

CARACTERIZAÇÃO DE ISOLAMENTO DE *TRICHODERMA* ENDOFÍTICO DE RAIZ DE YERBA MATE COMO MICRORGANISMOS POTENCIAIS QUE PROMOVEM O CRESCIMENTO DE PLANTA

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 04/05/2021

Ana Clara López

Laboratorio de Biotecnología Molecular (InBioMis), FCEQyN, UNaM, CONICET Posadas, Misiones, Argentina
<https://orcid.org/0000-0003-4882-0844>

Adriana Elizabet Alvarenga

Laboratorio de Biotecnología Molecular (InBioMis), FCEQyN, UNaM, CONICET Posadas, Misiones, Argentina
<http://orcid.org/0000-0001-9587-8251>

Pedro Darío Zapata

Laboratorio de Biotecnología Molecular (InBioMis), FCEQyN, UNaM, CONICET Posadas, Misiones, Argentina
<https://orcid.org/0000-0001-6476-8324>

María Flavia Luna

Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), CONICET, CIC-PBA, FCE, UNLP La Plata, Buenos Aires, Argentina
<https://orcid.org/0000-0002-7292-9834>

Laura Lidia Villalba

Laboratorio de Biotecnología Molecular (InBioMis), FCEQyN, UNaM, CONICET Posadas, Misiones, Argentina
<http://orcid.org/0000-0002-7488-4238>

RESUMEN: El cultivo de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) es una de las principales

actividades agroeconómicas más importantes de la provincia de Misiones, Argentina. El área cultivada en el año 2020 fue de 154.450 hectáreas, obteniéndose una elevada producción. Sin embargo, es preocupante el incremento de yerbales degradados a causa de la longevidad de las plantas, el manejo destructivo del suelo, la cosecha inadecuada, y el uso indiscriminado de productos químicos. Se han realizado numerosos estudios para mejorar la calidad y fertilidad de los suelos, sin embargo, aún no se ha investigado la importancia de las especies del género *Trichoderma* nativas de rizosfera de yerba mate, como parte de la diversidad microbiana de estas plantas, así como tampoco su potencial como promotores del crecimiento vegetal *in vitro*. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la capacidad promotora del crecimiento vegetal de 14 aislamientos de *Trichoderma* spp. endófitos de raíz de yerba mate. Se evaluaron las características *in vitro* relacionadas con la capacidad biofertilizante –solubilización de compuesto insolubles de fosforo, producción de sideróforos en medio cromo-azuroI-S (CAS) y con 8-hidroxiquinolina (8HQ) y de auxinas– de los aislamientos de *Trichoderma*. En base a los resultados obtenidos, el 64% de los aislamientos resultaron positivos en la determinación de sideróforos en medio CAS y un 28,5 % en medio con 8HQ, el 100% de los aislamientos fueron capaces de solubilizar compuestos insolubles de fósforo y LBM 205 fue el aislamiento que produjo mayor cantidad de AIA en presencia de L-Trp, mientras que los aislamientos de *T. asperelloides* fueron los que produjeron mayor cantidad de AIA en ausencia del inductor. El análisis de los

resultados presentados en este capítulo nos permitió concluir que se lograron caracterizar los 14 aislamientos de *Trichoderma* como promotores del crecimiento vegetal *in vitro*. Estos resultados muestran que existen microorganismos nativos asociados a la planta de yerba mate que aún deben ser estudiados ya que presentan capacidades como promotores del crecimiento vegetal *in vitro* y son una alternativa sustentable al uso de agroquímicos.

PALABRAS CLAVES: Yerba mate. *Trichoderma*. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal.

CHARACTERIZATION OF YERBA MATE ROOT ENDOPHYTIC *TRICHODERMA* ISOLATIONS AS POTENTIAL PLANT GROWTH PROMOTING MICROORGANISMS

ABSTRACT: The cultivation of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is a main and important agro-economic activity in the province of Misiones, Argentina. The cultivated area in 2016 was 165,200 hectares with high production. However, the increase in degraded herbs due to the longevity of the plants, the destructive management of the soil, the inadequate harvest, and the indiscriminate use of chemical products is worrying. Numerous studies have been carried out to improve the quality and fertility of soils, however, there are no studies on the microbial diversity of yerba mate plants and the importance of the use native species of the genus *Trichoderma* as potential plant growth promoting microorganism. The objective of this work was to characterize the plant growth promoting capacity of 14 isolates of *Trichoderma* spp. endophytes of yerba mate root. The biofertilizing capacity of *Trichoderma* isolates were evaluated such as solubilization of insoluble phosphorus compounds, production of siderophores and auxins. The results showed that 64% of the isolates were positive on siderophore determination on CAS medium and 28,5 % on 8HQ medium, 100% of the isolates were able to solubilize insoluble compounds of phosphorous, LBM 205 produced higher concentration of AIA in presence of L-Trp and *T. asperelloides* isolates produced higher values of AIA without the presence of inductor. The 14 isolates of *Trichoderma* were characterized as promoters of plant growth *in vitro*. These results show that there are native microorganisms associated with the yerba mate plant that still need to be studied have shown that present PGPM *in vitro* properties and are a sustainable alternative to the use of agrochemicals.

KEYWORDS: Yerba mate. *Trichoderma*. Plant growth promoting microorganisms.

INTRODUCCIÓN

Ilex paraguariensis St. Hil., conocida como yerba mate, está distribuida al Sur de Brasil, Este de Paraguay, Nordeste de Argentina y algunos departamentos de Uruguay, donde se dan las características y condiciones agroecológicas aptas para su cultivo y desarrollo. La Argentina es el principal productor y exportador mundial de yerba mate, y la mayor producción se concentra en la provincia de Misiones (Giberti, 2011). La vida útil o económicamente productiva de un yerbal es entre 25-30 años. Sin embargo, se conocen explotaciones que alcanzan los 80 años con excelente producción (Burtnik, 2006). Esta práctica no es recomendable, ya que luego de los 25-30 años, en respuesta al

envejecimiento de las plantaciones, se produce una caída de la productividad, rendimientos y la degradación del suelo debido a las prácticas de manejo no sustentables. En Misiones, el cultivo de yerba mate es una actividad socioeconómica muy importante y se han realizado muchos esfuerzos para mejorar la productividad y la calidad de los suelos recomendando la implementación de la agricultura sin labranza y la introducción de cultivos de cobertura (Prat Kricun, 2011) o árboles nativos en plantaciones mixtas (Montagnini *et al.*, 2011), además de la reducción del uso de agroquímicos y prácticas de manejo controlado de plagas (Burtnik, 2006). Estas prácticas, alteran la dinámica de las comunidades de microorganismos e influyen en la calidad de los productos y en la productividad del cultivo (Borges *et al.* 2011). El empleo de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM) que se encuentran naturalmente en los ecosistemas, busca restablecer los equilibrios ecológicos naturales, aportando al aumento de la biodiversidad del sistema productivo. Por ello, la evaluación y caracterización de la diversidad de microorganismos asociados a los cultivos de importancia regional se ha convertido en una herramienta con relevante importancia (Carvalho, 2008).

Los PGPM producen compuestos que son tomados por las plantas para utilizarlos en su metabolismo o que facilitan la captura de ciertos nutrientes por las plantas. Entre ellos se encuentran:

- **Solubilización de compuestos insolubles de fósforo:** el fósforo es un macronutriente esencial para las plantas, ya que es un componente clave de diversas rutas metabólicas y bioquímicas, además de ser parte de moléculas estructurales. Las plantas sólo pueden absorber el fósforo en dos formas solubles, la monobásica (H_2PO_4^-) y la dibásica (HPO_4^{2-}) (Richardson *et al.*, 2009). Sin embargo, en el suelo gran parte de este elemento se encuentra en forma insoluble y por tanto su biodisponibilidad es limitada, lo que provoca un crecimiento vegetal restringido. Los PGPM que poseen la capacidad de solubilizar fosfatos, producen y liberan al medio compuestos tales como ácidos orgánicos, para transformar los fosfatos inorgánicos insolubles en formas de fosfato solubles haciendo que estén disponibles para las plantas.
- **Producción de sideróforos:** el hierro es un micronutriente esencial para plantas y microorganismos, necesario para diversos procesos metabólicos como la fotosíntesis, la respiración y la FBN; sin embargo, tal como sucede con el fósforo, el hierro presente en los suelos es sólo moderadamente soluble, haciendo que el hierro disponible para bioasimilación sea muy bajo, por lo que su escasez en los suelos genera una gran competencia entre los organismos. Bajo condiciones limitantes de este nutriente, los PGPM producen sustancias de bajo peso molecular que contienen cadenas laterales y grupos funcionales cuya función es actuar como agentes quelantes de hierro, y son denominados sideróforos. Los sideróforos son capaces de secuestrar el ion férrico (Fe^{+3}) con alta afinidad, transportarlo y absorberlo gracias a la síntesis de receptores de membrana capaces de unir complejos Fe-sideróforos. La biosíntesis de dichos

compuestos está altamente regulada por proteínas sensibles a la baja concentración de hierro (Hardoim *et al.*, 2015).

- **Producción de fitohormonas:** tal como auxinas, giberelinas y citoquininas, que pueden aumentar el volumen radical y permitir un mayor sostén y absorción de minerales, pueden acelerar la germinación y, además, reducir los niveles de etileno en la planta retardando la senescencia. El ácido Indol Acético o AIA es una de las auxinas naturales más comunes producidas por microorganismos (Stewart & Hill, 2014).

Aún son escasos los estudios enfocados en el papel de los microorganismos nativos asociados a este cultivo y su acción benéfica natural o artificial como una estrategia sustentable para mejorar el crecimiento y la salud del cultivo de yerba mate. Tecnologías basadas en la minimización del uso de productos químicos de síntesis, la utilización de microorganismos benéficos y prácticas de manejo de cultivo adecuadas, permitirán lograr producciones sanas, sin impactos negativos sobre el medio ambiente. Paralelamente, la identificación y el posible trabajo mutuo junto a productores influyentes, o generadores de opinión, puede facilitar la transferencia de tecnologías al medio productivo. Por lo expuesto, en este trabajo se estudiaron las capacidades como PGPM *in vitro* de aislamientos del género *Trichoderma* endófitos de la raíz de yerba mate.

CARACTERIZACIÓN DE LA PROMOCION DE CRECIMIENTO VEGETAL DE AISLAMIENTOS DE *TRICHODERMA* SPP

Las cepas utilizadas en este estudio se mantienen en la colección del Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. Maria Ebe Reca” nombradas como LBM. Las cepas de *Trichoderma* utilizadas fueron obtenidos de endorizósfera de yerba mate (López *et al.*, 2020) y utilizados para su evaluación como PGPM. En la Tabla 1 se detallan los 14 aislamientos mencionados de *Trichoderma* spp.

Aislamiento	Especie
LBM 193	<i>T. asperelloides</i>
LBM 194	<i>T. asperelloides</i>
LBM 195	<i>T. asperelloides</i>
LBM 196	<i>T. strigosellum</i>
LBM 197	<i>T. asperelloides</i>
LBM 198	<i>T. asperelloides</i>
LBM 199	<i>T. asperellum</i>
LBM 200	<i>T. hamatum</i>
LBM 201	<i>T. strigosellum</i>
LBM 202	<i>Trichoderma</i> sp.
LBM 203	<i>T. asperellum</i>

LBM 204	<i>T. asperelloides</i>
LBM 205	<i>T. strigosellum</i>
LBM 206	<i>T. asperelloides</i>

Tabla 1. Especies de *Trichoderma* utilizadas en las determinaciones de este trabajo.

EVALUACION DE LA PRODUCCIÓN DE SIDERÓFOROS

Se utilizaron dos métodos cualitativos para censar la producción de sideróforos en medio sólido. En las 2 determinaciones, los medios fueron inoculados con un taco de PDA con micelio desarrollado de *Trichoderma* spp.

La determinación en medio CAS se realizó según el protocolo descrito por Loudon *et al.* (2011). Los aislamientos de *Trichoderma* se inocularon en las placas de medio CAS y se incubaron a 28 °C durante 5 días en presencia de luz. Se consideró que los aislamientos producían sideróforos cuando se formó un halo de color alrededor de la colonia. Esta determinación se realizó por triplicado para cada aislamiento. El ensayo se fundamenta en que un fuerte quelante, tal como un sideróforo, remueve el ion férrico del complejo ternario CAS/Fe³⁺/bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) y su color cambia de azul a amarillo-anaranjado si el sideróforo es del tipo hidroxamato o de azul a púrpura si se trata de catecolatos.

Además, se utilizó un medio compuesto por extracto de malta (12,7 g/l) y 8-hidroxiquinolina (50 mg/l) (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009). Los aislamientos capaces de crecer en este medio luego de 5 días de incubación a 28 °C se consideraron productores de sideróforos que presentan alta afinidad por el hierro. Esta determinación se realizó por triplicado para cada aislamiento y permitió seleccionar aquellos aislamientos de *Trichoderma* spp. productores de sideróforos con alta afinidad por el hierro (Kotasthane *et al.*, 2017), ya que la 8HQ es un quelante muy fuerte de varios metales además del hierro, como cobre, aluminio, entre otros (Pierre *et al.*, 2003).

En la Figura 1 y 2 se muestran imágenes representativas de cada especie de las determinaciones cualitativas de la producción de sideróforos en medio CAS y con 8HQ, respectivamente, y en la Tabla 2 se muestran los resultados de estas determinaciones para todos los aislamientos de *Trichoderma*.

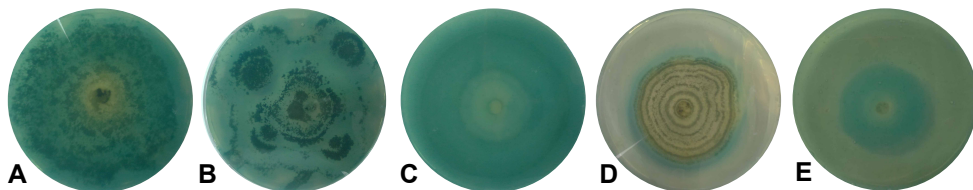


Figura 1. Imágenes representativas del resultado de la determinación de sideróforos en medio CAS. A. *T. asperelloides* LBM 193, B. *T. asperellum* LBM 199, C. *T. hamatum* LBM 200, D. *Trichoderma* sp. LBM 202, E. *T. strigosellum* LBM 196.

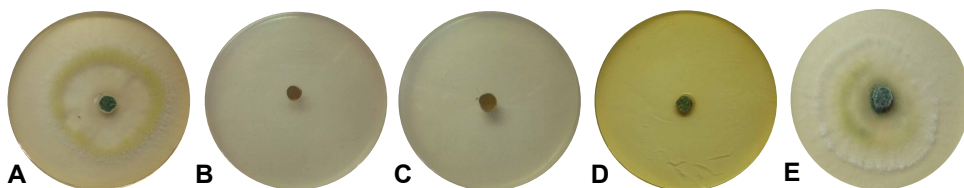


Figura 2. Imágenes representativas del resultado de la determinación de sideróforos en medio con 8HQ. A. *T. asperelloides* LBM 206, B. *T. asperellum* LBM 199, C. *T. hamatum* LBM 200, D. *Trichoderma* sp. LBM 202, E. *T. strigosellum* LBM 203.

Aislamiento	<i>Trichoderma</i>	CAS	8-HQ
LBM 193 ₁	<i>asperelloides</i>	+	-
LBM 194 ₁	<i>asperelloides</i>	+	+++
LBM 195 ₁	<i>asperelloides</i>	+	-
LBM 196 ₃	<i>strigosellum</i>	-	-
LBM 197 ₃	<i>asperelloides</i>	+	-
LBM 198 ₃	<i>asperelloides</i>	+	-
LBM 199 ₅	<i>asperellum</i>	-	-
LBM 200 ₅	<i>hamatum</i>	-	-
LBM 201 ₆	<i>strigosellum</i>	+	+
LBM 202 ₈	sp.	+	-
LBM 203 ₉	<i>asperellum</i>	-	-
LBM 204 ₉	<i>asperelloides</i>	+	+
LBM 205 ₉	<i>strigosellum</i>	-	-
LBM 206 ₁₀	<i>asperelloides</i>	+	++

Tabla 2. Producción de sideróforos en diferentes medios.

Estos resultados mostraron que un 64 % de los aislamientos de *Trichoderma* fueron

capaces de producir sideróforos en medio CAS, mientras que un porcentaje menor (28,6 %) fue capaz de producir quelantes fuertes de hierro y otros metales. Estos resultados evidenciaron que:

- todos los aislamientos pertenecientes a *T. asperelloides*, *T. strigosellum* LBM 201₆ y *Trichoderma sp.* LBM 202₈ son productoras de sideróforos de tipo hidroxamato, debido a que el cambio de color en el medio CAS fue de azul a naranja, acorde con lo reportado con Sawant *et al.* (2020) para *T. asperelloides*.
- de los aislamientos de *Trichoderma* productores de sideróforos en medio CAS, *T. asperelloides* LBM 194₁, LBM 204₉ y LBM 206₁₀, y *T. strigosellum* LBM 201₆ fueron positivos en la determinación de sideróforos en medio con 8HQ, por lo que presentaron una capacidad complejante más fuerte que el resto de los aislamientos. Estos resultados coinciden con los reportados por Hoyos-Carvajal *et al.* (2009) para especies de *T. asperellum* y *T. harzianum*, quienes observaron que menor cantidad de cepas de *Trichoderma spp.* produjeron sideróforos en medio con 8HQ en comparación a la misma determinación en medio CAS.

SOLUBILIZACIÓN DE COMPUESTOS INSOLUBLES DE FÓSFORO

Para determinar la capacidad de solubilizar compuestos insolubles de fósforo, se utilizó el medio NBRIP (de las siglas en inglés *National Botanical Research Institute's phosphate growth medium*) (Nautiyal, 1999). Las placas inoculadas se incubaron a 28 °C durante 5 días en presencia de luz. Los microorganismos capaces de solubilizar $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ presentaron un halo transparente alrededor de la colonia.

En la Figura 3, se muestra una imagen representativa del resultado de la determinación de la solubilización de compuestos insolubles de fósforo para las diferentes especies de *Trichoderma*.

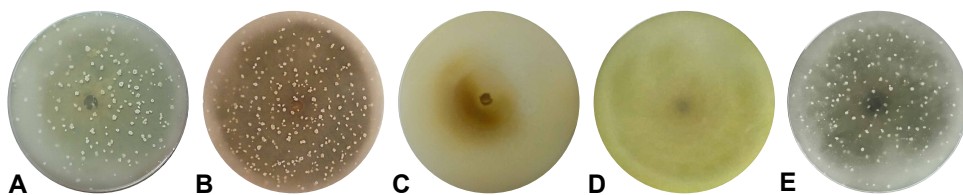


Figura 3. Imágenes representativas del resultado de la determinación de solubilizadores de compuestos insolubles de fósforo. A. *T. asperelloides* LBM 195, B. *T. asperellum* LBM 203, C. *T. hamatum* LBM 200, D. *Trichoderma sp.* LBM 202 E. *T. strigosellum* LBM 205.

Los resultados de la capacidad de solubilización de compuestos insolubles de fósforo evidenciaron que todos los aislamientos de *Trichoderma* mostraron un resultado positivo en la determinación mediante la observación de la clarificación del medio, por lo que se consideró que todos fueron capaces de solubilizar compuestos insolubles de fósforo. El

fósforo es un nutriente esencial necesario para las plantas y su la biodisponibilidad está asociada con aumentos en el crecimiento de las plantas (Bader *et al.*, 2020). Este estudio, donde todos los aislamientos fueron capaces de producir compuestos solubilizadores de fosforo inorgánico, podría indicar que estos aislamientos presentan una potencial acción como PGPM. Coincidentemente con estos resultados, existen estudios que reportan a *T. asperelloides* (Borges-Chagas *et al.*, 2017; Sood *et al.*, 2020) y *T. asperellum* (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009) como solubilizadores de compuestos insolubles de fósforo. De acuerdo con la búsqueda bibliográfica exhaustiva, no se han encontrado investigaciones que reporten a *T. hamatum* y *T. strigosellum* como solubilizadores de compuestos de fósforo insoluble, siendo este el primer reporte.

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE AUXINAS Y/O ANÁLOGOS

Para determinar la producción de hormonas de tipo auxinas y/o análogos, se utilizó el protocolo sugerido por Asghar *et al.* (2002), con modificaciones. Los aislamientos de *Trichoderma* se hicieron crecer en medio extracto de malta (12,7 g/l) con 500 µg/ml L-Triptofano (L-Trp) y sin L-Trp durante 7 días a 28 ° C y en agitación constante a 120 rpm. Los cultivos para cada *Trichoderma* spp. se realizó por triplicado. Se tomó una muestra de 1 ml por día, se centrifugaron y se guardó el sobrenadante para la medición de auxinas por espectrofotometría. Para la determinación de auxinas la muestra se mezcló con el reactivo de Salkowski (10,8 M H₂SO₄ y 4,5 g/l FeCl₃) en una proporción 1:2 (muestra: reactivo), se incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 30 minutos y luego se midió la absorbancia a 530 nm. La curva de calibración se realizó utilizando ácido indol acético (AIA). Los valores de absorbancia obtenidos se expresaron en µg por ml de ácido indol acético (AIA) por miligramo de biomasa fúngica.

En la Figura 4, se muestran los valores promedio de la concentración de AIA alcanzada entre 1 y 7 días, en presencia y ausencia de Trp, para los aislamientos de *Trichoderma*.

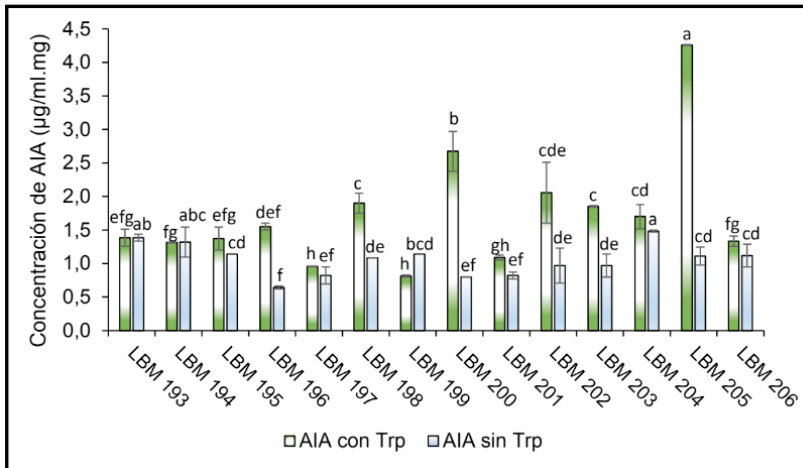


Figura 4.17. Concentración máxima de AIA en presencia y ausencia de Trp para los aislamientos de *Trichoderma*. Letras iguales arriba de las barras indican que no existen diferencias estadísticamente significativas de las actividades endoglucanasa y celulasa, respectivamente ($p > 0,05$).

Los resultados de la producción de AIA evidenciaron que la mayoría de los aislamientos, se observó un aumento en la producción de AIA con el agregado de Trp, coincidiendo estos resultados con los reportados por Bader *et al.* (2020), donde en presencia del inductor había una mayor producción de AIA por las cepas de *Trichoderma* spp. En general, la producción de IAA aumenta varias veces mediante la adición de triptófano o sus derivados en el medio de cultivo (Bader *et al.*, 2020). *T. strigosellum* LBM 205 produjo mayor cantidad de AIA en presencia de Trp, con valores cercanos a 4 $\mu\text{g/ml.mg}$, en comparación a los demás aislamientos, siendo estos valores mucho más altos que los reportados para especies de *Trichoderma*.

Estos resultados mostraron que las especies endófitas de raíz de yerba mate fueron capaces de producir AIA incluso en ausencia del inductor, obteniendo valores tan elevados como los reportados (Bader *et al.*, 2020; Gravel *et al.*, 2007). Los aislamientos pertenecientes al complejo *T. asperellum* (*T. asperelloides* y *T. asperellum*) presentaron mayor producción de AIA en ausencia de Trp y, además, estos valores fueron similares a los obtenidos en presencia de Trp. Esto podría deberse a que las especies del complejo *T. asperellum* producen otro tipo de auxinas diferentes al AIA, como gibberelinas y/o citocinas (Sood *et al.*, 2020; Yadav *et al.*, 2020). La producción de hormonas por microorganismos del género *Trichoderma* es un mecanismo importante a menudo asociado con la estimulación del crecimiento, ya que probablemente es una forma en la que *Trichoderma* mejora el desarrollo de las plantas (Bader *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

El análisis de los resultados presentados en este trabajo nos permitió concluir que se lograron caracterizar como promotores del crecimiento vegetal *in vitro* los 14 aislamientos fúngicos de especies del género *Trichoderma* obtenidos de endorizósfera de yerba mate de la provincia de Misiones. Este trabajo es el primer reporte de aislamientos fúngicos de especies del género *Trichoderma* obtenidos de endorizósfera de yerba mate de la provincia de Misiones con capacidades como PGPM. Además, a nuestro entender, es la primera vez que se caracterizan especies de *T. strigosellum* con capacidad de promoción del crecimiento *in vitro*.

REFERENCIAS

ASGHAR, H. N., ZAHIR, Z. A., ARSHAD, M., & KHALIQ, A. **Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L.** *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 231–237. 2002. <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0462-8>.

BADER, A. N., SALERNO, G. L., COVACEVICH, F., & CONSOLO, V. F. ***Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.)**. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 867–873. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.04.002>

BURTNIK, O. J. **Yerba mate : Manual de producción**. INTA – Agencia de Extensión Rural Santo Tomé - Corrientes, 03756. 2006. p 1–52.

CARVALHO, V. G. **Comunidades de Fungos em Solo do Cerrado Sob Vegetação Nativa e Sob Cultivo de Soja e Algodão**. 2008.

CHAGAS, L. F. B., CHAGAS JUNIOR, A. F., & CASTRO, H. G. DE. **Phosphate Solubilization Capacity And Indole Acetic Acid Production By *Trichoderma* Strains For Biomass Increase On Basil And Mint Plants**. *Brazilian Journal Of Agriculture - Revista de Agricultura*, 92(2), 176. 2017. <https://doi.org/10.37856/bja.v92i2.3221>

GIBERTI, G. C. **La “yerba mate” (*Ilex paraguariensis*, Aquifoliaceae) en tempranos escritos rioplatenses de Bonpland y su real distribución geográfica en Sudamérica austral**. *Bonplandia*, 20(2), 203–212. 2011.

GRAVEL, V., ANTOUN, H., & TWEDDELL, R. J. **Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA)**. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 1968–1977. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.02.015>

HARDOIM, P. R., VAN OVERBEEK, L. S., BERG, G., PIRTILÄ, A. M., COMPANT, S., CAMPISANO, A., DÖRING, M., & SESSITSCH, A. **The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes**. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293–320. 2015. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00050-14>

HOYOS-CARVAJAL, L., ORDUZ, S., & BISSETT, J. **Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma***. *Biological Control*, 51(3), 409–416. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.07.018>

KOTASTHANE, A. S., AGRAWAL, T., WARIS, N., & SINGH, Z. U. S. **Identification of siderophore producing and cynogenic fluorescent *Pseudomonas* and a simple confrontation assay to identify potential bio-control agent for collar rot of chickpea**. *3 Biotech*, 7(2), 1–8. 2017. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0761-2>

LÓPEZ, A. C., ALVARENGA, A. E., VERESCHUK, M. L., BARUA, R. C., ZAPATA, P. D., LUNA, M. F., & VILLABA, L. L. ***Trichoderma* strains isolated from *Ilex paraguariensis* ST. HIL: promising biocontrol agents with chitinolytic activity and plant growth promoter on *Lycopersicon esculentum***. *Arab Journal of Basic and Applied Sciences*, 27(1), 105-113. 2020.

LOUDEN, B. C., HAARMANN, D., & LYNNE, A. M. **Tips and Tools Use of Blue Agar CAS Assay for Siderophore Detection**. *Journal Of Microbiology & Biology Education*, 12(1), 51–53. 2011. <https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>

MONTAGNINI, F., EIBL, B. I., & BARTH, S. R. **Organic Yerba Mate: an Environmentally, Socially and Financially Suitable Agroforestry System**. *Bois Et Forêts Des Tropiques*, 308(2), 59–74. 2011.

PIERRE, J., BARET, P., & SERRATRICE, G. **Hydroxyquinolines as Iron Chelators**. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 1077–1084. 2003.

PRAT KRICUN, S. D. **Compartiendo Tecnología. Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul. Apuntes Sobre El Mejoramiento Genético de la Yerba Mate**. 1, 1689–1699. 2011. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

RICHARDSON, A. E., BAREA, J., MCNEILL, A. M., & PRIGENT-COMBARET, C. **Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms**. *Plant Soil*, 321, 305–339. 2009. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2>

ROLIM BORGES, L., NOEMBERG LAZZARI, S. M., CHAPAVAL PIMENTEL, I., & XAVIER VILA NOVA, M. **Diversidade de fungos filamentosos em solo de monocultivo de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil**. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, 9(2), 185–194. 2011. <https://doi.org/10.7213/cienciaanimal.v9i2.11786>

SAWANT, I. S., WADKAR, P. N., GHULE, S. B., SALUNKHE, V. P., & CHAVAN, V. **Induction of systemic resistance in grapevines against powdery mildew by *Trichoderma asperelloides* strains**. *Australasian Plant Pathology*, 49, 107–117. 2020.

SOOD, M., KAPOOR, D., KUMAR, V., & SHETEIWY, M. S. ***Trichoderma* : The “ Secrets ” of a Multitalented**. *Plants*, 9(762). 2020.

STEWART, A., & HILL, R. **Applications of *Trichoderma* in Plant Growth Promotion**. 2014. In *Biotechnology and Biology of *Trichoderma**. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00031-X>

YADAV, A. N., MISHRA, S., KOUR, D., YADAV, N., & KUMAR, A. **Agriculturally Important Fungi for Sustainable Agriculture** (Vol. 2). 2020.