

USO DE RECURSOS BIOLÓGICOS EFECTIVOS EN LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS CULTIVADAS: EL CASO DE LA JUDÍA COMÚN Y TRICHODERMA

Antonio, M. De Ron¹, A. Paula Rodiño¹, Fernando López^{1,2}, Juan L. Tejada Hinojoza¹, Sara Mayo-Prieto³, Santiago Gutiérrez³, Pedro A. Casquero³

¹ Misión Biológica de Galicia (MBG), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Pontevedra. España.

² Centro Singular de Investigación en Química Biolóxica e Materiais Moleculares (CiQUS). Universidade de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela. España.

³ Grupo de Investigación de Ingeniería y Agricultura Sostenible. Universidad de León. León. España.

INTRODUCCIÓN

Continuamente surgen nuevas amenazas para los cultivos, porque la estructura actual de los agrosistemas agrícolas facilita la aparición, evolución y dispersión de parásitos y patógenos de plantas. Además, el comercio internacional, la movilidad humana y el cambio climático han acelerado la aparición de nuevas amenazas a las que las plantas deben anticiparse para minimizar las pérdidas de cultivos y optimizar sus métodos de control.

La agricultura sostenible se enfrenta a un desafío relevante: proporcionar alimentos para las crecientes demandas humanas y, al mismo tiempo, minimizar los impactos en los agrosistemas cuya biodiversidad a menudo se ha empobrecido por prácticas agrícolas intensivas y agresivas. Los ecosistemas agrícolas pueden verse agravados por el cambio climático, que aumentaría la frecuencia de las perturbaciones, modificaría la idoneidad de los hábitats y cambiaría la forma en que interactúan las especies. En ese contexto, el control biológico de los factores bióticos de los sistemas planta-microbiota del suelo contribuirá a la estabilidad y diversidad de las comunidades agrícolas.

En el caso de la judía común (*Phaseolus vulgaris* L.), su interacción con la microbiota del suelo tiene diversos aspectos de relevancia para el cultivo y para el medio (De Ron, 2015). Por una parte, la simbiosis con rizobacterias da lugar a la

fijación simbiótica de nitrógeno, del cual se beneficia tanto la planta de judía como el suelo y el medio, al limitarse el uso de fertilizantes nitrogenados responsables de la emisión de gases de efecto invernadero (óxidos de nitrógeno) (Rodiño *et al.*, 2011). Por otra parte, los hongos del suelo como las micorrizas endógenas y las especies del género *Trichoderma* contribuyen a la defensa contra enfermedades y además promueven el crecimiento vegetal (De Ron *et al.*, 2019).

Trichoderma es un género de hongos de la familia Hypocreaceae. Se encuentran en el suelo y pueden crecer en distintas partes de la planta, pudiendo incluso desarrollarse en el tejido intercelular (Carro-Huerga *et al.*, 2020). El género *Trichoderma* es valorado por sus efectos beneficiosos en plantas, como su capacidad de protección frente a plagas y enfermedades (Benítez *et al.*, 2004) y promoción del crecimiento, entre otros (Harman *et al.*, 2004; De Ron *et al.*, 2019).

Se han seleccionado especies de *Trichoderma* para su uso como agentes de biocontrol. Sus principales mecanismos frente a fitopatógenos son el micoparasitismo, la antibiosis y la competencia por los nutrientes (Harman *et al.*, 2004).

Trichoderma coloniza la superficie de las raíces de las plantas, provocando cambios sustanciales en su metabolismo (Shoresh *et al.*, 2010). La relación biológica se limita a la primera capa celular de la epidermis y la corteza de la raíz. Además, *Trichoderma* es capaz de inducir la expresión de genes

implicados en la respuesta de defensa y también promover el crecimiento de las plantas (Hermosa *et al.*, 2012; Mayo *et al.*, 2015, 2016, 2020, 2021).

COMPETENCIA Y MICOPARASITISMO

La competencia entre *Trichoderma* y los fitopatógenos se establece sobre la base de la obtención de nutrientes, oxígeno, luz, etc. (Paulitz, 1990), ya que se trata de un excelente competidor por espacio biológico y recursos nutricionales. Además, algunas especies muestran una gran versatilidad metabólica que les permite crecer utilizando una amplia gama de fuentes de nitrógeno y carbono.

El micoparasitismo consiste en el reconocimiento del patógeno y su penetración posterior. Inicialmente, *Trichoderma* localiza el patógeno sin contacto previo, comenzando a crecer hacia él por tropismo (Chet *et al.*, 1981; Lu *et al.*, 2004). Durante este proceso, *Trichoderma* secreta enzimas que hidrolizan la pared celular del patógeno (Howell, 2003; Woo *et al.*, 2006). Algunas enzimas pertenecientes a estos hongos se han purificado y se han utilizado para el biocontrol de hongos patógenos de los cultivos como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Ustilago*,

Venturia y *Colletotrichum* (Lorito *et al.*, 1993, 1994) (figuras 1 y 2).

Algunas especies de *Trichoderma* han seleccionado debido a su capacidad micoparasitaria, pero las cepas de biocontrol más eficientes muestran más de una estrategia de biocontrol (Howell, 2003). *Trichoderma* también puede ejercer una marcada actividad antimicrobiana (Vizcaino *et al.*, 2005) debido a la producción de mezclas de metabolitos secundarios (Cardoza *et al.*, 2005; Reino *et al.*, 2007).

PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Una de las múltiples formas que tiene *Trichoderma* de beneficiar a la planta de judía es un incremento de su desarrollo, aumentando los nutrientes disponibles para ella. *Trichoderma* produce ácidos orgánicos, como ácido cítrico o fumárico que reducen el pH del suelo y permiten la solubilización de fosfatos, micronutrientes y cationes como hierro, manganeso y magnesio (Benítez *et al.*, 2004; Harman, *et al.*, 2004). Se ha observado que *T. harzianum* generalmente reduce la presencia de Fe, Mn, Zn y Cu en la biomasa foliar de la judía pero que se incrementa el contenido de Cu en



Figura 1. Ensayo de cultivo dual en el que aparece *Rhizoctonia solani* (izquierda) y un aislamiento de *Trichoderma* (derecha) separados 5,5 cm en placa Petri con medio PDA (patata-dextrosa-agar) a los 5 días tras la siembra.



Figura 2. Ensayo de cultivo dual en el que aparece *Fusarium oxysporum* (izquierda) y un aislado de *Trichoderma* (derecha) separados 5,5 cm en placa Petri con medio PDA (patata-dextrosa-agar) a los 5 días tras la siembra.

las semillas (Özüit y Er, 2006). Los nutrientes, y en particular el P, podrían incrementar su disponibilidad, favoreciendo así el crecimiento de la planta. En el caso de solubilización de compuestos insolubles o con baja solubilidad, se ha descrito que *Trichoderma* podría solubilizar Fe_2O_3 , MnO_2 , Zn y fosfatos, en condiciones in vitro, gracias a procesos de quelación y la actividad de oxidación-reducción (Altomare *et al.*, 1999). *Trichoderma* también puede incrementar la capacidad fotosintética de las plantas ya que puede sobrerregular la producción de proteínas relativas a la fotosíntesis (Harman, 2000).

otra forma de incrementar el desarrollo de las plantas es producir o degradar factores de crecimiento. *Trichoderma* puede mediar en la producción de etileno, con lo que al reducir su producción podría aumentar el desarrollo de la planta. *T. asperelloides* posee un gen α -1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) que codifica una enzima que escinde ACC, un intermediario clave en la biosíntesis de etileno (Wang *et al.*, 2002). Una asociación entre el incremento de desarrollo de la planta y la reducción de la síntesis de etileno podría deberse a un descenso de un precursor de ACC debido a la producción del ácido indol-3-acético (IAA) (auxina que promueve el desarrollo de las raíces) en la rizosfera y/o a la actividad de la ACC desaminasa (ACCD) (Hermosa *et al.* 2013; Shores *et al.*, 2010). *Trichoderma* también produciría IAA y ACCD con lo que manipularía el patrón de regulación de estas fitohormonas (Contreras-Cornejo *et al.*, 2009; Viterbo *et al.*, 2010). Las nitrilasas serían otras enzimas que hidrolizarían β -ciano-l-alanina, que es un metabolito que se forma a partir de cianuro liberado durante la etapa final de biosíntesis de etileno (Piotrowski y Volmer 2006).

otro compuesto es una pirona volátil que produce *Trichoderma*, 6-pentyl-2H-pyran-1-one (6PP), la cual es responsable de la pigmentación amarilla y el olor a coco de algunos asilamientos (Hermosa *et al.*, 2013). 6PP inhibe el desarrollo de fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, pero en bajas dosis regula el desarrollo de la planta, aumentando el crecimiento de las raíces, el peso y tamaño de la parte aérea e incrementando la germinación y el peso de las semillas (Rubio *et al.*, 2009). El ácido harziánico, junto con 6PP y harzianolida, son otros compuestos que en función de la concentración en la que se encuentren afectarán al desarrollo de la planta además de tener una actividad antifúngica (Lorito, *et al.*, 2010; Vinale *et al.*, 2009). otro de los compuestos que produce *Trichoderma* es farnesol, que se ha comprobado que en pequeñas dosis (10 μ M y 100 μ M) puede ser perjudicial para el desarrollo de la planta al alterar la síntesis del ácido abscísico, si bien cuando se incrementa la cantidad aportada

a 2 mM, provoca un aumento en el desarrollo de las raíces de judía (Mayo *et al.*, 2016).

RESPUESTA DE DEFENSA

Las relaciones que se establecen entre las plantas y su microbiota asociada son muy diversas y complejas, y no se conocen por completo y están lejos de ser modelizadas. La defensa de las plantas contra los patógenos está regulada a través de una compleja red de vías de señalización que involucran varias moléculas como especies reactivas de oxígeno (ROS), ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA) y etileno (ET) (Vitti *et al.*, 2015) y algunos metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana que pueden actuar también como moléculas de señalización (como fitoanticipinas y fitoalexinas) (Mhlongo *et al.*, 2016). Cuando una planta se expone a un microorganismo patógeno, aumenta la producción de moléculas asociadas con el SA, lo que se relaciona con una respuesta de resistencia sistémica adquirida (SAR).

Trichoderma también es beneficioso para las plantas de judía protegiéndolas frente a fitopatógenos empleando distintos métodos. Así, puede inducir los sistemas defensivos de la propia planta, competir con el fitopatógeno o bien producir compuestos antibióticos que inhiban el desarrollo de éste.

Una vez que la planta ha detectado a *Trichoderma*, gracias a la producción de patrones moleculares asociados a microorganismos (*Microorganism-Associated Molecular Patterns*, MAMP) por parte del agente de biocontrol, se desencadena la producción de metabolitos que actuarían como respuesta para defenderse del ataque. Las moléculas que se pueden asociar como MAMP serían xilanasas, peptaiboles, swollenina, ceratoplatanina (Druzhinina *et al.*, 2011) hidrofobinas, esteroides y otros metabolitos secundarios y enzimas (Lorito *et al.*, 2010) que desencadenan una respuesta defensiva en la planta. De esta forma se induce un sistema de resistencia inducida (*Induced Systemic Resistance*, ISR), un proceso por el que la planta responde a un organismo no patógeno con una cascada de señales dependientes del jasmonato y del etileno como pueden ser la represión o sobreexpresión de genes o la producción de metabolitos involucrados en la respuesta defensiva de la planta (Shores *et al.*, 2010). Ésta sería la primera fase por la que la planta responde a la invasión del hongo, ya que al tratarse de *Trichoderma*, en principio, sólo se genera una respuesta ISR, ya que en el caso de un fitopatógeno que ataca a la planta se desencadena una respuesta secundaria SAR.

La interacción de la raíz de la planta y *Trichoderma* conlleva una fase de reconocimiento, ataque, penetración, colonización y transferencia de nutrientes. Al tener una relación simbiótica, la planta también aporta una serie de beneficios al agente de biocontrol como es el transporte de sacarosa por parte de la planta y su posterior hidrólisis por *Trichoderma*, influyendo en su expansión en la rizosfera y su penetración en la raíz de la misma (Vargas *et al.*, 2011).

PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS:

DEFENSA HIPERSENSIBLE Y FITOALEXINAS

Otra respuesta de las plantas es la defensa necrótica o defensa hipersensible, que induce la muerte selectiva de algunas células para bloquear el avance de los fitopatógenos a través de los tejidos vegetales (Tadeo y Gómez-Cadenas, 2008). Estos cambios en las reacciones de hipersensibilidad incluyen la pérdida de la permeabilidad de las membranas celulares y el aumento de la respiración y la producción de fitoalexinas. El resultado es la muerte y el colapso de las células infectadas, que aíslan al patógeno, provocando su muerte ya que depende de la planta para sobrevivir. Es probable que cuanto más rápido mueran las células huésped por necrosis después de haber sido infectadas, más resistentes se vuelven a la infección.

Cuando una planta es inducida por la exposición a un microorganismo patógeno comienza a producir diversos metabolitos y enzimas. Los cambios fisiológicos en la planta conducen a la activación de diversas vías metabólicas. Los diferentes metabolitos secundarios se sintetizan después de la percepción y el reconocimiento de las señales que se originan en las plantas o los elicitores de microorganismos patógenos producidos durante los primeros pasos de la reacción de defensa de las plantas (Boller y Felix, 2009; Veitch, 2009). La planta responde después de la invasión de un fitopatógeno mediante la activación de su resistencia a enfermedades, incluyendo la regulación de genes relacionados con la defensa (Mayo *et al.*, 2016). Además, la planta produce metabolitos secundarios como fitoalexinas (fenoles, isoflavonas, terpenos), y algunas sustancias que pueden bloquear la invasión del patógeno y su propagación (Mayo-Prieto *et al.*, 2019).

Los metabolitos secundarios comprenden diferentes clases de compuestos naturales de bajo peso molecular y con numerosas funciones biológicas, especialmente en las interacciones entre organismos. El análisis metabólico

de las interacciones entre plantas, fitopatógenos y hongos beneficiosos ayudaron a la identificación de metabolitos secundarios bioactivos que afectan positivamente el metabolismo de las plantas. Algunos de estos compuestos ejercen una acción directa contra los fitopatógenos, y también permiten la resistencia a las enfermedades activando el sistema de defensa de la planta y/o mejorando el crecimiento vegetativo (Vinale, 2020).

El conocimiento del papel que juega cada uno de los metabolitos importantes es una área de investigación muy atractiva, ya que abre las puertas a tratar las plantas con el propio metabolito responsable de los efectos beneficiosos, superando las dificultades asociadas al uso de una única cepa microbiana viva, entre las que se encuentran: (i) su vida útil limitada y requisitos para la conservación en condiciones óptimas para mantener la viabilidad; (ii) restricciones en el campo por regímenes de cultivo, geográficos y meteorológicos; y (iii) eficacia limitada contra algunos patógenos o corta longevidad en entornos adversos (Whipps, 2001).

Trichoderma produce metabolitos bioactivos que tienen actividades promotoras del crecimiento y / o antimicrobianas cuando se aplican a plantas. Así, metabolitos secundarios purificados de *Trichoderma* pueden ser potencialmente eficaces en controlar las infecciones bacterianas, exhibiendo una actividad antibiótica más rápida que la observada con la aplicación del organismo vivo en condiciones de campo (Fravel, 1988). Por otra parte, diversos estudios demostraron que la aplicación de los metabolitos bioactivos de *Trichoderma* a diferentes plantas en crecimiento proporcionaba efectos equivalentes a los observados con la aplicación directa de los aislados de este agente de biocontrol productores de dichos metabolitos, pero sin las desventajas de utilizar el microorganismo vivo en el sistema agrícola (Sivasithamparam, 1998; Vinale, 2014; Keswani, 2014).

Otros estudios recientes, demostraron que la aplicación de diferentes metabolitos bioactivos a la soja estimulaba el crecimiento de la planta, aumentando las propiedades nutricionales en la semilla cosechada (Marra, 2019). De manera similar, también se demostró una correlación positiva entre la aplicación de metabolitos bioactivos seleccionados de *Trichoderma* a vid y el aumento del contenido de polifenoles y la actividad antioxidante en los frutos correspondientes (Pascale, 2017).

En definitiva, el tratamiento de plantas con metabolitos secundarios, como los segregados por *Trichoderma*, permite evaluar los cambios a nivel molecular, metabólico y

macroscópico, en las plantas y sus frutos, abriendo nuevas oportunidades para la mejora de los cultivos.

CONCLUSIONES

Los cultivos se ven afectados por una amplia diversidad de patógenos y un método de control ha sido la aplicación de fungicidas sintéticos, incrementado así el impacto negativo sobre el medio. Por ello, es una prioridad desarrollar métodos para una producción agraria sostenible, incluyendo alternativas como es el uso de agentes de biocontrol. *Trichoderma* es un género de hongos que incluye una gran cantidad de especies y un alto porcentaje de estas con capacidad de proteger los cultivos frente a plagas y enfermedades, mediante la actividad de competencia y micoparasitismo, activación de sistemas de defensa como la producción de metabolitos secundarios o la activación de genes, y asimismo poder aumentar el rendimiento de los cultivos en condiciones de campo, dentro de una agricultura sostenible y respetuosa con el medio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Altomare, C.; Norvell, W. A.; Björkman, T.; Harman, G. E. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Appl Environ Microbiol* 65 (7): 2926-2933.
2. Benítez, T.; Rincón, A. M.; Limón, M. C.; Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int Microbiol* 7 (4): 249-260.
3. Boller, T.; Felix, G. (2009). A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu Rev Plant Biol* 60 (1): 379-406.
4. Cardoza, R. E.; Vizcaíno, J. A.; Hermosa, M. R.; Sousa, S.; González, F. J. *et al.* (2005). Cloning and characterization of the *erg1* gene of *Trichoderma harzianum*: effect of the *erg1* silencing on ergosterol biosynthesis and resistance to terbinafine. *Fungal Genet Biol* 43 (3): 164-178.
5. Carro-Huerta, G.; Compant, S.; Gorfer, M.; Cardoza, R. E.; Schmoll, M. *et al.* (2020). Colonization of *Vitis vinifera* L. by the endophyte *Trichoderma* sp. strain T154: Biocontrol activity against *Phaeoacremonium minimum*. *Front Plant Sci* 11: 1170.
6. Chet, I.; Harman, G. E.; Baker, R. (1981). *Trichoderma hamatum*: Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microb Ecol* 7 (1): 29-38.
7. Contreras-Cornejo, H. A.; Macías-Rodríguez, L.; Cortes-Penagos, C.; López-Bucio, J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 149 (3): 1579-1592.
8. De Ron, A. M. (ed.) (2015). Grain Legumes. Series: Handbook on plant breeding. Springer Science+Business Media, New York, USA. 438 pp.
9. De Ron, A.M.; Kalavacharla, V. (K); Álvarez-García, S.; Casquero, P. A.; Carro-Huelga, G. *et al.* (2019). Common bean genetics, breeding, and genomics for adaptation to changing to new agri-environmental conditions. En: Kole C (Ed.) *Genomic designing of climate-smart pulse crops*: 1-106. Springer Nature Switzerland.
10. Druzhinina, I. S.; Seidl-Seiboth, V.; Herrera-Estrella, A.; Horwitz, B. A.; Kenerley, C. M. *et al.* (2011). *Trichoderma*: The genomics of opportunistic success. *Nature Rev Microbiol* 9 (10): 749-759.
11. Fravel, D. R. (1988). The role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annu Rev Phytopathol* 26: 75-91.
12. Gravel, V.; Antoun, H.; Tweddell, R. J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol Biochem* 39 (8): 1968-1977.
13. Harman, G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis* 84 (4): 377-393.
14. Harman, G. E.; Howell, C. R.; Viterbo, A.; Chet, I.; Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev* 2 (1): 43-56.
15. Hermosa, M. R.; Viterbo, A.; Chet, I.; Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158 (1): 17-25.
16. Hermosa, R.; Rubio, M. B.; Cardoza, R. E.; Nicolás, C.; Monte, E. *et al.* (2013). The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *International Microbiol*, 16 (2), 69-80.
17. Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis* 87 (1): 4-10.

18. Keswani, C.; Mishra, S.; Sarma, B. K.; Singh, S. P.; Singh, H. B. (2014). Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Appl Microbiol Biotechnol* 98:533-544.
19. Lorito M, Harman GE, Hayes CK, Broadway RM, Tronsmo A et al. (1993) Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chito- biosidase. *Phytopathology* 83(3):302-307.
20. Lorito, M.; Hayes, C. K.; Di Pietro, A.; Woo, S. L.; Harman, G. E. (1994). Purification, characterization, and synergistic activity of a glucan 1,3-b-glucosidase and an N-acetyl-b-glucosaminidase from *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 84 (4): 398-405.
21. Lorito, M.; Woo, S. L.; Harman, G. E.; Monte, E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: From 'omics to the field. *Ann RevPhytopath*, 48 (1), 395-417. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314>
22. Lu, Z.; Tombolini, R.; Woo, S.; Zeilinger, S.; Lorito, M. et al. (2004). In vivo study of *Trichoderma*- pathogen-plant interactions, using constitutive and inducible green fluorescent protein reporter systems. *Appl Environ Microbiol* 70 (5): 3073-3081
23. Marra, R.; Lombardi, N.; d'Errico, G.; Troisi, J.; Scala, G. et al. (2019). Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. *J Agric Food Chem* 67: 1814-1822.
24. Mayo-Prieto, S.; Campelo, M. P.; Lorenzana, A.; Rodríguez-González, A.; Reinoso, B. et al. (2020). Antifungal activity and bean growth promotion of *Trichoderma* strains isolated from seed vs soil. *Eur J Plant Pathol* 158 (4): 817-828.
25. Mayo-Prieto Sara, Marra R, Vinale F, Rodríguez-González Á, Woo SL et al. (2019) Effect of *Trichoderma velutinum* and *Rhizoctonia solani* on the metabolome of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Int J Molec Sci* 20 (3): 549.
26. Mayo-Prieto, S.; Porteous-Álvarez, A. J.; Mezquita-García, S.; Rodríguez-González, Á.; Carro-Huerta, G. et al. (2021). Influence of physicochemical characteristics of bean crop soil in *Trichoderma* spp. development. *Agron* 11(2):274.
27. Mayo, S.; Cominelli, E.; Sparvoli, F.; González-López, O.; Rodríguez-González, A. et al. (2016). Development of a qPCR strategy to select bean genes involved in plant defense response and regulated by the *Trichoderma velutinum* - *Rhizoctonia solani* interaction. *Front Plant Sci* 7: 1109.
28. Mayo, S.; Gutiérrez, S.; Malmierca, M. G.; Lorenzana, A.; Campelo, M. P, et al. (2015). Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. *FrontPlant Sci* 6: 685.
29. Mayo, S.; Izquierdo, H.; González-López, Ó.; Rodríguez-González, Á.; Lorenzana, A. et al. (2016). Effect of farnesol, a compound produced by *Trichoderma* when growing on bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Planta Med* 82 (S01): S1-S381.
30. Mhlongo, M. I.; Steenkamp, P. A.; Piater, L. A.; Madala, N. E.; Dubery, I. A. (2016). Profiling of altered metabolomic states in *Nicotiana tabacum* cells induced by priming agents. *Front Plant Sci* 7: 1527.
31. Monte, E. (2001). Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *Int Microbiol* 4: 1-4.
32. Öğüt, M.; Er, F. (2006). Micronutrient composition of field-grown dry bean and wheat inoculated with *Azospirillum* and *Trichoderma*. *J Plant NutrSoil Sci* 169 (5): 699-703.
33. Paulitz, T. C. (1990). Biochemical and ecological aspect of competition in biological control. In *New directions in biological control. Alternatives for suppressing agricultural, Pests and diseases*, Baker RR, Dunn PE (eds) Wiley-Liss Inc, New York, USA, p 837.
34. Piotrowski, M.; Volmer, J. J. (2006). Cyanide metabolism in higher plants: Cyanoalanine hydratase is a NIT4 homolog. *Plant Molec Biol* 61 (1-2): 111-122.
35. Reino, J. L.; Guerrero, R. F.; Hernández-Galán, R.; Collado, I. G. (2007). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochem Rev* 7 (1): 89-123.
36. Rodiño, A. P.; De La Fuente, M.; De Ron, A. M.; Lema, M. J.; Drevon, J. J. et al. (2011). Variation for nodulation and plant yield of common bean genotypes and environmental effects on the genotype expression. *Plant Soil* 346: 349-361.
37. Rubio, M.; Hermosa, R.; Reino, J.; Collado, I.; Monte, E. (2009). Thctf1 transcription factor of *Trichoderma harzianum* is involved in 6-pentyl-2H-pyran-2-one production and antifungal activity. *Fungal Genet Biol* 46 (1) 17-27.
38. Shores, M.; Harman, G. E.; Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu Rev Phytopathol* 48: 21-43.
39. Sivasithamparam, K.; Ghisalberti, E. L. (1998). *Secondary metabolism in Trichoderma and Gliocladium*. Taylor and Francis. London, vol. 139, p 191.
40. Tadeo, F. R.; Gómez-Cadenas, A. (2008). *Fisiología de las plantas y el estrés*. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds) *Fundamentos de fisiología vegetal*: 577-597. McGraw-Hill, Barcelona.
41. Vargas, W. A.; Crutcher, F. K.; Kenerley, C. M. (2011). Functional characterization of a plant-like sucrose transporter from the beneficial fungus *Trichoderma virens*. Regulation of the symbiotic association with plants by sucrose metabolism inside the fungal cells. *New Phytol* 189 (3): 777-789.
42. Veitch, N. C. (2009). Isoflavonoids of the Leguminosae. *Nat Prod Rep* 26 (6): 776.
43. Vinale, F.; Flematti, G.; Sivasithamparam, K.; Lorito, M.; Marra, R. et al. (2009). Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. *J Nat Products* 72 (11): 2032-2035.
44. Vinale, F.; Sivasithamparam, K. (2020). Beneficial effects of *Trichoderma* secondary metabolites on crops. *Phytother Res* 34 (11): 2835-2842.
45. Vinale, F.; Sivasithamparam, K.; Ghisalberti, E. L.; Woo, S. L.; Nigro, M. et al. (2014). *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *Open Mycol J* 8:127.
46. Pascale, A.; Vinale, F.; Manganiello, G.; Nigro, M.; Lanzuise, S. et al. (2017). *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. *Crop Protect* 92: 176-181.
47. Viterbo, A.; Landau, U.; Kim, S.; Chernin, L.; Chet, I. (2010). Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. *FEMS Microbiol Letters* 305 (1): 42-48.
48. Vitti, A.; La Monaca, E.; Sofo, A.; Scopa, A.; Cuyppers, A. et al. (2015). Beneficial effects of *Trichoderma harzianum* T-22 in tomato seedlings infected by Cucumber mosaic virus (CMV). *BioControl* 60 (1):135-147.
49. Vizcaino, J. A.; Sanz, L.; Basilio, A.; Vicente, F.; Gutiérrez, S. et al. (2005). Screening of antimicrobial activities in *Trichoderma* isolates representing three *Trichoderma* sections. *Mycol Res* 109 (12): 1397-1406.
50. Wang, K. L. C.; Li, H.; Ecker, J. R. (2002). Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell* 14 (1): S131-S151.
51. Whipps, J. M.; Lumsden, R. D. (2001). Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. En: Butt TM, Jackson C, Magan N (eds) *Fungi as biocontrol agent: progress problems and potential*: pp 9-22. CAB International.
52. Woo, S. L.; Scala, F.; Ruocco, M.; Lorito, M. (2006). The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology* 96 (2): 181-185.