

## 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 

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

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

Recibido: 26 de abril de 2019

Aceptado: 30 de julio de 2019

Publicación en línea: 31 de diciembre de 2019

### Resumen

**Palabras clave:**  
*Triticum aestivum*; agente biológico;  
bioestimulantes; fitopatógenos;  
temporada; composición

El trigo es uno de los cereales de mayor importancia en el mundo para el consumo humano, por lo que sus enfermedades fúngicas y su control representan un gran desafío. Buscando alternativas de control biológico, se realizó un experimento con el objetivo de evaluar los efectos de diferentes dosis del formulado comercial a base de *Trichoderma harzianum*, sobre la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas. Se utilizaron dos métodos de siembra: Blotter test y siembra en almácigo. Se aplicó un diseño completamente al azar, con cinco tratamientos y ocho repeticiones de 50 semillas, totalizando 400 semillas, y 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 ( $\alpha = 0,05$ ). Los taxones de hongos identificados en las semillas de trigo fueron *Rhizopus* spp. y *Aspergillus flavus*; en la muestra testigo prevalecieron hongos del género *Rhizopus*, mientras que las aplicaciones de diferentes dosis de *T. harzianum* permitieron la disminución de sus colonias. Según el nivel de control, fueron satisfactorias las tres dosis del formulado comercial utilizado, además de influenciar positivamente el porcentaje de germinación de las semillas con relación al testigo. 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. Esta especie puede ser utilizada como bioestimulantes de las plantas con buena capacidad antagonista 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, so its fungal diseases and control represent a great challenge. This experiment was carried out with the objective of looking for an alternative biological control agent. The effects of different doses of the *Trichoderma harzianum*-based commercially formulated product on physiological and sanitary quality of the wheat seeds were evaluated. Two different planting methods were employed: Blotter test and sowing in seedbed. A completely random design was applied, with five treatments with eight repetitions of 50 seeds, reaching a total of 400 seeds, and with three different doses of the product (100, 200, 300 ml/100 kg seeds), in addition to the absolute control and the chemical (Carbendazín + Thiram). The results were subjected to the ANAVA and the Tukey tests ( $\alpha=0.05$ ). The fungal taxa identified in the wheat seeds were *Rhizopus* spp. and *Aspergillus flavus*; fungi if the genus *Rhizopus* prevailed in the control sample, while the application of different doses of *T. harzianum* resulted in a decrease of their colonies. Depending on the control level, the three doses of the commercial formulation applied were satisfactory, in addition to positively influencing the germination percentage of the seeds in relation to the control. The highest emergency speed index was observed after applying *T. harzianum* at a dose of 300 ml/100 kg. This species can be used as a biostimulant in plants with a good antagonistic capability against phytopathogens that develop diseases 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 anual de 700,000 toneladas 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, lo que puede generar un impacto negativo tanto a las personas como al medio ambiente (Adnan *et al.*, 2019).

Debido 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 los cuales se destaca el género *Trichoderma*. Además, estos hongos desempeñan un papel regulador en diversas interacciones fisiológicas de las plantas (Bunbury-Blanchette y Walker, 2019). Esto los convierte en uno de los controladores biológicos más efectivos, por su capacidad de controlar los hongos fitopatógenos y por ser inocuos para los humanos, animales de producción, plantas de interés económico y el medio ambiente (López-Bucio *et al.*, 2015). *Trichoderma* es uno de los géneros de hongos más importantes conocidos por su actividad antagonista contra patógenos causantes de enfermedades; además, podría ser desarrollado como un potente biofertilizante y su uso podría 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 las producidas por *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., y *Alternaria* spp., entre otras 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 del herbicida 2,4-D (Bernat *et al.*,

2018). En efecto, este género de hongos ascomicetos tiene potencial antagonista para control de hongos que afectan los granos de trigos, tales como *Cochliobolus sativus*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp. y *Fusarium graminearum* (El-Gremi *et al.*, 2017). Por tanto, su uso para 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, durante el período comprendido entre los meses de junio y noviembre del año 2018. La población de estudio fue de semillas de trigo (*Triticum aestivum*) variedad IPR85. El producto comercial Trichodermil de la Empresa Koppert con formulación de *Trichoderma harzianum*, cepa ESALQ-1306, es una suspensión concentrada (48 g/l), en tanto que el fungicida Carbendazim + Thiram es producido por la empresa Tecnomyl S.A y tiene como nombre comercial Tiracarb, con formulación de Carbendazim metil benzimidazol-2-bicarbamato 15 %, Thiram bisulfuro de tetrametil tiocarbamato 35 % e inertes 50 %.

El experimento se realizó en dos ambientes: 1) en laboratorio donde las semillas fueron sembradas en el método de cámara húmeda (Blotter test) y 2) en almácigo donde las semillas fueron sembradas en tierra. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar y comprendió cinco tratamientos y diez repeticiones. En cada repetición se utilizó una placa de Petri de 9 cm de diámetro conteniendo 40 semillas de trigo (Blotter test). Para la siembra en almácigo se preparó 1 m<sup>2</sup> de suelo, en el cuál para cada tratamiento se implementaron ocho repeticiones de 50 semillas, totalizando 400 semillas por cada tratamiento, según indicaciones de las reglas del International Rules for Seed Testing (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. El producto

utilizado en calidad de testigo químico fue el Carbendazim + Thiram. Cada unidad experimental estuvo representada por una placa de Petri.

Se utilizaron tres dosis de *T. harzianum*: la recomendada por el fabricante (200 ml), una de 50 % menos (100 ml) y otra de 50 % más (300 ml) (tabla 1).

Tabla 1. Descripción de los tratamientos en términos del porcentaje y las dosis 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	Carbendazin + 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

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

Posteriormente, se realizó la siembra con ayuda de una pinza esterilizada, distribuyendo 40 semillas de manera equidistante en cada placa de Petri (previamente esterilizadas en estufa a 150 °C por 4 horas). En cada placa se colocaron tres discos de papel absorbente y se vertieron 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 durante ocho días, para promover la esporulación de los hongos.

La siembra en el almacigo se realizó con el propósito de evaluar el índice de velocidad de emergencia (ÍVE). Se utilizaron 1000 g de semillas de trigo, empleándose

ocho repeticiones de 50 semillas para cada tratamiento (ISTA, 2012). La siembra se realizó manualmente, en surcos corridos a una profundidad de 2 cm, con una distancia de 2 cm entre semillas y 12 cm entre hileras, en suelo previamente humedecido. Las semillas fueron observadas con el microscopio estereoscópico para identificar las colonias de hongos; en el caso de 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).

A los ocho días después de la siembra se determinó el porcentaje de semillas infestadas por hongos, cuantificando el número de semillas con colonias de hongos en cada placa de Petri, para cada una de las repeticiones de los diferentes tratamientos. Para ello se utilizó la siguiente fórmula (French y Hebert, 1980):  $\text{Incidencia (\%)} = (\text{número de semillas infectadas}) / (\text{número total de semillas}) \times 100$ . El nivel de control de los productos en estudio se estableció conforme a la 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 éstas como semillas germinadas, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Germinación (\%)} = (\text{semillas germinadas}) / (\text{número total de semillas}) \times 100$$

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

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

Donde:

IVE= Índice de velocidad de emergencia (plántulas/día)

Nn: Número de días a partir de la siembra, desde el primer hasta el último recuento (n).

En: Número de plántulas emergidas desde el primer hasta el último recuento (n).

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA). En caso de significación estadística, las medias de los diferentes tratamientos fueron comparadas entre sí mediante el Test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

## Resultados

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

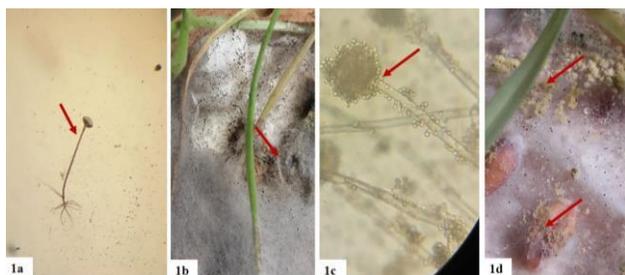


Figura 1. Hongos observados mediante el microscopio óptico, (1a) *Rhizopus* spp. y su colonia (1b); *Aspergillus flavus* (1c) y su colonia (1d).

Se observó un 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. La dosis recomendada por el fabricante (200 ml) fue la que determinó el menor porcentaje de incidencia de hongos (35,8 %). El porcentaje de germinación también fue influenciado por los tratamientos evaluados ( $p < 0,05$ ), correspondiendo a la

muestra testigo el menor porcentaje de germinación (30,5 %), en tanto que la dosis de 100 ml del formulado comercial *T. harzianum* produjo un 47,2 % de germinación. El mayor índice de velocidad de emergencia (IVE) se presentó con la dosis de 300 ml del formulado comercial de *T. harzianum* (13,1), y el menor (7,8) se obtuvo con el tratamiento químico y con la dosis de 100 ml del formulado comercial (figura 2).

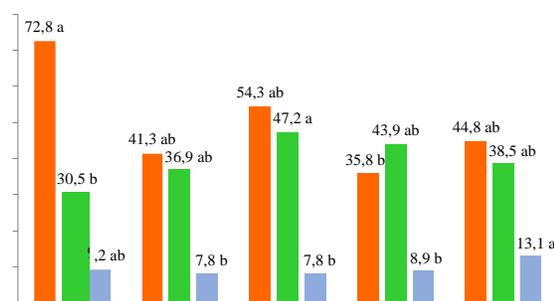


Figura 2. Efecto de los diferentes tratamientos en la incidencia de hongos, germinación e IVE de las semillas de trigo (Pedro Juan Caballero – Paraguay, 2018). Letras diferentes en las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre sí, según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) (IH= incidencia de hongos: 35,05; G= germinación: 14,34; IVE= índice de velocidad de emergencia: 4,09).

En todos los tratamientos las semillas tuvieron un porcentaje de germinación por debajo del 50 %, probablemente debido al tiempo de almacenamiento previo, que fue de seis meses a temperatura ambiente. Con la dosis de 100 ml de *T. harzianum* se obtuvo el mayor porcentaje de germinación. Este resultado obtenido permite validar las recomendaciones del fabricante y garantizar su utilización por parte de los productores.

En la figura 3 se puede observar el porcentaje de colonias de cada género de hongo en las semillas de trigo. El testigo absoluto presentó la mayor cantidad de colonias de hongos contaminantes. Los géneros presentes en las semillas que no recibieron ningún tratamiento fueron *Rhizopus* spp. (64,3 %) y *A. flavus* (8,5 %). La dosis de 200 ml de *T. harzianum* presentó un 19,5 % de colonias de *Rhizopus* spp. y 16,3 % de *A. flavus*, en tanto que el tratamiento con Carbendazín + Thiram no presentó incidencia de *A. flavus*, solamente se pudieron identificar hongos del género *Rhizopus* (41,3 %). 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 produjo un control del 99,7 % de *A. flavus* y 59,0 % de *Rhizopus* spp. (tabla 3). En lo que respecta a *T. harzianum*, no hubo diferencias

estadísticamente significativas en el porcentaje de control producido por las tres dosis de utilizadas. Caso contrario se evidenció en el caso de *Rhizopus* spp., mientras que en el caso de *A. flavus* el tratamiento químico produjo el mejor porcentaje de control, seguido por la dosis de 200 ml de *T. harzianum*.

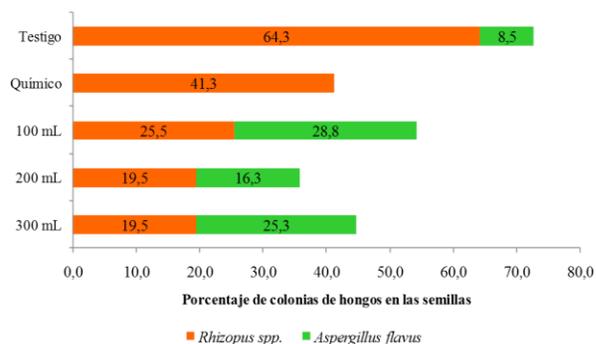


Figura 3. Efecto de los diferentes tratamientos en las colonias de hongos de las semillas de trigo (Pedro Juan Caballero – Paraguay, 2018).

Con base en los datos obtenidos, puede afirmarse que las dosis de *T. harzianum* generan una reducción significativa en las colonias de *Rhizopus* spp. de las semillas de trigo sembradas mediante el método Blotter test.

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 indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ), según el test de Tukey.

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

Según la escala presentada en la tabla 2, las dosis de 100, 200 y 300 ml de *T. harzianum* obtuvieron un nivel de control bueno de *Rhizopus* spp., en contraste con el tratamiento químico (Carbendazín + Thira), que presentó un nivel de control regular o muy bajo de estas colonias de hongos. El tratamiento químico presentó un nivel de control de *A. flavus* categorizado como muy bueno a excelente, en tanto que las dosis de *T. harzianum* presentaron un nivel de control de *Aspergillus* categorizado como bueno a regular (tabla 3)

### Discusión

En los cinco tratamientos empleados en la investigación solamente fueron identificados dos

taxones de hongos en las semillas de trigo: *Rhizopus* spp. y *A. flavus*. Estos taxones se encuentran entre los principales hongos transmitidos por semilla en las plantas de trigo (Pathak y Zaidi, 2013). Algunas investigaciones han demostrado bajo nivel antagonista de los microorganismos fúngicos utilizados para el control biológico de las enfermedades que afectan semillas de cereales (Zaidi *et al.*, 2017). Sin embargo, entre las diferentes dosis utilizadas en el presente trabajo, la aplicación de 200 ml de *T. harzianum* presentó menor incidencia de hongos en comparación con el tratamiento químico, aunque este último controló de una forma más eficiente a *Rhizopus* spp. y a *A. flavus*, en comparación con las diferentes dosis de *T. harzianum*, resultados que son similares a los obtenidos por Pathak y Zaidi (2013) y Moya-Elizondo y Jacobsen (2016), donde la competencia puede ser el principal mecanismo de la actividad antagónica de *T. harzianum* (Kim y Knuden, 2013).

Aunque no demostraron un efecto total sobre los parámetros medidos, estos resultados sugieren que se puede utilizar el 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 ensayos de campo en múltiples ubicaciones y años son necesarios para determinar la eficacia del tratamiento de semillas con un agente de control biológico. Estos autores no verificaron un efecto significativo del tratamiento de semilla de trigo al utilizar seis cepas de *Trichoderma* spp.; sin embargo, los resultados promedio de los tres años evaluados evidenciaron que las seis cepas redujeron significativamente la gravedad de la pudrición de raíz en más de un 50 % y aumentaron el rendimiento de los granos en 6 y 11%. Además, sugieren que es probable aumentar la eficacia de *T. harzianum* mediante combinación a una tasa reducida con un 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. diferencia 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 mayor porcentaje de germinación de semillas de trigo tratadas con *T. harzianum* sugiere que este tratamiento podría haber actuado como promotor de crecimiento de las plantas y/o biofertilizante (Swain *et al.*, 2018), además de su efecto antagonista contra los hongos que causan enfermedades en las semillas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en algunos estudios anteriores (Mastouri *et al.*, 2010; Wiśniewska *et al.*, 2011; Xue *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019), los cuales calificaron a *T. harzianum* como un potencial promotor de crecimiento.

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) y promoviendo 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). Además, mejora la calidad y el rendimiento de la uva (Pascale *et al.*, 2017) y 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 una mayor eficiencia agronómica 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, permitiéndoles establecerse 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, es posible afirmar que el uso de *T. harzianum* en tratamientos de semillas de trigo aún carece de eficacia máxima; sin embargo, favorece o estimula el crecimiento de las plantas (raíz, materia verde y la seca, peso e incluso el rendimiento de los granos) bajo estrés biótico y abiótico, actuando como bioestimulante y biofertilizante. Para estudios posteriores, su incorporación con insecticidas químicas puede ser oportuna como estrategia para disminuir el uso de las plaguicidas en cultivos agrícolas extensivos, como es el caso del trigo.

### Conclusiones

109 *Rhizopus* spp. y *Aspergillus flavus* fueron los taxones de

hongos encontrados en las semillas tratadas de trigo. El uso de *T. harzianum* a una dosis de 200 ml/100 kg de semilla disminuye la incidencia de hongos fitopatógenos y aumenta el control los mismos en la semilla de trigo.

La germinación y el índice de velocidad de emergencia de la semilla de trigo son influenciados positivamente por *T. harzianum*, en tanto que el control químico es más eficiente para el control de *Aspergillus flavus*.

El uso de *T. harzianum* influencia positivamente la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla, aumentando la germinación y disminuyendo la incidencia de hongos fitopatógenos en las 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.042> .

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

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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.07.010> .

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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.11.007> .

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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.034>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.05.002>
- 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 Magister, 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.11.028>.
- International Rules for Seed Testing, Suiza (ISTA). 2012. Charge 05. *The association international seed testing: The international germination test*. 2010. Suiza, Swizeland, Basesdor.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.03.009>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130081>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.08.020>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.043>.
- Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. *Crop Science* 2(2): 176-177. Doi: <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.02.010>
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.10.006>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1094/PHTO-03-10-0091>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.12.001>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.006>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.010>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1080/03235408.2012.741978>.

- 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. Doi: <https://doi.org/10.1111/aab.12160>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.05.015>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.2478/v10045-011-0023-y>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.02.003>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.05.003>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.084>.
- 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): 105-111. Doi: <http://dx.doi.org/10.21676/23897864.3095>.