



Figura 1. Producción industrial de fresa hidropónica inoculada con *Trichoderma* (Almonte, Huelva).

**Dr. Enrique Monte
Vázquez**

Instituto Hispano-Luso
de Investigaciones
Agrarias (CIALE),
Universidad de
Salamanca

Presente y perspectivas futuras del control biológico con *Trichoderma*

Trichoderma es un género de hongos propuesto por el micólogo africano C.H. Persoon en 1794 para agrupar hongos verdes descomponedores de madera. El género cuenta con más de doscientas especies y desde que se empezaron a conocer sus habilidades como agentes de control biológico (ACB) y fábrica de proteínas es uno de los géneros de ascomicetos más estudiados. Las técnicas ómicas han permitido profundizar no sólo en los mecanismos directamente relacionados con el control biológico, como el micoparasitismo, la antibiosis y la competición, sino que han proporcionado instrumentos para entender mejor la relación que las especies de *Trichoderma* tienen con las plantas (Lorito y col., 2010). Así, se ha empezado a explotar de forma racional la capacidad de determinadas cepas para estimular las defensas y el crecimiento de las plantas cultivadas, y se ha logrado implementar el marco legislativo para la explotación comercial de esas cepas. No obstante, el camino por recorrer sigue siendo todavía muy largo.

Trichoderma como agente de control biológico

Durante mi tesis doctoral sobre control biológico de la caída de plántulas de remolacha (Monte, 1986), inicié una colección de cepas de *Trichoderma* que caracterizamos molecularmente (Hermosa y col., 2000). Comprobamos que la mayor diversidad de cepas ACB frente a hongos fitopatógenos se encontraba en el complejo de especies *T. harzianum* y en genotipos, desconocidos hasta entonces, que darían lugar a las nuevas especies *T. asperellum* y *T. atroviride*. Como estrategia de nutrición biotrófica, en mayor o menor medida, todas las especies de *Trichoderma* son micoparásitos de hongos fitopatógenos y oomicetos. El uso de criterios moleculares relacionados con la eficacia en ensayos de campo fue de suma importancia para seleccionar las mejores cepas de *Trichoderma* e iniciar el registro del primer biofungicida aprobado en España. Después de ocho interminables años conseguimos el registro de TUSAL® (*Trichoderma* de la Universidad de Salamanca) y en 2004 participamos en el consorcio que registró *Trichoderma* en la UE, a la vez que lideramos el proyecto TRI-CHOEST (UE-5PM) de genómica funcional de *Trichoderma*.

Con la anotación de los primeros genomas pudimos disponer de un arsenal inédito de genes y comprobamos que lo que hace especialmente relevante a *Trichoderma* es su gran oportunismo ambiental, el mayor número, en calidad y cantidad, de genes que codifican enzimas hidrolíticas (ej.: glucanasas y quitinasas) de todo el Reino Fungi, y su gran variedad de metabolitos secundarios, muchos de ellos con actividad antibiótica. Estos atributos señalan el micoparasitismo (Figura 2) como la forma de vida ancestral de *Trichoderma* (Kubicek y col., 2011) y, en un evento evolutivo posterior, las especies que parasitaban las hifas de hongos descomponedores de madera les habrían robado los genes para degradar materia orgánica vegetal, adquiriendo así las enzimas necesarias para cambiar su estilo de vida hacia la colonización de la rizosfera, el endofitismo, y la relación beneficiosa y estable con las plantas. Pese a la amplitud del género *Trichoderma*,

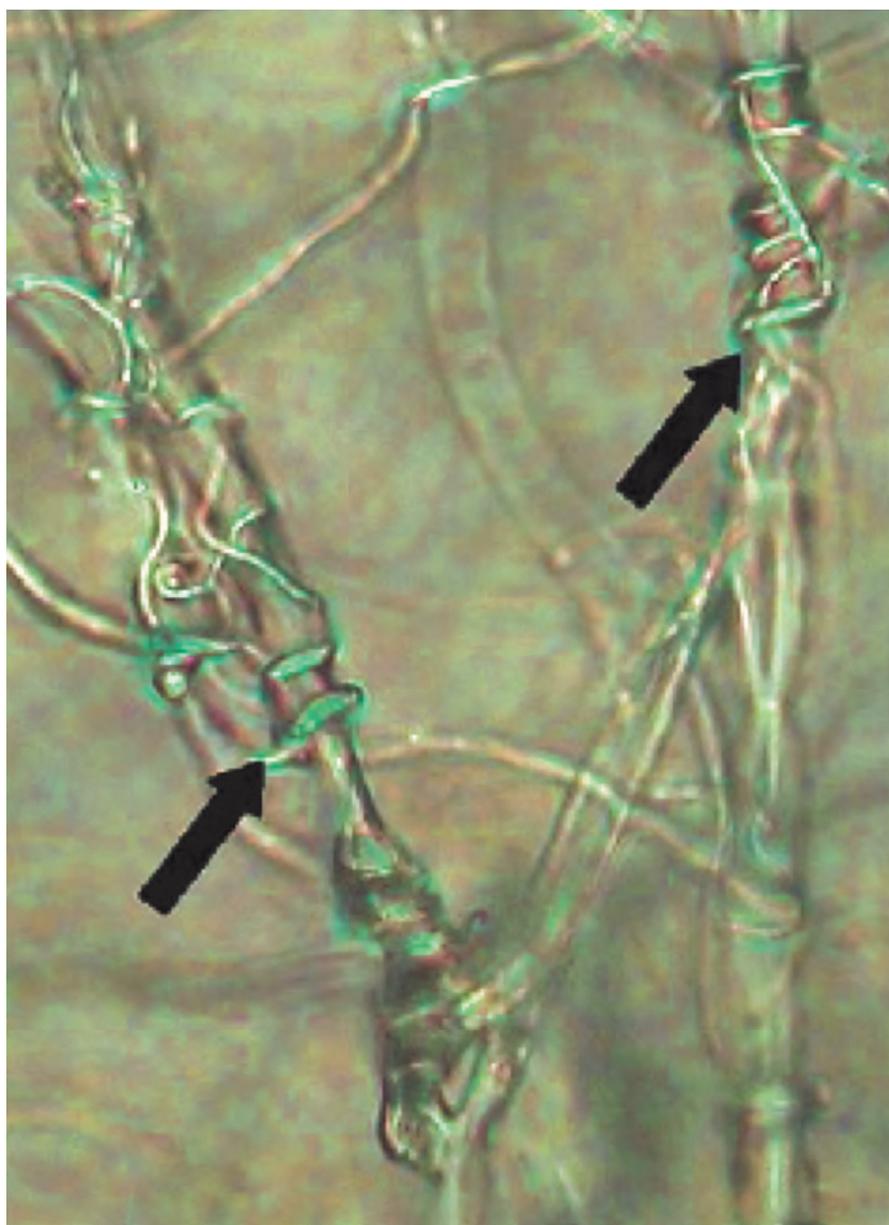


Figura 2. Micoparasitismo. Las hifas de *Trichoderma* (flechas negras) se enrollan en las hifas de su presa.

la mayoría de los estudios de micoparasitismo se ha realizado con unas pocas especies: *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. atroviride* y *T. asperellum*, principalmente. Además de las actividades quitinasa y glucanasa, muchos genes que codifican proteasas y transportadores de oligopéptidos se expresan antes y durante el contacto con su presa en distintas especies de *Trichoderma* antes y durante el contacto con su presa (Morán-Diez y col., 2019).

La producción de metabolitos secundarios es diversa en *Trichoderma* y sus varios miles de compuestos distribuidos en más de 120 estructuras moleculares constituyen una

de las fuentes de mayor diversidad metabólica del Reino Fungi. Entre los más estudiados están los peptaiboles, poliquétidos, terpenos y pironas. *T. atroviride* y *T. virens* albergan más genes de peptaibol y de poliquétido sintetasa que ningún otro hongo filamentosos (Kubicek y col., 2011). Sin embargo, aunque los metabolitos de *Trichoderma* contribuyen con las enzimas hidrolíticas al potencial de biocontrol, no parece ser rentable la producción de un determinado metabolito para su aplicación directa en agricultura. También se ha ensayado el poder insecticida de algunos metabolitos de *Trichoderma*, solos o combinados con proteasas, y se

conoce la capacidad entomopatógena de la gliotoxina de *T. virens*. Resulta interesante destacar el poder disuasorio de algunos metabolitos de *Trichoderma* frente a insectos plaga y hay abiertas líneas de investigación que exploran el efecto de metabolitos de *Trichoderma* como atrayentes de predadores y parasitoides (Contreras-Cornejo y col., 2018), bien de forma directa o inducidos en la planta.

La ubicuidad de *Trichoderma* en suelos de todo el mundo es una prueba de que es un buen competidor por el espacio y por los recursos nutritivos, y sus genomas parecen diseñados para expresar su gran capacidad oportunista. Por ejemplo, las plantas se defienden de sus atacantes generando condiciones adversas, como la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) que dan lugar a estrés oxidativo que dificulta el acceso de los patógenos, pero algunas cepas de *Trichoderma* soportan niveles de ROS que otros hongos no consiguen tolerar (Morán-Díez y col., 2010). También se ha demostrado en *T. atroviride* que la expresión de un gen que codifica un transportador ACB se ve favorecida por patógenos y se ha demostrado que su acción detoxificante guarda relación con la eficacia antagonista sobre hongos y oomicetos (Ruocco y col., 2009). *Trichoderma* produce proteínas *heat shock* (HSP) que le permiten sobrevivir bajo condiciones adversas, tolerando estreses térmicos, oxidativos, osmóticos y salinos (Montero-Barrionos y col., 2008).

Trichoderma como hongo beneficioso para las plantas

Las plantas no perciben a *Trichoderma* como un atacante, aunque para colonizarlas deberá adaptarse a la defensa basal regulada por ácido salicílico (SA) (Alonso-Ramírez y col., 2014). Superada esa primera barrera, *Trichoderma* establece un diálogo complejo con la planta que proporciona defensa sistémica frente al ataque de hongos filamentosos, oomicetos y bacterias (Hermosa y col., 2012), aunque también se inducen las defensas frente a nematodos (Medeiros y col., 2017), insectos (Coppola y col., 2017) y virus (Elsharkawy y col., 2013). La defensa sistémica está

/ Trichoderma establece un diálogo complejo con la planta que proporciona defensa sistémica frente al ataque de hongos filamentosos, oomicetos y bacterias, aunque también se inducen las defensas frente a nematodos, insectos y virus /

modulada por SA y otras fitohormonas como el ácido jasmónico (JA) y el etileno (ET), y su dinámica es ondulante, alternándose la prevalencia de los niveles de SA y de JA/ET a lo largo del tiempo (Rubio y col., 2014). La inducción de defensas sistémicas es una estrategia de control biológico indirecto, ya que *Trichoderma* controla a los atacantes a través de la propia planta. Esta forma de biocontrol ha generado controversia sobre lo que se debe registrar como ACB.

Trichoderma también estimula los procesos biológicos de la planta que mejoran la absorción y el uso de nutrientes (Figura 1). Así, la planta hospedadora incrementa el número de raíces laterales, a la vez que sus pelos son mucho más abundantes cuando son colonizadas por *Trichoderma* (Samolski y col., 2012). El aumento de la superficie de absorción facilita la captación de nutrientes, con incremento de la biomasa de

la planta, y un uso más eficiente de los mismos. También se ha descrito que el tratamiento de semillas con *T. harzianum* incrementó la capacidad fotosintética, el peso, la longitud de tallos y raíces, el número de hojas y la superficie foliar de las plantas, comparadas con plantas sin inocular (Domínguez y col., 2016). Recientemente hemos comprobado que la aplicación de *T. harzianum* a semillas de tomate no sólo promueve el crecimiento, sino que alivia los efectos adversos causados por el estrés salino (Rubio y col., 2017). Además, las respuestas de defensa sistémica y promoción del crecimiento causadas por el efecto *Trichoderma* son heredables (Medeiros y col., 2017). Este hecho es importante en el sector viverista, porque abre la posibilidad de realizar pretratamientos de plantas en semillero y vivero para conseguir que lleven la 'huella *Trichoderma*'. No obstante, los mecanismos que subyacen bajo ese efecto todavía necesitan ser interpretados a nivel epigenético.

Bibliografía



- Alonso-Ramírez, A., Poveda, J., Martín, J.I., Hermosa, R., Monte, E., Nicolás, C. 2014. Salicylic acid prevents *Trichoderma harzianum* from entering the vascular system of the roots. *Mol. Plant Pathol.*, 15, 823-831.
- Contreras-Cornejo, H.A., del-Val, E., Macías-Rodríguez, L., Alarcón, A., González-Esquível, C.E., Larsen, J. 2018. *Trichoderma atroviride*, a maize root associated fungus, increases the parasitism rate of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* by its natural enemy *Camponotus sonorensis*. *Soil. Biol. Biochem.*, 122, 196-202.
- Coppola, M., Cascone, P., Chiusano, M.L., Colantuono, C., Lorito, M., Pennacchio, F., Rao, R., Woo, S.L., Guerrieri, E., Digilio, M.C. 2017. *Trichoderma harzianum* enhances tomato indirect defense against aphids. *Insect Sci.*, 24, 1025-1033.
- Domínguez, S., Rubio, M.B., Cardoza R.E., Gutiérrez, S., Nicolás, C., Bettiol, W., Hermosa, R., Monte, E. 2016. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase *amdS* gene. *Front. Microbiol.*, 7, 1182.
- Elsharkawy, M.M., Shimizu, M., Takahashi, H., Ozaki, K., Hyakumachi, M. 2013. Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma asperellum* SKT-1. *Plant Pathol. J.*, 29, 193-200.
- Hermosa, M.R., Grondona, I., Iturriaga, E.A., Díaz-Mínguez, J.M., Castro, C., Monte, E., García-Acha, I. 2000. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 1890-1898.
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., Monte, E. 2012. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158, 17-25.
- Kubicek, C.P., y col. 2011. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biol.*, 12, R40.
- Lorito, M., Woo, S.L., Harman, G.E., Monte, E. 2010. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 48, 395-417.
- Medeiros, H.A., Araújo Filho, J.V., Freitas, L.G., Castillo P, Rubio, M.B., Hermosa, R., Monte E. 2017. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. *Sci. Rep.*, 7: 40216.
- Monte, E. 1986. Morfología y fisiología del hongo fitopatógeno *Phoma betae*. Intentos de control biológico. Tesis Doctoral, Universidad de Salamanca.
- Montero-Barrientos, M., Hermosa, R., Nicolás, C., Cardoza R.E., Gutiérrez, S., Monte, E. 2008. Overexpression of a *Trichoderma* HSP70 gene increases fungal resistance to heat and other abiotic stresses. *Fungal Genet. Biol.*, 45, 1506-1513.
- Morán-Díez, E., Cardoza R.E., Gutiérrez, S., Monte, E., Hermosa, R. 2010. *TvDim1* of *Trichoderma virens* is involved in redox-processes and confers resistance to oxidative stresses. *Curr. Genet.*, 56, 63-73.
- Morán-Díez M.E., Carrero-Carrón, I., Rubio, M.B., Jiménez-Díaz, R.M., Monte, E., Hermosa, R. 2019. Transcriptomic analysis of *Trichoderma atroviride* overgrowing plant-wilting *Verticillium dahliae* reveals the role of a new M14 metalloprotease CPA1 in biocontrol. *Front. Microbiol.*, 10, 1120.
- Rubio, M.B., Hermosa, R., Vicente, R., Gómez-Acosta, A., Morcuende, R., Monte, E., Bettiol, W. 2017. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. *Front. Plant Sci.*, 8: 294.
- Rubio, M.B., Quijada, N.M., Pérez, E., Domínguez, S., Monte, E., Hermosa, R. 2014. Identifying beneficial qualities of *Trichoderma parareesei* for plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 1864-1873.
- Ruocco, M., Lanzuise, S., Vinale, F., Marra, R., Turrà, D., Woo, S.L., Lorito, M. 2009. Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*: the role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 22, 291-301.
- Samolski, I., Rincón, A., Pinzón, L.M., Viterbo, A., Monte, E. 2012. The *qid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. *Microbiology* 158, 129-138.