

Trichoderma e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas

Enrique Monte

Wagner Bettiol

Rosa Hermosa

Introdução

Trichoderma é um gênero de fungos anamorfos (aqueles cuja reprodução sexual não é conhecida) que foi descrito há 225 anos para classificar um fungo decompositor de madeira que produzia massas de esporos verdes nos extremos das hifas foi denominado *Trichoderma viride*. Quase 70 anos depois foi comprovado que *T. viride* era a forma assexual do ascomiceto *Hypocrea rufa*. Atualmente, a taxonomia admite o nome “*Trichoderma*” para todos os fungos que possuem as características do gênero, apresentando ou não reprodução sexual dentro do gênero *Hypocrea*, e somente se utiliza o nome “*Hypocrea*” quando se observam ascósporos em uma cepa de *Trichoderma*.

Com os dados moleculares, que se dispõe, atualmente, para manejar a taxonomia de *Trichoderma*, o número de espécies passou de nove grupos de espécies estabelecidas, a partir de diferentes atributos morfológicos, para mais de 200 (Atanasova, 2014). Este número segue crescendo devido, principalmente, aos trabalhos desenvolvidos pela Subcomissão Internacional para a Taxonomia de *Trichoderma* e *Hypocrea* (ISTH), a qual tem desenvolvido métodos para uma identificação rápida e classificação molecular de novas espécies. Além de uma correta identificação das cepas de *Trichoderma* que são selecionadas como agentes de controle biológico de doenças de plantas (Hermosa et al., 2000), os métodos moleculares permitem realizar estudos de colonização de substratos e nichos ecológicos (como por exemplo: solos, madeiras, rizosfera, etc.) por meio de PCR a tempo real e marcadores de tipo SCAR (Rubio et al., 2005).

Em outros capítulos deste livro são descritas as principais características do gênero *Trichoderma* e discutido que algumas cepas deste fungo filamentosos são versáteis agentes de

controle biológico de doenças de plantas, aplicáveis de diversas maneiras na agricultura e que são eficazes frente a distintos tipos de patógenos, em numerosos cultivos e em diferentes partes da planta, além de agirem em condições ambientais e edáficas distintas. Neste capítulo serão abordados os conhecimentos detalhados das espécies de *Trichoderma* e seus mecanismos de ação, não somente como agentes de controle biológico, mas também como microrganismos simbiotes com plantas, constituindo em um modelo de estudo para aproximações moleculares mutualistas entre fungos e plantas, que permitem aos fungos se alimentarem e crescerem e às plantas se desenvolverem e se defenderem frente ao ataque de patógenos e situações de estresses abióticos e bióticos.

Por que *Trichoderma* é tão singular?

Esta pergunta pode ser respondida afirmando que a principal característica das espécies de *Trichoderma* é que são dotadas de grande oportunismo, apresentando alta capacidade de colonizar a rizosfera das plantas e muitos substratos com diferentes características, em ambientes tão distintos como os da Antártida, do Caribe, da Amazônia ou do Saara. A maioria das cepas de *Trichoderma* vive em climas temperados e solos ácidos. Entretanto, podem produzir estruturas de resistência, clamidósporos e microescleródios, e com isto são capazes de sobreviverem em condições muito adversas. Além disso, têm sido obtidas cepas de *Trichoderma* com potencial de biocontrole de fitopatógenos que crescem em altas temperaturas, solos salinos ou alcalinos e sob condições de baixa umidade.

Os fungos se alimentam absorvendo nutrientes por meio de suas hifas. Assim, para poder atravessar a parede celular e utilizar os componentes como nutrientes, os substratos de alto peso molecular necessitam ser hidrolisados a moléculas menores. Para isto, os fungos liberam enzimas extracelulares que, quanto mais diversas e numerosas, proporcionarão maiores vantagens para viverem em ambientes com diferentes condições. O sequenciamento e a comparação dos genomas de diferentes espécies de *Trichoderma* demonstraram que esses organismos possuem um elevado número de genes que codificam chaperonas (proteínas que reparam os danos celulares provocados pelo crescimento em condições adversas) e transportadores ABC (proteínas da membrana celular que facilitam a entrada de muitos nutrientes e precursores biossintéticos, que secretam metabólitos primários e secundários, e que eliminam substâncias tóxicas e agroquímicos absorvidos pelas células) que lhes proporcionam um amplo oportunismo ambiental. É especialmente relevante para as espécies de *Trichoderma* o fato de possuírem grande número, em qualidade e quantidade, de genes que codificam enzimas hidrolíticas, como por exemplo as glucanases, quitinases e proteases, de todo Reino Fungi. Esta característica, associada ao grande arsenal de metabólitos secundários produzidos, muitos deles

com atividade antibiótica, assinalam o micoparasitismo como a forma de vida ancestral deste gênero (Kubicek et al., 2011).

Em um evento evolutivo posterior, as espécies de *Trichoderma* que parasitavam as hifas de fungos decompositores de madeira obtiveram, por transferência horizontal de genes, a capacidade de degradar a matéria orgânica vegetal (Druzhinina et al., 2018), adquirindo desta forma as enzimas necessárias para alterar o seu estilo de vida em direção a colonização da rizosfera, o endofitismo e a relação benéfica e estável com as plantas.

O micoparasitismo de *Trichoderma*

Uma das características mais relevantes do gênero *Trichoderma* é a sua capacidade para parasitar fungos. A habilidade de *T. virens* para enrolar, penetrar e destruir o conteúdo citoplasmático de *Rhizoctonia solani* é conhecida há muito tempo (Weindling, 1932). Igualmente é conhecido que metabólitos produzidos por *T. virens* são capazes de inibir o crescimento de *R. solani* e *Monilinia fructicola* (Weindling, 1934).

Estudos ecofisiológicos demonstraram que, em maior ou menor escala, todas as espécies de *Trichoderma* são eficazes parasitas de fungos fitopatogênicos e de oomicetos (Druzhinina et al., 2018), como uma estratégia de nutrição biotrófica. Não obstante, as espécies de *Trichoderma* também são capazes de se alimentarem de biomassa de fungos e de oomicetos mortos, resultando ser mais adequado utilizar o termo micotrofia para definir este estilo de vida tão comum nas espécies de *Trichoderma*. Estudos de genômica comparada entre espécies de *Trichoderma* indicaram uma predisposição genética em direção da micotrofia (Kubicek et al., 2011). A associação de cepas de *Trichoderma* e *Hypocrea* com basidiomicetos que degradam madeira ou com fungos fitopatogênicos, crescendo e parasitando suas estruturas de repouso, como os escleródios, tem sido proposta como uma etapa prévia da colonização do material vegetal como nicho ecológico opcional. De fato, *T. reesei* produz enzimas celulolíticas e hemi-celulolíticas que tem permitido a esta espécie viver sobre material vegetal, pré-degradado por decompositores e patógenos fúngicos, mais do que a custa de outros fungos.

Apesar da amplitude do gênero, a maior parte dos estudos de micoparasitismo por *Trichoderma* foi realizada com poucas espécies, como *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. atroviride* e *T. asperillum* (Figura 1).

Genes relacionados com o micoparasitismo respondem transcricionalmente ao fitopatogêno e foram identificadas enzimas que degradam a parede celular (Cell Wall Degrading Enzyme - CWDE), como quitinases e glucanases, expressas nas interações de *Trichoderma* spp. com fungos fitopatogênicos. *Trichoderma virens* e *T. atroviride* possuem o maior número de enzimas quitinolíticas (36 e 29, respectivamente) descritas em fungos (Kubicek et al., 2011). Possivelmente devido à sua redundância, a deleção de certos genes de quitinases em algumas

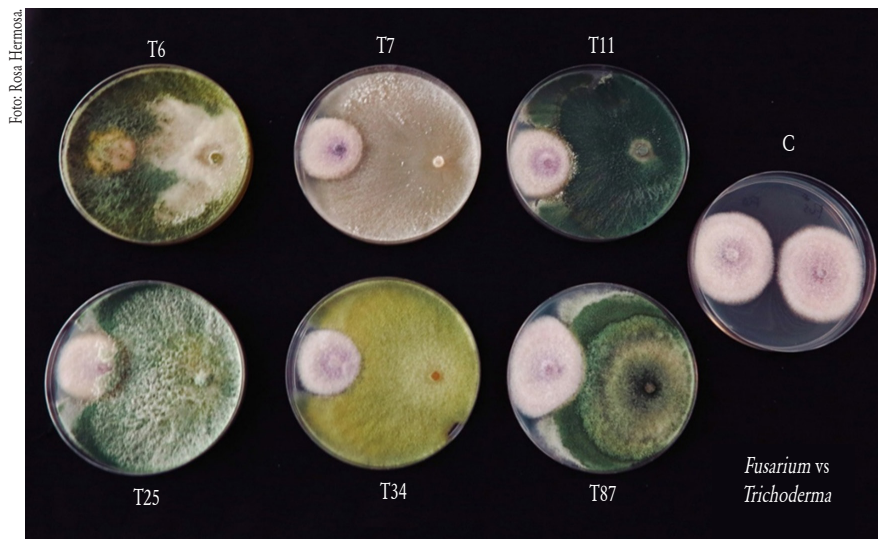


Figura 1. Cultivos pareados em placas de *Fusarium oxysporum* (esquerda) e *Trichoderma* spp. (direita) após 120 h de crescimento em meio batata-dextrose-ágar. T6=*Trichoderma parareesei*, T7=*Trichoderma hamatum*, T11=*Trichoderma atroviride*, T25=*Trichoderma asperellum*, T34=*Trichoderma harzianum* e T87=*Trichoderma virens*; C=testemunha.

espécies de *Trichoderma* não resultaram em perdas das habilidades micoparasíticas e de biocontrole (Harman et al., 2004). Outro polímero da parede celular fúngica é o glucano que, em função da sua composição, é hidrolizado por β -1,3-, β 1,6- ou α -1,3-glucanases secretadas por *Trichoderma*, e os genes que codificam β -1,3-glucanases também estão super representados (18) nos genomas de *T. virens* e de *T. atroviride* (Kubicek et al., 2011).

Muitos genes que codificam proteases e transportadores de oligopeptídeos se expressam antes e durante o contato com o patógeno em distintas espécies de *Trichoderma*. A maioria destas proteases, 33 subtilisinas presentes em *T. virens* e 36 em *T. atroviride*, pertencem à família subtilisina serina proteases, que aparecem sobre-representadas entre ESTs (expressed sequence tags - marcadores de sequência expressa) de *T. harzianum* obtidas em condições de micoparasitismo simulado (Suárez et al., 2007) e de *T. atroviride* em contato com *R. solani* e *S. sclerotiorum* (Seidl et al., 2009). A relação direta entre as proteases e a atividade micoparasítica foi demonstrada ao observar um incremento da capacidade de biocontrole em cepas de *T. atroviride* que sobre-expressavam a subtilisina Prb1 (Flores et al., 1997). Ainda que se trate de uma atividade menos conhecida, as proteases de *Trichoderma* também são capazes de desempenhar seu potencial de biocontrole de forma direta frente a nematoides (Suárez et al., 2004).

A diversidade das enzimas degradadoras da parede celular (CWDE) com estrutura e

propriedades cinéticas tão distintas (Sanz et al., 2004) permite evitar os sistemas de defesa dos patógenos alvos. As enzimas degradadoras da parede celular de distintas cepas de *Trichoderma* têm demonstrado sua eficácia inibindo a germinação de esporos, o crescimento de hifas e o desenvolvimento de estruturas de resistência como escleródios e clamidósporos de um amplo número de patógenos, como por exemplo: *Armillaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Monília*, *Monilinia*, *Nectria*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Pseudoperonospora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Ustilago*, *Venturia*, *Verticillium*, etc.; assim como de fungos que causam podridões de madeira e incluso vetores de doenças causadas por vírus como o protozoário *Polymyxa* (Monte, 2001). Ademais, como foi comprovado no controle de *Botrytis*, a aplicação combinada de quitinases e glucanases purificadas de *T. harzianum* podem ser tão eficazes como as doses efetivas da maioria dos fungicidas químicos (Monte, 2001).

A antibiose de *Trichoderma*

A produção de metabólitos secundários por cepas de *Trichoderma* também apresenta grande variedade e aplicação potencial, pois com vários milhares de compostos distribuídos em mais de 120 estruturas moleculares, constituem uma das fontes de maior diversidade metabólica do Reino Fungi (Hermosa et al., 2014). Entre os mais estudados estão os peptaiboles, pequenos peptídeos não ribossômicos (NRP), poliquetídios (PK), terpenos e pironas como a 6-pentil-2H-piran-2-ona (6-PP), responsável pela cor amarela e cheiro de coco de muitos cultivos de *Trichoderma*. Estudos de genômica comparada demonstraram que as espécies de *Trichoderma* têm as maiores reservas de *clusters* de genes relacionados com a biossíntese de metabólitos secundários e que *T. atroviride* e *T. virens* albergam mais genes de NRP sintetases e de PK sintases que nenhum outro fungo filamentoso (Kubicek et al., 2011; Mukherjee et al., 2012).

É conhecida a atividade antifúngica *in vitro* de muitos dos metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma* frente a *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Stachybotrys*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Gaeumannomyces* entre outros fungos e a *Phytophthora* e *Pythium* (Hermosa et al., 2014). Não obstante, são escassos os ensaios conduzidos para se conhecer a eficácia de biocontrole de uma doença de planta por um determinado metabólito em condições de campo (Keswani et al., 2014; Li et al., 2014).

Os metabólitos de *Trichoderma* contribuem com as enzimas degradadoras da parede celular no potencial de controle. Contudo, não parece ser rentável a produção de um determinado metabólito para sua aplicação direta em um cultivo agrícola. Alguns dos metabólitos são fitotóxicos, como o trichoteceno e a trichodermina, que por este fato impede o uso de *T. brevicompactum* como agente de controle biológico (Tijerino et al., 2011). A ação inseticida

de alguns metabólitos de *Trichoderma*, isoladamente ou combinados com proteases, foram testados frente a pulgões (Shakeri; Foster, 2007; Evidente et al., 2009) e foi descrita a capacidade entomopatogênica de NPR gliotoxina (Vargas et al., 2014). É interessante destacar o poder dissuasivo de alguns metabólitos de *Trichoderma* frente a insetos praga (Sabatini et al., 2012) e a possibilidade de abrir uma linha de pesquisa que explore os efeitos dos metabólitos de *Trichoderma* em atrair predadores e parasitoides dessas pragas (Contreras-Cornejo et al., 2018), de forma direta ou por meio da indução da produção de metabólitos com esses mesmos efeitos nas plantas. A atividade dos metabólitos de *Trichoderma*, aplicados isoladamente ou combinados com os microrganismos benéficos para as plantas, sem dúvida contribuirá para o desenvolvimento de uma nova geração de bioestimulantes e bioprotetores mais efetivos e ecologicamente amigáveis que os existentes atualmente no mercado (Marra et al., 2019).

A competição de *Trichoderma*

Competição é um comportamento desigual de dois ou mais organismos por um mesmo requerimento ou recurso, de maneira que a utilização deste por um deles reduz a quantidade disponível para os outros. Estes requerimentos ou recursos podem ser nutrientes, oxigênio, espaço físico, luz, etc.

A ubiquidade de *Trichoderma* em solos naturais e agrícolas, em todas as partes do mundo, é uma prova de que é um bom competidor por espaço e pelos recursos nutricionais. *Trichoderma* é encontrado em quase todos os solos e também em habitats naturais que contém grandes quantidades de matéria orgânica, onde se comporta como excelente decompositor de material vegetal e fúngico. Além disso, muitas espécies de *Trichoderma* mostram uma grande versatilidade metabólica que lhes permitem crescer utilizando uma ampla gama de fontes de carbono e de nitrogênio. Por outro lado, a capacidade para colonizar a rizosfera das plantas é um ponto chave neste processo uma vez que um agente de controle biológico que não apresente capacidade de crescer na rizosfera não poderá competir por espaço e nutrientes.

As plantas se defendem dos patógenos gerando condições adversas, como a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que dão lugar a um estresse oxidativo que dificulta o acesso dos fitopatógenos aos tecidos da planta hospedeira. Precisamente, uma característica que permite a *Trichoderma* competir na rizosfera é a sua elevada tolerância ao estresse oxidativo. Algumas cepas de *Trichoderma* apresentam a particularidade de suportar níveis de ROS que outros fungos não conseguem tolerar (Morán-Díez et al., 2010). A síntese de ROS é um dos principais eventos que se produz nas interações patogênicas em organismos eucariotas e as NADPH oxidases (fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida) estão implicadas na formação de ROS. As análises funcionais de um gene que codifica uma NADPH oxidase de *T. harzianum* demonstraram que *Trichoderma* induz em seu próprio benefício e, igual que

R. solani, tolera melhor que outros fungos o estresse oxidativo, uma vez que favorece o antagonismo frente a patógenos como *Pythium* (Montero-Barrientos et al., 2011). Por outro lado, em um projeto de alternativas ao brometo de metila em cultivos de morango, comprovamos que os primeiros colonizadores dos solos fumigados, quando todavia tinham um elevado potencial redox, foram cepas de *Trichoderma* que foram obtidas praticamente em cultivo puro, devido seguramente a sua melhor adaptação a um ambiente altamente oxidante.

Em sua relação simbiótica com as plantas, *Trichoderma* implanta mecanismos antioxidantes e induz nas raízes e na parte aérea da planta uma diminuição dos níveis de ROS quando são prejudiciais para a planta, fato que leva a uma melhor tolerância ao déficit hídrico e outros estresses abióticos (Mastouri et al., 2012). Os genomas de *Trichoderma* parecem desenhados para expressar seu grande oportunismo. Assim, o genoma de *T. virens* apresenta um elevado número de genes que codificam transportadores ABC implicados nos processos de detoxificação de compostos inibidores produzidos pela defesa da planta. Ruocco et al. (2009) demonstraram que a expressão de um gene que codifica um transportador ABC, em *T. atroviride*, é favorecida por metabólitos e micotoxinas produzidos por fungos fitopatogênicos. Além disso, demonstraram com a sua supressão a importância da detoxificação na ação de *Trichoderma* no controle de *Rhizoctonia* e *Pythium* (Ruocco et al., 2009). A posse de um tipo de chaperonas, conhecidas como proteínas heat shock (HSP), também permite a *Trichoderma* sobreviver na rizosfera sob condições edáficas e climáticas muito adversas, tolerando estresses térmicos por calor e frio, oxidativos, osmóticos e salinos (Montero-Barrientos et al., 2008).

Trichoderma pode produzir sideróforos que colaboram com a sua sobrevivência e melhora a sua competição na rizosfera em baixas concentrações de ferro (Mukherjee et al., 2012). Além de sideróforos, podem solubilizar fosfatos mediante processos de acidificação, redox, quelação e hidrólises (Li et al., 2015). Além disso, foi verificado que ocorreu aumento na expressão de genes de *T. reesei* relacionados com a aquisição de nutrientes quando está em contato com *R. solani* (Atanasova et al., 2013). Embora sejam conhecidos, há muito tempo, casos em que se discute a competição como responsável direta do efeito antagonístico de *Trichoderma* (Sivan; Chet, 1989), não é fácil determinar se a competição por si somente é suficiente para que *Trichoderma* exerça sua ação antagonista ou se por contrário, outros mecanismos como a antibiose ou o micoparasitismo preparam as condições para que a competição se leve a cabo de uma forma mais eficaz. Um método sensível para demonstrar a substituição de um patógeno por um agente de controle biológico consiste no uso de cepas de *Trichoderma* resistentes a um fungicida e cultivos de raízes em meios suplementados com este fungicida, onde somente crescerá a cepa de biocontrole. Entretanto, não devemos esquecer que uma cepa de *Trichoderma* que seja excelente colonizadora da rizosfera não tem por que ser necessariamente um bom agente de controle biológico.

A interação de *Trichoderma* com as plantas

Um atrativo de *Trichoderma* em comparação a outros agentes de biocontrole é a sua capacidade para promover o crescimento das plantas. Há 35 anos, Baker et al. (1984) descreveram o maior peso seco de folhas de rábano quando cultivado na presença de *Trichoderma*.

Estudos posteriores constataram que *Trichoderma* acelerava a germinação de sementes de pimentão e incrementava a altura de plantas de pepino, assim como o peso seco de plantas de pimentão, pepino e tomate com aplicação em concentração superior a 10^5 conídios/g de solo (Chang et al., 1986). Está bem documentado que *Trichoderma* promove o crescimento da parte aérea das plantas e que produz auxinas e metabólitos como 6PP que favorecem o desenvolvimento das raízes (Vinale et al., 2008; Contreras-Cornejo et al., 2009) e desta forma as raízes são mais profundas e vigorosas, proporcionando maior tolerância a seca (Harman, 2000). *Trichoderma* também incrementa a absorção e a solubilização de nutrientes (Yedidia et al., 2001) e favorece a aderência hidrofóbica e o desenvolvimento de pelos absorventes nas raízes laterais, com consequente aumento da superfície de absorção (Samolski et al., 2012).

Trichoderma também provoca uma diminuição dos níveis de etileno (ET) nas plantas, mediada pela enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase, resultando em maior crescimento das plantas. Esta enzima degrada o ACC, que é um precursor de ET, tendo sido comprovado que se expressa durante a interação de *T. atroviride* com plantas de tomate (Gravel et al., 2007) e de *T. asperellum* com raízes de colza (Viterbo et al., 2010). *Trichoderma* aumenta a massa seca e o conteúdo de amido e açúcares solúveis das plantas (Shoresh et al., 2010), o verdor das folhas (Harman, 2000) e a eficácia fotossintética (Vargas et al., 2009), estando esta última diretamente relacionada com a assimilação de nitrogênio (Domínguez et al., 2016).

Os efeitos de *Trichoderma* proporcionando maiores rendimentos nos cultivos tem colaborado com a proliferação de formulações comerciais que adotam esta via de registro que é mais flexível e barata, aproveitando das propriedades de *Trichoderma* como bioinoculante, agente fitofortificante ou condicionador das plantas (Woo; Pepe, 2018). Desta forma, evita submeter-se às normas muito mais severas, caras e lentas exigidas para registrar *Trichoderma* como agente de controle biológico, isto é, como biopesticida.

Devido principalmente à sua preferência nutricional, *Trichoderma* abunda mais na rizosfera das plantas do que nos solos não rizosféricos (Druzhinina et al., 2011). Apesar de mais de 90% das plantas terrestres serem colonizadas por fungos micorrízicos, suscetíveis de serem atacados por agentes micotróficos como *Trichoderma*, a realidade é que existem estudos a favor e contra a compatibilidade de *Trichoderma* com micorrizas arbusculares. Em estudos *in vivo*, foram demonstrados efeitos positivos para as plantas com a associação de micorrizas com *Trichoderma* (Chandanie et al., 2009; Buysens et al., 2016). As micorrizas podem inclusi-

ve servir de via de entrada de *Trichoderma* nas raízes (De Jaeger et al., 2010), sugerindo que a micotrofia tenha colaborado na evolução de *Trichoderma* ao endofitismo. São poucas as espécies de *Trichoderma* realmente endofíticas, sendo muito mais numerosas as que se comportam como endofitos facultativos (Bae et al., 2009).

O colonização é um processo que envolve o reconhecimento e aderência às raízes, a penetração na planta, e a resistência aos estresses oxidativo e nitrosativo e às enzimas e metabólitos tóxicos produzidos pela planta em resposta à invasão, incluso degradando ativamente compostos fenólicos dos exsudatos radiculares (Chen et al., 2011) ou suprimindo a biossíntese de fitoalexinas (Masunaka et al., 2011). Em *Trichoderma*, o processo de aderência à superfície da raiz pode estar mediado por pequenas proteínas hidrofóbicas da superfície externa da parede celular (hidrofobinas) e por proteínas do tipo expansina capazes de reconhecer a celulose e modificar a arquitetura da raiz da planta (Mendoza-Mendoza et al., 2018).

O estabelecimento de *Trichoderma* nos tecidos radiculares pode ser favorecido por atividades do tipo hemicelulase e poligalacturonase, esta última requerida por *T. harzianum* para a colonização ativa da raiz e a indução das defesas da planta frente ao ataque de um patógeno necrotrófico como *Botrytis cinerea* (Morán-Diez et al., 2009). Uma vez colonizada a raiz, o crescimento de *Trichoderma* se vê restringido aos espaços intercelulares do córtex e da epiderme já que a aposição de calose na parede celular impede o acesso de *Trichoderma* aos sistemas vasculares (Yedidia et al., 1999). Diferentes espécies de *Trichoderma* podem colonizar as raízes de muitas plantas e incluso viver endofiticamente, não somente sem causar danos se não protegendo as plantas frente a patógenos e estresses ambientais e incrementando o rendimento dos cultivos em diferentes sistemas produtivos (Druzhinina et al., 2011; Carrero-Carrón et al., 2018). O potencial de biocontrole de *Trichoderma* também pode ser estendido às plantas daninhas parasitas, uma vez que pode atuar como barreira fisiológica para prevenir a germinação de suas sementes, suprimindo sinais que estimulam o desenvolvimento de plantas daninhas, como ocorre com a degradação de estrigolactonas (Boari et al., 2016).

O diálogo de *Trichoderma* com as plantas modula os processos de sinalização mediados por fitohormônios (Hermosa et al., 2012). Durante o processo de colonização da raiz, um hormônio chave para o reforçar as paredes celulares é o ácido salicílico (SA), que restringe *Trichoderma* ao apoplasto (espaço extracelular constituído pelas paredes celulares e os espaços entre as células por onde circulam a água e os solutos), prevenindo assim sua chegada até o sistema vascular. A função principal do ácido salicílico na colonização por *Trichoderma* foi demonstrada com mutantes de *Arabidopsis* incapazes de sintetizar ácido salicílico, uma vez que as plantas que carecem deste fitohormônio não acumulam calose e permitem a disseminação vascular de *Trichoderma* até as partes aéreas, com o posterior colapso da planta (Alonso-Ramírez et al., 2014).

Trichoderma e a indução de defesas na planta

A enorme variedade de plantas hospedeiras de *Trichoderma* leva a pensar que não existe uma adaptação específica do fungo a um tipo de planta em particular, ainda que a comparação dos transcriptomas da cepa de *Trichoderma virens* Gv29-8 em tomate e milho sugira que o comportamento do fungo está condicionado por cada planta hospedeira (Morán-Diez et al., 2015). Também se sabe que os efeitos positivos de *Trichoderma* são extensíveis a muitas espécies de vegetais, pelo que também se pode pensar que, no diálogo molecular com a planta, é o *Trichoderma* quem marca uma pauta de comportamento, o que poderia ser chamado de “efeito *Trichoderma*”, cujos mecanismos estão começando a ser compreendidos (Hermosa et al., 2012, 2013).

Trichoderma estimula de forma sistêmica as defesas das plantas frente ao ataque de patógenos e condições edáficas e ambientais adversas, sem a necessidade de estabelecer contato direto com o invasor ou estar submetida a um estresse prévio. Os patógenos atacantes mais habituais controlados sistemicamente pelo efeito *Trichoderma* são fungos filamentosos, oomicetos e bactérias (Shoresh et al., 2010), apesar que também se veem ativadas as defesas frente a nematoides (Medeiros et al., 2017), insetos (Coppola et al., 2017) e vírus (Elsharkawy et al., 2013). Portanto, as plantas não percebem *Trichoderma* como um inimigo. Contudo, para alcançar a condição de “amigo” das plantas *Trichoderma* precisou desenvolver suas capacidades oportunistas, utilizar os exsudatos da raiz (Vargas et al., 2009) e superar as respostas iniciais de defesa das plantas (Morán-Diez et al., 2012).

As plantas são capazes de apresentar respostas imunológicas altamente específicas e manter uma memória duradoura frente ao ataque de patógenos. A primeira linha de defesa ativa se conhece como resposta imune inata, que entra em funcionamento quando moléculas dos atacantes, conhecidas como padrões moleculares associados a microrganismos (microbe associated molecular patterns - MAMP), que são evolutivamente muito conservadas (beta-glucanos e quitina da parede celular dos fungos, flagelina e peptídeo-glucano das bactérias, etc.), são detectadas por receptores denominados receptor de reconhecimento de padrões (pattern recognition receptors - PRR), que estão localizados na membrana celular de cada célula vegetal. Igualmente, os PRR também respondem a moléculas liberadas pela ação hidrolítica dos atacantes sobre os tecidos da planta (exemplos: oligômeros da parede celular e restos cuticulares), que são conhecidos como padrões moleculares associados ao dano (damage-associated molecular patterns - DAMP).

Quando se estimula um PRR se gera uma cascata de transdução de sinais que dá lugar a uma resposta imune conhecida como imunidade disparada por MAMPs (MAMP-triggered immunity - MTI). Como resultado, se produz a fortificação das paredes celulares da planta com a deposição de calose e de lignina; a produção de metabólitos secundários com ação antimicro-

biana como as fitoalexinas; a acumulação de proteínas de defesa, conhecidas como proteínas relacionadas à patogênese (pathogenesis-related - PR), entre as quais se destacam as quitinases e as glucanases que hidrolisam a parede celular de fungos e oomicetos potencialmente invasores; e a acumulação de fitohormônios como ácido salicílico, etileno e ácido jasmônico (JA), consideradas protagonistas principais da resposta imune cujo sinal se transmite sistemicamente através das células vizinhas. A quantidade, composição e o momento em que a mistura de fitohormônios produzidos nas células vegetais variam de uma planta para outra e depende de seu estilo de vida e da estratégia empregada pelos atacantes (Pieterse et al., 2009). No caso de *Trichoderma*, a resposta imune, medida por estes fitohormônios, é dependente da cepa, sua concentração, a duração da interação e do estado de desenvolvimento e órgão da planta (Segarra et al., 2007).

Os patógenos que causam danos nas plantas são os que evoluíram para suprimir a defesa MTI. Eles liberam uma série de moléculas, conhecidas como “efetores”, que modulam a resposta imune inata e permitem a infecção ou a colonização endofítica (Lo Presti et al., 2015). Os genes que codificam moléculas efetoras obedecem a distintos padrões evolutivos e evidenciam a coevolução do patógeno com o seu respectivo hospedeiro (Franceschetti et al., 2017). As proteínas efetoras são secretadas no apoplasto ou no citoplasma da célula hospedeira. Os efetores também podem se translocar ao interior do núcleo celular, o que sugere que podem manipular a transcrição na célula hospedeira ou unir-se diretamente a componentes essenciais do núcleo em benefício do atacante que os há liberado (Rivas; Genin, 2011). Mais de 80 proteínas efetoras em fungos e oomicetos fitopatogênicos foram clonadas e caracterizadas (Selin et al., 2016).

Por sua vez, as plantas também evoluíram adquirindo a habilidade de reconhecer os efetores por meio de proteínas citoplasmáticas de resistência que contém repetições ricas em leucina (LRRs) e sítios de união a nucleotídeos (NBS), dando lugar a uma resposta imune adaptada (específica) conhecida como imunidade disparada por efetores (effector-triggered immunity - ETI). A coevolução entre atacantes e plantas tem gerado coleções de efetores microbianos intracelulares e proteínas NBS-LRR (também denominadas NLR) que os reconhecem. Assim, várias NLR estão super-representadas no proteoma de folhas de tomate em interação com *Trichoderma atroviride* (Marra et al., 2006). Por outro lado, se tem proposto que os receptores PRR, além de reconhecer MAMPs, também podem ser ativados pela ação dos efetores liberados no apoplasto (Win et al., 2012). A defesa frente aos colonizadores apoplásticos, como é o caso de *Trichoderma*, é do tipo ETI (porque é induzida por efetores), contudo também é do tipo MTI (já que, igual que os MAMPs, esses efetores são reconhecidos por receptores PRR da superfície celular). A defesa ETI se associa frequentemente com o desenvolvimento de uma resposta precoce, que gera estresses oxidativo e resposta de hipersensibilidade (HR), uma morte celular programada, localizada no sítio de infecção, que previne a disseminação do patógeno

dentro da planta. O fato de que algumas cepas de *Trichoderma* suportem melhor que outros fungos do solo ao estresse oxidativo, lhes dá vantagem na rizosfera das plantas, onde se produz a liberação de espécies reativas do oxigênio como consequência da ETI. Na maioria dos casos, a aparição de hipersensibilidade implica na ativação das defesas dependentes de ácido salicílico, que se conhecem como resistência sistêmica adquirida (SAR), e no caso particular de *Trichoderma* se necessita ácido salicílico para limitar sua presença no apoplasto da epiderme e do córtex, evitando que alcance os vasos vasculares (Alonso-Ramírez et al., 2014).

Os fitohormônios ácido jasmônico e etileno também são reguladores importantes do sistema imune das plantas, ativando o que se conhece como resistência sistêmica induzida (ISR), que está especialmente relacionada com a defesa que apresentam as plantas frente aos patógenos necrotróficos, microrganismos benéficos e insetos herbívoros (Pieterse et al., 2014). *Trichoderma* supera a defesa dependente de ácido salicílico por meio do incremento das respostas sensíveis a ácido jasmônico/etileno e auxina, que atuam como antagonistas do ácido salicílico (Brotman et al., 2013). Esta afirmação está apoiada na forte sub-regulação de genes relacionados com a resposta ao ácido salicílico observada depois de 4 h da inoculação de *T. harzianum* em plantas de *Arabidopsis*, seguida de um incremento na expressão de genes marcadores da resposta ao ácido salicílico e a sobre-regulação de genes relacionados com as respostas dependentes do ácido abscísico (ABA), depois de 48 h. Tudo indica que *Trichoderma* tem que fazer frente às defesas da planta desde os primeiros momentos da interação, quando a resposta inicial SAR (resistência sistêmica adquirida) não tenha ainda alcançado sua máxima intensidade, permitindo assim a colonização da epiderme e do córtex, e que a sub-regulação de genes relacionados com a resposta ao ácido salicílico seria suficiente para prevenir a disseminação indiscriminada do fungo na raiz.

A habilidade de ativar a resposta ISR (resistência sistêmica induzida) de forma independente ao ácido salicílico é uma característica comum dos microrganismos benéficos (Pieterse et al., 2014) que foi observada pela primeira vez em *T. asperellum* colonizando raízes de pepino, onde foi detectada ISR (resistência sistêmica induzida) dependente de JA/ET (ácido jasmônico/etileno) na parte aérea da planta em menos de 48 h (Shoresh et al., 2005). Não obstante, existem estudos que demonstram que o ácido salicílico atua como regulador da defesa ISR (resistência sistêmica induzida) ativada por *Trichoderma* (Morán-Díez et al., 2009; Salas-Marina et al., 2011; Mathys et al., 2012; Martínez-Medina et al., 2013). Também se tem observado que *Trichoderma* regula os níveis de etileno endógeno na planta (Viterbo et al., 2010) e que também produz os fitohormônios auxina (Contreras-Cornejo et al., 2009) e ácido salicílico (Pérez et al., 2015), que afetam o crescimento e as defesas da planta.

Um modelo explicativo do diálogo molecular entre *Trichoderma* e as plantas foi proposto. Neste modelo, no qual dependendo do momento e do resultado do estímulo provocado

por *Trichoderma*, a homeostase fitohormonal (com ácido salicílico, ácido jasmônico, etileno, ácido abscísico, giberilinas e auxinas como principais atores) controla por sua vez o desenvolvimento e as defesas da planta (Hermosa et al., 2012). Este modelo ajudaria a entender os mecanismos pelos que *Trichoderma* contribui para incrementar a capacidade de crescimento das plantas, a resistência às doenças e a tolerância aos estresses abióticos. No entanto, o diálogo que mantém *Trichoderma* com as plantas é dinâmico e a expressão dos genes que determinam as respostas SAR (resistência sistêmica adquirida) e ISR (resistência sistêmica induzida) se sobrepõe de maneira ondulatória, concordando com a habilidade de *Trichoderma* para crescer dentro e fora das raízes, provocando uma resposta sistêmica que a planta é capaz de recordar em presença de estresses bióticos e abióticos (Rubio et al., 2014). Ao longo do tempo, as mudanças causadas por *Trichoderma* no transcriptoma da planta vão sendo diminuídas ou, o que é a mesma coisa, a frequência e amplitude da resposta ondulatória se estende durante várias semanas até desaparecer. Assim, temos comprovado que somente alguns poucos genes de tomate, relacionados com o metabolismo e a defesa, modificaram seu perfil de expressão depois de três semanas da aplicação de *T. harzianum* nas raízes (Domínguez et al., 2016).

A indução das defesas sistêmicas frente aos estresses ambientais é possivelmente a característica menos estudada em *Trichoderma*. Recentemente, observamos que a aplicação de fertilizante nitrogenado e doses adequadas de *T. harzianum* apresentam efeito sinérgico, contudo é produzido um decaimento das plantas de tomate se aplicados conjuntamente em determinadas condições de estresse salino (Rubio et al., 2017). A relevância destes resultados é que se descreve que a super estimulação da planta por dupla fertilização com *Trichoderma* e fertilizantes nitrogenados, sob condições sub-ótimas para a planta, dá lugar a um desequilíbrio fitohormonal que provoca alterações fenotípicas indesejáveis. Portanto, independentemente de seu uso como agente de controle biológico ou como bioestimulante, resultará de vital importância ajustar as doses de *Trichoderma* aplicadas a cada planta em função das condições de cada cultivo.

Em um estudo realizado entre Brasil e Espanha, na Universidade de Salamanca, foi observado que plantas de tomate inoculadas com *Trichoderma* e infectadas com o nematoide das galhas *Meloidogyne javanica* expressam ondulatoriamente genes de defesa sistêmica, dependentes de ácido salicílico ou de ácido jasmônico, em função da fase do ciclo infectivo do nematoide (Medeiros et al., 2017). Neste mesmo estudo, também foi comprovado que a descendência de plantas de tomate submetidas ao “efeito *Trichoderma*” herdaram a resistência a patógenos e a promoção de crescimento de seus progenitores (Medeiros et al., 2017). O resultado final é indicativo de que *Trichoderma* reprograma as células de tomate podendo causar alterações epigenéticas nos nós que regulam as respostas transgeracionais da defesa e do crescimento da planta.

Considerações Finais

Trichoderma é um fungo oportunista que apresenta capacidade de colonizar substratos variados sob condições ambientais muito diversas, possui o maior número de enzimas hidrolíticas encontradas no Reino Fungi e possui também um sistema muito poderoso de reparação celular que lhe permite crescer em condições adversas. A exploração da capacidade de *Trichoderma* para atacar outros fungos tem permitido o desenvolvimento de numerosos agentes de controle biológico com demonstrada eficácia em distintos sistemas produtivos. Nos últimos anos são cada vez mais frequentes os estudos descrevendo que *Trichoderma* promove o crescimento das plantas e a germinação de sementes, que estimula sistemicamente as defesas das plantas frente aos patógenos e também frente a estresses ambientais. Tudo isto constitui o que pode ser chamado de “efeito *Trichoderma*”. Como resultado do diálogo de *Trichoderma* com as plantas entram em jogo distintos sistemas de regulação gênica que fazem com que a planta responda a este efeito, crescendo mais e melhor, adaptando-se às condições sub-ótimas de cultivo ou defendendo-se por meio de mecanismos de resistência sistêmica. A exploração eficiente das capacidades de biocontrole e de bio-estimulação de *Trichoderma* dependerá da nossa capacidade de selecionar as melhores cepas e estabelecer as melhores condições de uso. Finalmente, o “efeito *Trichoderma*” é suscetível de ser herdado, o que abre um enorme leque de possibilidades de aplicação deste fungo na produção de sementes e de mudas.

Referências

- ALONSO-RAMÍREZ, A.; POVEDA, J.; MARTÍN, I.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; NICOLÁS, C. Salicylic acid prevents *Trichoderma harzianum* from entering the vascular system of roots. **Molecular Plant Pathology**, v. 15, n. 8, p. 823-831, 2014.
- ATANASOVA, L. Ecophysiology of *Trichoderma* and *Gliocladium* in genome perspective. In: GUPTA, V. S.; SCHMOLL, M.; HERRE-RA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I., TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and biology of Trichoderma**. Boston: Elsevier, 2014. p. 25-40.
- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, p. 121, 2013.
- BAE, H.; SICHER, R. C.; KIM, M. S.; KIM, S-H.; STREM, M. D.; MELNICK, R. L.; BAILEY, B. A. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DJ5 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 11, p. 3279-3295, 2009.
- BAKER, R.; ELAD, Y.; CHET, I. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. **Phytopathology**, v. 74, n. 9, p. 1019-1021, 1984.
- BOARI, A.; CIASCA, B.; PINEDA-MARTOS, R.; LATTANZIO, V. M.; YONEYAMA, K.; VURRO, M. Parasitic weed management by using strigolactones-degrading fungi. **Pest Management Science**, v. 72, n. 11, p. 2043-2047, 2016.
- BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; CUADROS-INOSTROZA, A.; TAKAYUKI, T.; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VITERBO, A.; WILLMITZER, L. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLoS Pathogens**, v. 9, e1003221, 2013.

- BUYSENS, C.; CÉSAR, V.; FERRAIS, F.; DE BOULOIS, H. D.; DECLERCK, S. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizopagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 137-143, 2016.
- CARRERO-CARRÓN, I.; RUBIO, M. B.; NIÑO-SÁNCHEZ, J.; NAVAS, J. A.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Interactions between *Trichoderma harzianum* and defoliating *Verticillium dahliae* in resistant and susceptible wild olive clones. **Plant Pathology**, v. 67, n. 8, p. 1758-1767, 2018.
- CHANDANIE, W. A.; KUBOTA, M.; HYAKUMACHI, M. Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and plant growth-promoting fungi and their significance for enhancing plant growth and suppressing damping-off of cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Applied Soil Ecology**, v. 41, n. 3, p. 336-341, 2009.
- CHANG, Y.; CHANG, Y.; BAKER, R.; KLEIFELD, O.; CHET, I. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v. 70, n. 2, p. 145-148, 1986.
- CHEN, L.; YANG, X.; RAZA, W.; LI, J.; LIU, Y.; QIU, M.; ZHANG, F.; SHEN, Q. *Trichoderma harzianum* SQR-T037 rapidly degrades allelochemicals in rhizospheres of continuously cropped cucumbers. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 5, p. 1653-1663, 2011.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; DEL-VAL, E.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; ALARCÓN, A.; GONZÁLEZ-ESQUIVEL, C. E.; LARSEN, J. *Trichoderma atroviride*, a maize root associated fungus, increases the parasitism rate of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* by its natural enemy *Campoletis sonorensis*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 122, p. 196-202, 2018.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PANGO, C.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.
- COPPOLA, M.; CASCONI, P.; CHIUSANO, M. L.; COLANTUONO, C.; LORITO, M.; PENNACCHIO, F.; RAO, R.; WOO, S. L.; GUERRIERI, E.; DIGILIO, M. C. *Trichoderma harzianum* enhances tomato indirect defense against aphids. **Insect Science**, v. 24, n. 6, p. 1025-1033, 2017.
- DE JAEGER, N.; DECLERCK, S.; DE LA PROVIDENCIA I. E. Mycoparasitism of arbuscular mycorrhizal fungi: a pathway for the entry of saprotrophic fungi into roots. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 73, n. 2, p. 312-322, 2010.
- DOMÍNGUEZ, S.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; NICOLÁS, C.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase *amdS* gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1182, 2016.
- DRUZHININA, I. S.; CHENTHAMARA, K.; ZHANG, J.; ATANASOVA, L.; YANG, D.; MIAO, Y.; RAHIMI, M. J.; GRUJIC, M.; CAI, F.; POURMEHDI, S.; SALIM, K. A.; PRETZER, C.; KOPCHINSKY, A. G.; HENRISSAT, B.; KUO, A.; HUNDLEY, H.; WANG, M.; AERTS, A.; SALAMOV, A.; LIPZEN, A.; LABUTTI, K.; BARRY, K.; GRIGORIEV, I. V.; SHENG, Q.; KUBICEK, C. P. Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. **PLoS Genetics**, v. 14, n. 4, e1007322, 2018.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Natural Reviews. Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.
- ELSHARKAWY, M. M.; SHIMIZU, M.; TAKAHASHI, H.; OZAKI, K.; HYAKUMACHI, M. Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma asperellum* SKT-1. **Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 2, p. 193-200, 2013.
- EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A.; CIMMINO, A.; GANASSI, S.; ALTOMARE, C.; FAVILLA, M.; DE CRISTOFARO, A.; VITAGLIANO, S.; SABATINI, M. A. Bisorbicillinoids produced by the fungus *Trichoderma citrinoviride* affect feeding preference of the aphid *Schizaphis graminum*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 5, p. 533-541, 2009.
- FLORES, A.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A. Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene *prb1*. **Current Genetics**, v. 31, n. 1, p. 30-37, 1997.
- FRANCESCHETTI, M.; MAQBOOL, A.; JIMENEZ-DALMARONI, M. J.; PENNINGTON, H. G.; KAMOUN, S.; BANFIELD, M. J.

Effectors of filamentous plant pathogens: commonalities amid diversity. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 81, n. 2, e00066-16, 2017.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and biology of *Trichoderma***. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125-137.

HERMOSA, R.; GRONDONA, I.; ITUARRIAGA, E.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J.; CASTRO, C.; MONTE, E.; GARCÍA-ACHA, I. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 1890-1898, 2000.

HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 69-80, 2013.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17-25, 2012.

KESWANI, C.; MISHRA, S.; SARMA, B. K.; SINGH, S. P.; SIGH, H. B. Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 98, p. 533-544, 2014.

KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; MARTINEZ, D. A.; DRUZHININA, I. S.; THON, M.; ZEILINGER, S.; CASAS-FLORES, S.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K.; MUKHERJEE, M.; KREDICS, L.; ALCARAZ, L. D.; AERTS, A.; ANTAL, S.; ATANASOVA, L.; CERVANTES-BADILLO, M. G.; CHALLACOMBE, J.; CHERTKOV, O.; MCCLUSKEY, K.; COULPIER, F.; DESHPANDE, N.; HANS VON DÖHREN, H. von; EBBOLE, D. J.; ESQUIVEL-NARANJO, E. U.; FEKETE, E.; FLIPPPI, M.; GLASER, F.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, E. Y.; GRUBER, S.; HAN, C.; HENRISAT, B.; HERMOSA, R.; HERNÁNDEZ-OÑATE, M.; KARAFKA, L.; KOSTI, I.; LE CROM, S.; LINDQUIST, E.; LUCAS, S.; LÜBECK, M.; LÜBECK, P. S.; MARGEOT, A.; METZ, B.; MISRA, M.; NEVALAINEN, E.; OMANN, M.; PACKER, N.; PERRONE, G.; URESTI-RIVERA, E. E.; SALAMOV, A.; SCHMOLL, S.; SEIBOTH, B.; SHAPIRO, H.; SUKNO, S.; TAMAYO-RAMOS, J. A.; TISCH, D.; WIEST, A.; WILKINSON, H. H.; ZHANG, M.; COUTINHO, P. M.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; BAKER, S. E.; GRIGORIEV, I. V. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, R40, 2011.

LI, R. X.; CAI, F.; PANG, G.; SHEN, Q. R.; LI, R.; CHEN, W. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. **PLoS One**, v. 10, n. 6, e0130081, 2015.

LI, H. Y.; LUO, Y.; ZHANG, X. Z.; SHI, W. L.; GONG, Z. T.; SHI, M.; CHEN, L. L.; CHEN, X. L.; ZHANG, Y. Z.; SONG, X. Y. Trichokonins from *Trichoderma pseudokoningii* SMP2 induce resistance against gram-negative *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Chinese cabbage. **FEMS Microbiology Letters**, v. 354, n. 1, p. 75-82, 2014.

LO PRESTI, L.; LANVER, D.; SCHWEIZER, G.; TANAKA, S.; LIANG, L.; TOLLOT, M.; ZUCCARO, A.; REISSMANN, S.; KAHMANN, R. Fungal effectors and plant susceptibility. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 513-545, 2015.

MARRA, R.; AMBROSINO, P.; CARBONE, V.; VINALE, F.; WOO, S. L.; RUOCCO, M.; CILIENTO, R.; LANZUISE, S.; FERRAIOLI, S.; SORIENTE, I.; GIGANTE, S.; TURRA, D.; FOGLIANO, V.; SCALA, F.; LORITO, M. Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens by using a proteomic approach. **Current Genetics**, v. 50, n. 5, p. 307-321, 2006.

MARRA, R.; LOMBARDI, N.; D'ERRICO, G.; TROISI, J.; SCALA, G.; VINALE, F.; WOO, S. L.; BONANOMI, G.; LORITO, M. Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1814-1822, 2019.

- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNÁNDEZ, I.; SÁNCHEZ-GUZMÁN, M. J.; JUNG, S. C.; PASCUAL, J. A.; POZO, M. J. Deciphering the hormonal signaling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, article 206, 2013.
- MASTOURI, F.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.
- MASUNAKA, A.; HYAKUMACHI, M.; TAKENAKA, S. Plant growth-promoting fungus, *Trichoderma koningii* suppresses isoflavonoid phytoalexin vestitol production for colonization on/in the roots of *Lotus japonicas*. **Microbes and Environments**, v. 26, n. 2, p. 128-134, 2011.
- MATHYS, J.; DE CREMER, K.; TIMMERMANS, P.; VAN KERCKHOVE, S.; LIEVENS, B.; VANHAECKE, M.; CAMMUE, B. P.; DE CONINCK, B. Genome-wide characterization of ISR induced in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma hamatum* T382 against *Botrytis cinerea* infection. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 108, 2012.
- MEDEIROS, H. A.; ARAUJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atrovirens*. **Scientific Reports**, v. 7, article 40216, 2017.
- MENDOZA-MENDOZA, A.; ZAID, R.; LAWRY, R.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; HORWITZ, B.; MUKHERJEE, P. K. Molecular dialogue between *Trichoderma* and roots. Role of the fungal secretome. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 62-85, 2018.
- MONTE, E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. **International Microbiology**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2001.
- MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Functional analysis of the *Trichoderma harzianum nox1* gene, encoding an NADPH oxidase, relates production of reactive oxygen species to specific biocontrol activity against *Pythium ultimum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 9, p. 3009-3016, 2011.
- MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; NICOLÁS, C.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Overexpression of a *Trichoderma HSP70* gene increases fungal resistance to heat and other abiotic stresses. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, n. 11, p. 1506-1513, 2008.
- MORÁN-DIEZ, E.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. TvDim1 of *Trichoderma virens* is involved in redox-processes and confers resistance to oxidative stresses. **Current Genetics**, v. 56, n. 1, p. 63-73, 2010.
- MORÁN-DIEZ, E.; HERMOSA, M. R.; AMBROSIO, P.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; LORITO, M.; MONTE, E. The ThPG1 endopolygalacturonase is required for the *Trichoderma harzianum*-plant beneficial interaction. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 8, p. 1021-1031, 2009.
- MORÁN-DIEZ, E.; RUBIO, B.; DOMÍNGUEZ, S.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; NICOLÁS, C. Transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* after 24 h incubation with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 6, p. 614-620, 2012.
- MORÁN-DIEZ, M. E.; TRUSHINA, N.; LAMDAN, N. L.; ROSENFELDER, L.; MUKHERJEE, P. K.; KENERLEY, C. M.; HORWITZ, B. A. Hostspecific transcriptomic pattern of *Trichoderma virens* during interaction with maize or tomato roots. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 8, 2015.
- MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma* - a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012.
- PÉREZ, E.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; BETTIOL, W.; MONTE, E.; HERMOSA, R. The importance of chorismate mutase in the biocontrol potential of *Trichoderma parareesei*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, article 1181, 2015.
- PIETERSE, C. M.; LEÓN-REYES, A.; ENT, S. V. D.; WEES, S. C. VAN. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. **Nature Chemical Biology**, v. 5, p. 308-316, 2009.
- PIETERSE, C. M.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; WEES, S. C. van; BAKKER, P. A. Induced systemic resistance by beneficial microbes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, p. 347-375, 2014.

- RIVAS, S.; GENIN, S. A plethora of virulence strategies hidden behind nuclear targeting of microbial effectors. **Frontiers in Plant Science**, v. 2, p. 104, 2011.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, M. R.; KECK, E.; MONTE, E. Specific PCR assays for the detection and quantification of DNA from the biocontrol strain *Trichoderma harzianum* 2413 in soil. **Microbial Ecology**, v. 49, n. 1, p. 25-33, 2005.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. 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. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 294, 2017.
- RUBIO, M. B.; QUIJADA, N. M.; PÉREZ, E.; DOMÍNGUEZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Identifying beneficial qualities of *Trichoderma pararesei* for plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 6, p. 1864-1873, 2014.
- RUOCCO, M.; LANZUISE, S.; VINALE, F.; MARRA, R.; TURRÀ, D.; WOO, S. L.; LORITO, M. 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. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 3, p. 291-301, 2009.
- SABATINI, M. A.; GANASSI, S.; ALTOMARE, C.; FAVILLA, M.; EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A. **Phagodeterrent compounds of fungal origin**. EP 2706846 A1, US 20140228448 A1, WO 2012153314 A1, 14 May 2012, 15 Nov. 2012.
- SALAS-MARINA, M. A.; SILVA-FLORES, M. A.; URESTI-RIVERA, E. E.; CASTRO-LONGORIA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; CASAS-FLORES, S. Colonization of Arabidopsis roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, n. 1, p. 15-26, 2011.
- SAMOLSKI, I.; RINCÓN, A. M.; PINZÓN, L. M.; VITERBO, A.; MONTE, E. The *qid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 129-138, 2012.
- SANZ, L.; MONTERO, M.; GRONDONA, I.; VIZCAÍNO, J. A.; LLOBELL, A.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Cell wall-degrading isoenzyme profiles of *Trichoderma* biocontrol strains show correlation with rDNA taxonomic species. **Current Genetics**, v. 46, n. 5, p. 277-286, 2004.
- SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; BELLIDO, D.; ODENA, M. A.; OLIVEIRA, E.; TRILLAS, I. Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum* strain T34. **Proteomics**, v. 7, n. 21, p. 3943-3952, 2007.
- SEIDL, V.; SEIBEL, C.; KUBICEK, C. P.; SCHMOLL, M. Sexual development in the industrial workhorse *Trichoderma reesei*. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, v. 106, n. 33, p. 13909-13914, 2009.
- SELIN, C.; DE KIEVIT, T. R.; BELMONTE, M. F.; FERNANDO, W. G. Elucidating the role of effectors in plant-fungal interactions: progress and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 600, 2016.
- SHAKERI, J.; FOSTER, H. A. PROTEOLYTIC ACTIVITY AND ANTIBIOTIC PRODUCTION BY *TRICHODERMA HARZIANUM* IN RELATION TO PATHOGENICITY TO INSECTS. **ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY**, v. 40, n. 4, p. 961-968, 2007.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.
- SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of the jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.
- SIVAN, A.; CHET, I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* of rhizosphere colonization. **Phytopathology**, v. 79, n. 2, p. 198-203, 1989.
- SUÁREZ, B.; REY, M.; CASTILLO, P.; MONTE, E.; LLOBELL, A. Isolation and characterization of PRA1, a trypsin-like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematocidal activity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 1, p. 46-55, 2004.
- SUÁREZ, M. B.; VIZCAÍNO, J. A.; LLOBELL, A.; MONTE, E. Characterization of genes encoding novel peptidases in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* CECT 2413 using the *TrichoEST* functional genomics approach. **Current Genetics**, v. 51, n. 5, p. 331-342, 2007.

- TIJERINO, A.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; MORAGA, J.; MALMIERCA, M. G.; ALEU, J.; COLLADO, I. G.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. Overexpression of the *Trichoderma brevicompactum tri5* gene: effect on the expression of the trichodermin biosynthetic genes and on tomato seedlings. **Toxins**, v. 3, n. 9, p. 1220-1232, 2011.
- VARGAS, W. A.; MANDAWÉ, J. C.; KENERLEY, C. M. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants. **Plant Physiology**, v. 151, n. 2, p. 792-808, 2009.
- VARGAS, W. A.; MUKHERJEE, P. K.; LAUGHLIN, D.; WIEST, A.; MORÁN-DIEZ, M. E.; KENERLEY, C. M. Role of gliotoxin in the symbiotic and pathogenic interactions of *Trichoderma virens*. **Microbiology**, v. 160, p. 2319-2330, 2014.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; BARBETTI, M. J.; LI, H.; WOO, S. L.; LORITO, M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 72, n. 1-3, p. 80-86, 2008.
- VITERBO, A.; LANDAU, U.; KIM, S.; CHERNIN, L.; CHET, I. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. **FEMS Microbiology Letters**, v. 305, n. 1, p. 42-48, 2010.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932.
- WEINDLING, R. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. **Phytopathology**, v. 24, p. 1153-1179, 1934.
- WIN, J.; CHAPARRO-GARCIA, A.; BELHAJ, K.; SAUNDERS, D. G.; YOSHIDA, K.; DONG, S.; SCHORNACK, S.; ZIPFEL, C.; RO-BATZEK, S.; HOGENHOUT, S. A.; KAMOUN, S. Effector biology of plant associated organisms: concepts and perspectives. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 77, p. 235-247, 2012.
- WOO, S. L.; PEPE, O. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1801, 2018.
- YEDIDIA, I.; SRIVASTVA, A. K.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil**, v. 235, n. 2, p. 235-242, 2001.
- YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; CHET, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 1061-1070, 1999.