñan un papel regulador en diversas vías e interacciones fisiológicas de las plantas (Bunbury-Blanchette y Walker, 2019). Esto lo convierte según López-Bucio *et al.* (2015) en uno de los controladores biológicos más efectivos, por su capacidad de controlar los hongos fitopatógenos, de ser inocuos para los humanos, animales de producción, plantas de interés económico y al medio ambiente. Con eso, *Trichoderma* es uno de los géneros de hongos más importantes conocidos por su actividad antagónica contra patógenos causantes de enfermedades, además, podría ser desarrollado como un potente biofertilizante y su uso puede servir como estrategia segura para un ambiente más saludable (Adnan *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019).

Según Xue *et al.* (2017) el uso de *Trichoderma* es una alternativa a los tratamientos de semillas, disminuyendo el efecto perjudicial de las principales enfermedades fúngicas del trigo como el *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Alteranria* spp. entre otros que se

asocian con la reducción del vigor de las semillas y el establecimiento deficiente del trigo, ya que son transmitidas por la semilla, el uso de *Trichoderma* permite mejorar la germinación del trigo hasta en presencia de herbicida 2,4-D (Bernat *et al.*, 2018). Uno de los géneros de hongos ascomicetos como el *T. harzianum* tiene potencial antagónico para control de hongos que afectan los granos de trigos como la *Cochliobolus sativus*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp. y *Fusarium graminearum* (El-Gremi *et al.*, 2017) por lo que su uso como control biológico en el tratamiento de semillas de trigo es una alternativa que debe ser explorada y validada en la región norte de Paraguay, considerando que no existe registro de uso en el país. Por lo expuesto, este trabajo fue realizado con el objetivo de evaluar los efectos de diferentes dosis del formulado comercial a base de *Trichoderma harzianum* Rifai (1969), sobre la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla de trigo.

## Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de la división de Fitopatología del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Asunción, ubicada en la ciudad de Pedro Juan Caballero, Paraguay, en el período comprendido entre los meses de junio a noviembre del año 2018. La población de estudio fueron las semillas de trigo (*Triticum aestivum*) variedad IPR85, el producto comercial Trichodermil de la Empresa Koppert con formulación de *Trichoderma harzianum* Rifai (1969), cepa ESALQ-1306, 48 g/L, es una suspensión concentrada, más el fungicida Carbendazim + Thiram, empresa productora Tecnomyl S.A de nombre comercial Tiracarb con fomulación de Carbendazim metil benzimidazol-2-bcarbamato 15 %, Thiram bisulfuro de tetrametil tiocarbamato 35 % e inertes 50 %.

El experimento se realizó en dos ambientes, una en laboratorio donde las semillas fueron sembradas en el método de cámara húmeda (Blotter test) y la segunda en almácigo donde las semillas fueron sembradas en la tierra. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, el mismo estuvo compuesto por cinco tratamientos con diez repeticiones, fue utilizada una placa de Petri de 9 cm de diámetro conteniendo 40 semillas de trigo para cada repetición (Blotter test).

Para la siembra en almácigo se preparó 1 m<sup>2</sup> de suelo, en el cuál se empleó ocho repeticiones de 50 semillas para cada tratamiento, de acuerdo al diseño experimental ya señalado, totalizando 400 semillas por cada tratamiento, según indicaciones de las reglas del International Rules for Seed Testing, Suiza (ISTA) (2012) con algunas adaptaciones.

Las semillas fueron tratadas con tres diferentes dosis

del formulado comercial del aislado *T. harzianum* más el testigo absoluto para el test de sanidad y el producto utilizado para testigo químico fue el Carbendazim + Thiram, cada unidad experimental estuvo representada por una placa de Petri. Dosis del *T. harzianum* fue utilizado la recomendada por el fabricante (200 mL), una dosis de 50 % menos (100 mL) y 50 % a mas (300 mL) (tabla 1).

Tabla 1. Descripción de los tratamientos en porcentaje de los productos empleados en el estudio comparativo, Pedro Juan Caballero - Paraguay, 2018.

Tratamiento	Producto	% Dosis (mL/100 kg de semilla)	
T1	Agua destilada (Testigo)	0	0
T2	Carbendazim + Thiram (Químico)	100	250
T3	<i>T. harzianum</i>	50	100
T4	<i>T. harzianum</i>	100	200
T5	<i>T. harzianum</i>	150	300

La preparación del caldo para cada tratamiento utilizando un vaso de precipitado donde se colocó 20 ml de agua destilada, seguidamente se diluyó en ella cada producto, con sus respectivas dosis para cada tratamiento, las semillas fueron colocadas en una bolsa plástica transparente, posteriormente con ayuda de una jeringa se depositó la suspensión en el fondo de la bolsa plástica, distribuyendo y agitándola manualmente por cerca de 5 minutos, proporcionando así una cobertura total a las semillas, en seguida secadas sobre papel absorbente a temperatura ambiente (Colmán, 2011).

Posteriormente, se realizó la siembra con ayuda de una pinza esterilizada, distribuyendo 40 semillas de trigo, de manera equidistante en cada placa de Petri (previamente esterilizadas en estufa a 150°C por 4 horas) cada placa contenía tres discos de papel absorbente, las mismas fueron humedecidas con 5 ml de agua destilada esterilizada, usando pipeta graduada, en condiciones de laboratorio (Neegaard, 1979). Todas las placas de Petri fueron mantenidas a temperatura ambiente, por un periodo de ocho días para promover la esporulación de los hongos.

La siembra en el almácigo se realizó con el propósito de evaluar el índice de velocidad de emergencia (ÍVE), se utilizó 1000 gramos (g) de semillas de trigo, empleándose ocho repeticiones de 50 semillas para cada tratamiento (International Rules for Seed Testing

(ISTA), 2012), realizada manualmente en surcos corridos a una profundidad de 2 cm, una distancia de distribución de 2 cm entre semillas y 12 cm entre hileras, en suelo previamente humedecido.

Las semillas fueron observadas con el microscopio estereoscopio para identificar las colonias de hongos, aquellas colonias que no se pudieron identificar por este método, se rasparon las semillas con ayuda de un bisturí y la muestra fue colocada sobre el porta objeto y observada al microscopio óptico para identificar las estructuras de los hongos con la ayuda de claves de identificación (Menezes y Oliveira, 1993; Barnett y Hunter, 1998).

El porcentaje de semillas infestadas por hongos, se determinó a los ocho días después de la siembra, cuantificando el número de semillas con colonias de hongos en cada placa de Petri, para cada una de las repeticiones de los diferentes tratamientos, se determinó a través de la siguiente fórmula (French y Hebert, 1980):

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{número de semillas infectadas}}{\text{número total de semillas}} \times 100$$

El nivel de control de los productos en estudio, fue conforme metodología descrita por Gennaro, (2016) con algunas modificaciones (tabla 2).

Tabla 2. Escala del nivel de control de los productos utilizados, Pedro Juan Caballero - Paraguay, 2018.

Nivel de control de productos	Símbolo	Escala (% de control)
Excelente	E	100
Muy Bueno	MB	99 a 89
Bueno	B	88 a 73
Bajo o Regular	R	72 a 58
Muy Bajo o No Satisfactorio	NS	57 a 28
No Efectivo o Ineficaz	NE	<27

El porcentaje de germinación fue determinado a los ocho días después de la siembra, cuantificando en cada placa de Petri las semillas que presentaron emisión de la radícula, considerando a estas como semillas germinadas, utilizando la siguiente fórmula:

Germinación (%)= (semillas germinadas) / (número total de semillas) x 100

El ÍVE de las plántulas fueron contadas diariamente desde el principio (cuarto día), hasta los ocho días después de la siembra, de acuerdo a Maguire, (1962):  

$$\text{IVE} = (E1 / N1) + (E2 / N2) + (En / Nn)$$

Donde:

IVE= Índice de velocidad de emergencia (plántula/día), N1, N2.

Nn: Número de días a partir de la siembra hasta el primer y segundo recuento y así sucesivamente hasta el último recuento y E1, E2.

En: Número de plántulas emergidas en el primer y segundo recuento y así sucesivamente hasta el último recuento.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de variancia (ANAVA). Las medias fueron comparadas entre sí por el Test de Tukey al 5 % de probabilidad para categorizar los tratamientos.

## Resultados

Hongos de los géneros *Rhizopus* spp. y *Aspergillus flavus* fueron identificados en el experimento (figura 1).



Figura 1. Hongos observado mediante el microscopio óptico, (1a) *Rhizopus* spp. y la colonia (1b); *Aspergillus flavus* (1c) y la colonia (1d).

Se observa efecto de los tratamientos ( $p < 0,05$ ) sobre la incidencia de hongos en semillas de trigo tratadas con diferentes dosis del *T. harzianum* (figura 2), en donde el testigo absoluto fue el tratamiento con mayor porcentaje de incidencia, con 72,8 % de hongos en sus semillas, siendo que la dosis recomendada por el fabricante (200 mL) fue la que obtuvo menor porcentaje de incidencia de hongos con 35,8 %. El porcentaje de germinación fue influenciado por los tratamientos evaluados ( $p < 0,05$ ), siendo el testigo con 30,5 %, el menor porcentaje de germinación y la dosis 100 mL del formulado comercial *T. harzianum* con 47,2 % de germinación. Este índice de velocidad de emergencia (ÍVE) mayor se presentó en la dosis 300 mL del formulado comercial de *T. harzianum* con 13,1, y el menor ÍVE se obtuvo con el tratamiento químico, y dosis de 100 mL del formulado comercial con 7,8. (figura 2).

En todos los tratamientos las semillas tuvieron un porcentaje de germinación por debajo del 50,0 %, probablemente debido al tiempo de almacenamiento previo, que fue de seis meses en temperatura ambiente.

Con la dosis de 100 mL de *T. harzianum* se obtuvo el mayor porcentaje de germinación, siendo superior a los demás tratamientos. Este resultado obtenido permite validar las recomendaciones del fabricante y garantizar su utilización por parte de los productores.

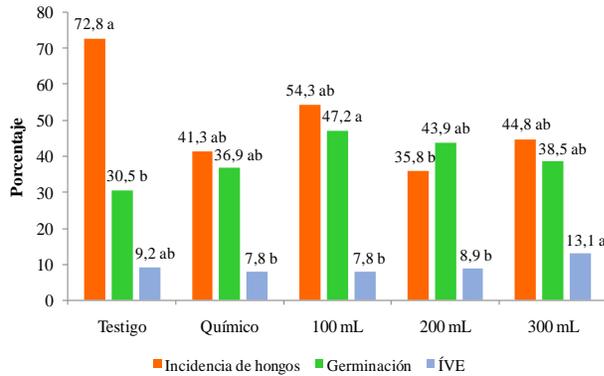


Figura 2. Efecto de los diferentes tratamientos en la incidencia de hongos, germinación e ÍVE en las semillas de trigo, Pedro Juan Caballero – Paraguay, 2018. Letras diferentes en las barras difieren entre sí al 5% de probabilidad por el test de Tukey. (DSM= IH= incidencia de hongos: 35,05; G= germinación: 14,34; ÍVE= índice de velocidad de emergencia: 4,09.)

En la figura 3 se puede observar el porcentaje de colonias con el género de los hongos presentes en las semillas de trigo, en donde el testigo absoluto presenta la mayor cantidad de colonias de hongos contaminantes, los géneros presentes en las semillas que no recibieron ningún tratamiento son *Rhizopus* spp. con 64,3 % y con 8,5 % de *A. flavus*.

Con base a los datos obtenidos las dosis del *T. harzianum* esto muestran una reducción en las colonias del hongo de género *Rhizopus* spp. en las semillas de trigo mediante el método de siembra Blotter test.

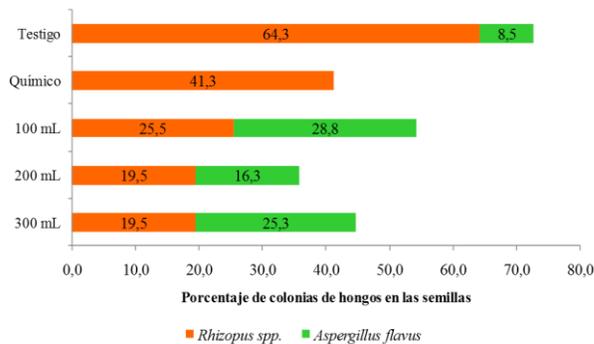


Figura 3. Efecto de los diferentes tratamientos en las colonias de hongos en las semillas de trigo, Pedro Juan Caballero – Paraguay, 2018.

La dosis 200 mL de *T. harzianum* presenta 19,5 % de colonias de hongos del género *Rhizopus* spp. y 16,3 % del hongo *A. flavus*. Mientras el tratamiento con Carbendazin + Thiram no presentó incidencia de *A. flavus*, solamente se pudo identificar al género *Rhizopus* spp. con un 41,3 % de colonias de hongos en sus semillas. Dosis de 200 mL de *T. harzianum* presentaron menor incidencia de hongos, aunque son incapaces de neutralizar por completo la actividad de los hongos en las semillas.

El tratamiento químico fue responsable del control de 99,7 % de *A. flavus* y 59,0 % de *Rhizopus* spp. (tabla 3). Entre las tres dosis de *T. harzianum* utilizado, no hubo diferencias estadística significativa para el porcentaje de control de *Rhizopus* spp., mientras que en el caso de *A. flavus*, el tratamiento químico fue el mejor en el control y en segundo término la dosis de 200 mL de *T. harzianum*.

Tabla 3. Porcentaje de control de *Rhizopus* spp. y *Aspergillus flavus* en semillas de trigo, Método Blotter Test, Pedro Juan Caballero – Paraguay, 2018. \*Letras diferentes en las columnas difieren entre sí al 5 % de probabilidad por el test de Tukey. DMS= diferencia mínima significativa.

Tratamientos	<i>Rhizopus</i> spp. (%)	<i>Aspergillus flavus</i> (%)
Químico	59,0a	99,7a
Dosis de 100 mL	74,0a	71,7c
Dosis de 200 mL	80,0a	84,2bc*
Dosis de 300 mL	80,5a	74,7c
DMS	33,9	12,6

La dosis de 100, 200 y 300 mL de *T. harzianum* según la escala presentada en la tabla 2, obtuvieron un nivel de control Bueno frente al género *Rhizopus* spp., en cambio el químico (Carbendazin + Thiram) presentó un nivel Regular o Muy Bajo para el control de las colonias de *Rhizopus* spp.

El porcentaje de control de *A. flavus* que se observa en la tabla 3, indica que el químico Carbendazin + Thiram presentó un nivel de control Muy Bueno a Excelente para el género *A. flavus*, en cambio las dosis de *T. harzianum* presentaron un control Bueno a Regular en su empleo frente a las colonias de hongos del género *Aspergillus*.

## Discusión

En los cinco tratamientos empleados en la investigación (tabla 1), solamente fue identificado dos géneros de hongos en la semilla de trigo, *Rhizopus* spp. y *A. flavus* (figura 1). *Rhizopus* spp. y *A. flavus* se encuentran entre los principales hongos transmitidos por semilla en trigo (Pathak y Zaidi, 2013). Aunque investigaciones han demostrado bajo nivel antagonista de los microorganismos fúngicos utilizados para el control biológico para la supresión de las enfermedades que afectan semillas de cereales (Zaidi *et al.*, 2017). De las diferentes dosis utilizadas, aplicación de 200 mL de *T. harzianum* presentó menor incidencia de hongos comparado con el tratamiento químico, aunque este último controló de una forma más eficiente a *Rhizopus* spp. (59,0 %) y *A. flavus* (99,7 %) que las diferentes dosis de *T. harzianum* (tabla 3) similar a los obtenidos por Pathak y Zaidi, (2013); Moya-Elizondo y Jacobsen, (2016), donde la competencia puede ser el principal mecanismo de la actividad antagónica de *T. harzianum* (Kim y Knudsen, 2013).

Aunque no demostraron un efecto total sobre los parámetros medidos, estos resultados (figura 3 y tabla 3) sugieren que se puede utilizar formulado comercial de *T. harzianum* como agente antagonista de control de hongos que provocan daños a las semillas de trigo. No obstante, una sola evaluación podría no ser suficiente para dilucidar la eficacia de los tratamientos utilizados, además, según Locatelli *et al.* (2017), el principal problema es la falta de formulaciones adecuadas, que garanticen la viabilidad y la eficiencia del agente de control biológico para su aplicación en el campo, lo que dificulta la expansión y el uso de bioplaguicidas en la agricultura convencional, Xue *et al.* (2017) sugieren que los ensayos de campo en múltiples ubicaciones y años son necesarios para determinar la eficacia del tratamiento de semillas de un agente de control biológico. Estos autores no verificaron efecto significativo del tratamiento de semilla de trigo al utilizar seis cepas de *Trichoderma* spp., sin embargo, en promedio de los tres años evaluados, las seis cepas redujeron significativamente la gravedad de la pudrición de raíz en más de 50 % y aumentaron el rendimiento de los granos en 6 y 11%, además sugieren que es probable aumentar la eficacia de *T. harzianum* con combinación a una tasa reducida con fungicida químico.

El comportamiento de *Trichoderma* spp. es similar al de un patógeno de planta que invade las estructuras de la raíz. Sin embargo, eventos subsiguientes como estallidos oxidativos, la síntesis de ácido salicílico por parte de las plantas y la secreción de proteínas de tipo inductor por *Trichoderma* spp. A diferencia de este hongo de los patógenos. Estos procesos inducen inmunidad en las plantas que ayudan a contrarrestar la invasión subsiguiente de patógenos e insectos (Mendoza-Mendoza *et al.*, 2018).

El hecho de un mayor porcentaje de germinación de semillas de trigo tratada con *T. harzianum* (figura 2) sugieren que los mismos podrían haber actuado como promotores de crecimiento de las plantas, y/o biofertilizantes (Swain *et al.*, 2018), además de su efecto antagonista contra los hongos que causan enfermedades en las semillas. Estos concuerdan con resultados anteriores (Mastouri *et al.*, 2010; Wiśniewska *et al.*, 2011; Xue *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019) que verificaron como un potencial promotor de crecimiento al *T. harzianum*. En trigo, *T. harzianum* demostró ser eficiente en el incremento del vigor de la raíz en condiciones de estrés hídrico (Shukla *et al.*, 2014), recomendable para control de la roya en trigo, mejorando los parámetros de crecimiento y rendimiento del cultivo (El-Sharkawy *et al.*, 2018), promueve la ramificación de las raíces y la capacidad de absorción de nutrientes (Li *et al.*, 2015), lo que aumenta el crecimiento, rendimiento de las plantas (López-Bucio *et al.*, 2015), mejora la calidad y el rendimiento de la uva (Pascale *et al.*, 2017), proporciona tolerancia a plantas de tomate bajo estrés biótico y abiótico al elevar la concentración de prolina en la planta (Ghorbanpour *et al.*, 2018), la combinación de *T. harzianum* con la fertilización química con nitrógeno (N) permite mayor eficiencia agrónomo y de uso fisiológico en trigo (Meena *et al.*, 2016) y es una de las soluciones sostenibles para mejorar la capacidad de bio-incrustación de las semillas para establecer y funcionar de manera consistente en el campo para la producción sostenible de los cultivos (Meena *et al.*, 2017).

Por los hallazgos en la literatura, el uso de *T. harzianum* en tratamientos de semillas de trigo aún carece eficacia máxima; sin embargo, favorece o estimula el crecimiento de las plantas como la raíz, la materia verde y la seca, el peso y el rendimiento de los granos, incluso

bajo estrés biótico y abiótico, actuando como bioestimulantes y biofertilizantes. Para estudios posteriores, su incorporación con insecticidas químicas puede ser oportuna como estrategia de disminuir el uso de las plaguicidas en los cultivos agrícolas extensivas como el trigo.

### Conclusión

*Rhizopus* spp. y *Aspergillus flavus* fueron los géneros de hongos encontradas en las semillas tratadas de trigo. *Trichoderma harzianum* a 200 mL/100 kg de semilla disminuye la incidencia de hongos fitopatógenos y aumenta el control sobre ello en la semilla de trigo.

Germinación e índice de velocidad de emergencia de la semilla de trigo es influenciada positivamente por *T. harzianum*. Control químico demuestra ser más eficiente para el control de *Aspergillus flavus*. El uso de *T. harzianum* influencia en la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla, aumentando la germinación y disminuyendo la incidencia de hongos fitopatógenos en el tratamiento vía semillas.

### Referencias

Adnan, M., Islam, W., Shabbir, A., Khan, K.A., Ghramh, H.A., Huang, Z., Chen, H.Y.H. y Lu, G. 2019. Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. *Microbial Pathogenesis* 129: 7-18.

Barnett, H.L. y Hunter, B.B. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnessota.

Bernat, P., Nykiel-Szymańska, J., Gajewska, E., Różalska, S., Stolarek, P., Dackowa, J. y Slaba, M. 2018. *Trichoderma harzianum* diminished oxidative stress caused by dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in wheat, with insights from lipidomics. *Journal of Plant Physiology* 229: 158-163.

Bunbury-Blanchette, A.L y Wlaker, A.K. 2019. *Trichoderma* species show biocontrol potential in dual culture and greenhouse bioassays against *Fusarium* basal rot of onion. *Biological Control* 130: 127-135.

Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas (CAPECO). 2018. Área de siembra, producción y rendimiento. URL: <http://capeco.org.py/area-de-siembra-produccion-y-rendimiento/>. Consultado: 14 de octubre 2018.

Colmán, A.A. 2011. Tratamiento químico y biológico en semillas de sésamo para el control de *Macrophomina phaseolina*. Tesis de Grado (Ingeniería Agronómica), Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

El-Gremi, S.M., Draz, I.S. y Youssef, W.A-E. 2017. Biological control of pathogens associated with kernel black point disease of wheat. *Crop Protection* 91: 13-19.

El-Sharkawy, H.H.A., Rashad, Y.M. y Ibrahim, S.A. 2018. Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* spp. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 103: 84-91.

French, E.R. y Herbert, T.T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA), San José.

Gennaro, K.H. 2016. Ocurrencia y control de hongos con productos de alternativos en semillas de trigo de diferentes variedades. Tesis de Magíster, Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Agrarias, San Lorenzo, Paraguay.

Ghorbanpour, A., Salimi, A., Ghanbary, M.A.T., Pirdasthi, H. y Dehestani, A. 2018. The effect of *Trichoderma harzianum* in mitigating low temperature stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Scientia Horticulturae* 230: 134-141.

International Rules for Seed Testing, Suiza (ISTA). 2012. Charge 05. The association international seed testing: The international germination test. 2010. Suiza, Swizeland, Bassesdor.

Kim, T.G. y Knudsen, G.R. 2013. Relationship between the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* and the phytopathogenic fungus *Fusarium solani* sp. pisi. *Applied Soil Ecology* 68: 57-60.

Li, R.X., Cai, F., Pang, G., Shen, Q-R., Li, R. y Chen W. 2015. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its relationship with the Promotion of Tomato Plant Growth. *PLoS ONE* 10(6): 1-16.

Locatelli, G.O., Santos, G.F., Botelho, P.S., Finkler, C.L.L. y Bueno, L.A. 2017. Development of *Trichoderma* sp.

- formulations in encapsulated granules (CG) and evaluation of conidia shelf-life. *Biological Control* 117: 21-29.
- López-Bucio, J., Pelagio-Flores, R. y Herrera-Estrella, A. 2015. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae* 196: 109–123.
- Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. *Crop Science* 2(2): 176-177.
- Meena, S.K., Rakshit, A. y Meena, V.S. 2016. Effect of seed bio-priming and N doses under varied soil type on nitrogen use efficiency (NUE) of wheat (*Triticum aestivum* L.) under green house conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 6: 68–75.
- Meena, S.K., Rakshit, A., Singh, H.B. y Meena, V.S. 2017. Effect of nitrogen levels and seed bio-priming on root infection, growth and yield attributes of wheat in varied soil type. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 12: 172–178.
- Mastouri, F., Björkman, T. y Harman, G.E. 2010. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology* 100(11): 1213-1221.
- Mendoza-Mendoza, A., Zaid, R., Lawry, R., Hermosa, R., Monte, E., Horwitz, B.A. y Mukherjee, P.K. 2018. *Fungal Biology Reviews* 32: 62-85.
- Menezes, M. y Oliveira, S. 1993. Fungos fitopatogênicos. Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- Moya-Elizondo, E.A. y Jacobsen, B.J. 2016. Integrated management of *Fusarium* crown rot of wheat using fungicide seed treatment, cultivar resistance, and induction of systemic acquired resistance (SAR). *Biological Control* 92: 153–163.
- Neegaard, L. 1979. Introduction to methods of seed health testing. *Seed Science and Technology* 7(4):601-636.
- Pascale, A., Vinale, F., Manganiello, G., Nigro, M., Lanzuise, S., Roucco, M., Marra, R., Lombardi, N., Woo, S.L. y Lorito, M. 2017. *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. *Crop Protection* 92: 176-181.
- Pathak, N. y Zaidi, R.K. 2013. Studies on seed-borne fungi of wheat in seed health testing programme. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 46(4): 389-401.
- Shukla, N., Awasthi, R.P., Rawat, L. y Kumar, J. 2014. Seed biopriming with drought tolerant isolates of *Trichoderma harzianum* promote growth and drought tolerance in *Triticum aestivum*. *Annals of Applied Biology* 166(2): 171-182.
- Swain, H., Adak, T., Mukherjee, A.K., Mukherjee, P.K., Bhattacharyya, P., Behera, S., Bagchi, T.B., Patro, R., Khandual, A., Bag, M.K., Dangar, T.K., Lenka, S. y Jena, M. 2018. Novel *Trichoderma* strains. isolated from tree barks as potential biocontrol agents and biofertilizers for direct seeded rice. *Microbiological Research* 214: 83–90.
- Wiśniewska, H., Basiński, T., Chełkowski, J. y Perkowski, J. 2011. *Fusarium sporotrichioides* Sherb. toxins evaluated in cereal grain with *Trichoderma harzianum*. *Journal of Plant Protection Research* 51(2): 134-139.
- Xue, A.G., Guo, W., Chen, Y., Siddiqui, I., Marchand, G., Liu, J. y Ren, C. 2017. Effect of seed treatment with novel strains of *Trichoderma* spp. on establishment and yield of spring wheat. *Crop Protection* 96: 97-102.
- Zaidi, N.W., Singh, M., Kumar, S., Sangle, U.R., Sachitanand, R.S., Prasad, R., Singh, S.S., Singh, S., Yadav, A.K. y Singh, A. 2017. *Trichoderma harzianum* improves the performance of stress-tolerant rice varieties in rainfed ecologies of Bihar, India. *Field Crops Research* 220: 97-104.
- Zhang, F., Wang, Y., Liu, C., Chen, F., Ge, H., Tian, F., Yang, T., Ma, K. y Zhang, Y. 2019. *Trichoderma harzianum* mitigates salt stress in cucumber via multiple responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 170: 436–445.

Ingrid A. Morinigo-Villan; Gustavo D. Vega-Britez; Nelson D. Lesmo Duarte; José A. Velázquez-Duarte, Karem H. Gennaro-Campos y Jorge D. Alvarenga-Serafini

**Citar como:** Morinigo-Villan, I.A.; Vega-Britez, G.D.; Lesmo-Duarte, N.D.; Velázquez-Duarte, J.A., Gennaro-Campos, K.H. y Alvarenga-Serafini, J.D. 2019. Efecto del formulado comercial de *Trichoderma harzianum* en semillas de trigo. *Intropica* 14(2): En prensa. DOI: <http://dx.doi.org/10.21676/23897864.3095>