



Tesina de grado en Ciencias Biológicas

**“Actinobacterias y su actividad antagonista
in vivo frente al hongo fitopatógeno
Rhizoctonia solani en cultivos de soja
(*Glycine max*)”**



Tesinista: **Mariana Kesler**

Directora: **Adriana Salvo**

Codirector: **Rodrigo Asilli**

-2024-

-Tesina para optar por el título de Bióloga-

“Actinobacterias y su actividad antagonista *in vivo* frente al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani* en cultivos de soja (*Glycine max*)”.

Tesinita: Mariana Kesler

Firma:



Directora: Adriana Salvo

Firma:



Codirector: Rodrigo Asilli

Firma:



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Carrera de Ciencias Biológicas

-2024-

Resumen

Rhizoctonia solani es un hongo fitopatógeno, principal causante del “marchitamiento fúngico” de la soja, en Argentina. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad antagonista de las bacterias *Streptomyces antibioticus*, *Streptomyces antimycoticus* y *Streptomyces lavenduligriseus* inoculadas en semillas de soja (*Glycine max*) frente al hongo patógeno *R. solani*. Los ensayos se realizaron en condiciones de invernadero y se comparó el efecto fungicida de cada cepa bacteriana con el producto sintético comúnmente usado Carbendazim/Tiram. Se trabajó en condiciones de invernadero en macetas para la germinación de semillas y seguimiento del desarrollo de plántulas de soja. El sustrato se infectó con una suspensión *R. solani* para luego sembrar semillas pre-inoculadas con cepas de actinobacteria. Seguidamente, también se aplicó una solución concentrada de dichas bacterias al sustrato. Se realizaron dos experimentos con idénticos tratamientos (semillas de *G. max* inoculadas con la cepa de *Streptomyces* que corresponda con sustrato inoculado con *R. solani*) y controles, positivos (C+1: semillas de *G. max* sin inocular en ausencia de *R. solani*, C+2: semillas de *G. max* inoculadas con *Streptomyces* en ausencia de *R. solani*, C+3: semillas de *G. max* inoculadas con fungicida químico en presencia de *R. solani*, C+4: placas de Petri con Agar Papa-Dextrosa (PDA) sembradas con las distintas cepas de *Streptomyces* y C+5: placas de Petri con PDA sembradas con *R. solani*) y negativos (C-1: semillas de *G. max* sin inocular en presencia de *R. solani* y C-2: placas de Petri con PDA sin sembrar). Se midieron las siguientes variables: supervivencia de las plántulas, incidencia de la enfermedad fúngica, tiempo de emergencia, longitud de partes aérea y raíces y peso de partes aéreas y raíces. La asociación entre las variables binarias (supervivencia de plántulas e incidencia de la enfermedad) y los tratamientos se analizaron mediante tablas de contingencia, en base al Test Chi Cuadrado modificado para muestras menores a 5 (Test MV-G2) con un alfa del 95%. Se exploraron los residuos ajustados obtenidos a fin de conocer aquellos datos significativamente apartados de lo esperado bajo hipótesis de independencia. Las variables cuantitativas se analizaron mediante Análisis de Varianza.

La inoculación con *S. antimycoticus* disminuyó significativamente la incidencia de la enfermedad, mientras que *S. lavenduligriseus* aumentó la supervivencia de plántulas, en ambos casos los efectos de las bacterias fueron significativamente más benéficos para el desarrollo vegetal que el tratamiento con fungicida químico. La presencia de *Streptomyces* disminuyó el tiempo de germinación y promovió el crecimiento de partes aéreas y de raíces de las plantas. Este estudio, el primero que investiga el efecto de *Streptomyces* en plántulas de soja *in vivo*, sugiere que las tres cepas podrían actuar como promotoras del crecimiento en plántulas de soja y que particularmente *S. antimycoticus* posee potencial como agente biocontrolador de *R. solani*.

Abstract

Rhizoctonia solani is a phytopathogenic fungus, the main cause of the "fungal wilting" of soybean in Argentina. The aim of this study was to evaluate the antagonist capacity of three bacterial species; *Streptomyces antibioticus*, *Streptomyces antimycoticus* and *Streptomyces lavenduligriseus* inoculated over soya (*Glycine max*) seeds, against the pathogenic fungus *R. solani*. The assays were developed under greenhouse conditions comparing the fungicidal effectiveness of each strain with that of the widely used synthetic fungicide Carbendazim/Tiram. The study was conducted in greenhouse conditions using pots for seed germination and monitoring the development of soybean seedlings. The substrate was infected with a suspension of *R. solani*, followed by sowing of soya seeds inoculated with each actinobacteria, followed by irrigation with the same solution used for the seed's inoculation. Two experiments were performed with identical treatments (seeds of *G. max* inoculated with the strain of *Streptomyces* corresponding to substrate inoculated with *R. solani*) and controls, positive (C+1: seeds of *G. max* without inoculation in the absence of *R. solani*, C+2: seeds of *G. max* inoculated with *Streptomyces* in the absence of *R. solani*, C+3: seeds of *G. max* inoculated with chemical fungicide in the presence of *R. solani*, C+4: petri dishes with Potato-dextrose agar (PDA) sown with the different strains of *Streptomyces* and C+5: Petri dishes with PDA sown with *R. solani*) and negative (C-1: seeds of *G. max* without inoculation in the presence of *R. solani* and C-2: petri dishes with PDA sown). The following variables were measured: survival of the seedlings, incidence of fungal disease, time of emergency, length of aerial

parts and roots and weight of aerial parts and roots. The association between binary variables (seedling survival and disease incidence) and treatments were analyzed using contingency tables, based on the modified chi-square test for samples less than 5 (MV-G2 test) with an alpha of 95%. The adjusted residues obtained were explored in order to know those data significantly removed from what was expected under the independence hypothesis. The quantitative variables were analyzed using Variance Analysis.

Inoculation with *S. antimycoticus* significantly reduced the incidence of the disease, while *S. lavenduligriseus* increased seedling survival. In both cases, the effects were significantly more beneficial for the plant than the treatment with the fungicide. The presence of *Streptomyces* reduced seedling germination time and promoted the growth in length of shoots and roots. This study is the first that investigates the effect of *Streptomyces* on soybean seedlings *in vivo*. Our results suggests that all three actinobacteria strains may act as growth promoters over soybean seedlings and that, particularly *S. antimycoticus*, could potentially constitute a biocontrol agent against *R. solani*.

Palabras clave: control biológico, actinobacterias, hongos fitopatógenos, *Streptomyces*, soja.

Introducción

En la actualidad, la humanidad se encuentra en un contexto de cambio climático y de aumento poblacional a nivel mundial. Para enfrentar la demanda creciente de alimentos se requiere la intensificación de las actividades agrícolas y ganaderas, ampliando las fronteras rurales hacia los ambientes naturales (Gutierrez et al., 2020). Por otra parte, la utilización excesiva y extensiva de compuestos químicos como medida de control contra patógenos ha llevado a incrementar su resistencia, lo cual conduce al aumento en las dosis y número de aplicaciones con el consecuente deterioro en la salud, tanto de productores y consumidores, como del ambiente (Mitra et al., 2021). La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el Preámbulo de la Constitución de la Organización Mundial de la Salud establece desde 1948 y sostiene hasta la actualidad que “la salud es un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o

enfermedades” y además teniendo en cuenta que en Argentina se encuentra vigente desde el 2022 la Ley 27680: “Ley de prevención y control de la resistencia de a los antimicrobianos”, la cual tiene por objeto establecer los mecanismos necesarios para promover la prevención y el control de la resistencia a los antimicrobianos en el territorio nacional, es que actualmente se buscan nuevos procesos de producción en el modelo agrícola que permitan cubrir la demanda en aumento de alimento y de materias primas de manera sostenible, y en los que conservación y desarrollo funcionen de manera integrada (Mishra 2013).

Desde hace algunas décadas se ha investigado el uso de bacterias y hongos como agentes de control biológico para combatir enfermedades en los cultivos (Singh et al., 2016). Esta es una alternativa de producción “limpia”, que permite la reducción en la aplicación de agentes químicos generalmente usados hasta el momento, que se acumulan en el suelo, agua y aire. Actualmente, diversas investigaciones se han centrado en la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos, principalmente actinobacterias, por su prolífica producción de antibióticos naturales (Shanthi, 2021).

Actinobacterias, características y potenciales aplicaciones

Las actinobacterias son bacterias Gram positivas caracterizadas por formar filamentos ramificados semejantes a los hongos y son saprófitas (Figura 1 a). Estos microorganismos son quimioautótrofos que realizan respiración aeróbica o en algunos casos fermentativa (Veyisoglu, 2021). Entre sus características particulares se puede mencionar que presentan un olor típico a suelo húmedo o “tierra mojada” por la producción de un metabolito llamado “geosmina” (Ben-Omar et al., 1997). Las actinobacterias son cosmopolitas y abundantes en diversos ambientes, habitando lagos, ríos y suelos. Presentan una alta actividad metabólica y son capaces de degradar la materia orgánica. Los productos de su metabolismo incluyen antifúngicos, enzimas extracelulares (quitinasas, peroxidasas, glucanasas), inhibidores enzimáticos, neurotransmisores, terpenoides, pigmentos, antibióticos, anticancerígenos y pesticidas, entre otros (Veyisoglu, 2021).

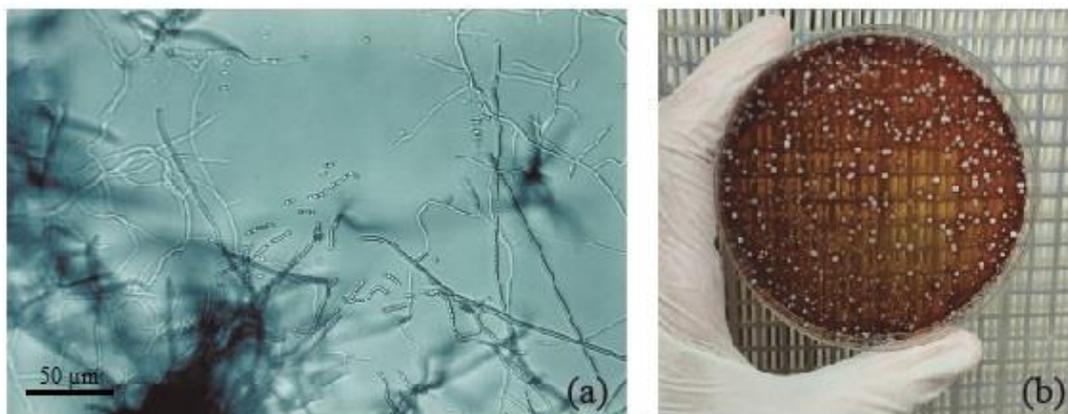


Figura 1. (a) Hifas de *Streptomyces antibioticus* vistas con microscopía óptica observado a 40x; (b) Colonias de *Streptomyces lavenduligriseus* en placa de Petri con Agar Papa Dextrosa (Fotografías tomadas por la autora).

Además, las actinobacterias producen sideróforos, sustancias que ayudan a la asimilación del hierro en la fijación del nitrógeno, lo cual contribuye indirectamente a la promoción de crecimiento vegetal (Yandigeri, 2021). El mecanismo por el cual las actinobacterias ejercen una acción antagonista frente a los hongos depende del género/especie considerado. Por ejemplo, *Streptomyces* es un género caracterizado por la capacidad de producir antibióticos, mientras que especies de *Rhodococcus* producen tetrapéptidos antimicrobianos (Santos et al., 2020).

Rhizoctonia solani: el fitopatógeno blanco

Más del 70% de las enfermedades en los cultivos son causadas por hongos generando pérdidas de rendimiento de hasta un 50%. (Persley, 1993; Patiño-Moscoso, et al., 2023; Erasto et al., 2023). *Rhizoctonia solani* Kühn es un hongo patógeno perteneciente al orden *Ceratobasidiales* de la familia *Ceratobasidiaceae*, que posee un amplio rango de hospedante y distribución cosmopolita. La especie más ampliamente reconocida del género *Rhizoctonia* es *R. solani*, que fue descrita originalmente por Julius Kühn como fitopatógeno de la papa (*Solanum tuberosum*), en 1858. Este basidiomiceto no produce conidios (esporas asexuales) y sólo ocasionalmente produce basidiosporas (esporas sexuales). En la naturaleza, este patógeno se reproduce asexualmente y existe principalmente como forma vegetativa (micelio o esclerocios) (Carmona, 2022).

A diferencia de muchos hongos basidiomicetos, las basidiosporas no están encerradas en una estructura carnosa. Las estructuras de fructificación sexual y basidiosporas constituyen el estado sexual del hongo, denominado teleomorfo, observado por primera vez y descrito en detalle por Prillieux y Delacroix en 1891. El teleomorfo ha sufrido varios cambios de nomenclatura desde su descripción original, conociéndose en la actualidad como *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk. Presenta micelio claramente septado, blanco al inicio y café al envejecer. Una de las principales características morfológicas distintivas de las hifas es su ramificación en ángulo recto a 90°, la constricción en la base de la ramificación y la formación de un septo cerca del punto de origen (Figura 2) (Vera, 2012).

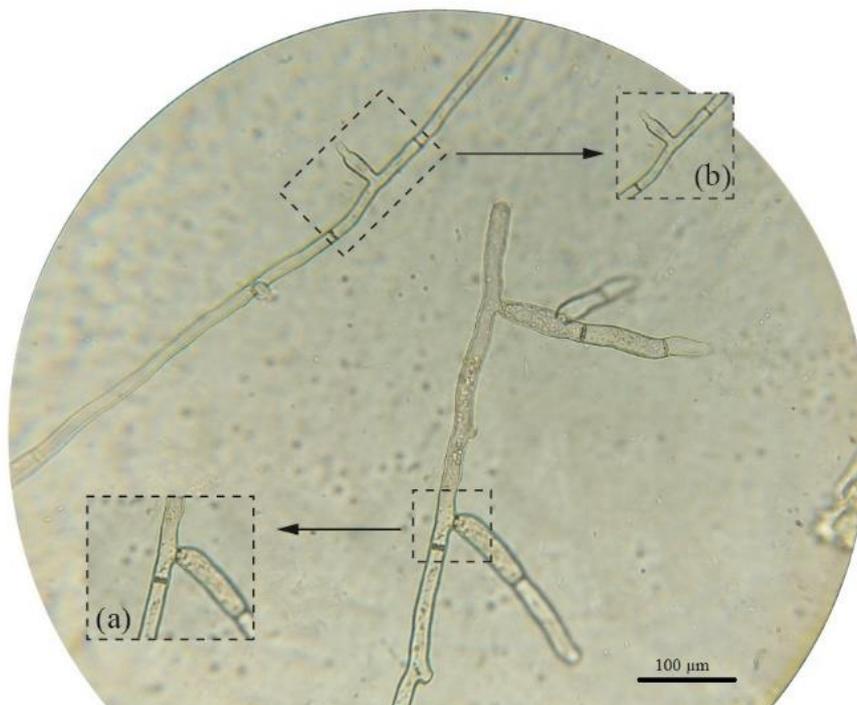


Figura 2. *Rhizoctonia solani* observado en microscopio óptico a 40x, (a) constricción en la base de la rama, septos próximos a la inserción de la hifa lateral; (b) hifas ramificadas en un ángulo de aproximadamente 90° (Fotografía tomada por la autora).

Esta especie forma células monilioides (ramilletes de células cortas y anchas de forma oval) y células multinucleadas (López Cruz, 2021). Los aislamientos en el medio de cultivo Agar Papa-Dextrosa (PDA) presentan crecimiento algodonoso de color blanco a café grisáceo. Forma esclerocios de color café oscuro, formados por hifas fuertemente entrelazadas y compactas, de pared gruesa, que les permite sobrevivir en reposo durante mucho tiempo para luego germinar y formar nuevamente el micelio normal y activo.

En Argentina, *R. solani* es una de las especies que, con mayor frecuencia, causa “marchitamiento fúngico” de la soja en la etapa de emergencia (conocido como “damping off” en idioma inglés) (Lago et al., 2016), y además es responsable de causar el tizón de la soja o tizón tardío, una pudrición acuosa en la base del tallo, atacando diversas etapas fenológicas del cultivo (Carmona 2022). Ha sido nombrado indistintamente como *Rhizoctonia* spp. o *R. solani* en soja, trigo, maíz, poroto, garbanzo, aunque la identificación correcta es actualmente discutida (Carmona 2022).

Rhizoctonia solani y soja

Las plantas de soja pueden ser infectadas por *R. solani* desde que emergen hasta su estado fenológico V2 y también, cuando la planta es adulta después de la floración. Los primeros síntomas macroscópicos son lesiones corticales color castaño rojizo, llamados “chancros” sobre el hipocótilo, raíz principal y raíces secundarias (Figura 3.1). En las raíces, se pueden observar hifas gruesas marrones y pequeños esclerocios amorfos de color marrón adheridos a las partículas del suelo (Ferri et al., 2011).



Figura 3.1. Estrangulamiento a nivel de hipocótilo causado por *Rhizoctonia solani*. (Fuente: Enfermedades de la soja: Diagnóstico y Manejo. Antonio Ivancovich - INTA Pergamino)

En infecciones severas, este patógeno puede provocar la muerte de plántulas. En plantas adultas, *R. solani* causa marchitamiento y las condiciones ambientales favorables para su presencia son suelos con humedad fluctuante y temperatura cálida en general (entre 25-

32 °C). Su ataque se encuentra asociado al de otros patógenos como *Fusarium* sp. (Orden Hypocreales, Familia Nectriaceae) y *Macrophomina phaseolina* (Orden Botryosphaeriales, Familia Bothryosphaeriaceae), entre otros.

Antecedentes y planteo del problema

Desde hace varios años, la empresa Summabio ha estudiado la capacidad controladora de las actinobacterias sobre hongos fitopatógenos (Summabio, 2021 - datos no publicados). Hasta el momento se han realizado ensayos para evaluar la capacidad antagonista *in vitro* de 17 aislamientos de potenciales actinobacterias (denominadas internamente en Summabio como A6, A16, A36, A40, A41, A51, A53, A57, A66, A68, A77, A80, A82, A85, A101, A103 y A106) frente a *R. solani* y otros hongos patógenos de interés agrícola como *Macrophomina phaseolina*, y diferentes especies dentro de los géneros *Fusarium*, *Giberella*, *Verticillium*, *Alternaria* y *Botrytis*, entre otros. Los resultados no publicados, que forman parte de los informes internos de la empresa, indicaron una actividad antagonista diferencial *in vitro* de determinados aislamientos frente al fitopatógeno, con 5 de los 17 aislamientos (A16, A36, A41, A51 y A85) causando un porcentaje de inhibición de *R. solani* mayor al 60 por ciento. (Figura 3.2). Controles positivos que consistieron en el uso de fungicidas clásicos de origen químico (Carbendazim + Tiram 30/30) usados en los mencionados experimentos también presentaron un porcentaje de inhibición mayor al 60 por ciento, sin embargo, algunos aislamientos de actinobacterias tuvieron mayor efecto que el fungicida (Summabio, 2021 datos no publicados).

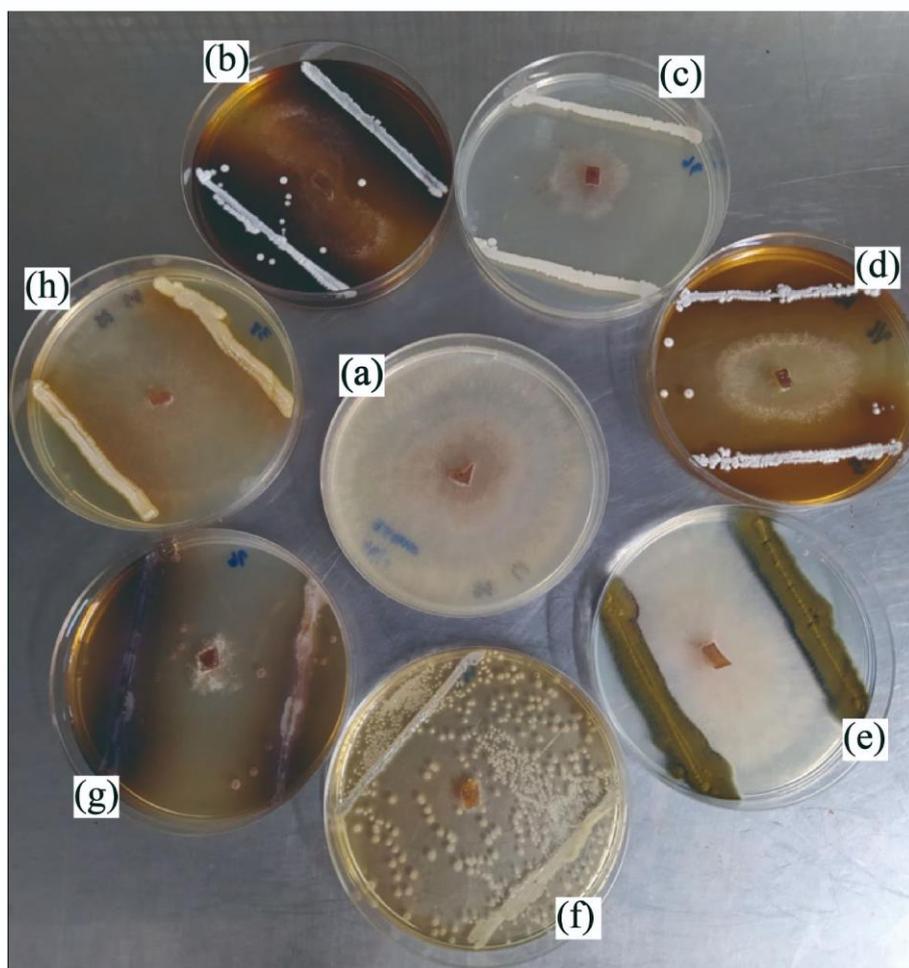


Figura 3.2. Ensayos de antagonismo de *R. solani* con distintas cepas de *Streptomyces* en placas de petri. (a) *R. solani*; (b) *R. solani* vs. *S. lavenduligriseus*; (c) *R. solani* vs. *S. antibioticus*; (d) *R. solani* vs. *Streptomyces* spp.; (e) *R. solani* vs. *Streptomyces* spp.; (f) *R. solani* vs. *S. enissocaesilis*; (g) *R. solani* vs. *S. violaceolatus* y (h) *R. solani* vs. *Streptomyces* spp. (Fotografía tomada por la autora).

Al presente, se han logrado identificar a nivel de especie a 7 cepas de los aislamientos mencionados anteriormente, de las cuales particularmente 3 de ellas, *Streptomyces antibioticus* (41), *S. antimycoticus* (51) y *S. lavenduligriseus* (85), demostraron mayor efectividad diferencial *in vitro* en estudios previos.

Tomando en cuenta estos datos como punto de partida, en este trabajo se evaluó la actividad antagonista de esas 3 cepas de actinobacterias del género *Streptomyces* frente a *R. solani* cuando las mismas son inoculadas sobre semillas de *Glycine max*, evaluando el efecto del tratamiento hasta su estado fenológico V1, para determinar su potencial uso como fungicida de origen biológico en producción agrícola. Mediante la realización de

estos experimentos *in vivo* se investigó el potencial de las actinobacterias como biocontroladores de este hongo fitopatógeno ya observado *in vitro*, con el fin de fomentar su uso y aplicación en el sector agroindustrial y así promover la disminución en el uso de fungicidas de síntesis química en el control de fitopatógenos.

Este trabajo se basa en la **hipótesis** de que *S. antibioticus*, *S. antimycoticus* y *S. lavenduligriseus* inhiben o reducen el crecimiento del hongo *Rhizoctonia* sobre semillas y plántulas de soja *in vivo*, y que dicha disminución es mayor o igual que la causada por fungicidas químicos.

Objetivo general: Explorar estrategias de control biológico microbiano que representen alternativas al uso de fungicidas químicos para controlar al hongo fitopatógeno *R. solani* en soja (*Glycine max*).

Objetivos específicos:

- Evaluar, en condiciones de invernadero, la capacidad antagonista de *S. antibioticus*, *S. antimycoticus* y *S. lavenduligriseus* inoculadas en semillas de soja (*Glycine max*) frente al hongo patógeno *R. solani*, analizando la sobrevivencia post emergencia y el crecimiento de las plántulas de soja.
- Comparar la efectividad de *S. antibioticus*, *S. antimycoticus* y *S. lavenduligriseus* con la del fungicida de síntesis química Carbendazim/Tiram determinando la incidencia de la infección con *R. solani* en plantas tratadas con actinobacterias *versus* aquellas tratadas con el fungicida.

Materiales y Métodos

Microorganismos: Summabio cuenta con la propiedad intelectual del proceso biotecnológico para la obtención de blends microbianos denominado Micro Bio Factory (MBF) (Summabio, Copyright 2021). La tecnología consiste en un exclusivo método de obtención natural de microorganismos con actividad bioestimulante y biocontroladora para su aplicación en el sistema agrícola. Las cepas de actinobacterias que se utilizaron para este trabajo fueron extraídas de MBF y caracterizadas macro y micro morfológicamente, según tamaño y forma de la colonia, producción de pigmentos,

observaciones del micelio aéreo y vegetativo, fragmentación del micelio, agrupación de esporas (en el caso que estén presentes) las cuales fueron comparadas con las descritas en Bergey & Holt (2000) y finalmente secuenciadas por MacroGen Inc (<https://dna.macrogen.com/>).

- Crecimiento de las cepas de actinobacterias: se utilizaron 100 ml de caldo de cultivo Papa-Dextrosa (Britania) con un pH 7-7.3 previamente esterilizado en autoclave (MELLTH) a 121 °C durante 20 minutos, suplementado con 60 µl/100ml de Rifampicina y 360 µl/100ml de Nistatina con el objetivo de evitar el crecimiento de contaminantes. Las 3 cepas de actinobacterias pertenecientes a la colección de microorganismos de Summabio las cuales fueron conservadas en una solución 50:50 de Glicerol al 30% mantenidas a -20 °C, fueron inoculadas en cámara de flujo laminar e incubadas en un agitador orbital entre 7 a 10 días a 28-30 °C con una agitación de 200 rpm. De dicho cultivo se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de agua destilada esterilizada y se procedió a realizar diluciones seriadas hasta llegar a 10^{-4} Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml). A continuación, 100 µl de cada dilución fueron sembrados por duplicado, en placas de Petri con PDA suplementado con los mismos antibióticos mencionados anteriormente y las placas fueron incubadas en estufa de cultivo durante 7 días a 28 °C con el fin de obtener un recuento de las muestras (Castro, et al., 2019).

Las poblaciones del fitopatógeno *R. solani*, organismo blanco cuyo control es el objetivo general de esta tesina, fueron provistas por la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Nacional de Córdoba, gracias a un convenio marco de colaboración técnica con Summabio.

- Crecimiento de *R. solani*: se procedió a sembrar el hongo fitopatógeno en 10 placas de Petri de 8.5 cm de diámetro conteniendo medio de cultivo PDA, mediante inoculación por anzada a partir de un stock en pico de flauta con vaselina estéril que había sido mantenidos a 4 °C. Las placas inoculadas fueron incubadas en estufa de cultivo (FAC) durante 6 días a 28°C sin fotoperiodo (García, L., 2013).

Luego de los 6 días, se extrajo el micelio más el PDA, se le agregaron 500 ml de agua estéril en una licuadora a temperatura ambiente durante 10 minutos a fin de homogeneizar la mezcla. Una vez obtenida esta suspensión, se realizó el recuento de hifas y las diluciones necesariadas mediante la fórmula $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$, hasta lograr una

concentración final de 1×10^5 Unidad formadora de colonias por mililitro (UFC/ml) de *R. solani* con la cual se inoculó el sustrato (Martínez Fernández, 2003; Valentin Torres et al., 2016). Para esto último, se tomaron 100 μ l de la solución diluída con la que se inoculó el sustrato y se contabilizó la cantidad de hifas que se encontraban en los 4 cuadrantes en cámara de Neubauer. Con este recuento final se obtuvo una concentración de $1,2 \times 10^5$ UFC/ml de *R. solani*.

En simultáneo, se sembró a *R. solani* con el mismo método en 3 placas de Petri de 8.5 cm de diámetro en medio de cultivo PDA. Las placas fueron sometidas a condiciones de invernadero y se midió diariamente el diámetro del micelio de cada una con el fin de realizar una curva de crecimiento para el fitopatógeno (Figura 4).

Material vegetal: Para el desarrollo de las pruebas de antagonismo *in vivo* se utilizaron semillas de soja transgénica *Glycine max*, variedad DM 60i62. En el Laboratorio Urma Pampa de Río Primero, Córdoba, se les midió el poder germinativo el cuál fue de 95 %. Las plantas fueron cultivadas en un sustrato compuesto por tierra/vermiculita/turba en relación 2:1:1, y la tierra fue previamente esterilizada en autoclave a 121°C por 90 minutos (López y Bárbaro, 1988). La luz fué provista por lámparas LED blancas de 15 watts con fotoperiodo con un ciclo 16 hs luz y 8 hs de oscuridad, y la temperatura se mantuvo constante a 26°C.

Diseño Experimental:

Se utilizaron 3 cepas de actinobacterias (*S. antibioticus*, *S. antimycoticus* y *S. laveduligriseus*) pertenecientes a la colección de microorganismos de Summabio mantenidas a -20 °C en una solución 50:50 de Glicerol al 30%. Esta prueba se realizó en condiciones de invernadero en macetas las cuales constituyeron las unidades experimentales.

- Infección de sustrato con *R. solani*: todo el sustrato ya dispuesto en macetas de 1 litro fué infectado 7 días antes de la inoculación con bacterias, con una suspensión que contenía $1,2 \times 10^5$ UFC/ml de *R. solani* para así permitir que el fitopatógeno colonice el sustrato.

- Desinfección de semillas de *G. max*: para desinfectar las semillas se sumergieron en etanol al 70 % durante 5 min y posteriormente en hipoclorito de sodio al 25 % (v/v) por 15 min. Por último, se lavaron 10 veces con agua destilada estéril y se dejaron secar cámara de flujo laminar (Hernández-Forte et al., 2021).

- Tratamientos (Tx): Inoculación y siembra en macetas: en cada maceta se colocaron 2 semillas previamente desinfectadas de *G. max* con una pinza estéril a 4 cm de la superficie. La inoculación se realizó en dos etapas, la primera consistió en mojar las semillas en una bolsa Ziploc con una suspensión de 1×10^7 UFC/ml de la cepa de actinobacteria logrando la mayor homogeneización estática posible durante dos horas. En la segunda etapa, se realizó un chorreo de 200 μ l con micropipeta (D Lab) de la misma suspensión sobre la semilla, ya colocada en maceta, abarcando el área circundante a la misma y se cubrió con sustrato (Zhang et al., 2022). Las semillas fueron regadas con 30 ml de agua de red esterilizada cada dos días por goteo con agua de red.

Estos tratamientos fueron constatados con los siguientes controles (Tabla 1):

- 1. Control Positivo 1:** macetas de 1L a las que se les agregó un sustrato compuesto por tierra/vermiculita/turba en relación 2:1:1 y dos semillas de soja (*G. max*) sin inoculación con actinobacterias ni patógeno. Este control se realizó por quintuplicado.
- 2. Control Positivo 2:** macetas de 1L a las que se les agregó el sustrato ya descrito y dos semillas de soja con previa inoculación de actinobacterias. Este control se realizó por quintuplicado para cada una de las cepas de actinobacterias por lo que fueron 15 macetas para este control en particular.
- 3. Control Negativo 1:** macetas de 1L a las que se les agregó un sustrato ya descrito con previa inoculación con una solución de $1,2 \times 10^5$ UFC/ml de *R. solani* y dos semillas de soja sin inoculación de actinobacterias. Este control se realizó por quintuplicado.
- 4. Control Positivo 3:** macetas de 1L a las que se les agregó el sustrato ya descrito con previa inoculación con una solución de $1,2 \times 10^5$ UFC/ml de *R. solani*, y dos semillas de soja pre-tratadas con un fungicida químico comercial compuesto por 30 % de Carbendazim: (2-metoxicarbamoil)-bencimidazol 30g) y 30 % de Tiram (bisulfuro de tetrametil tiocarbonilo 30g), coadyuvantes y agua c.s.p 100cm³) tal como lo especifica el marbete del producto. El tratamiento de las semillas con este fungicida se realizó en idéntica forma en que fueron inoculadas las actinobacterias. Se seleccionó esta

combinación de compuestos por ser la más usada en la agricultura tradicional. Este control se realizó por quintuplicado.

5. Control positivo 4: placas de Petri con PDA sembradas con el inóculo de las 3 cepas de actinobacterias. Este control se realizó por duplicado.

6. Control Negativo 2: placas de Petri con PDA sin inocular. Este control se realizó por duplicado.

7. Control positivo 5: placas de Petri con PDA y 200 µl de la solución de *R. solani*.

Se realizaron dos experimentos con idénticos tratamientos y controles a fin de contar con una mayor cantidad de datos y evitar errores por bajo n. Los experimentos se llevaron a cabo en las instalaciones del laboratorio de la empresa Summabio ubicada en Ulderico Barboni 7980, Villa Gran Parque, en la ciudad de Córdoba, Argentina.

Tabla 1: Resumen de tratamientos y controles realizados en cada experimento.

Controles Positivos (C+ x)	Controles negativos (C- x)	Tratamientos (Tx)
C+1: maceta + 2 semillas <i>G. max</i> sin inoculación.	C-1: maceta + <i>R. solani</i> + semillas <i>G. max</i> sin inoculación.	Tx: maceta + <i>R. solani</i> + 2 semillas <i>G. max</i> inoculada con x actinobacteria.
C+2: maceta + 2 semillas <i>G. max</i> inoculadas con x actinobacteria.	C-2: placas de Petri con PDA.	-
C+3: maceta + <i>R. solani</i> + semillas con fungicida químico.	-	-
C+4: placas de Petri con PDA + actinobacterias.	-	-
C+5: placa de Petri con PDA + <i>R. solani</i> .	-	-

VARIABLES A MEDIR:

- Tiempo de emergencia: Es el número de días entre la siembra y la emergencia de la plántula. Considerando una planta emergida cuando se pueden observar ambos cotiledones desplegados.

- Supervivencia de plántulas: Esta variable se midió la primera semana post emergencia para evaluar la mortalidad de las plántulas causada por el patógeno. Cada unidad experimental obtuvo valores de 0 (una o ambas plantas vivas) o 1 (ambas plantas muertas).
- Incidencia de la enfermedad en estado fenológico V1: Se midió el número de plantas enfermas por unidad experimental. Cada unidad experimental obtuvo valores de 0 (una o ambas plantas sanas) o 1 (ambas plantas enfermas).
- Longitud de partes aérea y radicular. Se midió una vez finalizado el experimento. Se considera parte aérea a la comprendida desde el sustrato hasta el ápice de la planta y parte radicular a la comprendida entre el cuello de la raíz y la cofia (Ávila y Bernal, 2021).
- Peso fresco y peso seco de las partes aérea y radicular. Estas variables se midieron una vez finalizado el experimento, es decir, en estado fenológico V1. Se separaron parte aérea de parte radicular, seccionando en la zona por el cuello radicular y se procedió a pesar con balanza ambas partes por separado. Para el peso seco se secaron ambas partes por separado en estufa a una temperatura de 75°C constante por 24 hs (Ávila y Bernal, 2021).

Longitudes y pesos se midieron para evaluar si las cepas de actinobacterias tienen influencia sobre la promoción del crecimiento en las plantas de soja. En aquellos casos en los que sobrevivieron dos plantas en la misma maceta los valores de las variables de cada planta fueron promediados para obtener un único valor por unidad experimental.

Análisis estadísticos:

La asociación entre las variables binarias (supervivencia de plántulas e incidencia de la enfermedad) y los tratamientos se analizaron mediante tablas de contingencia, en base al Test Chi Cuadrado modificado para muestras menores a 5 (Test MV-G2) con un alfa del 95%. Se exploraron los residuos ajustados obtenidos a fin de conocer aquellos datos significativamente apartados de lo esperado bajo hipótesis de independencia. Las variables cuantitativas se analizaron mediante Análisis de Varianza. En los casos donde no se cumplió el supuesto de normalidad, se utilizó el Test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

Resultados

La efectividad de la solución utilizada para inocular con *R. solani* el sustrato de los experimentos se corroboró mediante la curva (Figura 4).

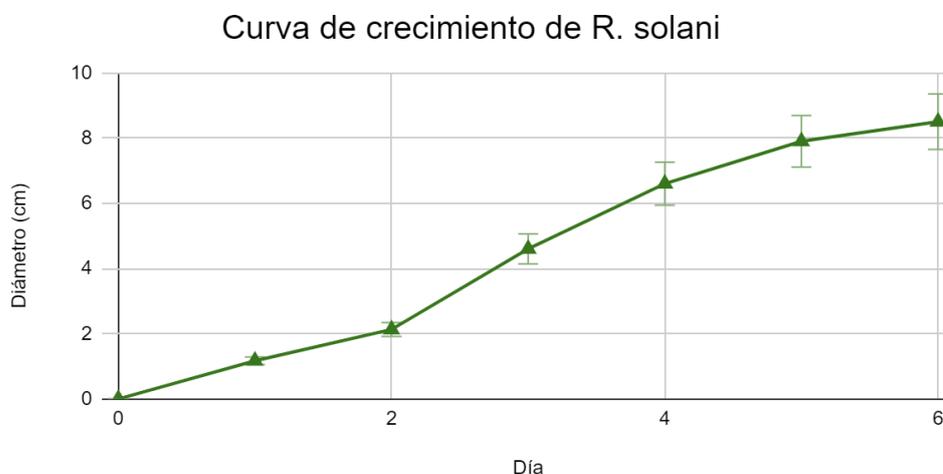


Figura 4. Curva de crecimiento del hongo fitopatógeno *R. solani* en placas de medio PDA. Este experimento se realizó con una doble repetición por triplicado cada vez.

Los dos experimentos realizados mostraron un efecto benéfico de las 3 cepas estudiadas (*S. antibioticus*, *S. antimycoticus* y *S. lavenduligriseus*) sobre la germinación y desarrollo de plántulas soja y un efecto antagonista frente *Rhizoctonia solani*, perfilándose *S. antimycoticus* como la más promisoría para el control de este fitopatógeno. Cabe aclarar que, para la mayoría de las variables, ambos experimentos arrojaron resultados similares, en algunos casos con variaciones en la significancia estadística entre los tratamientos (ver tablas y figuras).

Supervivencia de plántulas. Tanto en el experimento 1 como en el 2 se observó que la supervivencia de las plántulas una semana después de la emergencia dependió de los tratamientos (Tabla 2). Se observó un valor de supervivencia menor al esperado bajo la hipótesis de independencia (residuos ajustados <1.96) en el tercer control positivo (semillas de *G. max* inoculadas con fungicida químico) en ambos experimentos, mientras que los mayores registros de supervivencia se observaron en el tratamiento inoculado con *S. antimycoticus*, tanto en presencia como en ausencia de patógeno. Esto último también

pudo observarse en el segundo experimento de los tratamientos inoculados con *S. lavenduligriseus* en presencia de *R. solani* y en el primer experimento para el control positivo inoculado con *Streptomyces*, en ausencia del patógeno (residuos ajustados >1.96).

Tabla 2: Valores de supervivencia de plántulas por unidad experimental (UE) y residuos ajustados obtenidos a partir del cálculo de Test Chi cuadrado modificado para muestras menores a 5 (MV-G2) en tablas de contingencia para conocer la asociación entre la variable supervivencia de plántulas y los tratamientos (valores 0 indicaron supervivencia de una o ambas plántulas de la maceta y valores 1 indican muerte de ambas plántulas de la maceta). Residuos cuyo valor absoluto fue superior a 1.96 (significativamente apartados de los esperados bajo la hipótesis de independencia con un 95% de confianza) se indican en negrita.

Tratamiento/Control	<i>S. antibioticus</i>		<i>S. antimycoticus</i>		<i>S. lavenduligriseus</i>	
	Exp1. P= 0.2305 G2= 5.61	Exp2. P= 0.0027 G2=16.25	Exp.1 P= 0.0004 G2= 20.30	Exp.2 P< 0.0001 G2= 26.60	Exp.1 P= 0.0150 G2=12.34	Exp.2 P= 0.0079 G2= 13.81
Tratamiento (c/inóc. c/ <i>R. solani</i>)	1= 1 UE 0= 4 UE (1.31)	1= 1 UE 0= 4 UE (1.92)	1= 0 UE 0= 5 UE (2.31)	1= 0 UE 0= 5 UE (2.43)	1= 2 UE 0= 3 UE (0.44)	1= 1 UE 0= 4 UE (2.04)
C+2 (c/inóc.s/ <i>R. solani</i>)	1= 1 UE 0= 4 UE (1.31)	1= 1 UE 0= 4 UE (1.92)	1= 0 UE 0= 5 UE (2.31)	1= 0 UE 0= 5 UE (2.43)	1= 0 UE 0= 5 UE (2.65)	1= 0 UE 0= 5 UE (1.31)
C+1 (s/inóc. s/ <i>R. solani</i>)	1= 2 UE 0= 3 UE (-0.15)	1= 3 UE 0= 2 UE (-1.03)	1= 2 UE 0= 3 UE (-0.77)	1= 3 UE 0= 2 UE (-1.36)	1=2 UE 0= 3 UE (-0.29)	1= 3 UE 0= 2 UE (-0.87)
C+3 (c/fungicida químico/ <i>R. solani</i>)	1= 3 UE 0= 2 UE (-1.60)	1= 1 UE 0= 4 UE (-3.42)	1= 3 UE 0= 2 UE (-2.31)	1= 1 UE 0= 4 UE (-3.64)	1= 3 UE 0= 2 UE (-1.77)	1= 1 UE 0= 4 UE (-3.06)
C-1 (s/inóc. c/ <i>R. solani</i>)	1=2UE 0=3UE (-0.87)	1= 2 UE 0= 3 UE (0.44)	1= 2 UE 0= 3 UE (-1.54)	1= 2 UE 0= 3 UE (0.15)	1= 2 UE 0= 3 UE (-1.03)	1= 2 UE 0= 3 UE (0.58)

Incidencia de *R. solani*. En relación a la incidencia de *R. solani* en las plantas de soja hasta el estado fenológico V1 (Figura 5 a y b), el efecto fue más marcado, observándose la muerte del total de las plántulas en casi la totalidad de los controles (Tabla 3).

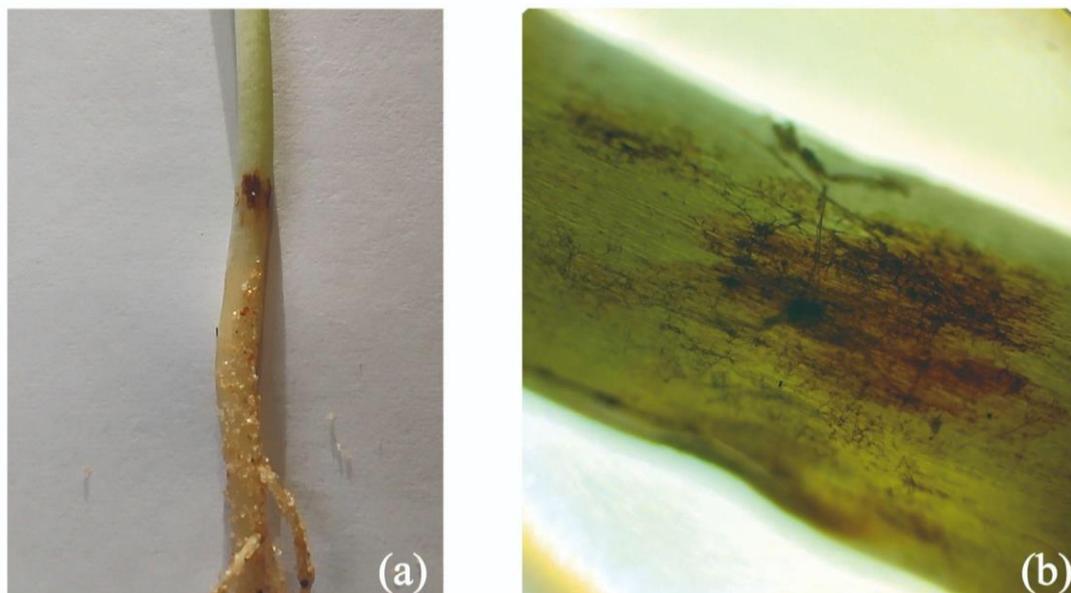


Figura 5. (a) Marchitamiento fúngico causado por infección de *R. solani* en tallo de *G. max*; (b). Fotografía al microscopio óptico de la infección 10x.

Los valores de incidencia que resultaron mayores a lo esperado bajo la hipótesis de independencia fueron los del tercer control positivo (semillas de *G. max* inoculadas con fungicida químico) en ambos experimentos. Por otro lado, los menores valores de incidencia se observaron en los controles positivos en ausencia de *R. solani*, tanto en los inoculados con *S. antibioticus* y *S. lavenduligriseus* como en los no inoculados (residuos ajustados >1.96).

Tabla 3. Valores de incidencia de la enfermedad fúngica de cada unidad experimental (UE) y residuos ajustados (indicados entre paréntesis) obtenidos a partir del cálculo de Test Chi cuadrado modificado para muestras menores a 5 (MV-G2) en tablas de contingencia para conocer la asociación entre la variable incidencia del patógeno *R. solani* en plantas de *G. max* en estado fenológico V1 y los tratamientos (valores 1 indican que ambas plantas de la maceta estaban enfermas y valores 0 indican que una o ambas plantas de la maceta estaban sanas). Residuos ajustados cuyo valor absoluto fue superior a 1.96 (significativamente apartados de los esperados bajo la hipótesis de independencia con un 95% de confianza) se indican en negrita.

	<i>S. antibioticus</i>		<i>S. antimycoticus</i>		<i>S. lavenduligriseus</i>	
Tratamiento/Control	Exp1. P= 0.0005 G2= 19.97	Exp2. P< 0.0001 G2= 26.38	Exp.1 P< 0.0001 G2= 25.37	Exp.2 P< 0.0001 G2= 30.47	Exp.1 P= 0.0006 G2=19.75	Exp.2 P< 0.0001 G2= 26.38
Tratamiento (c/inóc. c/ <i>R. solani</i>)	1= 1 UE 0= 4 UE (-0.48)	1= 1 UE 0= 4 UE (-1.16)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.88)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.88)	1= 2 UE 0= 3 UE (0.16)	1= 1 UE 0= 4 UE (-1.16)
C+2 (c/inóc. s/ <i>R. solani</i>)	1= 0 UE 0= 5 UE (-2.10)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.99)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.88)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.88)	1= 0 UE 0= 5 UE (-2.20)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.99)
C+1 (s/inóc. s/ <i>R. solani</i>)	1= 0 UE 0= 5 UE (-2.10)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.99)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.88)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.88)	1= 0 UE 0= 5 UE (-2.20)	1= 0 UE 0= 5 UE (-1.99)
C+3 (c/fungicida químico/ <i>R. solani</i>)	1= 3 UE 0= 2 UE (2.74)	1= 4 UE 0= 1 UE (4.64)	1= 3 UE 0= 2 UE (3.24)	1= 4 UE 0= 1 UE (4.95)	1= 3 UE 0= 2 UE (2.52)	1= 4 UE 0= 1 UE (4.65)
C-1 (s/inóc. c/ <i>R. solani</i>)	1= 3 UE 0= 2 UE (1.93)	1= 2 UE 0= 3 UE (0.50)	1= 3 UE 0= 2 UE (2.39)	1= 2 UE 0= 3 UE (0.68)	1= 3 UE 0= 2 UE (1.73)	1= 2 UE 0= 3 UE (0.50)

Emergencia de plántulas. En ambos experimentos observaron diferencias significativas en los días requeridos para la emergencia de las plántulas según los tratamientos aplicados. Las plantas de *G. max* que no fueron inoculadas con ninguna de las cepas bacterianas i.e: control positivo con semillas de *G. max* creciendo en sustrato sin actinobacterias y sin patógeno (control +1) y en sustrato que solo contenía *R. solani* (Control -1), fueron las que tardaron más tiempo en emerger (entre 6 y 7 días, Figura 6, 7 y 8 a).

Se observaron diferencias significativas en los días requeridos para la emergencia de las plántulas inoculadas con *S. antibioticus* en ambas experiencias (Figura 6) (Test de Kruskal Wallis Exp. 1 $H_{4, 15}=14.24$ P = 0,0016 y Exp 2 $H_{4, 13}=13.19$ P = 0.0038), así como para las plantas inoculadas con *S. antimycoticus* (Figura 7) (Test de Kruskal Wallis Exp. 1 $H_{4, 15}=14.24$ P = 0,0016 y Exp 2 $H_{4, 15}=14.24$ P = 0.0016) y con *S. lavenduligriseus* también mostraron diferencias significativas en los días requeridos para emerger en ambas experiencias (Figura 8) (Test de Kruskal Wallis Exp. 1 $H_{4, 15}=14.24$ P = 0,0016 y Exp 2 $H_{4, 15}=14.24$ P = 0.0016). En los tres casos, la emergencia de las plántulas ocurrió entre los días 4 y 5.

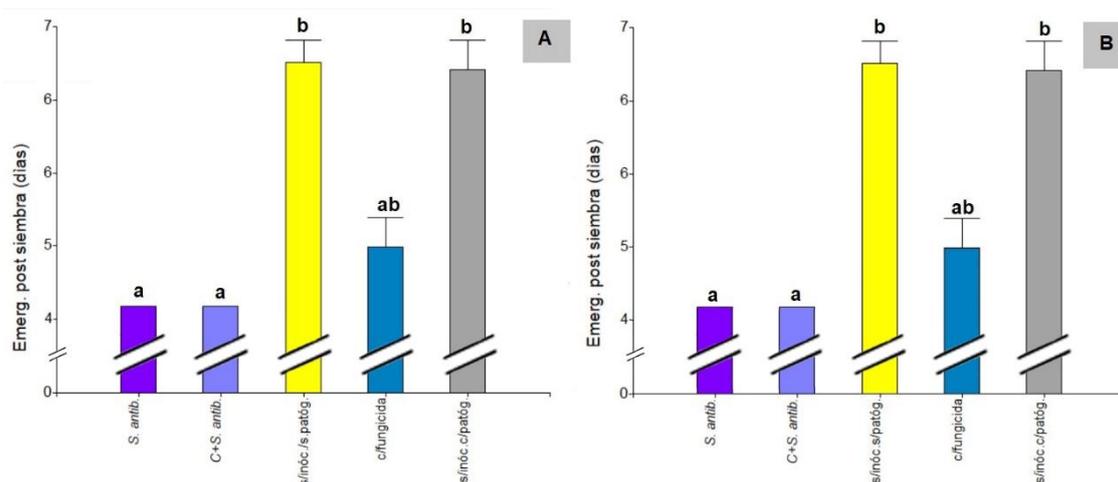


Figura 6. Emergencia en días según cada tratamiento: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo a Kruskal Wallis. Abreviaturas= S.antib: patógeno con *S. antibioticus*; C+S.antib.: Sólo *S. antibioticus*; s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

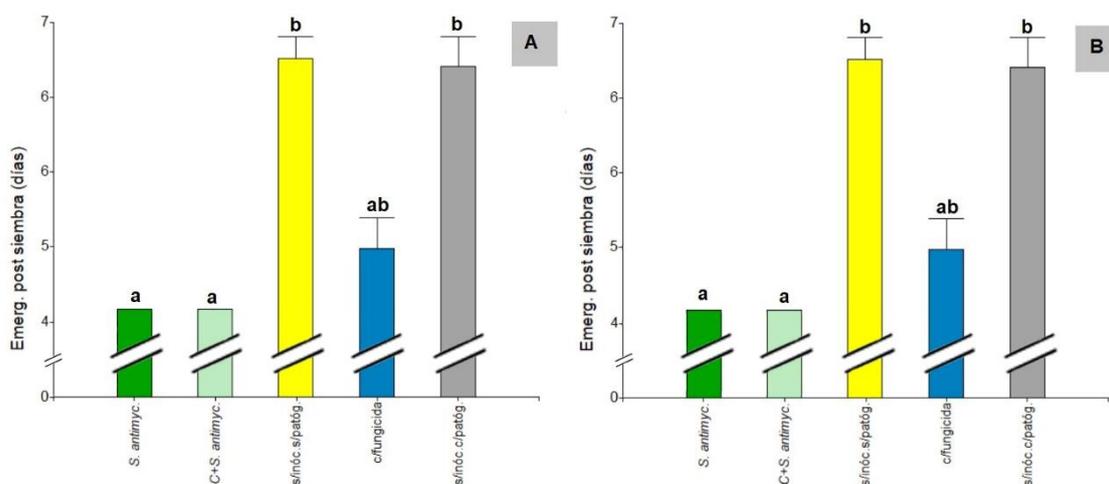


Figura 7. Emergencia en días según cada tratamiento: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo a Kruskal Wallis. Abreviaturas= S.antimyc.: patógeno con *S. antimycoticus*; C+S.antimyc.: Sólo *S. antimycoticus*; s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

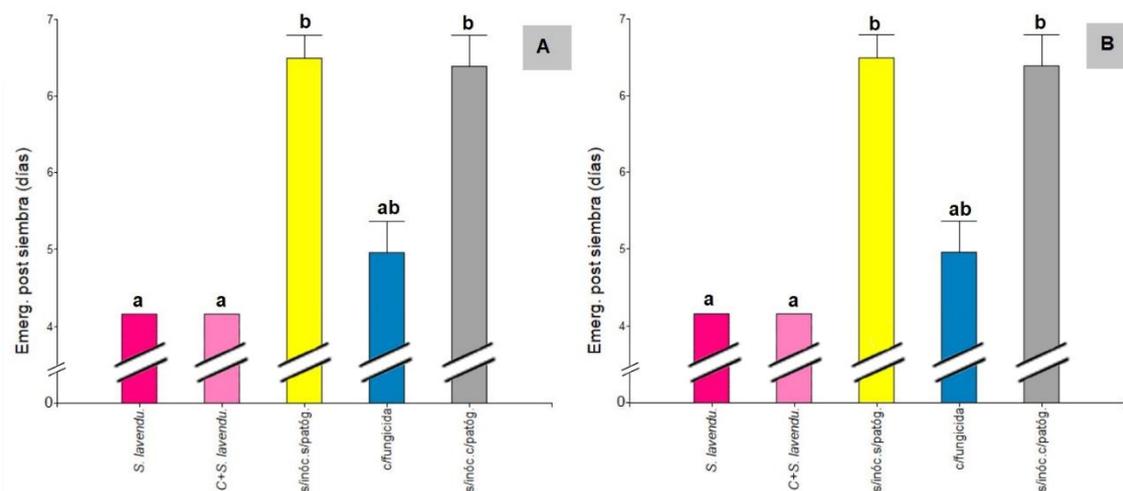


Figura 8. Emergencia en días según cada tratamiento: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo a Kruskal Wallis. Abreviaturas= S.lavendu.: patógeno con *S. lavenduligriseus*; C+S.lavendu.: Sólo *S. lavenduligriseus*; s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Para el caso de las 3 cepas bacterianas usadas como inoculante y en ambos experimentos, aquellas semillas que crecieron en sustrato con patógeno y con fungicida químico (control positivo 3) requirieron un número de días para la emergencia intermedio (entre 5 y 6 días) entre las inoculadas y las que no tuvieron inóculo (Figura 6, 7 y 8b).

Se presentan a continuación los resultados obtenidos en los experimentos para variables indicativas del crecimiento de las plantas, que fueron analizados separadamente para cada cepa de *Streptomyces*.

Streptomyces antibioticus

Se observaron diferencias significativas en la longitud de la parte aérea de las plantas en V1 en los dos experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 11} = 26,26$ $P < 0,0001$ y Exp 2 $F_{4, 13} = 6,21$ $P = 0,0051$). En ambos casos, las plantas de *G. max* del control positivo inoculadas con la cepa en ausencia de *R. solani* en sustrato fueron las que mayor longitud de la parte aérea alcanzaron, seguidas del tratamiento con la cepa y el patógeno, aunque con ligeras variaciones (Figura 9 a y b). Las plantas expuestas al patógeno, con o sin el inóculo de *S.*

antibioticus, no presentaron diferencias de largo entre sí, pero si una tendencia a mayor longitud respecto a plantas sin patógeno y sin inóculo bacteriano (Figura 9).

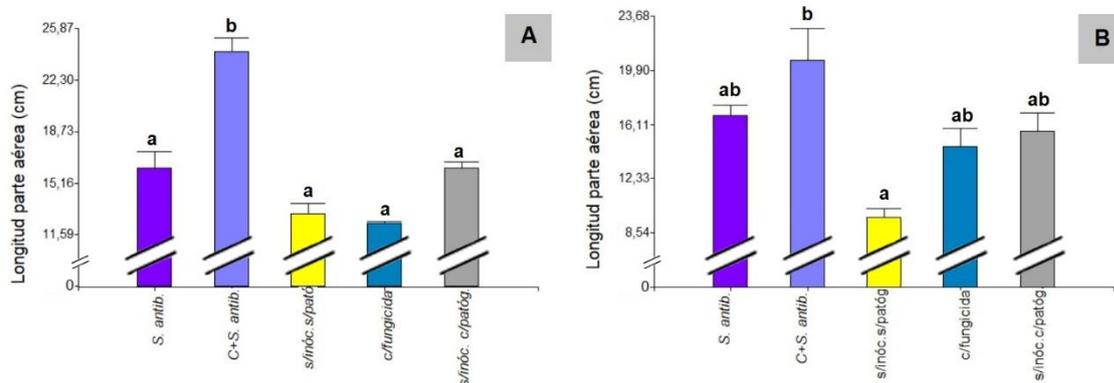


Figura 9. Longitud parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antibioticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S.antib: patógeno con *S.antibioticus*, C+S.antib.: Sólo *S. antibioticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

La variable longitud de la parte radicular de las plantas en V1 mostró diferencias significativas entre los tratamientos en ambos experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4,11} = 18,19$ $P = 0,0001$ y Exp 2 $F_{4,13} = 8,19$ $P = 0,0016$). En ambos casos, las plantas de *G. max* que inoculadas con la cepa en ausencia de *R. solani* en sustrato fueron las que mayor longitud en la parte radicular alcanzaron (Figura 10 a y b). En el experimento 2, el tratamiento con la cepa y el patógeno alcanzó valores estadísticamente intermedios (Figura 10b).

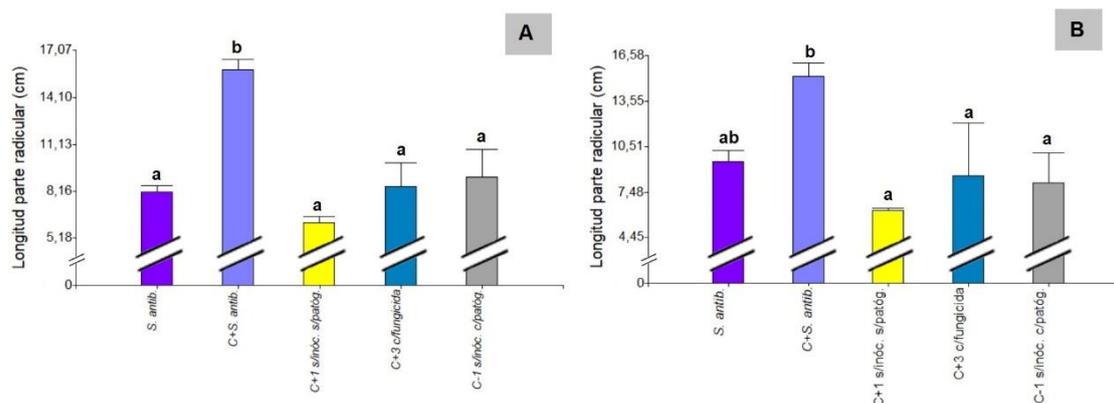


Figura 10. Longitud parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antibioticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales

indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S.antib: patógeno con *S. antibioticus*, C+S.antib.: Sólo *S. antibioticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Con respecto a la variable peso fresco de la parte aérea de las plantas en V1, en el primer experimento no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA $P > 0,05$, Figura 11 a), mientras que, en el segundo, el control positivo con *S. antibioticus* en ausencia de *R. solani*, es el que obtuvo mayor peso fresco en la parte aérea en comparación con los demás tratamientos (ANOVA $F_{4,13} = 24,55$ $P < 0,0001$, Figura 11b).

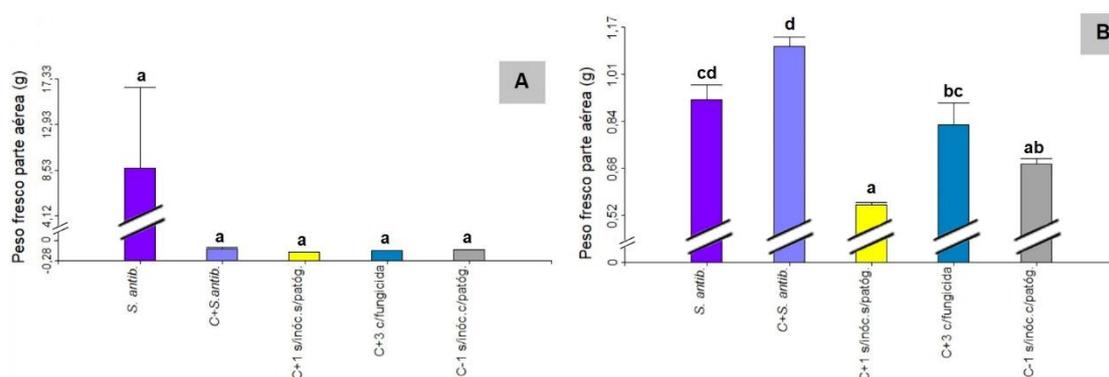


Figura 11. Peso fresco de la parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antibioticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S.antib: patógeno con *S. antibioticus*, C+S.antib.: Sólo *S. antibioticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

El peso fresco de la parte radicular de las plantas en V1 (Figura 12) varió significativamente dependiendo de los tratamientos (ANOVA Exp. 1 $F_{4,11} = 5,72$ $P = 0,0097$ y Exp 2 $F_{4,13} = 10,79$ $P = 0,0004$). Las plantas de *G. max* mostraron un mayor peso fresco de la parte radicular en el tratamiento con patógeno y con *S. antibioticus* y el control positivo inoculadas con el patógeno y con fungicida químico, aunque se registraron diferencias en las significancias estadísticas entre tratamientos de ambos ensayos (Figura 12 a y b).

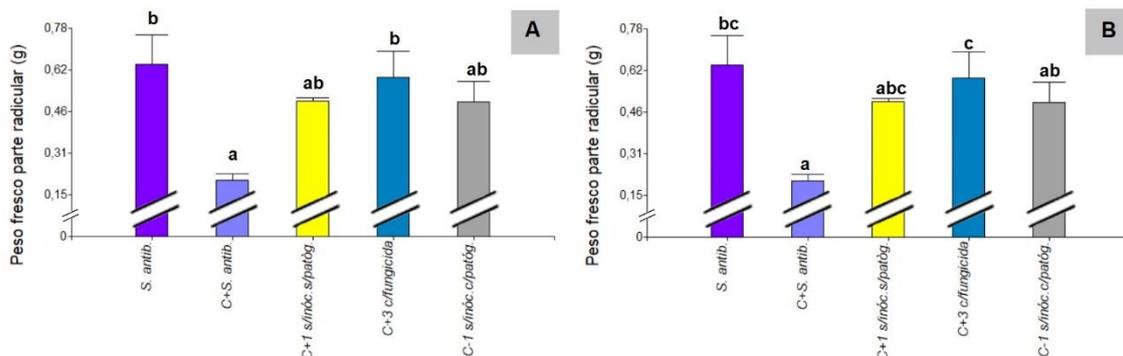


Figura 12. Peso fresco de la parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antibioticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S.antib: patógeno con *S.antibioticus*, C+S.antib.: Sólo *S. antibioticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

El peso seco de la parte aérea de las plantas en V1 (Figura 13) mostró diferencias significativas (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 11} = 6,46$ $P = 0,0063$ y Exp 2 $F_{4, 13} = 8,54$ $P = 0,0013$). En ambos experimentos, las plantas de *G. max* que mostraron un mayor peso seco en la parte aérea fueron los controles positivos inoculados con *S. antibioticus* en ausencia del patógeno. En el segundo experimento el control positivo que no estuvo inoculado con la cepa de actinobacteria y en ausencia de *R. solani* también mostró mayor peso seco en la parte aérea.

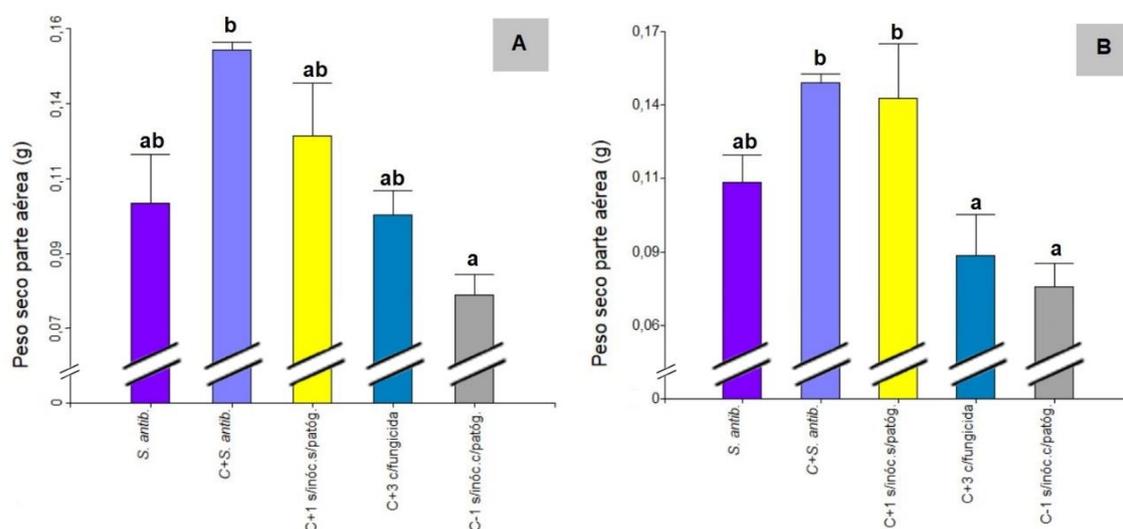


Figura 13. Peso seco de la parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antibioticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S.antib: patógeno con *S.antibioticus*, C+S.antib.: Sólo *S. antibioticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

En la variable peso seco de la parte radicular de las plantas en estado fenológico V1 (Figura 14), se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en ambos experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 11} = 7,01$ $P = 0,0047$ y Exp 2 $F_{4, 13} = 13,78$ $P = 0,0001$). Las plantas de *G. max* que mostraron un mayor peso seco en la parte radicular fueron los controles positivos que no estaban inoculados con *S. antibioticus* en ausencia del patógeno, es decir, plantas sin tratamiento, y el control positivo inoculado con fungicida químico. La inoculación con sólo *S. antibioticus* disminuyó significativamente el peso seco de raíz, más aún que la infección por el patógeno.

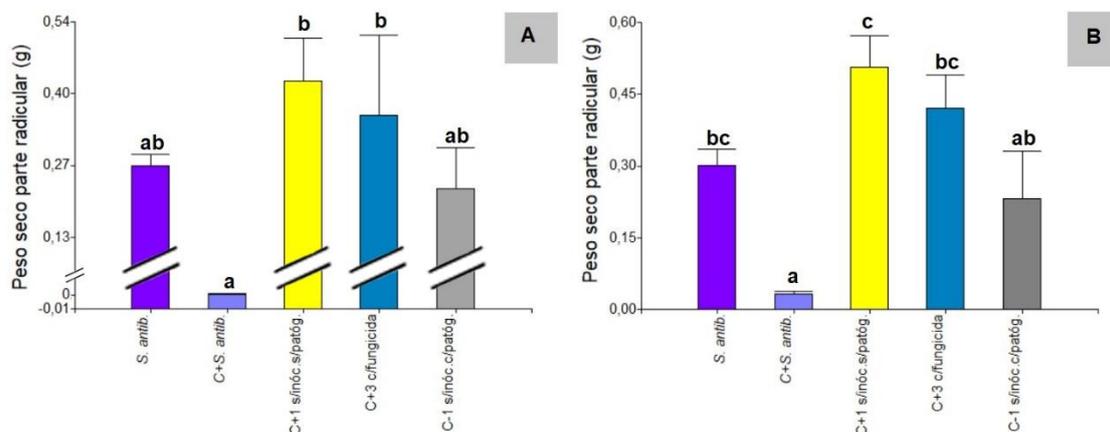


Figura 14. Peso seco de la parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antibioticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S.antib: patógeno con *S.antibioticus*, C+S.antib.: Sólo *S. antibioticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Streptomyces antimycoticus

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en ambos experimentos para la variable longitud de la parte aérea de las plantas en V1 (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 13} =$

44,04 $P < 0,0001$ y Exp 2 $F_{4, 13} = 12,25$ $P = 0,0002$). En ambos casos, las plantas de *G. max* inoculadas con *S. antimycoticus* en ausencia de *R. solani* fueron las que presentaron mayor longitud en la parte aérea (Figura 15 a y b).

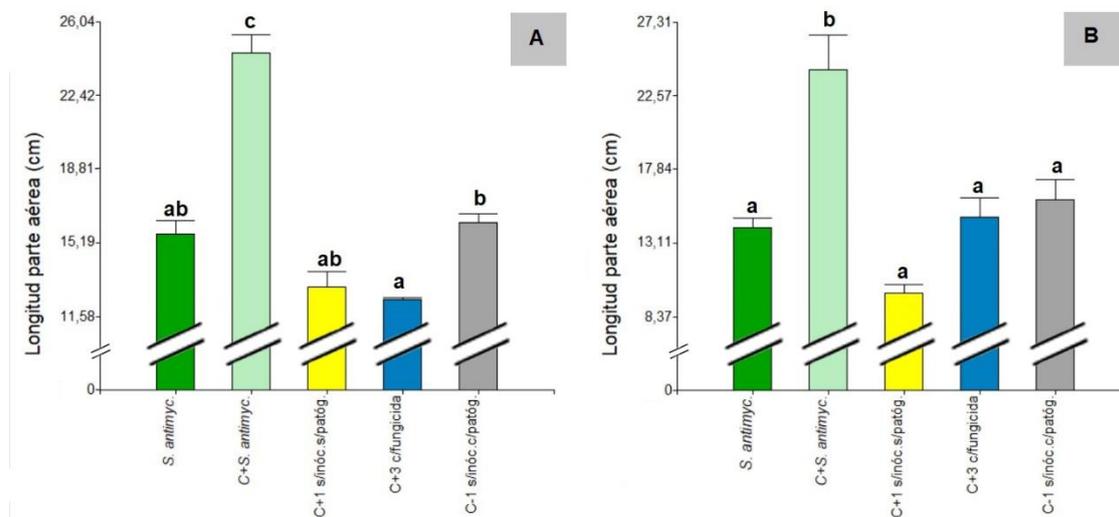


Figura 15. Longitud parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antimycoticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. antimyc: patógeno con *S. antimycoticus*, C+S. antimyc: Solo *S. antimycoticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Así mismo, en ambos experimentos, la longitud de la parte radicular de las plantas en V1 mostró diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 13} = 16,89$ $P < 0,0001$ y Exp 2 $F_{4, 13} = 6,40$ $P = 0,0081$). Las plantas de *G. max* inoculadas con *S. antimycoticus* en ausencia de *R. solani*, fueron las que mayor longitud en la parte radicular mostraron (Figura. 16 a y b).

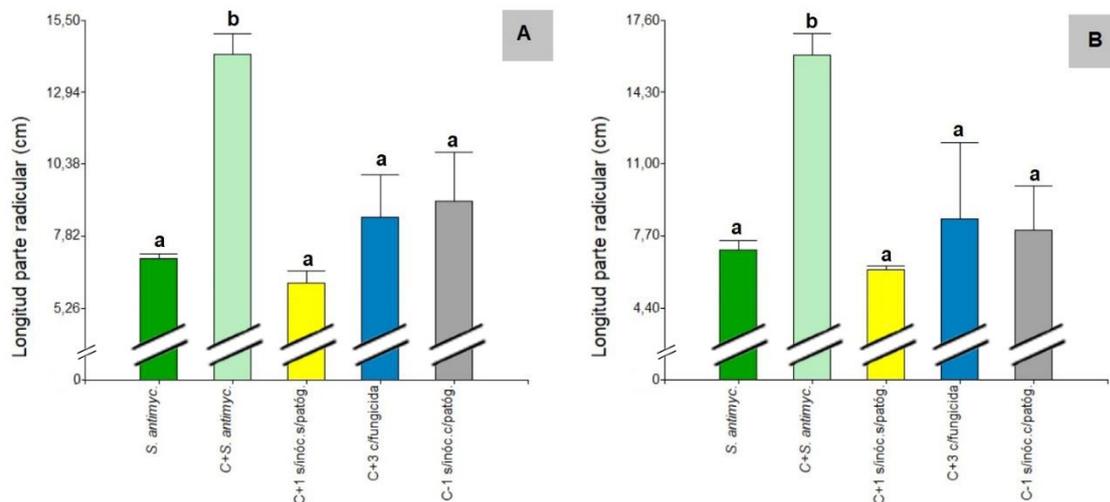


Figura 16. Longitud parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antimycoticus* en estado fenológico V1: **(A)** Experimento 1; **(B)** Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. antimyc: patógeno con *S. antimycoticus*, C+ S. antimyc: Solo *S. antimycoticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

También se observaron diferencias significativas en el peso fresco de la parte aérea de las plantas en V1 en ambos experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 13} = 7, 42 P = 0, 0024$ y Exp 2 $F_{4, 13} = 7, 36 P = 0, 0025$). En el primero (Figura 17a) se observa que, tanto el tratamiento inoculado con *S. antimycoticus* en presencia de *R. solani* como su control positivo inoculado con la misma cepa en ausencia del patógeno, fueron los que se diferenciaron significativamente de los demás tratamientos mostrando un mayor peso fresco en la parte aérea en las plantas de *G. max* una vez llegadas a V1. Por otro lado, en el segundo experimento (Figura 17b), solo el control positivo con el inóculo de la cepa, pero sin patógeno, es el que mostró mayor peso fresco en la parte aérea.

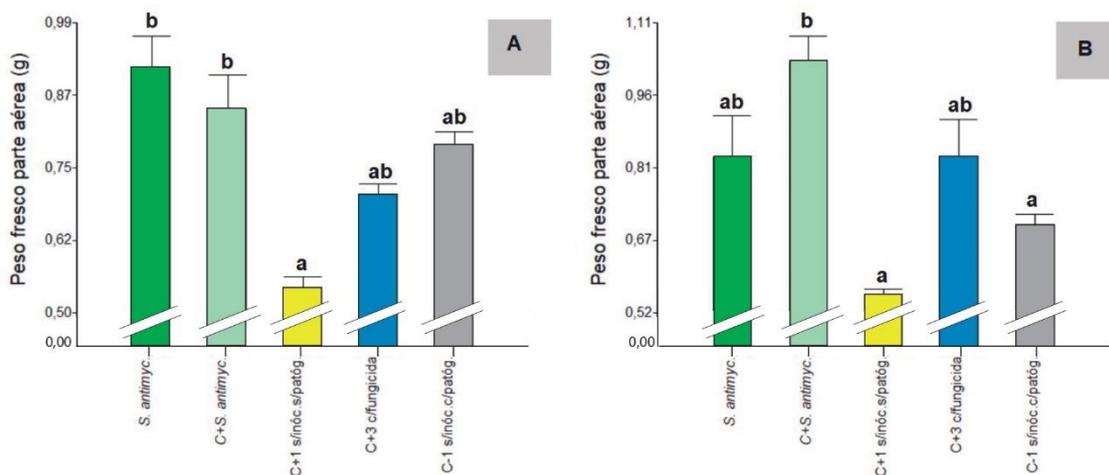


Figura 17. Peso fresco parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antimycoticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. antimyc: patógeno con *S. antimycoticus*, C+S. antimyc: Solo *S. antimycoticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

En cuanto al peso fresco de la parte radicular de las plantas en V1, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en ambos experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 13} = 48,76$ $P < 0,0001$ y Exp 2 $F_{4, 13} = 14,22$ $P = 0,0001$). El tratamiento en el que las semillas fueron inoculadas con *S. antimycoticus* es el que se diferencia significativamente del resto de los tratamientos y, además, es el que mayor peso fresco en la parte radicular presentó en ambos experimentos. (Figura 18 a y b).

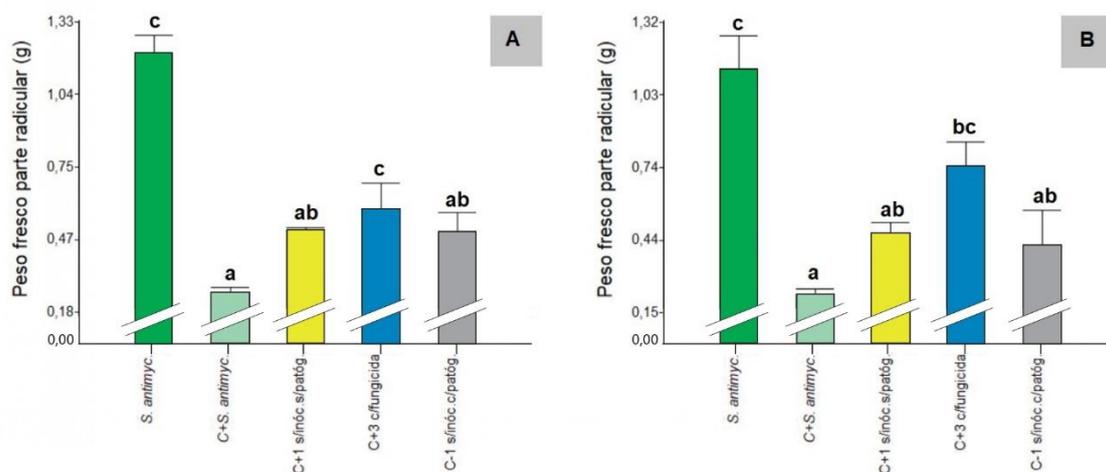


Figura 18. Peso fresco parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antimycoticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las

líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. antimyc: patógeno con *S. antimycoticus*, C+ S.antimyc: Solo *S. antimycoticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Si bien hay una tendencia a que la inoculación con la bacteria incremente el peso seco de la parte aérea en el experimento 1, la misma no es estadísticamente significativa y no se repitió en el experimento 2 (ANOVA Exp. 1 $P > 0,05$ y Exp 2 $P > 0,05$). (Figura 19 a y b).

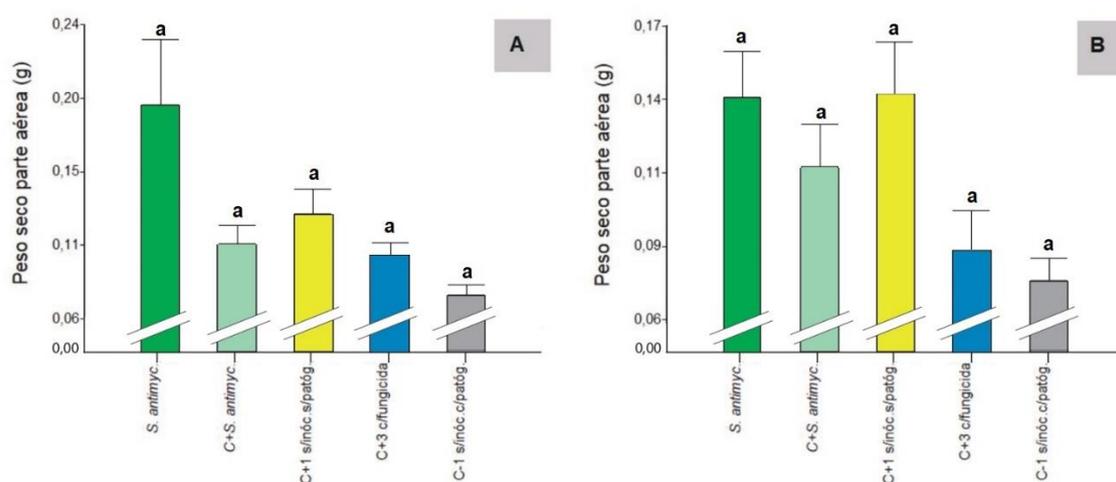


Figura 19. Peso seco parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antimycoticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. antimyc: patógeno con *S. antimycoticus*, C+ S.antimyc: Solo *S. antimycoticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Sin embargo, y en contraste con el dato anterior, el peso seco de la parte radicular de las plantas en V1 presentó diferencias significativas entre los tratamientos de ambos experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 13} = 113,48$ $P = 0,0001$ y Exp 2 $F_{4, 13} = 21,35$ $P < 0,0001$). En ambos casos, las plantas de *G. max* que fueron inoculadas con *S. antimycoticus* en presencia de *R. solani* presentaron mayor peso seco en la parte radicular en comparación con el resto de los tratamientos (Figura 20 a y b), contrastando particularmente con la inoculación de la bacteria en ausencia del patógeno, o con el patógeno solo.

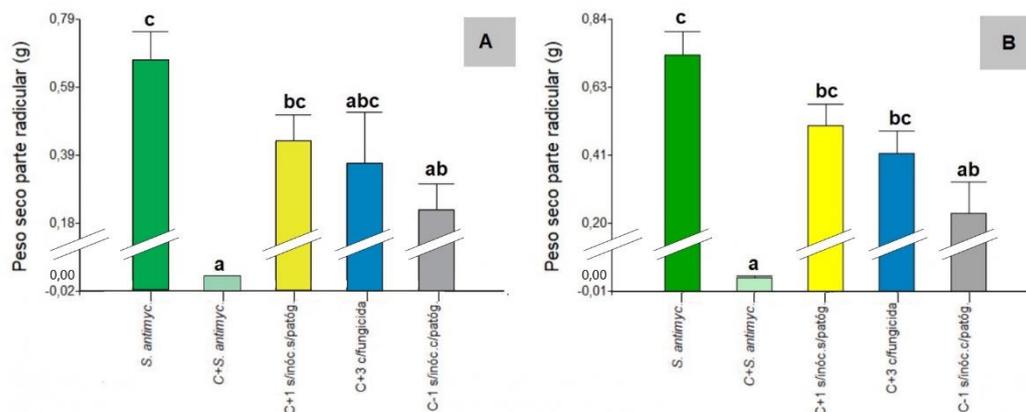


Figura 20. Peso seco de la parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces antimycoticus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= *S. antimyc*: patógeno con *S. antimycoticus*, C+ *S. antimyc*: Solo *S. antimycoticus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Streptomyces lavenduligriseus

Se observaron diferencias significativas en la longitud de la parte aérea de las plantas en V1 para ambas experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 12} = 21, 29$ $P < 0,0001$ y Exp 2 $F_{4, 12} = 81, 74$ $P < 0,0001$). Las plantas de *G. max* inoculadas con *S. lavenduligriseus* en ausencia de *R. solani* presentaron mayor longitud en la parte aérea, en ambos experimentos (Figura 21 a y b).

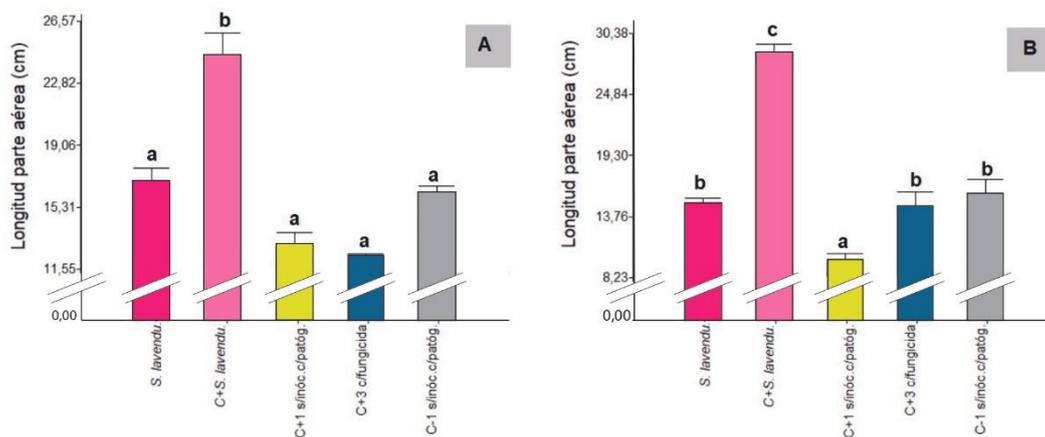


Figura 21. Longitud parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces lavenduligriseus* en estado fenológico V1: **(A)** Experimento 1; **(B)** Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. lavendu: patógeno con *S. lavenduligriseus*, C+ S. lavendu: Solo *S. lavenduligriseus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

En ninguno de los 2 experimentos se observaron diferencias significativas en la longitud de la parte radicular de las plantas en V1 (ANOVA Exp. 1 $P > 0,05$ y Exp 2 $P > 0,05$) luego de aplicar los diferentes controles y tratamientos con *S. lavenduligriseus*. (Figura 22 a y b).

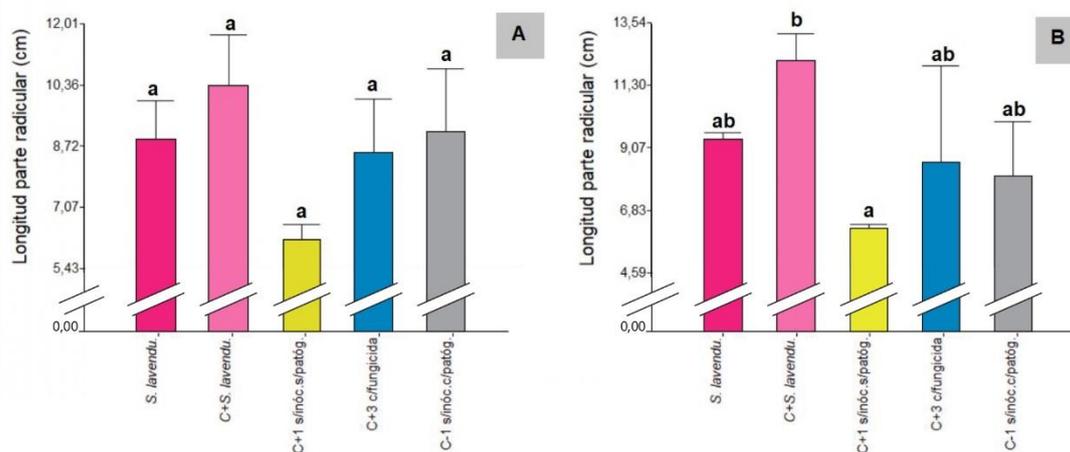


Figura 22. Longitud parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces lavenduligriseus* en estado fenológico V1: **(A)** Experimento 1; **(B)** Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. lavendu: patógeno con *S. lavenduligriseus*, C+ S. lavendu: Solo *S. lavenduligriseus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Se observaron diferencias significativas en el peso fresco de la parte aérea de las plántulas en V1, en ambos experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 12} = 287, 26 P < 0, 0001$ y Exp 2 $F_{4, 12} = 326, 37 P < 0,0001$). El tratamiento en el que las semillas fueron inoculadas con *S. lavenduligriseus* y plantadas en sustrato conteniendo el patógeno *R. solani*, fue el que presentó mayor peso fresco de parte aérea, diferenciándose significativamente del resto de los tratamientos. (Figura 23 a y b).

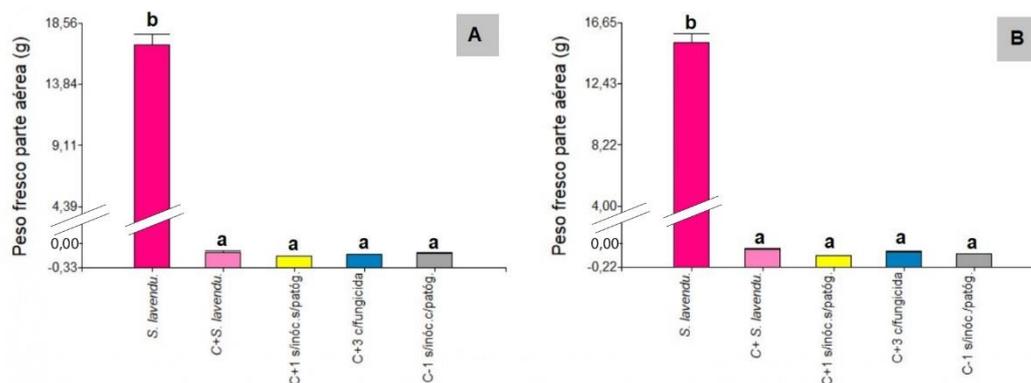


Figura 23. Peso fresco parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces lavenduligriseus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. lavendu: patógeno con *S. lavenduligriseus*, C+ S. lavendu: Solo *S. lavenduligriseus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Por el contrario, en el caso de la variable peso fresco de la parte radicular, si bien existieron diferencias significativas entre diferentes tratamiento en ambas experiencias (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 12} = 8,77$ $P = 0,0015$ y Exp 2 $F_{4, 12} = 5,23$ $P = 0,0113$), el tratamiento cuyas semillas fueron inoculadas con fungicida químico fue el que se diferenció significativamente del resto de los tratamientos y además presentó mayor peso fresco de la parte radicular (Figura 24 a y b).

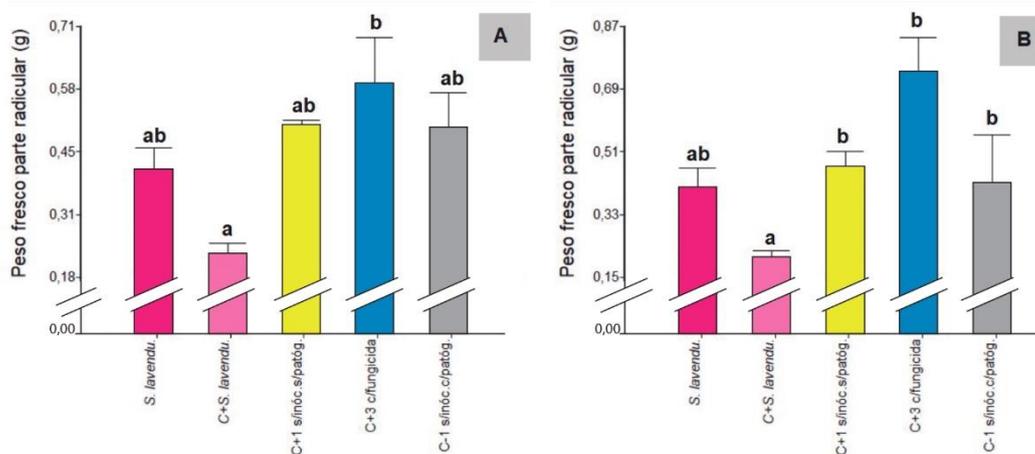


Figura 24. Peso fresco parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces lavenduligriseus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2.

Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. lavendu: patógeno con *S. lavenduligriseus*, C+ S. lavendu: Solo *S. lavenduligriseus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

El peso seco de la parte aérea presentó diferencias significativas entre tratamientos en ambas experiencias (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 12} = 3,99$ $P = 0,0276$ y Exp 2 $F_{4, 12} = 5,38$ $P = 0,0102$). El control sin tratamiento, es decir, que no estuvo inoculado con la cepa ni cuyo sustrato contenía al patógeno, fue el que se diferenció significativamente del resto de los tratamientos en ambas experiencias presentando el mayor peso seco (Figura 25 a y b).

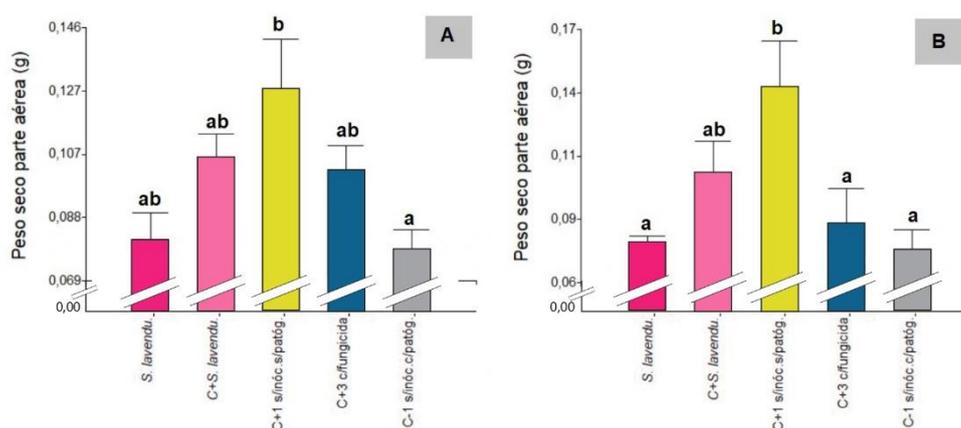


Figura 25. Peso seco parte aérea de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces lavenduligriseus* en estado fenológico V1: (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. lavendu: patógeno con *S. lavenduligriseus*, C+ S. lavendu: Solo *S. lavenduligriseus*, s/inóc. s/pat: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

El peso seco de la parte radicular de las plantas en V1 mostró diferencias significativas entre los tratamientos para ambos experimentos (ANOVA Exp. 1 $F_{4, 12} = 9,06$ $P = 0,0013$ y Exp 2 $F_{4, 12} = 9,84$ $P = 0,0009$). Al igual que con la variable anterior de peso seco de parte aérea, el control sin tratamiento, que no estuvo inoculado con la cepa y cuyo sustrato no contenía el patógeno, fue el que se diferenció significativamente del resto de los tratamientos (Figura 26 a y b).

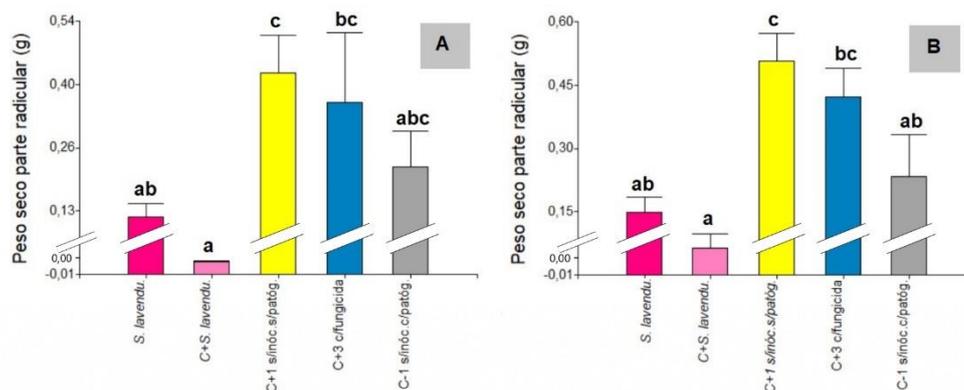


Figura 26. Peso seco parte radicular de plántulas de *Glycine max* del tratamiento con *Streptomyces lavenduligriseus* en estado fenológico V1: **(A)** Experimento 1; **(B)** Experimento 2. Las líneas verticales indican el error estándar y las letras sobre las barras indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey. Abreviaturas= S. lavenduligriseus: patógeno con *S. lavenduligriseus*, C+S. lavenduligriseus: Solo *S. lavenduligriseus*, s/inóc. s/patóg.: sin inóculo y sin patógeno; c/fungicida: patógeno con fungicida; s/inóc. c/patóg.: sin ningún inóculo de *Streptomyces* y con patógeno.

Discusión

Existen importantes relaciones entre los microorganismos de la rizósfera y las plantas. Las actinobacterias pueden promover el crecimiento de los tejidos vegetales y brindar una tolerancia al estrés, tanto biótico como abiótico. Estos organismos también se pueden utilizar como agentes de control biológico, ya que producen distintos tipos de metabolitos con propiedades biocidas y ejercen acción reguladora sobre microorganismos fitopatógenos (Sathya et al., 2017; Kontro et al., 2022).

En este trabajo se exploró la efectividad del control biológico mediante actinobacterias como alternativa al uso de fungicidas de síntesis química para controlar al hongo fitopatógeno *R. solani*, en condiciones de invernadero. Es importante destacar que en la literatura muy pocos estudios abordan la temática realizando experimentos “*in vivo*”, siendo el presente, uno de los primeros que explora la posibilidad de uso de actinomicetes para el manejo de *R. solani* en plántulas de soja.

Los dos experimentos realizados mostraron una significativa actividad antifúngica por parte de las tres especies de actinobacterias estudiadas (*S. antibioticus*, *S. antimycoticus*

y *S. lavenduligriseus*) sobre *Rhizoctonia solani*, perfilándose *S. antimycoticus* como la más promisoría para el control de este fitopatógeno.

Las plantas cuyas semillas fueron inoculadas con *S. antimycoticus* mostraron mayor **supervivencia** una semana después de la siembra, tanto aquellas que presentaban infección por *R. solani* como las no infectadas. Las semillas inoculadas con *S. lavenduligriseus* también presentaron una sobrevivencia significativamente mayor, observada tanto en ausencia del patógeno, en el experimento 1 (A), como en presencia de *R. solani*, en el experimento 2 (B). La disminución en la supervivencia cuando las plantas infectadas se trataron con fungicida químico fue significativa en la mayor parte de los experimentos realizados. Los resultados obtenidos sugieren que el crecimiento del hongo fitopatógeno *R. solani* puede ser controlado por actinobacterias en ensayos *in vivo* y que el fungicida usado, en las dosis utilizadas, no es totalmente efectivo para combatir al hongo. Las semillas de soja inoculadas con *S. antimycoticus* germinaron en sustrato conteniendo *R. solani* y produjeron plantas que sobrevivieron hasta el estado fenológico V1, con lo cual quedó demostrada la inhibición del denominado “damping-off” causado por *R. solani*. Similar efecto se observó para la cepa *S. lavenduligriseus*. Otros autores demostraron resultados similares tanto para *S. antimycoticus* versus *Fusarium culmorum* en *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae) y para *S. lavenduligriseus* versus *R. solani* en *Brassica rapa* var. *chinensis* (Brassicaceae), entre otras, lo que demuestra que el efecto antagonista de las actinobacterias frente a los fitopatógenos no se restringe a ciertas plantas huésped (Koch, 2009, Ohike, 2018). Estos resultados demuestran que las actinobacterias de *S. lavenduligriseus* y *S. antimycoticus* presentan actividad antagonista contra *R. solani* posiblemente por su capacidad de secretar metabolitos antifúngicos, si bien este no fue el foco del trabajo ni fue testeado. Si bien la actividad antifúngica de la cepa *S. antimycoticus* no fue estadísticamente evidenciada con los experimentos realizados, tanto la longitud de la parte aérea como el peso fresco de las raíces de las plantas inoculadas con esta cepa fue superior en plantas que contenían el sustrato inoculado con el patógeno.

Por otro lado, la mayor **incidencia de la enfermedad fúngica** se observó en plantas cuyas semillas habían sido inoculadas con fungicida químico (C+3). La incidencia fue tal que casi ningún ejemplar logró llegar a V1 y mostraron claros signos de infección, tales como chancros marrones y estrangulamiento en la zona del hipocótilo. A partir de estos

resultados se hace evidente la baja acción del fungicida que normalmente se emplea en agricultura tradicional para el control de *R. solani* en soja.

En otros estudios, Patil et al. (2010) demostraron a través de microscopía electrónica de barrido que algunas especies de actinobacterias del género *Streptomyces* destruyen el micelio fúngico sin ningún tipo de interacción física con el patógeno. Esto sería posible mediante liberación de metabolitos secundarios, aunque todavía se requieren más estudios para comprender mejor el mecanismo de defensa observado. En los ensayos de antagonismo “*in vitro*”, en placas que se realizaron previamente para seleccionar las especies de *Streptomyces* con mejor performance contra *R. solani*, se pudo comprobar claramente este efecto, ya que el crecimiento del patógeno se ve controlado por las actinobacterias (Summabio, datos no publicados).

Las semillas inoculadas con las distintas cepas de *Streptomyces* germinaron en tiempos más cortos, indistintamente de la cepa (4 a 5 días). Los controles, semillas infectadas que no fueron inoculadas con ninguna cepa, y las semillas no infectadas, en contraste, requirieron más tiempo para germinar (7 días). Esto nos sugiere que las cepas de *Streptomyces* utilizadas en este trabajo, de alguna manera, aumentan el poder germinativo de las semillas acelerando el proceso de manera efectiva, independientemente de la infección con *R. solani*.

Por otro lado, las plántulas provenientes de semillas que habían sido inoculadas con fungicida químico tardaron en emerger una cantidad de días intermedia entre los controles con actinobacterias y los controles sin actinobacterias, lo cual sugiere que los fungicidas de origen químico contienen hormonas como el ácido abscísico que demoran o inhiben la germinación de las semillas.

En conjunto, nuestros resultados demuestran el potencial de las actinobacterias para acortar el tiempo de germinación. La inoculación con cepas de *Streptomyces* de semillas de arroz (*Oryza sativa* L., Poaceae) (Hata et al, 2021) y de *Panicum virgatum* L. (Poaceae) (Niu et al 2022) realizadas en estudios recientes, demostraron la capacidad de estas actinobacterias para promover, no solo la defensa de las semillas contra patógenos sino también para aumentar su poder germinativo, y favorecer el crecimiento tanto de los tejidos radiculares como de los órganos vegetales aéreos, y aumentar la producción de biomasa, entre otros efectos.

En relación a la **longitud de la parte aérea**, los análisis realizados demostraron que las tres cepas promueven el crecimiento de esta zona en plantas sanas. Estos resultados están ligados probablemente con la capacidad de las actinobacterias del género *Streptomyces* para producir auxinas y giberelinas. Si bien las auxinas y giberelinas se pueden encontrar en la mayoría de los tejidos vegetales, se encuentran en mayor concentración en tejidos en desarrollo como meristemas apicales, hojas jóvenes y frutos, en forma de ácido indolacético (IAA) y son las responsables de su crecimiento (Hedden et. al, 1997; Hader et. al, 2004; Jordán et. al, 2006). Es importante destacar que en presencia del patógeno este efecto no se observó. Podría hipotetizarse que la enfermedad fúngica impide a las plántulas responder a las hormonas secretadas por los *Streptomyces*. Por otra parte, se hizo evidente, sólo a modo de tendencia, que la parte aérea de las plantas enfermas tratadas con todas las cepas de *Streptomyces* crecieron en mayor medida que aquellas tratadas con fungicida químico.

Por su parte, en el primer experimento realizada se observó que las raíces de plántulas sanas de *G. max* crecieron el doble cuando fueron inoculadas con *S. antibioticus* y *S. antimycoticus*, aunque en la segunda experimento solo pudo corroborarse este efecto estimulador para el crecimiento de las raíces para *S. antimycoticus*. Contrariamente a lo mencionado para la porción aérea de las plántulas, las cepas de *Streptomyces* no promovieron un mayor crecimiento de la porción radicular en plantas enfermas que el observado en plantas enfermas con fungicida químico. La cepa *S. lavenduligriseus* no promovió un crecimiento significativo de la porción radicular de las plantas en ningún caso. Es posible que las diferencias fenológicas observadas en el crecimiento aéreo y radicular de las plántulas se deban a que cada especie de actinobacteria libere distintas hormonas y al antagonismo existente entre éstas últimas. Así por ejemplo, las auxinas promueven desarrollo de tallo principal y raíces adventicias pero no de la raíz principal. Las citocininas tienen el efecto contrario, promueven el desarrollo de una raíz principal más larga y en el tallo estimulan la formación de ramas laterales y hojas.

La cepa *S. lavenduligriseus* aumentó el peso **fresco en la parte aérea** de las plántulas en presencia de *R. solani*, del mismo modo que se observó en el primer experimento para plántulas inoculadas con *S. antibioticus* y *S. antimycoticus*. Esto parece estar relacionado con la capacidad que las cepas de *Streptomyces* les brindan a las plantas para reducir la pérdida de agua en las células mediante el cierre de estomas (Olanrewaju et al.,

2019). También *S. antimycoticus* promovió un **mayor peso fresco en la parte radicular** de las plantas. Por otro lado, las plantas tratadas con *S. antimycoticus* mostraron un **mayor peso seco en su porción radicular**, lo que indicaría mayor producción de biomasa (Barrios et. al, 2014). Según Hamdali et al. (2008), actinobacterias del género *Streptomyces* aumentan significativamente el peso de las raíces de plantas de trigo, mientras que Srivastava et al. (2015) demostraron que la especie *S. rochei* aumenta la acumulación de biomasa en la parte radicular de garbanzo en un 20%. Todos estos resultados ponen en evidencia la capacidad de *S. antimycoticus* no sólo para impedir el damping-off causado por el patógeno sino también como promotora de crecimiento, logrando que las plantas se desarrollen en un tiempo significativamente más corto y que acumulen mayor cantidad de nutrientes.

Conclusiones:

Bajo las condiciones de este estudio, podemos concluir que las cepas de *Streptomyces* estudiadas representan alternativas al uso de fungicidas químicos para controlar al hongo fitopatógeno *R. solani* en plantas soja (*G. max*), ya que pudo comprobarse que la inoculación de las semillas con *S. antimycoticus* disminuyó significativamente el porcentaje de incidencia de la enfermedad mientras que *S. lavenduligriseus* aumentó la supervivencia de las plántulas. En ambos casos, estos efectos difirieron significativamente a los observados en plantas tratadas con fungicida químico. Además, fue posible observar claramente que los *Streptomyces* aportan otros efectos benéficos a las plántulas de soja “*in vivo*”, tales como la aceleración en la germinación de las semillas y la promoción del crecimiento, tanto en partes aéreas como en las raíces de las plantas.

- 1- *S. antimycoticus* mejoró la supervivencia de plántulas expuestas a sustrato inoculado con *R. solani*.
- 2- Las 3 especies de *Streptomyces* utilizadas disminuyeron la incidencia de la enfermedad.
- 3- Las 3 especies de *Streptomyces* utilizadas acortaron los tiempos de emergencia de las plántulas de 6-7 días a 4-5 días, aún en presencia de *R. solani*.

Proyecciones:

Es importante destacar que se deberían realizar nuevos estudios que complementen los resultados aquí obtenidos. Así, por ejemplo, sería interesante relacionar

experimentalmente la promoción en el crecimiento de los tejidos vegetales en plantas inoculadas con *Streptomyces* aquí observada con un aumento de la concentración de hormonas, para lo cual serían necesarios dosajes de auxinas y giberelinas para relacionarlas con el crecimiento de tallos y raíces respectivamente. Por otro lado, podrían realizarse estudios “*in vivo*” más específicos para conocer si los mecanismos fisiológicos que utilizan las distintas cepas de *Streptomyces* para controlar el crecimiento de *R. solani* son diferentes y así profundizar en el conocimiento de estas interacciones biológicas.

Bibliografía

Ávila, F. S. & Bernal, G. (2021). Efecto de la inoculación combinada de micorrizas y *Bradyrhizobium* en el crecimiento y absorción de nutrientes de la soya (*Glycine max* L. MERRILL). Editorial Grupo Compás.

Barrios, M. B., Buján, A., Debelis, S. P., Sokolowski, A. C., Blasón, Á. D., Rodríguez, H. A., & Gagey, M. C. (2014). Relación de raíz/biomasa total de Soja (*Glycine max*) en dos sistemas de labranza. *Terra Latinoamericana*, 32(3), 221-230.

Ben-Omar, N.; Merroun, M. L. M.; Arias Penalver, J. M. & González, M. M. T. (1997). Comparative heavy metal biosorption study of brewery yeast and *Myxococcus xanthus* biomass. *Chemosphere*. 35: 2217-2283.

Bergey, D. H. & Holt, J. G. (2000). *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Carmona, M. . Herbario Virtual. Cátedra de Fitopatología. Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. <http://herbariofitopatología.agro.uba.ar> (Consultado 18 de Abril 2022).

Castro, J. C.; Tuesta, C. M.; Moscol, J. C.; Cabello, N. G. & Quispe, J. L. (2019). Isolation and selection of rhizospheric actinomycetes with antagonistic activity against potato phytopathogens (*Solanum tuberosum* spp. *andigena*). *Ecología Aplicada*, 18 (2): 101-109.

Erasto, R., Kilasi, N., & Madege, R. R. (2023). Prevalence and Management of Phytopathogenic Seed-Borne Fungi of Maize. *Seeds*, 2(1), 30-42.

Ferri, M.; Ruberti, D.; Biffis, F. & Scandiani, M. (2011). Identificación de especies de *Rhizoctonia spp.* aisladas con trampas de plántulas de soja. Libro de Resúmenes Mercosoja 2011. 14 al 16 de septiembre. Rosario, Argentina.

García, L. (2013). Implementación de un método de conservación de cepas bacterianas. Tesis doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México.

Gutiérrez, N.; Ferraro, B.; Patrouilleau, M. M.; Alonso, I. A.; Rodas, C.; Carrasco, J. & Cordeiro, L. A. M. (2020). Políticas públicas e institucionalidad para la intensificación sostenible en los países del Cono Sur. IICA, PROCISUR.

Hager, A. (2003). Role of the plasma membrane H⁺-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects. *Journal of Plant Research*, 116, 483-505.

Hamdali, H., Hafidi, M., Virolle, M. J., & Ouhdouch, Y. (2008). Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphate solubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under greenhouse conditions. *Applied Soil Ecology*, 40(3), 510-517.

Hata, E. M., Yusof, M. T., & Zulperi, D. (2021). Induction of systemic resistance against bacterial leaf streak disease and growth promotion in rice plant by *Streptomyces shenzhenesis* TKSC3 and *Streptomyces sp.* SS8. *The Plant Pathology Journal*, 37(2), 173.

Hedden, P., & Kamiya, Y. (1997). Gibberellin biosynthesis: enzymes, genes and their regulation. *Annual Review of Plant Biology*, 48(1), 431-460.

Hernández-Forte, I., Almeida-Leite, R. D., & Nápoles-García, M. C. (2021). Diazotrofia de rizobios asociados a plantas de arroz cv. INCA LP-5 e INCA LP-7. *Cultivos Tropicales*, 42(3).

Ivancovich, A. J., & Lavilla, M. (2016). Propuestas de escalas para la evaluación a campo y en laboratorio del tizón foliar y la mancha púrpura de la semilla, causadas por *Cercospora kikuchii* en soja. EEA Pergamino, INTA.

Jordán, M., & Casaretto, J. (2006). Hormonas y reguladores del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas. Squeo, F. A., & Cardemil, L.(eds.). Fisiología Vegetal, 1-28.

Koch, E., & Löffler, I. (2009). Partial characterization of the antimicrobial activity of *Streptomyces antimycoticus* FZB53. *Journal of Phytopathology*, 157(4), 235-242.

Kontro, M. H., Yaradoddi, J. S., Ganachari, S. V., Banapurmath, N. R., & Umesh, M. K. (2022). Actinomycetes in Agriculture and Forestry. In *Actinobacteria: Ecology, Diversity, Classification and Extensive Applications* (pp. 213-232). Singapore: Springer Nature Singapore.

Lago, M.E.; Rojo, R.; Magnano, L.; Huarte, F., Menegazzo, M., Biscayart, J., Algido Coletti, E., Mansilla, C., Albertengo, A., Fiorido, L., Tamagnone, M., Giorgi, M., Ordazzu, R. & Ganosi, A. (2016). Control de *Rhizoctonia solani* en soja con formulaciones de *Trichoderma harzianum* con distintos períodos de almacenamiento. *Para Mejorar la Producción*. 55: 123-124.

López Cruz, V. A. (2021). Nueva metodología para la interpretación de la distribución espacial de "*Rhizoctonia solani* Kühn" en el cultivo de "*Vigna unguiculata*" L. Walp (fríjol caupí), mediante la aplicación de técnicas geoestadísticas, en la provincia de Holguín, Cuba. Tesis doctoral, Universidad de Coruña.

López S.C. & Barbaro N.O. (1988). Efecto de la irradiación y el autoclavado sobre el fósforo extractable e intercambiable de los suelos. *Ciencia del Suelo*. 6 (2): 159-161.

Martínez Fernández, J. A. (2003). Manejo de aislamientos de *Rhizoctonia solani* y evaluación de la resistencia a *Mustia hilachosa* en frijol. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 26p. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/5132803b-e20b-4bb7-89ff-1f4179ed434d/content> (consultado 04/07/2022).

Mishra M. (2013). Role of eco-friendly agricultural practices in Indian agriculture development. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 4 (2): 11-15.

Mitra, D.; Mondal, R.; Khoshru, B.; Senapati, A.; Radha, T.K.; Mahakur, B.; Uniyal, N.; Myo, E.M.; Boutaj, H.; Guerra Sierra, B. E.; Panneerselvam, P.; Ganesha Murthy, A.N.; Andelkovic, S.; Vasic, T.; Rani, A.; Dutta, S. & Das Mohapatra, P. (2021). Actinobacteria-enhanced plant growth, nutrient acquisition, and crop protection: Advances in Soil, Plant, and Microbial Multifactorial Interactions. *Pedosphere*, 32 (1): 149-170.

Niu, Z., Yue, Y., Su, D., Ma, S., Hu, L., Hou, X., & Wu, H. (2022). The characterization of *Streptomyces alfalfae* strain 11F and its effect on seed germination and growth promotion in switchgrass. *Biomass and Bioenergy*, 158, 106360.

Ohike, T., Maeda, M., Matsukawa, T., Okanami, M., Kajiyama, S., & Ano, T. (2018). In vitro and in vivo assay for assessment of the biological control potential of *Streptomyces* sp. KT. *Journal of Plant Studies*, 7(1), 10-18.

Olanrewaju, O. S., & Babalola, O. O. (2019). *Streptomyces*: implications and interactions in plant growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 1179-1188.

Patil, H. J., Srivastava, A. K., Kumar, S., Chaudhari, B. L., & Arora, D. K. (2010). Selective isolation, evaluation and characterization of antagonistic actinomycetes against *Rhizoctonia solani*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 2163-2170.

Patiño-Moscoso, M. A., Osorio-Guerrero, K. V., Flórez-Gómez, D. L., Sarmiento-Moreno, L. F., & Vargas-Ramírez, D. N. (2023). Identificación molecular y prevalencia de contaminantes fúngicos en semillas de cultivos semestrales. *Scientia Agropecuaria*, 14(3), 347-358.

Persley, D. (1993). Diseases of fruit crops. Queensland, AU: Department of Primary Industries.

Santos, A., Núñez-Montero, K., Lamilla, C., Pavez, M., Quezada-Solís, D., & Barrientos, L. (2020). Antifungal activity screening of antarctic actinobacteria against phytopathogenic fungi. *Acta Biológica Colombiana*. 25 (2): 353-358.

Sathya, A., Vijayabharathi, R., & Gopalakrishnan, S. (2017). Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. *Biotech*, 7, 1-10.

Shanthi, V. (2021). Actinomycetes: Implications and prospects in sustainable agriculture. *Biofertilizers: Study and Impact*, 335-370.

Singh, C., Parmar, R. S., Jadon, P. & Kumar, A. (2016). Characterization of actinomycetes against phytopathogenic fungi of *Glycine max* (L.). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 9 (1): 216-219.

Valentín Torres, S., Vargas, M. M., Godoy-Lutz, G., Porch, T. G., & Beaver, J. S. (2016). Isolates of *Rhizoctonia solani* can produce both web blight and root rot symptoms in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Disease*, 100 (7): 1351-1357.

Vera, A. D. G. (2012). Métodos y reacción de cultivares de arroz y maíz a *Rhizoctonia solani*. Editorial Académica Española.

Veyisoglu, A & Tatar, D. (2021). Screening of Acidophilic Actinobacteria that shows activity against Paddy Pest Fungi. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*. 5 (3): 425-432.

Yandigeri, M. S. (2021). Role of actinomycetes in insect pest and plant disease management. In *Biopesticides in Horticultural Crops* (pp. 152-172). CRC Press.

Zhang, H., Bai, X., Han, Y., & Han, L. (2022). Isolation, identification, and growth-promotion function of *Streptomyces* sp. in wetland rhizosphere. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2112434/v1>