



INSTITUTO LATINOAMERICANO DE  
CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA  
NATURALEZA (ILACVN)

BIOTECNOLOGÍA

**BIOPROSPECCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTAGÓNICA E  
INDUCCIÓN DE CRECIMIENTO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp., EN  
PLANTAS DE SOJA (*Glycine max* (L) Merrill)**

**MARIA ESTHER VIVANCO SUAZO**

Foz do Iguaçu  
2022

**BIOPROSPECCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTAGÓNICA E INDUCCIÓN  
DE CRECIMIENTO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp., EN PLANTAS DE SOJA  
(*Glycine max* (L) Merrill)**

**MARIA ESTHER VIVANCO SUAZO**

Trabajo de Conclusión de Curso presentado al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial a la obtención del título de Bachiller en Biotecnología

Orientador: Prof. Dr. Berghem Morais Riveiro

Foz do Iguaçu  
2022

MARIA ESTHER VIVANCO SUAZO

**BIOPROSPECCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTAGÓNICA E INDUCCIÓN  
DE CRECIMIENTO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp., EN PLANTAS DE SOJA  
(*Glycine max* (L) Merrill)**

Trabajo de Conclusión de Curso presentado al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial a la obtención del título de Bachiller en Biotecnología

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Berghem Morais Riveiro  
UNILA

---

Prof. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos  
UNILA

---

Prof. Dra. Tathianne Pastana de Sousa Poltronieri  
UNILA

Foz do Iguaçu, 28 de Julio de 2022.

## TERMO DE SUMISIÓN DE TRABAJOS ACADÉMICOS

Nombre completo del autor(a): Maria Esther Vivanco Suazo

Curso: Biotecnología

Tipo de Documento	
( X ) graduación	(.....) artículo
(.....) especialización	( X ) trabajo de conclusión de curso
(.....) maestría	(.....) monografía
(.....) doctorado	(.....) disertación
	(.....) tesis
	(.....) CD/DVD – obras audiovisuales
	(.....) _____

Título del trabajo académico: BIOPROSPECCIÓN Y CAPACIDAD ANTAGÓNICA E INDUCCIÓN DE CRECIMIENTO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp., EN PLANTAS DE SOJA (*Glycine max* (L) Merrill)

Nombre do orientador(a): Berghem Morais Riveiro

Fecha de la Defensa: 28 / 07 / 2022

### Licencia no-exclusiva de Distribución

Lo que refiere al autor(a):

a) Declara que el documento entregado es su trabajo original, y que el detiene el derecho de conceder los derechos contenidos en esta licencia. Declara también que la entrega del documento no infringe, tanto cuanto le es posible saber, los derechos de cualquier otra persona o entidad.

b) Si el documento entregado contiene material del cual no detiene los derechos de autor, declara que obtuvo autorización del retenedor de los derechos de autor para conceder a la UNILA – Universidad Federal de la Integración Latinoamericana los derechos requeridos por esta licencia, y que ese material cuyos derechos son de terceros está claramente identificado y reconocido en el texto o contenido del documento entregado.

Se el documento entregado es basado en trabajo financiado o apoyado por otra institución que no sea la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, declara que cumplió cualquier obligaciones exigidas por el respectivo contrato o acuerdo.

En la calidad de titular de los derechos del contenido suscitado, el autor autoriza a la Biblioteca Latinoamericana – BIUNILA a disponibilizar la obra, gratuitamente y de acuerdo con la licencia pública *Creative Commons Licença 3.0 Unported*.

Foz do Iguazu, 28 de Julio de 2022.

\_\_\_\_\_  
Firma del Responsable

Dedico este trabajo a Dios, padres y hermanos que siempre me dieron fuerzas para continuar.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar agradezco a Dios, por darme la valentía de salir de mi país y conocer personas, pueblos y lenguas en la UNILA. Por poder conocerlo desde un enfoque distinto y por darme amor para realizar este trabajo.

A mis padres Heriberto y Ester, por darme la confianza de para seguir adelante en los momentos difíciles, por sus oraciones y su trabajo.

A mis hermanos Israel, Tabita y Pablo, por su apoyo y amor incondicional.

A mi profesor orientador Berghem Morais, por su tiempo y disponibilidad, por responder mis muchas dudas y apoyo en mi curiosidad.

A mis amigos y compañeros que me ayudaron con su tiempo y apoyo en los experimentos, ratos libres y sonrisas en momentos difíciles.

*¿No has sabido, no has oído que el Dios eterno es Jehová, el cual creó los confines de la tierra? No desfallece, ni se fatiga con cansancio, y su entendimiento no hay quien lo alcance. El da esfuerzo al cansado, y multiplica las fuerzas al que no tiene ningunas. Los muchachos se fatigan y se cansan, los jóvenes flaquean y caen; pero los que esperan a Jehová tendrán nuevas fuerzas; levantarán alas como las águilas; correrán, y no se cansarán, caminarán, y no se fatigarán.*

*Isaías 40: 28 - 31*

**Santa Biblia Versión Reina-Varela 1960**

## RESUMO

No Brasil, o setor agrícola é de grande importância, mas ao mesmo tempo é afetado por fatores políticos e sociais internacionais. A implementação de produtos biotecnológicos de biocontrole permite a redução de agentes químicos e a dependência deles. Os fungos do gênero *Trichoderma* têm grande potencial como agentes de biocontrole, devido à sua capacidade de colonizar a rizosfera e produzir metabólitos secundários capazes de inibir o crescimento de fungos fitopatogênicos e induzir o crescimento das plantas. O trabalho a seguir teve como objetivo avaliar a capacidade antagonista dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre os fungos fitopatogênicos *Sclerotinia* spp. e *Colletotrichum* spp. e seu potencial de fator de crescimento em plantas de soja (*Glycine max* (L)). Os isolados de *Trichoderma* spp. foram obtidos por bioprospecção em solo agrícola de lavouras de soja em Foz do Iguaçu. A capacidade antagonista foi analisada pelo método de confronto direto e a porcentagem de inibição foi obtida usando uma escala de Bell modificada para *Trichoderma* spp. A capacidade do fator de crescimento na soja foi avaliada após doze dias de cultivo. Os isolados de *Trichoderma* spp. AT6 e *Trichoderma* spp. BT5 foram obtidos por bioprospecção. A inibição do crescimento foi testada, sendo que o *Trichoderma* spp. AT6 inibiu o crescimento de 75% de *Colletotrichum* spp. e 81,3% de *Sclerotinia* spp. Por outro lado, o *Trichoderma* spp. BT5 inibiu o crescimento de 75% de *Colletotrichum* spp. e 70,2% de *Sclerotinia* spp. A capacidade do fator de crescimento não pôde ser testada após doze dias de cultivo da planta de soja. Conclui-se que os isolados *Trichoderma* spp. AT6 e *Trichoderma* spp. BT5 têm potencial para o biocontrole dos patógenos de plantas *Sclerotinia* spp. e *Colletotrichum* spp. Para a capacidade do fator de crescimento, propõe-se uma nova análise com um tempo de cultivo mais longo dos isolados na planta de soja.

**Palavras-chave:** *Trichoderma* spp; *Colletotrichum* spp; *Sclerotinia* spp; *Glycine max* L; soja; bioprospecção; antagonista; fungo patógeno; fator de crescimento; confronto direto; pareamento; melhoramento vegetal.

## RESUMEN

En Brasil, la industria agrónoma es de gran importancia, a la vez, esta se ve afectada por factores políticos-sociales internacionales. La implementación de productos biotecnológicos de biocontrol permite la reducción de agentes químicos y la dependencia de estos. Hongos del género *Trichoderma* presentan gran potencial como agentes de biocontrol, debido a su capacidad de colonizar la rizósfera y producir metabolitos secundarios, capaces de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos e inducir el crecimiento en las plantas. El siguiente trabajo tuvo el objetivo evaluar la capacidad antagónicas de aislados de *Trichoderma* spp. en los hongos fitopatógenos *Sclerotinia* spp. y *Colletotrichum* spp., y su potencial de factor de crecimiento en plantas soja (*Glycine max* (L). Los aislados de *Trichoderma* spp. fueron obtenidos mediante bioprospección en suelo agrícola de cultivo de soja en la localidad de Foz do Iguaçu. La capacidad antagónica fue analizada mediante el método de confrontación directa y se obtuvo el porcentaje de inhibición utilizando una escala de Bell modificada para *Trichoderma* spp. La capacidad de factor de crecimiento en soja fue evaluada a los doce días de cultivo. Se obtuvieron los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 mediante la bioprospección. Se comprobó la inhibición crecimiento, donde, *Trichoderma* spp. AT6 inhibió el crecimiento en un 75% de *Colletotrichum* spp. y un 81,3% de *Sclerotinia* spp. Por otro lado, *Trichoderma* spp. BT5 inhibió el crecimiento en un 75% de *Colletotrichum* spp. y un 70,2% de *Sclerotinia* spp. La capacidad de factor de crecimiento no pudo ser comprobada a los doce días de cultivo de la planta de soja. Se concluye que los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 poseen el potencial para el biocontrol de los fitopatógenos *Sclerotinia* spp. y *Colletotrichum* spp. Para la capacidad de factor de crecimiento, se propone un nuevo análisis en un tiempo mayor de cultivo de los aislados en la planta de soja.

**Palabras clave:** *Trichoderma* spp.; *Colletotrichum* spp.; *Sclerotinia* spp.; *Glycine max* L; soja; bioprospección; antagonista; fitopatógenos; factor de crecimiento; confrontación directa; cultivo vegetal.

## ABSTRACT

In Brazil, the agricultural industry is of great importance, but at the same time it is affected by international political and social factors. The implementation of biotechnological biocontrol products allows the reduction of chemical agents and dependence on them. Fungi of the genus *Trichoderma* have great potential as biocontrol agents, due to their ability to colonise the rhizosphere and produce secondary metabolites capable of inhibiting the growth of plant pathogenic fungi and inducing plant growth. The following work aimed to evaluate the antagonistic capacity of *Trichoderma* spp. isolates on the plant pathogenic fungi *Sclerotinia* spp. and *Colletotrichum* spp. and their growth factor potential in soybean (*Glycine max* (L)) plants. *Trichoderma* spp. isolates were obtained by bioprospecting in agricultural soil of soybean crops in Foz do Iguaçu. The antagonistic capacity was analysed by the direct confrontation method and the percentage of inhibition was obtained using a modified Bell scale for *Trichoderma* spp. The growth factor capacity in soybean was evaluated after twelve days of cultivation. *Trichoderma* spp. AT6 and *Trichoderma* spp. BT5 isolates were obtained by bioprospecting. Growth inhibition was tested, where *Trichoderma* spp. AT6 inhibited the growth of 75% of *Colletotrichum* spp. and 81.3% of *Sclerotinia* spp. On the other hand, *Trichoderma* spp. BT5 inhibited the growth of 75% of *Colletotrichum* spp. and 70.2% of *Sclerotinia* spp. The growth factor capacity could not be tested after twelve days of soybean plant cultivation. It is concluded that the isolates *Trichoderma* spp. AT6 and *Trichoderma* spp. BT5 have the potential for biocontrol of the plant pathogens *Sclerotinia* spp. and *Colletotrichum* spp. For the growth factor capacity, a new analysis is proposed at a longer cultivation time of the isolates on the soybean plant.

**Key words:** *Trichoderma* spp; *Colletotrichum* spp; *Sclerotinia* spp; *Glycine max* L; soybean; bioprospecting; antagonist; plant pathogen; growth factor; direct confrontation; plant breeding.

## LISTA DE ILUSTRACIONES

<b>Figura 1</b> – Morfología de los conidióforos de <i>Trichoderma</i> spp. (A) <i>T. inhamatus</i> ; (B): <i>T. harzianum</i> ; (C) <i>T. longibrachiatum</i> y (D) <i>T. koningii</i> .....	17
<b>Figura 2</b> – Morfología de colonias de <i>Trichoderma</i> spp. en medio de cultura (A-B). .....	18
<b>Figura 3</b> – Actividades multifacéticas de <i>Trichoderma</i> spp.....	19
<b>Figura 4</b> – Interacción <i>Trichoderma</i> spp. y hongos fitopatógenos.....	21
<b>Figura 5</b> – Estructura química de la Auxina.....	22
<b>Figura 6</b> – Inducción de crecimiento del hongo <i>Trichoderma</i> spp. en plantas.....	23
<b>Figura 7</b> – Estadio fenológico de la soja .....	24
<b>Figura 8</b> – Semilla de soja.....	25
<b>Figura 9</b> – Germinación de soja hasta el estadio vegetativo emergente.....	25
<b>Figura 10</b> – Acérvulas de <i>Colletotrichum</i> spp. sobre el tallo de soja.....	27
<b>Figura 11</b> – Características macroscópicas y microscópicas de <i>Colletotrichum</i> spp. .....	28
<b>Figura 12</b> – Síntomas de antracnosis por <i>Colletotrichum</i> spp. en semilla y vaina de soja .....	29
<b>Figura 13</b> – Apotécios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> germinados a partir de un esclerodio .....	30
<b>Figura 14</b> – Micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> presente en soja.....	31
<b>Figura 15</b> – Ciclo de vida del mohó blanco ( <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ) en soja.....	32
<b>Figura 16</b> – Esquema diluciones seriadas de muestras de suelo.....	34
<b>Figura 17</b> – Ejemplo de método de confrontación directa.....	35
<b>Figura 18</b> – Diseño escala de Bell modificada.....	37

## LISTA DE FOTOGRAFÍAS

<b>Fotografía 1</b> – Aislados de <i>Trichoderma</i> spp. AT5 (derecha) y <i>Trichoderma</i> spp. AT6 (izquierda).....	39
<b>Fotografía 2</b> – Confrontación directa aislado <i>Trichoderma</i> spp. AT6 – <i>Colletotrichum</i> spp. (Control) Crecimiento micelio de <i>Colletotrichum</i> spp. en medio de cultivo BDA después de siete días. (1-9) Confrontación directa entre (A) <i>Colletotrichum</i> spp. (B) <i>Trichoderma</i> spp. AT6 en medio de cultivo BDA después de siete días.....	40
<b>Fotografía 3</b> – Confrontación directa aislado <i>Trichoderma</i> spp. BT5 – <i>Colletotrichum</i> spp. (Control) Crecimiento micelio de <i>Colletotrichum</i> spp. en medio de cultivo BDA después de siete días. (1-9) Confrontación directa entre (A) <i>Colletotrichum</i> spp. (B) <i>Trichoderma</i> spp. BT5 en medio de cultivo BDA después de siete días.....	41
<b>Fotografía 4</b> – Confrontación directa aislado <i>Trichoderma</i> spp. AT6 – <i>Sclerotinia</i> spp. (Control) Crecimiento micelio de <i>Sclerotinia</i> spp. en medio de cultivo BDA después de siete días. (1-9) Confrontación directa entre (A) <i>Sclerotinia</i> spp. (B) <i>Trichoderma</i> spp. AT6 en medio de cultivo BDA después de siete días.....	42
<b>Fotografía 5</b> – Confrontación directa aislado <i>Trichoderma</i> spp. BT5 – <i>Sclerotinia</i> spp. (Control) Crecimiento micelio de <i>Sclerotinia</i> spp. en medio de cultivo BDA después de siete días. (1-9) Confrontación directa entre (A) <i>Sclerotinia</i> spp. (B) <i>Trichoderma</i> spp. BT5 en medio de cultivo BDA después de siete días.....	43
<b>Fotografía 6</b> – Test de colonización radicular <i>Trichoderma</i> spp. AT6-03.....	45

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> – Resultado análisis estadístico del test de inhibición de crecimiento para el fitopatógeno <i>Colletotrichum</i> spp. En donde a1 y a2 existe variación estadística.....	41
<b>Tabla 2</b> – Resultado análisis estadístico del test de inhibición de crecimiento para el fitopatógeno <i>Sclerotinia</i> spp. En donde a1, a2 y a3 son variaciones estadísticas....	43
<b>Tabla 3</b> – Media peso, longitud raíz y longitud parte aérea del cultivo de soja después de 12 días de la siembra.....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

6-PP	6-pentyl.2H-pyran-2-ona
BDA	Agar Batata Dextrosada
COV	Compuestos Orgánicos Volátiles
MB	Microorganismos Benéficos
MS	Metabolitos Secundarios
R	Fase Reproductiva
VBP	Valor Bruto de la Producción Agropecuaria
V	Fase Vegetativa
VE	Estadio Vegetativo Emergente
VC	Estadio Vegetativo Cotiledonar

## SUMARIO

<b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>12</b>
<b>2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>15</b>
2.1.1 Capacidad Antagonista.....	19
2.1.2 Factor de crecimiento.....	21
2.2 SOJA.....	23
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
<b>4 MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
4.1 BIOPROSPECCIÓN.....	34
4.2 CONFRONTACIÓN DIRECTA.....	35
4.3 CULTIVO DE SOJA.....	37
4.3.1 Test de Colonización Radicular de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	38
4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	38
4.5 CONSERVACIÓN DE ANTAGONISTAS Y FITOPATÓGENOS.....	38
<b>5 RESULTADO.....</b>	<b>39</b>
5.1 BIOPROSPECCIÓN.....	39
5.2 CONFRONTACIÓN DIRECTA.....	39
5.3 CULTIVO DE SOJA.....	44
5.3.1 Test de Colonización Radicular.....	45
<b>6 DISCUSIONES.....</b>	<b>46</b>
<b>7 CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>8 REFERENCIAS.....</b>	<b>49</b>

## 1 INTRODUCCIÓN

Los sistemas alimentarios sólidos, sostenibles e inclusivos son fundamentales para alcanzar los objetivos de desarrollo a nivel mundial. El desarrollo agrícola constituye uno de los medios más importantes para poner fin a la pobreza extrema, impulsar la prosperidad compartida y alimentar a una población que se espera llegue a 9.700 millones de habitantes en 2050 (BANCO MUNDIAL, 2022).

Según los datos entregados por el Ministerio de Agricultura y Pecuaria (2022) en Brasil, El Valor Bruto de la Producción Agropecuaria (VBP) brasilera de 2022, con base en las informaciones de junio, alcanza R\$1,241 trillón, 1,6% arriba del obtenido en 2021. Los cultivos, con ingresos de R\$875,50 mil millones, fueron los principales responsables por el crecimiento del VBP, y presentaron un crecimiento real del 5,2%.

Por otro lado, la agropecuaria brasilera “tiene una elevada dependencia de la compra externa de insumos” (SILVA, 2022). Brasil es el cuarto mayor consumidor de fertilizante del mundo (después de China, India y Estados Unidos) y el mayor importador mundial de estos insumos (CARRANÇA, 2022).

Adicionalmente, prácticas de manejo de culturas establecidas décadas atrás, como rotación de cultivos, desenvolvimiento de cultivos con características agronómicas y fisiológicas de interés y el uso de plantas de cobertura cuando son utilizadas aisladamente, no están siendo suficientemente adoptadas para mitigar los impactos negativos de la degradación de las áreas cultivadas sin sustentabilidad (REZENDE et al., 2021).

América Latina, considerada una región rica en recursos renovables y no renovables, ha presentado problemas en los cultivos debido a sistemas agrícolas ineficientes, y la limitada disponibilidad de nutrientes del suelo; por ello la aplicación de la biotecnología agrícola representa grandes beneficios para solucionar dichas

problemáticas. Más aun, la agricultura moderna se ha vuelto dependiente del uso de plaguicidas químicos para controlar organismos fitopatógenos, lo cual ha provocado resistencia en las plagas, cambios en la diversidad microbiana edáfica, y contaminación ambiental (MELCHOR et al., 2019).

Los datos del censo agropecuario indican una expansión en el uso de agrotóxicos por los establecimientos agropecuarios de Brasil entre 2006 y 2017. La extensión del uso de agrotóxicos conlleva graves problemas medioambientales y de salud pública. Los trabajadores rurales, especialmente los de la agricultura familiar, son los más vulnerables a problemas de salud debido a la exposición directa a los pesticidas. Sin embargo, los medios de aplicación a gran escala de agrotóxicos, utilizados en grandes propiedades rurales, son responsables de los riesgos de contaminación ambiental que afectan a las poblaciones de las zonas rurales y sus alrededores (VALDARES et al., 2020).

El control biológico es “la reducción de la suma del inóculo o de las actividades determinantes de la enfermedad, provocada por un patógeno, realizada por uno o más organismos que no es el hombre”. Concepto descrito por COOK; BRAKER, 1989 y citado por BETTIOL et al., 2019. Este último también menciona que el control biológico puede ser acompañado de: prácticas culturales para crear un ambiente favorable para los antagonistas y la resistencia de la planta hospedera, o ambas cosas; mejoramiento de las plantas para aumentar la resistencia al patógeno o para que se pueda adaptar mejor a las actividades de los antagonistas; introducción de los antagonistas, aislados no patogénicos y otros organismos o agentes benéficos; y otras actividades culturales.

Actualmente, Brasil es una referencia mundial en el uso de defensivos agrícolas biológicos en el campo. Con todo, son 552 productos de bajo impacto

registrados desde el año 2000. Los productos de bajo impacto poseen ingredientes activos biológicos, microbiológicos, semiquímicos, bioquímicos, extractos vegetales y reguladores de crecimiento, pudiendo ser autorizados en varios casos en la agricultura orgánica (TÁVORA, 2022). El uso formulados (polvos solubles, concentrado emulsionable, gránulos cubiertos y dispersables) brinda alternativas que permiten mejorar la calidad de un bioinsumo, garantizando la eficacia del mismo, así como su almacenamiento y vida útil en percha. (ARROYO, 2020).

La investigadora Barra mencionó que los productos biológicos o “bioproductos” pueden ser aplicados de diversas maneras a las plantas, ya sea a las hojas, a las raíces p a las semillas, con la certeza de que no generan daño alguno al medio ambiente y favoreciendo considerablemente a la planta (INIA, 2020).

El siguiente trabajo tiene como objetivo evaluar las capacidades antagonistas del hongo *Trichoderma* spp. frente a los hongos fitopatógenos *Sclerotinia* spp. y *Colletotrichum* spp., siendo ambos hongos causantes de enfermedades y pérdidas en el cultivo de *Glycine max* L. (soja). Así también se evaluará la capacidad del hongo *Trichoderma* spp. y el factor de crecimiento en *Glycine max* L.

## 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La biotecnología se define comúnmente como el uso de organismos vivos, o los productos de los mismos, para el beneficio humano (o el beneficio de su entorno) con el fin de desarrollar un producto o resolver un problema (THIEMAN et al., 2010). Según Batista Filho (2008), citado por OLIVEIRA et al. 2020, la biotecnología es una herramienta tecnológica adicional para la agricultura. Ella impulsa el crecimiento del agronegocio en los países donde ya son producidos alimentos a través de esta técnica y posee un papel importante en aumentar la productividad y atender la demanda por alimentos en una población de continuo crecimiento.

El uso de microorganismos benéficos (MB) como hongos, bacterias o virus, constituye una herramienta básica y de gran utilidad para el desarrollo de una agricultura limpia y amigable con el entorno productivo. Entre los principales microorganismos aplicados en la agricultura tenemos los hongos de los géneros *Trichoderma* (ARROYO, 2020).

El género *Trichoderma* es de gran interés en la industria agrícola. Como producto final debe presentar características específicas de pureza, viabilidad en el almacenamiento, eficiencia, entre otras. A pesar de ser un antagonista para hongos, su acción es más lenta en relación a la aplicación de químicos. Los fungicidas químicos pueden afectar el crecimiento vegetativo, la viabilidad y la conidiogénesis de los antagonistas, afectando los mecanismos de acción o inclusive la composición genética. Varias especies poseen resistencia innata a fungicidas, a pesar de esto, esta resistencia es diferente en función del fungicida utilizado. Para una correcta aplicación (*Trichoderma* y fungicida) se deben considerar los ingredientes activos, concentración, asociación de productos, entre otros (DALACOSTA et al., 2019).

Varios factores bióticos y abióticos afectan las poblaciones y la diversidad

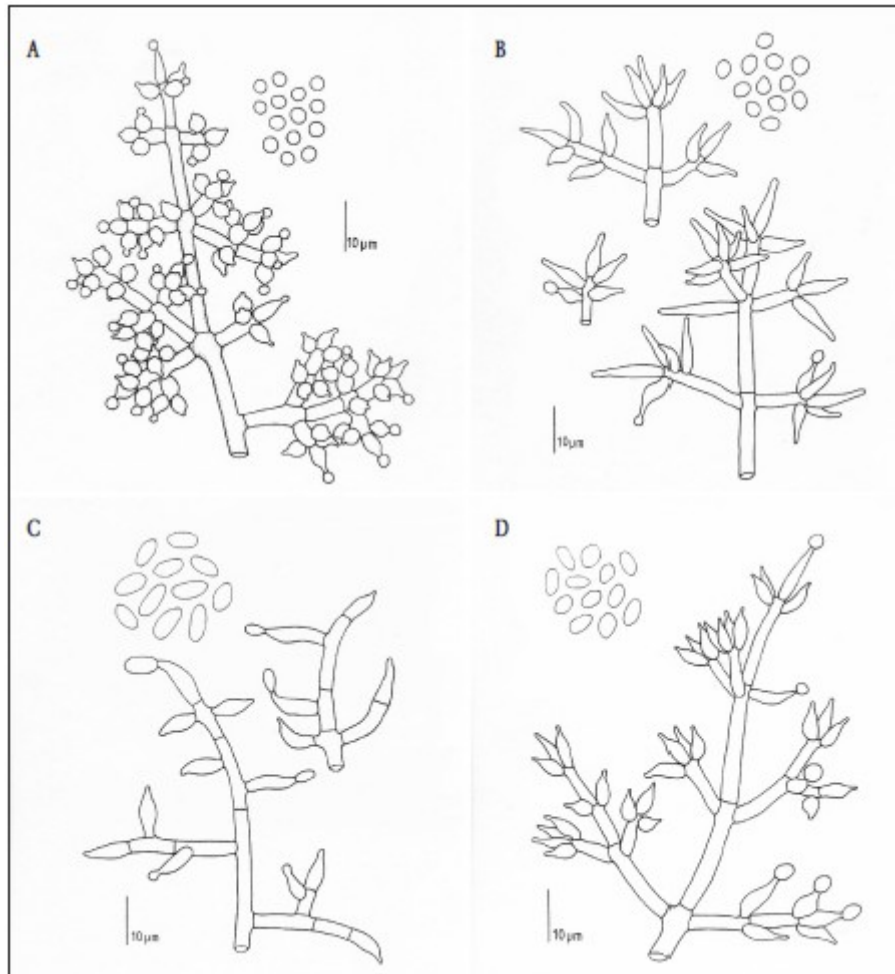
de las comunidades microbianas en los agrícolas, incluidas las especies vegetales y su crecimiento, la competencia total, las propiedades físicas y químicas del suelo, la aplicación de pesticidas o fertilizantes así como la región geográfica. *Trichoderma* spp. puede aislarse teóricamente de casi todos los tipos de campos agrícolas. Tienen varios efectos positivos en las plantas cultivadas, como control biológico de enfermedades de las plantas, inducción de resistencia sistémica, aumento de la disponibilidad y absorción de nutrientes, promover el crecimiento de las plantas, mejorar el rendimiento de los cultivos y degradación de pesticidas xenobióticos. Por estas razones, estos hongos han sido ampliamente estudiados y comercializados como biofungicidas, biofertilizantes y enmiendas del suelo (KREDICS et al., 2014).

## 2.1 *Trichoderma* spp.

*Trichoderma* Persoon (1794) pertenece al reino Fungi; Filo Ascomycota; Orden Hypocreales; Familia Hypocreaceae; Género *Hypocrea* (Telemorfo) y *Trichoderma* (Anamorfo). Se distinguen por su morfología alrededor de 30 especies del género *Trichoderma*. Sin embargo, el uso de la biotecnología vegetal permitió revelar la existencia de más de 100 especies distintas. El género *Trichoderma* en su estado vegetativo presenta septos simples. Las especies son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucano. Se reproducen asexualmente por conidios. En la fase asexuada, son formados, a partir del micelio vegetativo, conidióforos (Figura 1) con un eje central y ramificaciones laterales, que terminan en espirales divergentes de células conidiógenas del tipo fiálide, con forma de botella o alargadas. En la punta de las fiálides son producidos los típicos conidios unicelulares, esféricos, ovales o alargados, de color verde en la mayor parte de las especies. Los conidióforos son comúnmente agregados en

pústulas o “tufos” esparcidos por la colonia (DA SILVA et al, 2022; GONZALEZ et al., 2019).

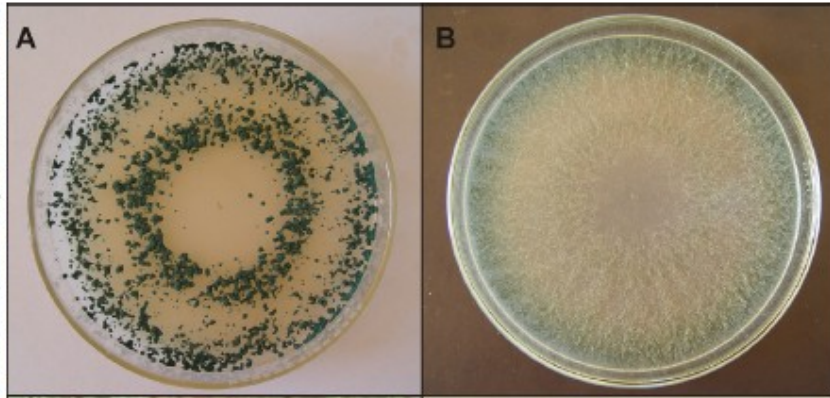
**Figura 1** – Morfología de los conidióforos de *Trichoderma* spp. (A) *T. inhamatus*; (B) *T. harzianum*; (C) *T. longibrachiatum* y (D) *T. koningii*.



Fuente: DA SILVA et al., 2022.

*Trichoderma* pertenece a la clase Sordariomycetes del filo Ascomycota y por lo tanto, en las especies en donde la fase sexuada es conocida, esta es caracterizada por la formación de cuerpos de fructificación del tipo peritécio, formados en estomas de coloración verde, amarillenta, crema o marrón, producidos sobre el sustrato colonizado (Figura 2) (ABREU et al. 2019).

**Figura 2** - Morfología de colonias de *Trichoderma* spp. en medio de cultura (A-B)

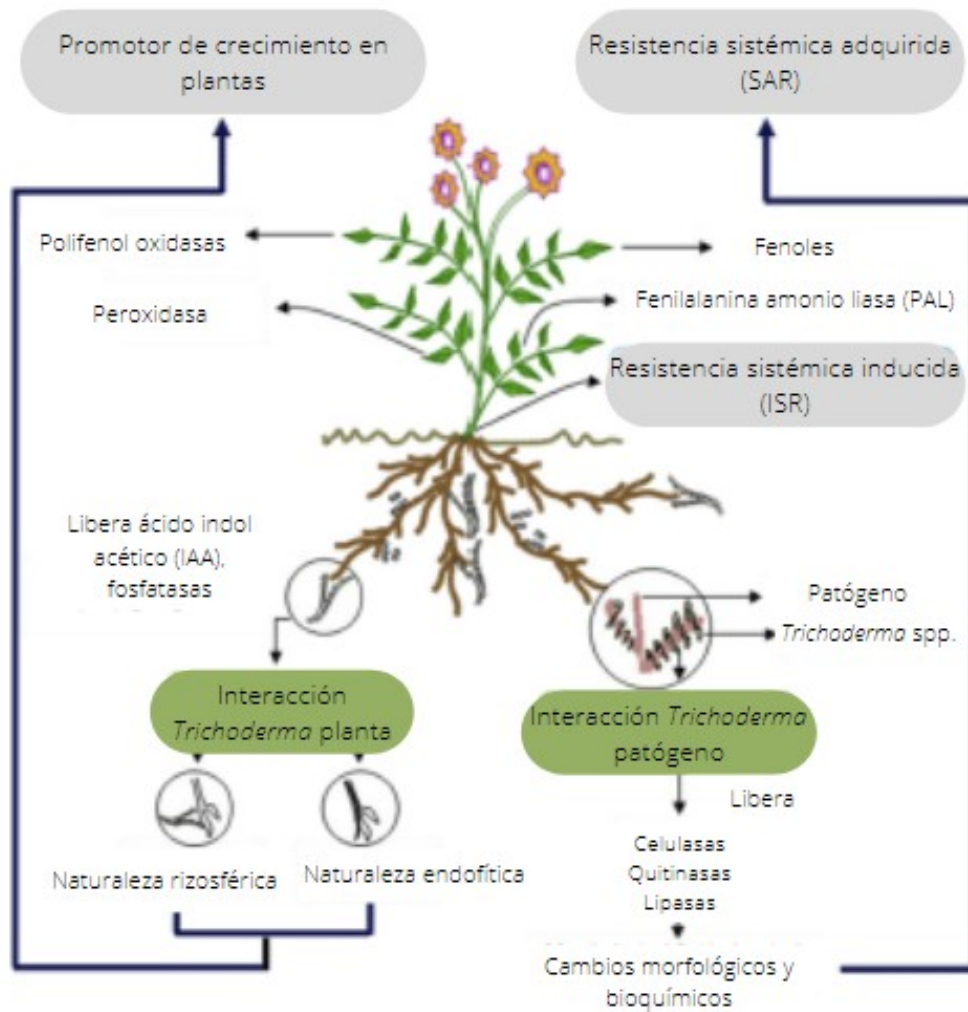


Fuente: ABREU et al., 2019

Los hongos filamentosos del género *Trichoderma* (pertenecientes a la familia Hypocreaceae), son cosmopolitas en suelo, madera y hortalizas en descomposición, muestran una notable gama de estilos de vida e interacciones con otros hongos, animales o plantas, lo que les confiere alta plasticidad ecológica. Capacidad enzimática para degradar sustratos, metabolismo variable y resistencia a inhibidores microbianos (VENEGAS et al., 2019).

Las especies de *Trichoderma* spp. actúan mediante: (1) colonizando el suelo y/o partes de la planta, ocupando un espacio físico y evitando la multiplicación de los patógenos; (2) produciendo enzimas degradantes de la pared celular contra los patógenos; (3) produciendo antibióticos que pueden matar a los patógenos; (4) promoviendo el desarrollo de la planta e (5) induciendo los mecanismos defensivos de la planta (Figura 3) (SINGH et al., 2014).

**Figura 3 - Actividades multifacéticas de *Trichoderma* spp.**



Fuente: SINGH et al., 2014.

### 2.1.1 Capacidad Antagonista

Según Fernandez & Vega, 2001 citado por ZUBIETA et al, 2019, los hongos antagonistas tienen el mecanismo de acción para controlar el desarrollo del patógeno, “algunos de estos son antibiosis, competencia por espacio o por nutrientes, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) e inducción de resistencia”.

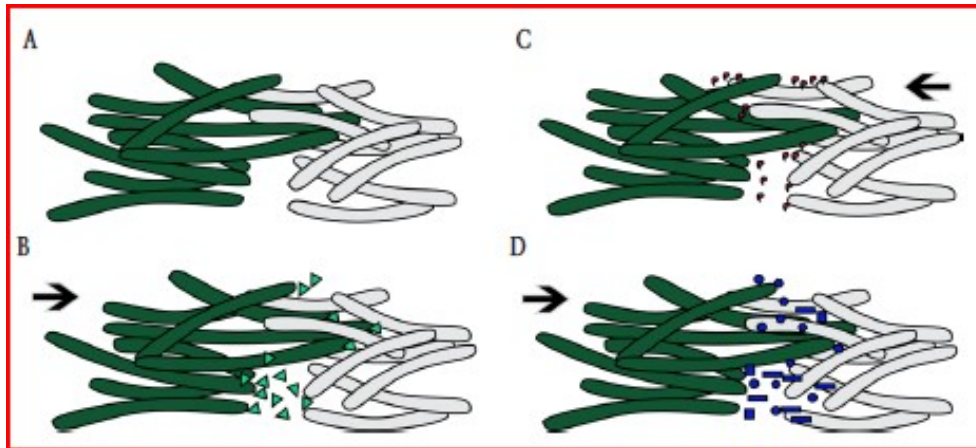
El éxito en el control del patógeno dependerá de la eficacia de cada uno de los mecanismos de acción o de la combinación entre ellos y pueden ser directos e

indirectos (GONZALEZ et al., 2019). En esta capacidad inhibidora de *Trichoderma* spp. las enzimas degradadoras de la pared celular actúan en combinación con metabolitos secundarios (MS). El término “metabolito secundario” se refiere a compuestos químicamente diversos que están relacionados en las vías de señalización, desarrollo e interacción con otros organismos. *Trichoderma* spp. muestran actividad antimicrobiana contra bacterias, levaduras y hongos filamentosos, en los que numerosos y variados MS, como peptaiboles, gliotoxina, gliovirina, policétidos, pironas y terpenos pueden estar implicados (RAMADA et al., 2019; HERMOSA et al., 2014).

Durante el proceso de micoparasitismo, *Trichoderma* spp. secreta enzimas que hidrolizan la pared celular de los hongos que parasita, siendo las más conocidas las proteasas, las quitinasas y las glucanasas, y provocan la retracción de la membrana plasmática y la desorganización del citoplasma. También inhibe la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo (MELCHOR et al., 2019).

La secreción de metabolitos secundarios volátiles es fundamental para el contacto inicial con la población del fitopatógeno, ya que esta respuesta es la que servirá para desencadenar el proceso de micoparasitismo. La Figura 4 representa la interacción del *Trichoderma* spp. frente a hongos fitopatógenos, donde (A) Encuentro de las hifas de los hongos, donde *Trichoderma* spp. está representado en verde y el fitopatógeno representado en gris. (B) Metabolitos producidos por *Trichoderma* spp. (triángulo verde). (C) Respuesta del fitopatógeno (rojo) debido a la acción del *Trichoderma* spp. (D) Contra respuesta del *Trichoderma* spp. Secreción de enzimas hidrolíticas (azul). La flecha indica la dirección de la respuesta del *Trichoderma* spp. (RAMADA et al., 2019).

**Figura 4** – Interacción *Trichoderma* spp. y hongos fitopatógenos.



Fuente: RAMADA et al., 2019

### 2.1.2 Factor de crecimiento

Está bien establecido que los microbios que se encuentran estrechamente asociados con las raíces de las plantas pueden influir directamente en su crecimiento y desarrollo, y esta capacidad se ha descrito en el caso de las especies de *Trichoderma* spp. durante muchos años (STEWART et al., 2014).

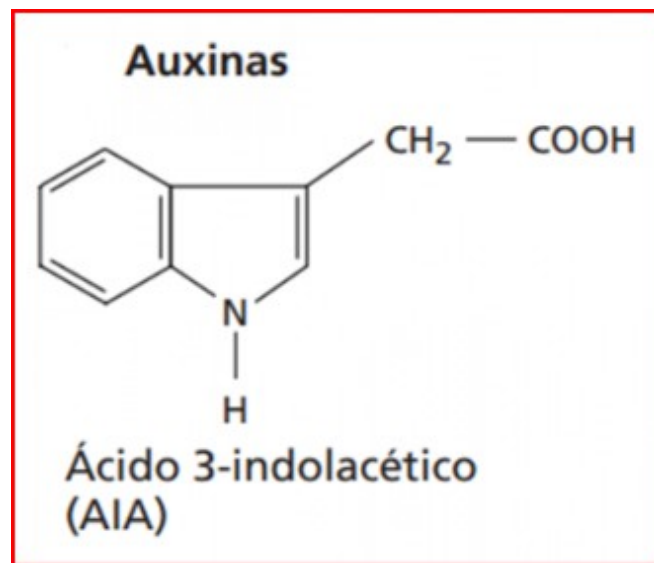
Algunas especies de *Trichoderma* spp. son capaces de aumentar la biomasa de plantas promoviendo el crecimiento lateral de las raíces a través de mecanismos dependientes de auxina y/o son capaces de producir ácido indolacético o análogos de auxina (RAMADA et al., 2019).

La auxina (Figura 5) es la hormona vegetal, de bajo peso molecular, más importante fisiológicamente, pues este desempeña un papel vital en el crecimiento y desarrollo de las plantas (CASSEL et al., 2021).

Varia especies de *Trichoderma* spp. se consideran simbióticas, ya que ayudan en el biocontrol de patógenos de la raíz, promueven el crecimiento y el desarrollo e inducen respuestas de defensa de la planta por varios mecanismos. Se han descrito cuatro niveles de interacción en el proceso de fitoestimulación provocado por *Trichoderma* spp.: (1) comunicación basada en la liberación de compuestos orgánicos volátiles (COV),

(2) producción de auxina y precursores de auxina que son detectados por las plantas para modular la arquitectura de la raíz, (3) activación de respuestas locales y sistémicas a través del contacto físico entre las hifas y la epidermis de la raíz o mediante la liberación de elicitores, y (4) proliferación del micelio en partes internas de la planta (CORNEJO et al., 2014).

**Figura 5 – Estructura química de la Auxina.**



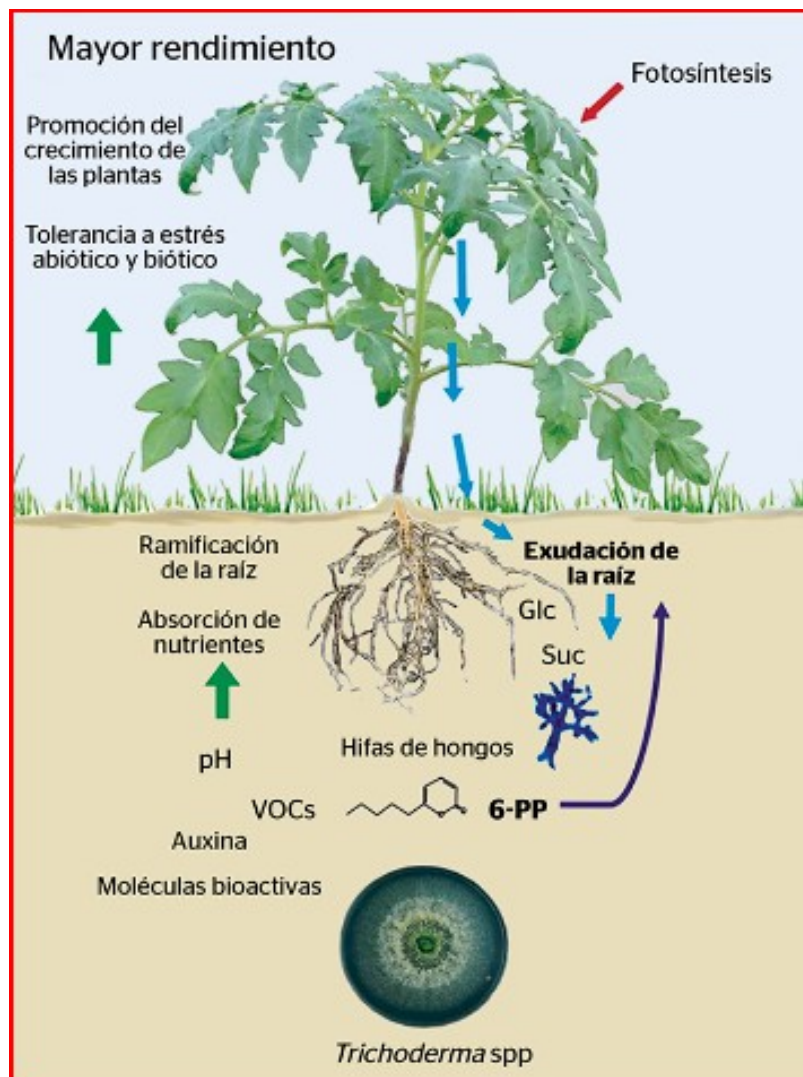
Fuente: EQUIPE MAIS SOJA, 2022.

La Figura 6 representan los cambios provocados en la rizósfera cuando en esta se encuentra presente el hongo *Trichoderma* spp, los cuales promueven el crecimiento y defensa de las plantas.

El primer cambio manifiesto cambio manifiesto en la rizósfera como consecuencia de *Trichoderma* spp. es la acidificación del pH. Esto puede explicar su alto rendimiento en la solubilización de fosfatos poco solubles, lo que representa una mejor nutrición de la planta. A medida que el hongo crece, se cree que los compuestos volátiles sensibilizan a las raíces y permiten el reconocimiento a larga distancia entre raíz y hongo. La 6-pentyl.2H-pyran-2-ona (6-PP) es el principal compuesto volátil de las mezclas de *T. atroviride* que desencadena la ramificación de las raíces en arabidopsis a través de

cambios en el transporte y la respuesta de la auxina y el etileno, respectivamente (REYNOSO et al., 2022).

**Figura 6** – Inducción de crecimiento del hongo *Trichoderma* spp. en plantas.



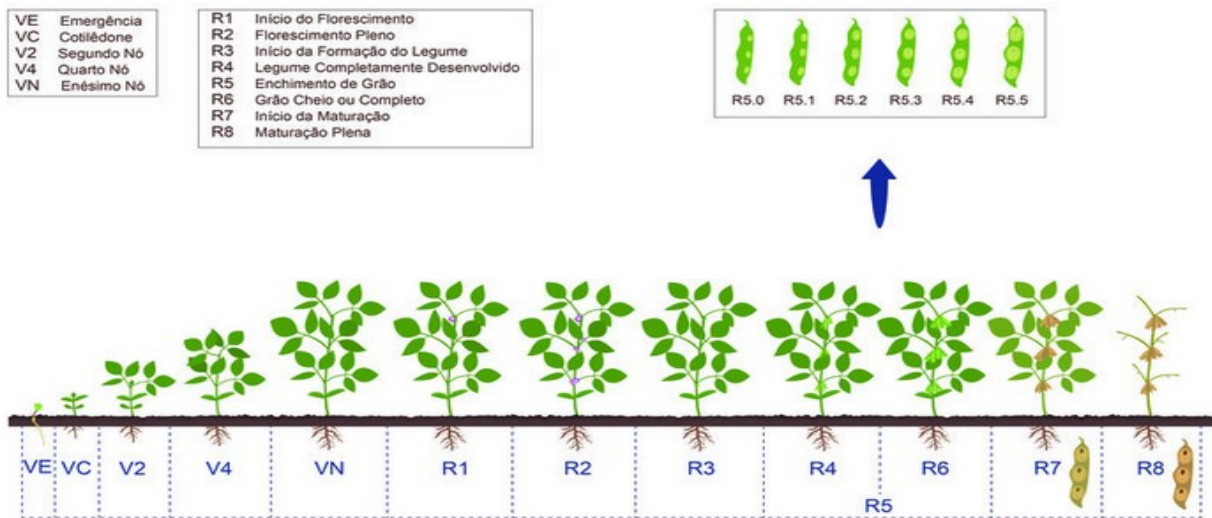
Fuente: REYNOSO et al., 2022.

## 2.2 SOJA

La soja (*Glycine max* (L) Merrill), cultivada en Brasil, para la producción de granos, es una planta herbácea, de la clase Rosidaeae, orden Fabales, familia Fabaceae, subfamilia Papilionoideae, tribu Phaseoleae, genero *Glycine* L., especie *max*. (NEPOMUCENO et al., 2021).

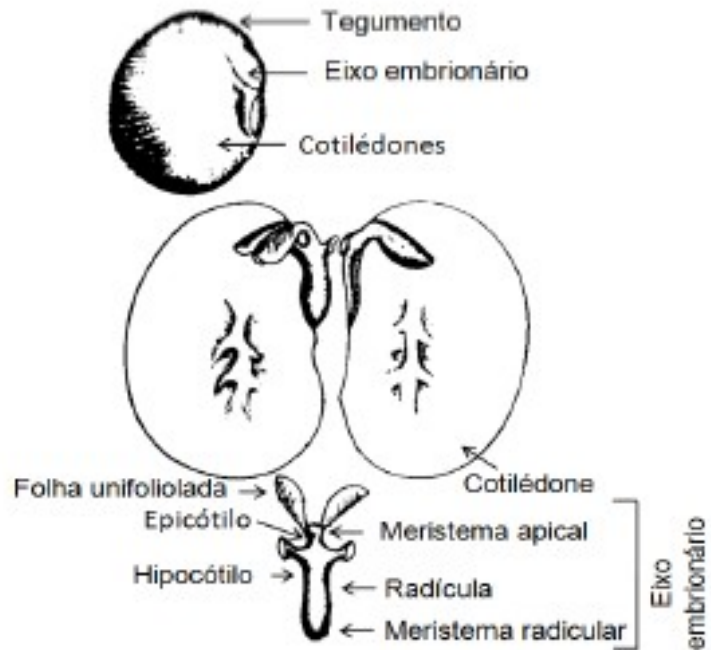
El desenvolvimiento de las plantas de soja es dividido en fase vegetativa (V) y reproductiva (R) (Figura 7). Los estadios vegetativos inician con la emergencia de las plántulas y van hasta el inicio del florecimiento. Los estadios reproductivos que inician en el florecimiento incluyen la formación de la vaina, el llenado del grano y la madurez de la planta. La semilla (Figura 8) está compuesta por tres partes principales: tegumento, cotiledones y el eje embrionario. La semilla de soja necesita absorber agua en el volumen correspondiente al 50% de su peso para iniciar la germinación. La emergencia ocurre entre 7 a 10 días después de la siembra, dependiendo del vigor de la semilla, profundidad que fue sembrada, humedad, textura y temperatura del suelo (Figura 9) (THOMAS, 2018).

**Figura 7-** Estadio fenológico de la soja.



Fuente: ELEVAGRO

**Figura 8 - Semilla de soja.**



Fuente: THOMAS, 2018

**Figura 9 - Germinación de soja hasta el estadio vegetativo emergente.**



Fuente: THOMAS, 2018

La soja posee una gran variabilidad genética, tanto en el ciclo vegetativo como en el reproductivo, siendo influenciado por el ambiente. Hay una gran diversidad de

ciclo, de manera general, los cultivos disponibles en el mercado brasileiro tienen ciclos entre 100 a 160 días, y pueden ser clasificados en grupos de maduración, precoz, semiprecoz, medio, semi tardío y tardío, dependiendo de la región. Durante todo el ciclo de la planta son distinguidos cuatro tipos de hojas: cotiledonales, hojas primarias o simples, hojas trifoliadas o compuestas y prófilos simples. Su color, en la mayoría, es verde pálido y en otras verde oscuro. El tallo es híspido (cubierto de pelos ásperos y rígidos), su tamaño varía entre los 80 y 150 cm, dependiendo de la variedad y del tiempo de exposición a la luz. La soja es esencialmente una especie autógama, es decir, una planta polinizada por ella misma y no por otras plantas. El sistema radicular está constituido por un eje principal y gran número de raíces secundarias, siendo clasificado como un sistema difuso. Puede llegar a una longitud de 180 cm, la mayor parte de ellas se encuentran a 15 cm de profundidad. La vaina de la soja es levemente arqueada, mide entre 2 a 7 cm, donde aloja desde 1 a 5 semillas. (NUNES, 2022).

La clasificación y padronización del tamaño de las semillas de soja es importante, ya que semillas con diferentes tamaños producen pesos y áreas cubiertas diferentes, comprometiendo la calidad del tamaño de las semillas en la producción. Efectos directos por patógenos en semillas pueden resultar en reducción de vigor, VE, periodo de almacenamiento y rendimiento (BARBOSA, 2021).

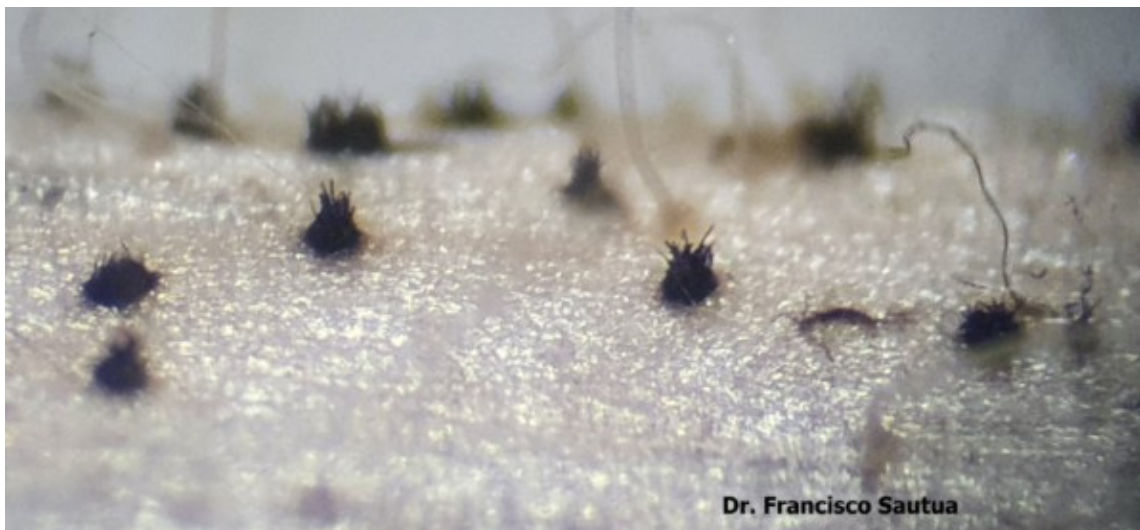
Así también, las enfermedades son uno de los principales factores que impiden que el cultivo de la soja alcance su potencial de producción, pudiendo afectar a los cultivos desde la germinación hasta el final del llenado del grano. Las enfermedades pueden estar causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos. Su importancia económica varía de un cultivo a otro y de una región a otra, dependiendo de las condiciones climáticas de cada cultivo. Las pérdidas anuales se estiman entre el 15 y el 20%. Algunas enfermedades, sin embargo, pueden causar pérdidas de hasta el 100%

(AZEVEDO, 2022)

### 2.3 *Colletotrichum* spp.

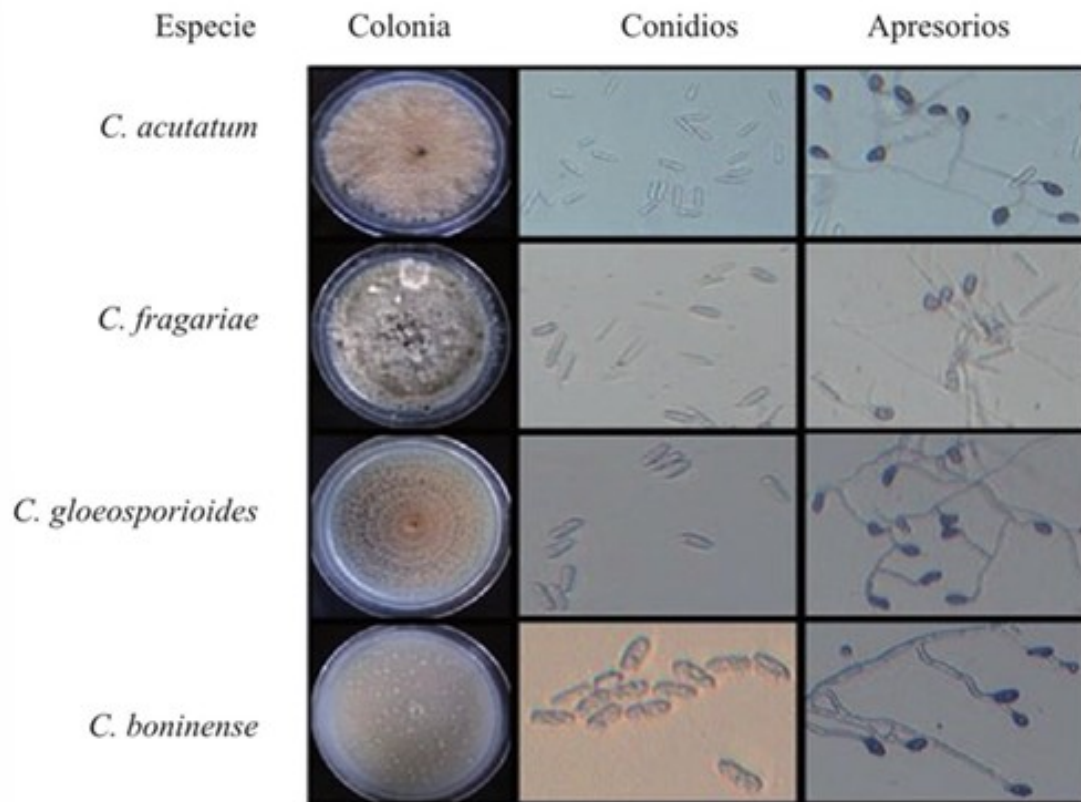
El género *Colletotrichum* fue establecido por Corda, en 1831, siendo caracterizado por fructificaciones cetosas, denominadas acérvulas (Figura 10), en las cuales conidios hialinos son producidos en masa anaranjada o crema (Figura 11). En las especies de *Colletotrichum* son encontradas formas saprofitas y patógenas, siendo estas últimas responsables por enfermedades económicamente importantes, comúnmente denominadas de antracnosis, que ocurre en extrema gama de huéspedes. Las plantas están sujetas a esta enfermedad en todas las fases de desenvolvimiento, y el patógeno puede ser diseminado de la planta para otra por varios agentes del ambiente aéreo (MENEZES, 2006).

**Figura 10** – Acérvulas de *Colletotrichum* spp. sobre el tallo de soja.



Fuente: HERBARIO VIRTUAL FITOPATOLOGÍA, 2022

**Figura 11** - Características macroscópicas y microscópicas de *Colletotrichum* spp.



Fuente: SILVA et al., 2018

La antracnosis es una enfermedad causada por las especies *Colletotrichum truncatum* y *Colletotrichum* spp (teleomorfo *Glomerella* spp). Los síntomas se pueden observar principalmente en las hojas de mudas, en brotes pos-cosecha en plantas adultas, tallos, vainas y semillas. En plántulas y mudas la enfermedad se caracteriza por la presencia de manchas necróticas oscuras e irregulares pudiendo causar la muerte del ápice de las plantas; cuando la lesión afecta tejidos aún nuevos de las hojas, local donde generalmente ocurre la infección, el ataque causa la deformación de estas. Las semillas infectadas pueden ocasionar plántulas enfermas. Los síntomas son muy comunes en tallos y vainas. En hojas, son menos frecuentes y se observan como necrosis en las nervaduras (HERBARIO VIRTUAL, 2022; JUNIOR et al., 2021). Los

síntomas de antracnosis pueden ser observados en la Figura 12 (derecha semilla e izquierda vaina) representando el inicio y término del estadio fenológico de la soja.

**Figura 12** – Síntomas de antracnosis por *Colletotrichum* spp. en semilla y vaina de soja.



Fuente: HERBARIO VIRTUAL FITOPATOLOGÍA, 2022; DRODOWSKI, 2020.

La antracnosis puede provocar pérdidas de rendimiento variable, pudiendo llegar hasta el 100%, siendo estas estimadas en 90 kg.ha<sup>-1</sup> a cada incremento de 1% de incidencia (DIGIFARMZ SMART AGRICULTURE, 2021).

#### 2.4 *Sclerotinia* spp.

El hongo del género *Sclerotinia* pertenece al filo Ascomycota, clase Leotiomycetes, orden Helotiales y familia Sclerotiniaceae (TAXONOMY BROWSER, 2022).

*S. sclerotiorum* es un hongo polífago con un amplio rango de hospedantes y amplia difusión mundial, siendo el agente causal de podredumbres en diversos cultivos de importancia económica. Está distribuido por todo el planeta y afecta de forma significativa a una amplia gama de plantas (alrededor de 400 especies), entre ellas se

encuentra la soja. Es capaz de generar esclerodios melanizados (grupos de hifas) que contribuyen a su resistencia a la degradación física, química y biológica, y que permiten su supervivencia a largo plazo en estado latente en el suelo o sobre residuos vegetales (hasta nueve o diez años) (HERBARIO VIRTUAL FITOPATOLOGÍA, 2022; TRAMONTANA, 2021).

El moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) está entre las enfermedades que presentan un importante factor de restricción a la producción, este hongo produce esclerodios (Figura 13) que proporcionan mayor resistencia, sobreviviendo en el suelo con mayor facilidad durante años (SOUSA, 2018).

**Figura 13** – Apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* germinados a partir de un esclerodio.



Fuente: MADALOSSO, 2022.

Normalmente, la formación de los esclerodios requiere tres etapas: (I) Iniciación, en la que las hifas comienzan a agregarse; (II) Desarrollo, en el que se produce el crecimiento y aumento de tamaño de las hifas; y (III) Maduración, que implica la melanización y la consolidación de la matriz interna. Estas tres etapas van acompañadas

de una diferenciación morfológica y bioquímica (TRAMONTANA, 2021).

Los primeros síntomas son manchas acuosas, que adquieren un color marrón claro y desarrollan una abundante formación de micelio blanco y denso, como se observa en la figura 14. El hongo es capaz de infectar cualquier parte de la planta, sin embargo, las infecciones suele comenzar en las flores, en las axilas de las hojas y en las ramas laterales (AZEVEDO, 2022). La figura 15 representa el ciclo de vida del hongo *Sclerotinia sclerotiorum* en la planta de soja.

**Figura 14** – Micelio de *Sclerotinia sclerotiorum* presente en soja.

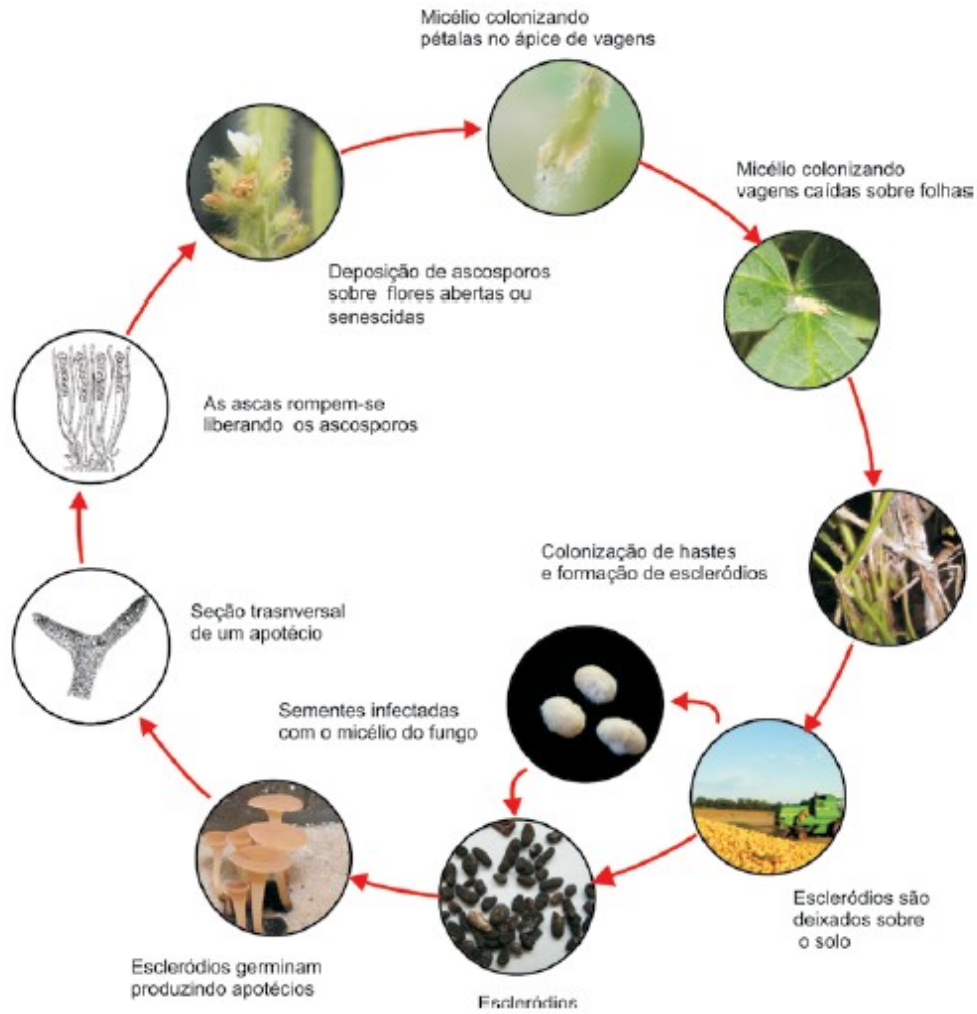


Fuente: ORTIZ, 2022.

Infecta la parte aérea de las plantas, causando muerte y reducciones medias de productividad variando de 2% a 30%, pudiendo llegar a 70% en situaciones de falla del control. La eficiencia del control químico de moho blanco en soja, viene siendo evaluada desde 2009, en los resultados de estos ensayos, para cada punto porcentual de aumento de la incidencia de moho blanco ocurre una reducción media en la productividad de soja de 17,2 kg/ha, y un incremento en la producción de esclerodios de 100g/ha

(MEYER et al., 2021).

**Figura 15** – Ciclo de vida del moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) en soja.



Fuente: RELS, 2011.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

El siguiente trabajo tiene el objetivo de evaluar las capacidades antagonistas del hongo *Trichoderma* spp. frente a dos hongos fitopatógenos de gran importancia, así como, analizar la capacidad simbiótica de promoción de crecimiento vegetal del hongo en la planta de soja.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Realizar una bioprospección para obtener aislados de *Trichoderma* spp. en cultivo de soja y maíz en la localidad de Foz do Iguaçu.
- ii. Determinar la capacidad antifúngica (antagonista) de los aislados *Trichoderma* spp. por medio de confrontación directa frente a los hongos patogénicos *Colletotrichum* spp. y *Sclerotinia* spp.
- iii. Determinar factor de crecimiento de los aislados *Trichoderma* spp. en cultivos de soja, por medio de comparación en relación al tamaño y peso.
- iv. Comprobar que los aislados de *Trichoderma* spp. se unieron a las semillas de sojas cultivadas.

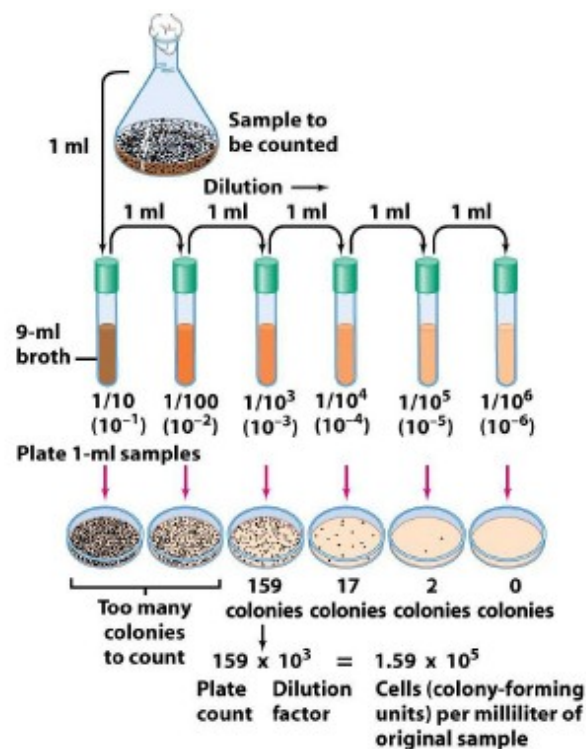
## 4 MATERIALES Y MÉTODOS

Los hongos fitopatógenos *Colletotrichum* spp. y *Sclerotinia* spp. utilizados en este trabajo provienen de la colección personal del Dr. Berghem Morais Riveiro, los cuales fueron aislados de cultivo de soja.

### 4.1 BIOPROSPECCIÓN

Fueron colectadas cuatro muestras de suelo agrícola correspondiendo a cultivo de soja. La toma de muestras se realizaron a una profundidad de 10 cm del suelo en la localidad de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil (coordenadas -25.468687, -54.562040). Para cada muestra, fueron diluidos 10 g de suelo agrícola en 100 mL de solución agua destilada y Tritón (0,1%). Posteriormente, fue realizada solución seriada como se muestra en la Figura 16, hasta la disolución  $10^{-4}$  (FILHO, 2019)

**Figura 16** - Esquema diluciones seriadas de muestras de suelo.



Fuente: COVACEVICH et al., 2014

Se realizaron 10 cultivos para cada muestra en placa Petri con medio de cultivo Agar Batata Dextrosado (BDA) y ácido láctico (5%). Para ello, se colocó 1 mL de la disolución  $10^{-4}$  en la placa y distribuidos por completo en esta con ayuda de un bastón de siembra Drigalski. Las placas fueron colocadas en estufa a 28°C, ambiente oscuro, por siete días.

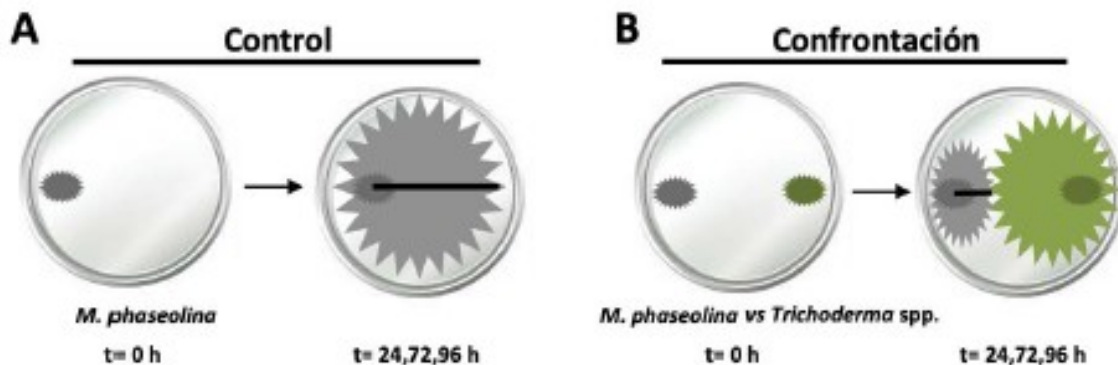
Las colonias de hongos con un micelio similar (forma y coloración) al de *Trichoderma* spp fueron aisladas en placas Petri con medio BDA y ácido láctico (5%) y colocadas en estufa a 28°C, ambiente oscuro, por siete días.

Se realizó un análisis morfológico de cada posible aislado. Colocando una muestra del micelio en una lámina de vidrio y observando en microscopio, buscando la morfología de los conidióforos característicos de este género, según Figura 1. Una vez encontrados los aislados de *Trichoderma* spp. fueron cultivados en placas Petri con medio BDA y láctico (5%) y colocadas en estufa a 28°C, ambiente oscuro, por siete días (FILHO, 2019).

#### 4.2 CONFRONTACIÓN DIRECTA

Para analizar la capacidad antagónica de los aislados de *Trichoderma* spp. fue utilizado el método de confrontación directa (Figura 17).

**Figura 17** – Ejemplo de método de confrontación directa.

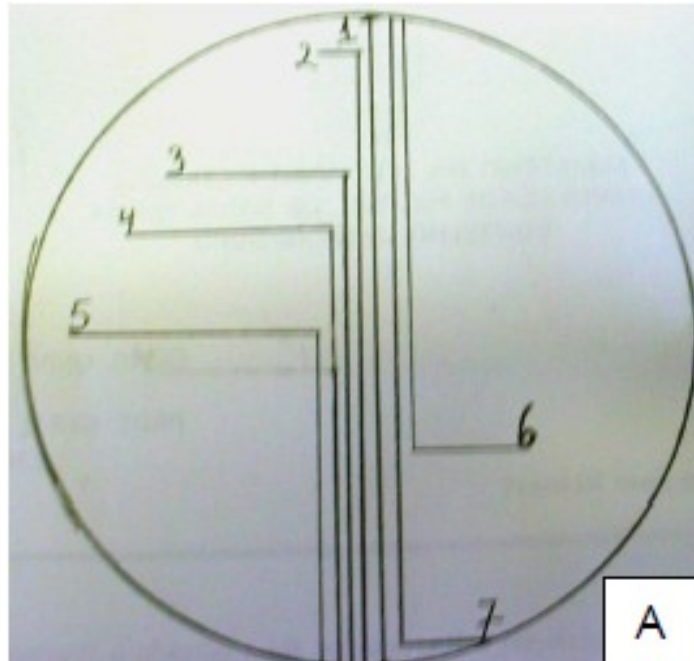


Fuente: RÍOS et al., 2019

Inicialmente los hongos fitopatógenos *Colletotrichum* spp. y *Sclerotinia* spp. fueron cultivados en medio BDA y ácido láctico (5%), después de siete discos de micelio de 0,8 cm fueron colocados a 1,0 cm del borde de placas Petri de 8 cm (*Colletotrichum* spp.) y 7 cm (*Sclerotinia* spp.), las cuales contenían medio de cultivo BDA y ácido láctico al 5%. Fueron realizados cuatro tratamientos: aislado *Trichoderma* spp. AT6 – *Colletotrichum* spp., aislado *Trichoderma* spp. BT5 – *Colletotrichum* spp., aislado *Trichoderma* spp. AT6 – *Sclerotinia* spp. y aislado *Trichoderma* spp. BT5 - *Sclerotinia* spp. Siendo para cada tratamiento un control de crecimiento fitopatógeno y nueve repeticiones antagonista - fitopatógeno. Los tratamientos fueron cultivados en estufa, ambiente oscuro, 28°C por 7 días (DA SILVA et al, 2018; SOUSA, 2018; VELÁZQUEZ, 2020).

Posteriormente fue realizada una evaluación utilizando la escala de Bell y modelo de notas propuesta por RODRIGUEZ et al., 2010 (Figura 18). Donde, 1 – Antagonista crece por toda la placa de Petri y sobre el disco del patógeno; 2 – Antagonista crece por toda la placa Petri, pero no se sobrepone sobre el disco del patógeno; 3 – Antagonista crece sobre 3/4 de la placa; 4 – Antagonista crece sobre 2/3 de la placa; 5 - Antagonista y patógeno crecen hasta la mitad de la placa; 6 – Patógeno crece sobre 2/3 de la placa; 7 – Patógeno crece por toda la placa Petri. En un porcentaje de inhibición del crecimiento en relación a la nota, siendo 1 – 100%, 2 – 90%, 3 – 75%, 4 – 66%, 5 – 50%, 6 25% – y 7 – 0% (RODRIGUEZ, 2010).

**Figura 18** - Diseño escala de Bell modificada.



Fuente: RODRIGUES, 2010

#### 4.3 CULTIVO DE SOJA

Para analizar el factor de crecimiento vegetal de los aislados de *Trichoderma* spp. en *Glycine max.* (soja) se realizaron cuatro tratamientos: semillas sin inóculo, semillas inoculadas con *Trichoderma* spp. AT6, semillas con inóculo *Trichoderma* spp. BT5 y semillas con inóculo *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5. Siendo realizadas 10 repeticiones de cada uno.

Para obtener los esporos, fue retirado el micelio de las placas de Petri anteriormente cultivadas de los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5, utilizando 10 mL de agua destilada autoclavada en la placa Petri y posteriormente transferido el micelio lavado en un 50 mL. Fue utilizada la concentración del hongo en semillas de soja de 100mL (*Trichoderma* spp.) para 50Kg (semillas de soja). Las semillas fueron colocadas en bolsas de plástico autoclavadas, fue añadida la concentración de aislados correspondiente y mezclados de manera homogénea. Como medio de cultivo fueron utilizados vasos desechables de 200 mL y sustrato autoclavado. Las semillas fueron colocadas a una profundidad de 2cm. Fueron cultivadas por un periodo de 12 días,

en ambiente libre. La cantidad de agua para el riego fue calculada en base a la diferencia de peso inicial y peso día. Se realizaron medidas en relación al peso húmedo, tamaño raíz, tamaño zona aérea de cada cultivo (BONONI, 2020; FILHO, 2019).

#### 4.3.1 Test de Colonización Radicular de los aislados de *Trichoderma* spp.

Para confirmar la presencia de los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 en los cultivos de soja, fue obtenida una muestra de raíz de 3 cm por cada cultivo e inoculadas en placas Petri con medio de cultivo BDA y ácido láctico al 5%, colocadas en estufa a 28°C por siete días en ambiente oscuro. Los cortes de las raíces fueron realizadas desde la zona más extrema en dirección al suelo. Posteriormente se realizaron análisis morfológicos por microscopio de los hongos que crecieron en los cultivos, colocando una muestra del micelio en una lámina de vidrio (BONONI, 2020).

#### 4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Fueron realizados análisis estadístico evaluando la capacidad antagónica mediante notas Bell y factor de crecimiento mediante peso, longitud raíz y longitud parte aérea. Test anova y test de comparación de tratamiento Scott-knott, al nivel de significancia de 5%, utilizando el software SISVAR (ALVES, 2018; DA SILVA et al., 2018).

#### 4.5 CONSERVACIÓN DE ANTAGONISTAS Y FITOPATÓGENOS

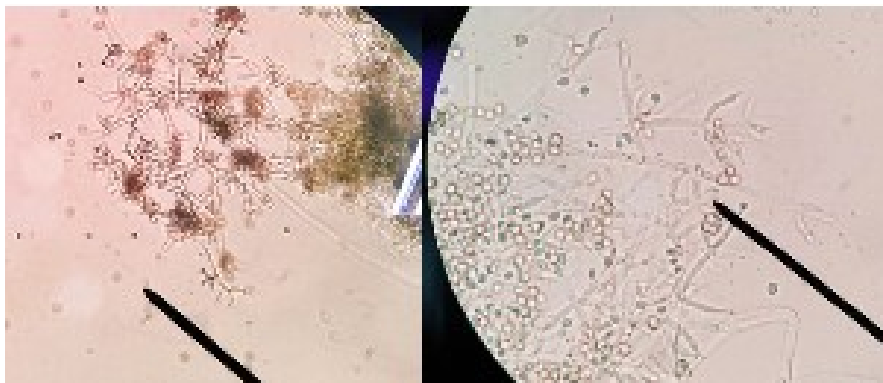
Los hongos antagonistas y fisiopatológicos fueron conservados en aceite mineral descrito según DIAZ, 2006 y conservados a 5°C (DIAZ, 2006).

## 5 RESULTADO

### 5.1 BIOPROSPECCIÓN

De la disolución seriada realizada a las muestras de suelo agrícola correspondiente al cultivo de soja, fueron aislados siete posibles *Trichoderma* spp., nombrados T1, T2, T3, T4, T5, T6 y T7. Siendo cultivado por triplicado (A, B y C) y analizada su morfología en microscopio. En la Fotografía 1, son observadas la morfología de los conidioforos de *Trichoderma* spp. De ellos, solo T5 y T6 fueron confirmados como hongos *Trichoderma* spp., siendo utilizadas las triplicatas A y B, obteniendo los aislados de *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5.

**Fotografía 1:** Aislados de *Trichoderma* spp. AT5 (derecha) y *Trichoderma* spp. AT6 (izquierda).



Fuente: Creación propia.

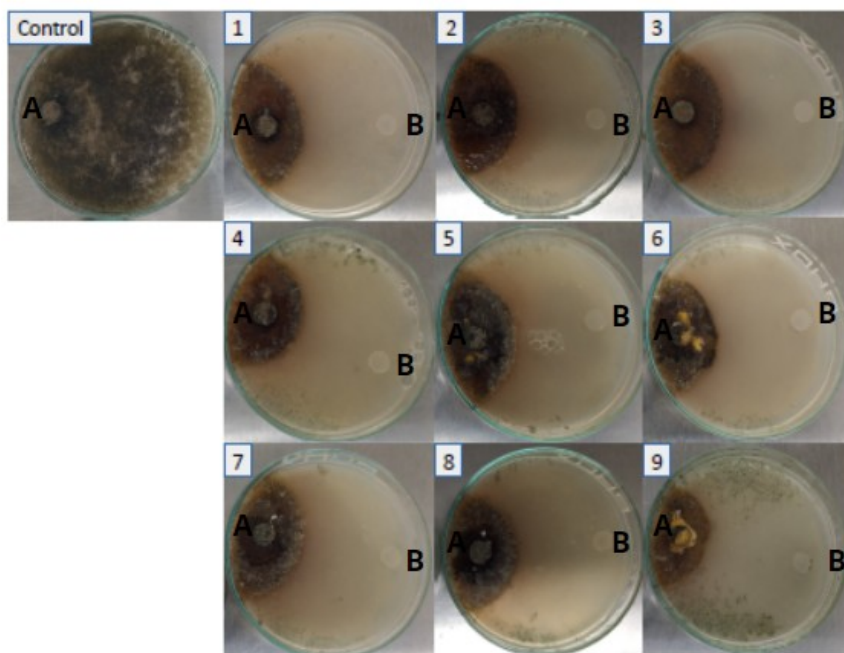
### 5.2 CONFRONTACIÓN DIRECTA

Los resultados correspondientes a la confrontación directa mostró que los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 inhibieron el crecimiento del micelio de los fitopatógenos *Colletotrichum* spp. y *Sclerotinia* spp.

La inhibición por parte de los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 frente al fitopatógeno *Colletotrichum* spp. son observados en Fotografía 2 y Fotografía 3. La tabla 1 corresponde al análisis estadísticos de la confrontación directa de los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 frente al fitopatógeno *Colletotrichum* spp., se observa la media de la nota Bell y el porcentaje (%) de inhibición. En esta se demuestra que el aislado *Trichoderma* spp. AT6 inhibió el crecimiento de *Colletotrichum* spp. en un 75%. Mientras que el aislado *Trichoderma* spp. BT5 inhibió el crecimiento en un 76,6%. A la vez el resultado reflejó que no existe variación estadística entre ambos aislados de *Trichoderma* spp. como antagonistas de *Colletotrichum* spp en la inhibición de crecimiento.

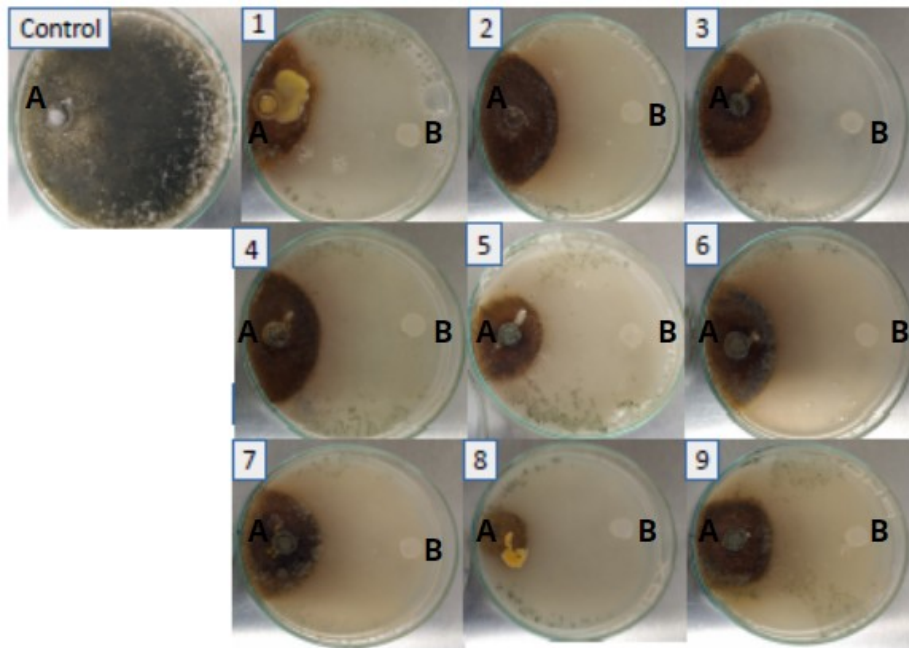
**Fotografía 2** – Confrontación directa aislado *Trichoderma* spp. AT6 – *Colletotrichum* spp. (Control) Crecimiento micelio de *Colletotrichum* spp. en medio de cultivo BDA después de siete días. (1-9) Confrontación directa entre (A) *Colletotrichum* spp. (B) *Trichoderma* spp.

AT6 en medio de cultivo BDA después de siete días.



Fuente: Creación propia.

**Fotografía 3** – Confrontación directa aislado *Trichoderma* spp. BT5 – *Colletotrichum* spp. (Control) Crecimiento micelio de *Colletotrichum* spp. en medio de cultivo BDA después de siete días. (1-9) Confrontación directa entre (A) *Colletotrichum* spp. (B) *Trichoderma* spp. BT5 en medio de cultivo BDA después de siete días.



Fuente: Creación propia.

**Tabla 1** – Resultado análisis estadístico del test de inhibición de crecimiento para el fitopatógeno *Colletotrichum* spp. En donde a1 y a2 existe variación estadística.

Tratamiento	Nota Bell	% Inhibición
control	7,0 a2	0,0 a1
AT6	3,0 a1	75,0 a2
BT5	2,8 a1	76,6 a2

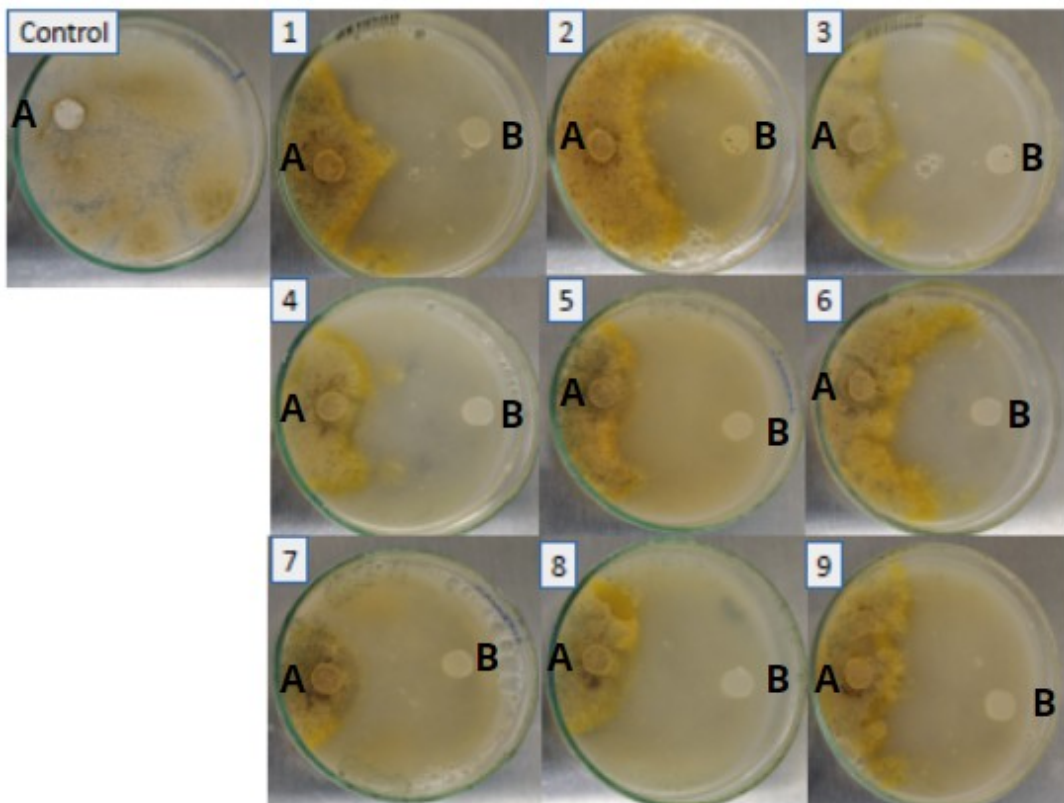
Fuente: Creación propia.

La Fotografía 4 y Fotografía 5 muestra la inhibición por parte de los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 frente al fitopatógeno *Sclerotinia*

spp. La tabla 2 corresponde al análisis estadísticos de la confrontación directa de los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 frente al fitopatógeno *Sclerotinia* spp., se observa la media de la nota Bell y el porcentaje (%) de inhibición. Por la cual se demuestra que el aislado *Trichoderma* spp. AT6 inhibió el crecimiento de *Sclerotinia* spp. en un 81,3%. Mientras que el aislado *Trichoderma* spp. BT5 inhibió el crecimiento en un 70,2%. El resultado también reflejó que existe variación estadística entre ambos aislados de *Trichoderma* spp. como antagonistas de *Sclerotinia* spp en la inhibición de crecimiento.

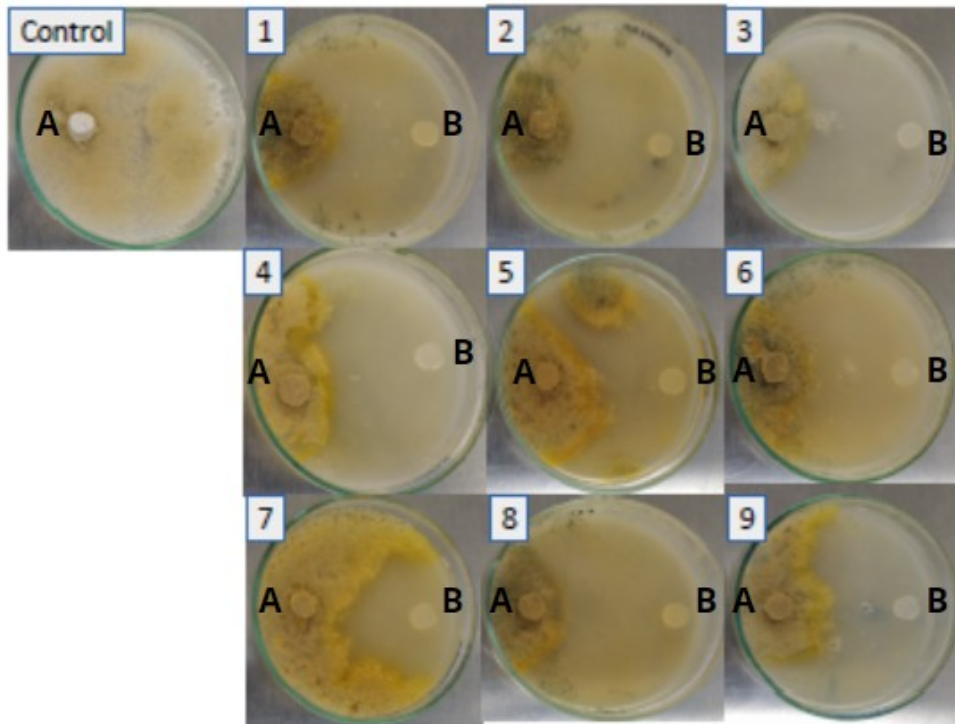
**Fotografía 4 – Confrontación directa aislado *Trichoderma* spp. AT6 – *Sclerotinia* spp.**

(Control) Crecimiento micelio de *Sclerotinia* spp. en medio de cultivo BDA después de siete días. (1-9) Confrontación directa entre (A) *Sclerotinia* spp. (B) *Trichoderma* spp. AT6 en medio de cultivo BDA después de siete días.



Fuente: Creación propia.

**Fotografía 5** – Confrontación directa aislado *Trichoderma* spp. BT5 – *Sclerotinia* spp. (Control) Crecimiento micelio de *Sclerotinia* spp. en medio de cultivo BDA después de siete días. (1-9) Confrontación directa entre (A) *Sclerotinia* spp. (B) *Trichoderma* spp. BT5 en medio de cultivo BDA después de siete días.



Fuente: Creación propia.

**Tabla 2** – Resultado análisis estadístico del test de inhibición de crecimiento para el fitopatógeno *Sclerotinia* spp. En donde a1, a2 y a3 son variaciones estadísticas.

Tratamiento	Nota Bell	% Inhibición
control	7,0 a3	0,0 a1
AT6	2,6 a1	81,3 a3
BT5	3,4 a2	70,2 a2

Fuente: Creación propia.

Si bien ambos aislados presentaron una característica antagonista, los resultados estadísticos revelaron una variación en relación al fitopatógeno *Sclerotinia*

spp., donde el aislado de *Trichoderma* spp AT6 presenta una capacidad mayormente favorable para un posible producto biotecnológico para el control de este fitopatógeno.

En relación al fitopatógeno *Colletotrichum* spp, no hubo variación entre aislados, ambos presentan capacidad inhibidora de crecimiento del micelio en relación a la variable presentada entre aislados y control.

### 5.3 CULTIVO DE SOJA

Fueron utilizadas las semillas de soja 6410 IPRO para el cultivo y evaluación de la capacidad de factor de crecimiento de *Trichoderma* spp., estas presentaron una germinación total, lo que permitió el análisis de las cuarenta plantas (total del experimento) para los cuatro tratamiento. La toma de medidas, tanto para el peso, altura de la planta y largura de la raíz fue realizada en el día doce después de su cultivo. Todas las plantas presentaron un estadio fenológico vegetativo cotiledonal (VC). Los cotiledones están totalmente desarrollados y completamente abiertos, curvados hacia abajo y los bordes de las hojas unifoliadas ya no se tocan (FERNANDES, 2022). El análisis estadístico (Tabla 3) no presentó una media variable para ninguno de los factores cuantitativos evaluados, es decir, peso, longitud de raíz y longitud parte aérea no fueron variables estadísticamente.

**Tabla 3** - Media peso, longitud raíz y longitud parte aérea del cultivo de soja después de 12 días de la siembra.

Tratamiento	Peso (g)	Longitud raíz (cm)	Longitud parte aérea (cm)
Control	1,11 a1	22,27 a1	12,00 a1
AT6	1,00 a1	22,13 a1	12,17 a1
BT5	1,01 a1	20,10 a1	9,62 a1
AT6-BT5	1,10 a1	20,45 a1	11,38 a1

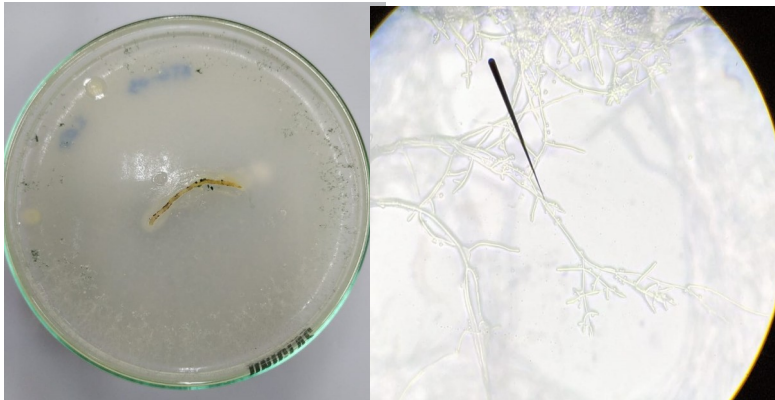
Fuente: Creación propia.

### 5.3.1 Test de Colonización Radicular

Los resultados obtenidos del test de colonización radicular, se comprobó la presencia de *Trichoderma* spp. en diez de los los cuarenta cultivos realizados. Estos fueron comprobados mediante análisis morfológico en microscopio.

De los cuales, para el tratamiento *Trichoderma* spp. AT6 fueron cuatro, *Trichoderma* spp. BT5 uno y *Trichoderma* spp.AT6-*Trichoderma* spp.BT5 cinco. En donde las placas con el medio de cultivo BDA fue colonizada completamente, como se muestra en la Fotografía 6 correspondiente a *Trichoderma* spp. AT6-03.

**Fotografía 6** - Test de colonización radicular *Trichoderma* spp. AT6-03.



Fuente: Creación propia.

## 6 DISCUSIONES

El presente trabajo presenta modificaciones en la metodología, presentando de esta manera nuevos resultados que sirven de comparativa para futuros trabajos. Entre ellos, la evaluación de géneros y no especies de hongos. Esto tanto para los aislados de *Trichoderma* spp., *Sclerotinia* spp. y *Colletotrichum* spp. Cabe destacar que todos ellos fueron aislados de cultivo de soja difiriendo entre sí la localidad.

Por otro lado, las condiciones ambientales para el cultivo de hongos difiere en las condiciones presentadas por DA SILVA et al., 2018, donde el cultivo fue realizado en B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) y a una temperatura que varió entre 20°C a 25°C según las especies de *Sclerotinia* spp. Bajo las mismas condiciones ambientales (temperatura de 25°C e incubación en B.O.D.), el trabajo de SOUSA, 2018 evaluó asilados de *Trichoderma* spp. adquiridos de productos comerciales para confrontación directa del fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, siendo evaluados a los quince días después del cultivo en placas, los cuales inhibieron el crecimiento micelial *Sclerotinia sclerotiorum* entre 84,37% y 100%. Esta misma temperatura fue empleada por VELÁZQUEZ, 2020 para confrontación directa entre aislados de *Trichoderma* spp. y *Colletotrichum* spp.

Las evaluaciones de confrontación directa utilizando la escala de Bell modificada por RODRIGUES, 2010 permitió obtener el porcentaje de inhibición sin la necesidad de medir el diámetro del micelio de los hongos. Por otro lado, las confrontaciones directas realizadas a *Sclerotinia* spp. presentaron un crecimiento no uniforme, siendo este evaluado según el espacio de crecimiento en dirección al aislado de *Trichoderma* spp. y no según el espacio colonizado en la placa de Petri.

Las condiciones de ambientales, específicamente la temperatura representan un factor favorable para evaluaciones realizadas en Foz do Iguaçu. Dado que

es una región donde se presentan altas temperaturas.

El grado de supresión también está relacionado con el equilibrio entre organismos patógenos y los organismos que se alimentan de estos patógenos. Consecuentemente, un suelo que es capaz de suprimir niveles moderados de inóculo de la enfermedad puede no ser capaz de suprimir la enfermedad. Por lo tanto, pruebas para evaluación de la eficiencia de estos linajes en condiciones naturales, en diferentes épocas, son necesarias para conformar su potencial como agente de control biológico (DA SILVA, 2018). Debido a sus capacidades versátiles, las comunidades de *Trichoderma* contribuyen esencialmente a un ambiente saludable (VENEGAS et al., 2019).

En los resultados obtenidos en este trabajo para el factor de crecimiento en soja, no se obtuvieron referencias bibliográficas comparativas para las evaluaciones de crecimiento en doce días. Las evaluaciones realizadas por FILHO, 2019 presentan un aumento de la biomasa de la planta de soja a los veintiún días de cultivo.

Por otro lado, el corte realizado para la evaluación de colonización radicular fue desde la parte más alejada de la raíz principal. A su vez, los datos presentaron una baja colonización de los aislados de *Trichoderma* spp. Por otro lado, un test único realizado para el tratamiento *Trichoderma* spp. AT6-*Trichoderma* spp. BT5 presentó un crecimiento del micelio en la raíz y no en su borde (resultado de los test anteriores) cuando el corte radicular se ejecutó en dirección hacia la parte aérea de la planta. Por lo tanto, se postula una posible mayor concentración de los aislados de *Trichoderma* spp. en la región superior de la raíz y no inferior.

## 7 CONCLUSIONES

La evaluación de control directo permitió identificar a los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. BT5 como posibles agentes de biocontrol para los patógenos *Sclerotinia* spp. y *Colletotrichum* spp.

Los aislados de *Trichoderma* spp. no presentan un aumento en la masa y tamaño (parte aérea y raíz) en las plantas de soja a los doce días de cultivo.

Existe una baja tasa de colonización de los aislados de *Trichoderma* spp en la zona más lejana de la raíz en las plantas de soja.

Se propone una evaluación del factor de crecimiento por medio de los aislados *Trichoderma* spp. AT6 y *Trichoderma* spp. en plantas de soja, para ser evaluados a los veintiún días de cultivo y test de colonización radicular realizando cortes desde la raíz principal de la planta.

## 8 REFERENCIAS

ABREU, Lucas; PFENNING, Ludwing. O genero *Trichoderma*. In: MEYER, Mauricio; MAZARO, Sergio; SILVA, Juliano. **Trichoderma: uso na agricultura**. Primera Edicion. Brasilia, DF. EMBRAPA, 2019. p. 163-180.

ALVES, Gilberto. ***Trichoderma* sp. no desenvolvimento e produtividade em soja**. Universidade Federal do Pampa. Curso de graduación em Agronomía. Trabajo de Conclusión de Curso. Itaqui, RS, 2018.

ARROYO, William. **Rol de los microorganismos benéficos em la Agricultura Sustentable**. Journal of the Selva Andina Biosphere. v.8, n.2, p.67-68, 2020.

AZEVEDO, João Pedro. **Doenças da soja: conheça as principais e como controlá-las**. Disponible en: <https://rehagro.com.br/blog/principais-doencas-da-soja/#respond>. Acceso en: 25 jul. 2022.

BANCO MUNDIAL. **Agricultura y alimentos**. Disponible en: <https://www.bancomundial.org/es/topic/agriculture/overview#:~:text=La%20agricultura%20puede%20ayudar%20a,dedican%20principalmente%20a%20labores%20agrícolas>. Acceso en: 16 jul. 2022.

BARBOSA, Alexander. **Eficácia de fungicidas em tratamento de sementes no controle de *Fusarium pallidoroseum* em relação ao tamanho de sementes na cultura da soja**. Universidade Estadual Paulista. Tesis Maestría en Agronomía. 2021.

BETTIOL, Wagner; DA SILVA, Juliano; DE CASTRO, Maria. **Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil**. In: MEYER, Maurício; MAZARO, Sérgio; SILVA, Juliano. ***Trichoderma: uso na agricultura***. Editores Técnicos. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 21-43

CARRANÇA, Thais. BBC News Brasil. **Guerra na Ucrania: por que o Brasil depende tanto dos fertilizantes da Rússia?** Disponible en: <https://www.bbc.com/portuguese/brasil-60596334>. Acceso en: 25 jul. 2022.

CASSEL, Júlia; ROTHER, Gabriele; PIMENTA, Bruna; SANTOS, Daniela. Ação da auxina sobre plantas de soja. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**.

Curitiba, v. 4, n. 3, p. 4628-4643 jul/set 2021.

CORNEJO, Hexon; RODRÍGUEZ, Lourdes; BUCIO, Jesús; BUCIO, José. Enhanced Plant Immunity Using *Trichoderma*. In: GRUPTA, Vijai; SCHMOLI, Monika; HERRERA-ESTRELLA, Alfredo; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, Irina; TUOHY, Maria.

**Biotechnology and Biology of Trichoderma**. Elsevier. 2014. p. 495 – 504.

COVACEVICH, Fernanda. **Manual de protocolos: herramientas para el estudio y manipulación de Hongos Micorrícicos Arbusculares y Trichoderma**. 1a edición. Mar del Plata: Universidad Nacional de Mar del Plata, 2014.

DALACOSTA, Nean; FURLAN, Sylvania; MAZARO, Sérgio. Compatibilidade de produtos a base de *Trichoderma* com fungicidas utilizados no tratamento de sementes. In: MEYER, Maurício; MAZARO, Sérgio; SILVA, Juliano. **Trichoderma: uso na agricultura**. Editores Técnicos. Brasília, DF: Embrapa, 2019.

DA SILVA, Joao; INGLIS, Maria; MENEZES, José; MARTINS, Irene; DE MELLO, Sueli. An antagonismo de linhagens de *Trichoderma* spp. aos fitopatógenos *Sclerotinia cepivorum* Ber, *Sclerotinia rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: Boletim de pesquisa e desenvolvimento 339**. Brasília, DF, agosto, 2018.

DA SILVA, Lincon; ZACARONI, Ana; MUNIZ, Paulo; BOTELHO, Amanda; MELLO, Sueli. *Trichoderma*: SUAS INTERAÇÕES E UMA ABORDAGEM METODOLÓGICA APLICADA AO ESTUDO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS PARA O MOFO-BRANCO E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v.28, p.163-183, 2022

DÍAZ, Zurisadai. **SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE HONGOS ECTOMICORRIZÓGENOS DEL ESTADO DE HIDALGO MÁS COMPETENTES EN MEDIO DE CULTIVO SÓLIDO**. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 2006.

DIGIFARMZ SMART AGRICULTURE. **Antracnose na Cultura da Soja: Causas, Sintomas e Manejo**. Disponible en: <https://www.digifarmz.com/blog/antracnose-soja-sintomas-manejo/> Acceso en: 24 jul. 2022.

DRODOWSKI, Ruth. Identificación de las principales enfermedades en el cultivo de Soja. **Centro de Investigación Capitán Miranda**. 2020.

EQUIPE MAIS SOJA. **Auxina e seu papel no crescimento vegetal**. Disponible en: <https://maissoja.com.br/auxina-e-seu-papel-no-crescimento-vegetal/>. Acceso en: 25 jul. 2022.

FERNANDES, Carla. **Estádios fenológicos da soja: quais são e suas características**. Disponible en: <https://www.scribbr.es/citar/generador/folders/5owTNB0hGIw8MB9Lc5H84w/lists/2nKlzsus4rDXXVAX39rsdq/fuentes/4rWzPtD7Zfl51xmuPa861v/editar/>. Acceso en: 01 ago. 2022.

FILHO, Flávio. **USO DE ISOLADOS E PRODUTO BIOLÓGICO COMERCIAL DE *Trichoderma* spp. NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS NA FASE INICIAL DA CULTURA DA SOJA**. Trabajo de Conclusión de Curso Bacharel em Agronomia, Centro Universitario de Anápolis-UniEVANGELICA. Anápolis, GO. 2019.

GONZÁLEZ, Barbarita; ARIZMENDI, Grisel; VELASCO, Rómulo. ***Trichoderma*: su potencial em el desarrollo sostenible de la agricultura**. *Biotecnología Vegetal*. v.19, n.4, p.237-248, oct. - dic. 2019.

HERBARIO VIRTUAL FITOPATOLOGÍA. **Antractosis de la Soja (*Colletotrichum* spp)** Disponible en: [https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page\\_id=535](https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=535). Acceso en: 19 jul. 2022

HERBARIO VIRTUAL FITOPATOLOGÍA. **Enfermedades de fin de ciclo (EFC) de la Soja**. Disponible en: [https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page\\_id=3502](https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=3502). Acceso en: 20 jul. 2022.

HERBARIO VIRTUAL FITOPATOLOGÍA. **Podredumbre húmeda del tallo de la Soja (*Sclerotinia sclerotiorum*)** Disponible en: [https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page\\_id=609](https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=609) Acceso en: 19 jul. 2022

HERMOSA, Rosa; CARDOZA, Rosa; RUBIO, María; GUTIÉRREZ, Santiago; MONTE, Enrique. Secondary Metabolism and Antimicrobial Metabolites of *Trichoderma*. In: GRUPTA, Vijai; SCHMOLI, Monika; HERRERA-ESTRELLA, Alfredo; UPADHYAY, R. S.;

DRUZHININA, Irina; TUOHY, Maria. **Biotechnology and Biology of Trichoderma**. Elsevier. 2014. p. 125 – 137.

INIA. **Investigadora resalta función de microorganismos en la agricultura para alcanzar producciones sustentables**. 1 oct. 2020. Disponible en:

<https://web.inia.cl/blog/2020/10/01/investigadora-resalta-funcion-de-microorganismos-en-la-agricultura-para-alcanzar-producciones-sustentables/>. Acceso en: 16 jul. 2022.

JUNIOR, Valdomiro; Auer, Celso; WOLF IL, Neumar. **CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS DEISOLADOS DE *Colletotrichum* ASOCIADOS A ANTRACNOSE DA ERVA-MATE**. BIOFIX Scientific Journal. v.6, n.2, p. 120-126, 2021.

KREDICS, Lázló; HATVANI, Lóroant; NAEIMI, Shahram; KÖRMÖCZI, Péter; MANCZINGER, Lázló; VÁGVÖLGYI, Csaba; DRUZHININA, Irina. Biodiversity of the Genus *Hypocrea/Trichoderma* in Different Habitats. In: GRUPTA, Vijai; SCHMOLI, Monika; HERRERA-ESTRELLA, Alfredo; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, Irina; TUOHY, Maria. **Biotechnology and Biology of Trichoderma**. Elsevier. 2014. p.3 – 24.

MADALOSSO, Marcelo. **Apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* germinados de esclerócio retirados do solo**. Disponible en:

<https://elevagro.com/conteudos/fotos/apotecios-de-sclerotinia-sclerotiorum-germinados-de-esclerocio-retirado-do-solo>. Acceso en: 20 Jul. 2022.

MELCHOR, Dulce., CERRATO, Ronald., ALARCON, Alejandro. Trichoderma: importancia agrícola, biotecnológica, y sistema de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. **Chilean journal of agricultural & animal sciences**. Vol. 35 no.01 Chillán may. 2019.

MENEZES, Maria. **ASPECTOS BIOLÓGICOS E TAXONOMICOS DE ESPÉCIES DO GENERO *Colletotrichum***. Academia Pernambucana de Ciências Agrárias. v.3, p. 170-179, 2006.

MEYER, Mauricio; CAMPOS, Hercules; GODOY, Cláudia; UTIAMADA, Carlos; SATO, Luiz; DIAS, Alfredo; JUNIOR, José; JUNIOR, Murillo; TOMEN, Nédio; BRUSTOLIN, Ricardo; GALDINO, Jeane; SENGER, Marina; DE MEDEIROS, Fernanda; MARTINS, Monica; MÜLLER, Monica; JULIATTI, Fernando; DE OLIVEIRA, Maria. **Eficiencia de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na**

**safr** 2020/2021: resultados sumarizados dos experimentos cooperativos. Embrapa. Circular Técnica 173. Londrina, PR. Jul. 2021.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Valor da Produção Agropecuária de 2022 está estimado em R\$ 1,241 trilhão**. Disponible en:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias-2022/valor-da-producao-agropecuaria-de-2022-esta-estimado-em-r-1-241-trilhao-1>. Acceso en: 16 jul. 2022.

NEPOMUCENO, Alexander; FARIAS, José; NEUMAIER, Norman. **Características da soja**. Disponible en: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/soja/pre-producao/caracteristicas-da-especie-e-relacoes-com-o-ambiente/caracteristicas-da-soja> Acceso en: 16 jul. 2022.

NUNES, José. **Características da soja**. Disponible en: [https://www.agrolink.com.br/culturas/soja/informacoes/caracteristicas\\_361509.html](https://www.agrolink.com.br/culturas/soja/informacoes/caracteristicas_361509.html) Acceso en: 17 jun. 2022.

OLIVEIRA, Alessandro; FERREIRA, Bruno. Biotecnologia aliada da agricultura e na produtividade da soja. **Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da FAIT**. N2. Noviembre, 2020

ORTIZ, Sílvia. **Principais doenças da soja**. Disponible en: <https://elevagro.com/conteudos/materiais-tecnicos/principais-doencas-da-soja>. Acceso en: 20 Jul. 2022.

RAMADA, Marcelo; LOPES, Fabyano; ULHOA, Cirano. *Trichoderma*: metabólitos secundários. In: MEYER, Maurício; MAZARO, Sérgio; SILVA, Juliano. **Trichoderma: uso na agricultura**. Editores Técnicos. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 201 – 218.

RELS, Erlel; BRUSTOLIN, Ricardo; DANELLI, Anderson; CASA, Ricardo. **Ciclo do mofo-branco**. **Revista Plantio Direto**. Marzo-Abril 2011 p.24-27

REYNOSO, Sarai; BUCIO, José. **Importancia de los exudados de las raíces en el diálogo entre Trichoderma y las plantas**. Disponible en: <https://www.redagricola.com/pe/importancia-de-los-exudados-de-las-raices-en-el-dialogo-entre-trichoderma-y-las-plantas/>. Acceso en: 02 ago. 2022.

REZENDE, Cássia; SILVA, Mariana; FRASCA, Laylla; FARIA, Denner; FILIPPI, Marta;

LANNA, Anna; NASCENTE, Adriano. Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, e50810212725, 2021.

RÍOS, Alberto; MENDOZA, Dani; RODRIGUEZ, Maria; GIUBI, Maria; CHAMORRO, Javier. **Antibiosis de proteínas y metabolitos en especies de *Trichoderma* contra aislamientos paraguayos de *Macrophomina phaseolina***. *Agronomía. Mesoamericana* v.30, n.1, pp.63-77, 2019.

RODRIGUES, Johnathan. ***Trichoderma* spp. ASSOCIADO A NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NPK NO PATOSSISTEMA *Sclerotinia sclerotiorum* – FEIJOEIRO**. Disertación de Maestrado em Agronomía, Universidad Federal de Santa Maria, RS, 2010.

SILVA, Aidé; DÍAZ, Silvia; YERENA, Leticia; ÁNGEL, Daniel. **Primer reporte del género *Colletotrichum* spp. em frutos de pimienta gorda (*Pimenta dioica*) em Veracruz, México**. *Revista mexicana de fitopatología*. v. 36, n. 2. may. – ago. 2018.

SILVA, Rosana. Produção de Commodities e Segurança Alimentar no Brasil. **Análises e Indicadores do Agronegócio**. Sao Paulo, v. 17, n.1, p. 1-6, jul. 2022. Disponible en: <http://www.iea.agricultura.sp.gov.br/out/TerTexto.php?codTexto=16054>. Acceso en: 17 jul. 2022.

SINGH, Akanksha; SARMA, Birinchi; SINGH, Harikesh; UPADHYAY, R. S. *Trichoderma* A Silent Worker of Plant Rhizosphere. In: GRUPTA, Vijai; SCHMOLI, Monika; HERRERA-ESTRELLA, Alfredo; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, Irina; TUOHY, Maria. **Biotechnology and Biology of Trichoderma**. Elsevier. 2014. p.533 - 542

SOUSA, Paloma. **AVALIAÇÃO DO CULTIVO PAREADO DE *Trichoderma* spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO DE MOFO BRANCO (*Sclerotinia sclerotium*)**. Trabajo de Conclusión de Curso de Ciencias Biológicas, Fundação Carmelitana Mário Palmérico, Monte Carmelo, 2018.

STEWART, Alison; HILL, Robert. Applications of Trichoderma in Plant Growth Promotion. In: GRUPTA, Vijai; SCHMOLI, Monika; HERRERA-ESTRELLA, Alfredo; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, Irina; TUOHY, Maria. **Biotechnology and Biology of Trichoderma**. Elsevier. 2014. p. 415 – 428.

TAXONOMY BROWSER. **Sclerotinia**. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=5179>. Acceso en: 19 jul. 2022.

TÁVORA, Patricia. **Mapa registra 46 defensivos agrícolas, incluindo sete produtos biológicos**. Disponible en:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias-2022/mapa-registra-46-defensivos-agricolas-incluindo-sete-produtos-biologicos> Acceso en: 16 jul. 2022.

THIEMAN, William; PALLADINO, Michel. El siglo de la biotecnología y su capital humano. In: El siglo de la biotecnología y su capital humano. **Introducción a la biotecnología**. 2da edición, Madrid, España: Pearson Educación S.A., 2010. p. 1 - 25.

THOMAS, André. **Soja: tipos de crescimento da planta**. Biblioteca Setorial da Faculdade de Agronomia - UFRGS. Porto Alegre, 2018.

TRAMONTANA, Lorenzo. **Sclerotinia sclerotiorum**. Microbiologia Italia. 11 de mar. 2021.

VALADARES, Alexandre; ALVES, Fábio; GALIZA, Marcelo. **O crescimento do uso de agrotóxicos: uma análise descritiva dos resultados do censo agropecuário 2017**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Abril 2020.

VELÁZQUEZ, Andrés. **Evaluación de aislados de *Trichoderma* spp. nativos del Paraguay para el control de *Colletotrichum* spp. causante de la antracnosis em frutulla**. Investig. Agrar. v.22, n.1, p.53-62, ene.-jun. 2020.

VENEGAS, Ana; MARÍN, Alexander; OSORNO, Jaime. **Metabolitos secundarios em *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrárias**. Actualidades Biológicas. v.41, n.111, p. 32-44, 2019

ZUBIETA, Jhon; LEAL, Dayana. Efecto de crecimiento de hongos antagonistas (*Trichoderma* sp y *Gliocladium* sp) frente a hongos entopatógenos (*Metarhizium* sp, *Paecilomyces* sp y *Beauveria* sp) em medio nutritivo de PDA. **Universidad de los Llanos**. Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título profesional de Ingeniero Agrónomo. 2019.