

Activació del sistema immunitari de les plantes: inducció de resistència i reducció de malalties

M. Isabel Trillas-Gay, Guillem Segarra-Braunstein

Facultat de Biologia, Secció de Fisiologia Vegetal, Universitat de Barcelona

REBUT: 13 DE SETEMBRE DE 2021 · ACCEPTAT: 4 D'ABRIL DE 2022

RESUM

Aquest article pretén fer una revisió breu de l'activació del sistema immunitari de les plantes, la qual ha estat molt estudiada en els últims cinquanta anys. Aquesta activació està induïda per patògens (microorganismes, nematodes i insectes) i també per organismes beneficiosos colonitzadors de la rizosfera i estímuls químics, i té un paper important en la reducció de diverses malalties i plagues. Hi estan implicades dues rutes de senyalització de la defensa: la dependent de l'àcid salicílic, o resistència sistèmica adquirida (RSA o SAR, de l'anglès *systemic acquired resistance*), i la independent de l'àcid salicílic, o resistència sistèmica induïda (RSI o ISR, de l'anglès *induced systemic resistance*). La primera està lligada a la resposta de les plantes davant l'atac de patògens mitjançant la síntesi de la fitohormona àcid salicílic i de proteïnes relacionades amb la patogènesi. La segona ruta comporta respostes de les plantes a organismes beneficiosos, i les hormones implicades són l'àcid jasmònic i l'etilè. Tanmateix, es presenten diversos resultats experimentals que avalen la implicació d'altres hormones en la modulació d'ambdues rutes.

Correspondència: M. Isabel Trillas Gay. Secció de Fisiologia Vegetal. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Av. de la Diagonal, 643. 08028 Barcelona. Tel.: 934 021 464. A/e: mtrillas@ub.edu.

Bacteris i fongs rizosfèrics, com *Trichoderma asperellum*, soca T34, potencien les respostes sistèmiques, incrementant la capacitat defensiva de les plantes contra un ampli rang de patògens. Altres treballs mostren com les alteracions en el contingut dels exsudats radiculars de les plantes davant l'atac dels patògens les ajuden a mantenir poblacions d'organismes beneficiosos. Utilitzar compost de sansa com a substrat de cultiu activa respostes de defensa de les plantes via RSA, cosa que ocasiona un estrès positiu o eustrès sense cap efecte negatiu en el seu creixement i amb un efecte beneficiós en la defensa enfront de patògens.

PARAULES CLAU: RSA, RSI, *Trichoderma* spp., compost de residus de la indústria de l'oli.

Plant immune system activation: Induction of resistance and disease reduction

ABSTRACT

This paper makes a brief review of the activation of the plant immune system, which has been extensively studied over the last 50 years. The activation of the immune system of plants is induced not only by plant pathogens (microorganisms, nematodes and insects) but also by beneficial rhizosphere microorganisms and chemical stimuli, and it plays an important role in the reduction of a wide range of plant diseases and pests. Two main routes are involved: the salicylic-dependent or systemic acquired resistance (SAR) route and the salicylic-independent or induced systemic resistance (ISR) route. The first route is linked to plants' response to pathogens, with the involvement of the hormone salicylic acid and pathogenesis-related proteins. The second route is related to beneficial organisms, the involvement of jasmonic acid and ethylene hormones. Likewise, experimental results are presented that evidence the involvement of other plant hormones in the modulation of both routes. Rhizosphere-competent bacteria or fungus like *Trichoderma asperellum*, strain T34, bolster defence responses systemically and enhance the defensive capacity of plants against a wide range of pathogens. The alteration of root exudates by the attack of a pathogen has an effect on root microbial populations. Plants can maintain the populations of beneficial microorganisms close to their roots by exuding specific compounds. The use of olive mill compost as plant growth media stimulates plant defence response by SAR by producing a "eustress", which is a kind of mild beneficial stress

that is free of any detrimental effect on growth and exerts a favourable effect on plants' defence capacity against pathogens.

KEYWORDS: SAR, ISR, *Trichoderma* spp., olive mill compost.

Activación del sistema inmunitario de las plantas: inducción de resistencia y reducción de enfermedades

RESUMEN

Este artículo pretende hacer una breve revisión de la activación del sistema inmunitario de las plantas, que ha sido muy estudiada en los últimos cincuenta años. Esta activación está inducida por patógenos (microorganismos, nematodos e insectos), y también por organismos beneficiosos colonizadores de la rizosfera y estímulos químicos, y tiene un papel importante en la reducción de diversas enfermedades y plagas. Se hallan implicadas dos rutas de señalización: la dependiente del ácido salicílico, o resistencia sistémica adquirida (RSA o SAR, del inglés *systemic acquired resistance*), y la independiente del ácido salicílico, o resistencia sistémica inducida (RSI o ISR, del inglés *induced systemic resistance*). La primera está vinculada a respuestas de las plantas frente a patógenos y la síntesis de la hormona ácido salicílico y proteínas relacionadas con la patogénesis. La segunda ruta comporta respuestas de las plantas a organismos beneficiosos; las hormonas implicadas son ácido jasmónico y etileno. Asimismo, se presentan diversos resultados experimentales que avalan la implicación de otras hormonas en la modulación de las dos rutas. Bacterias y hongos rizosféricos, como *Trichoderma asperellum*, cepa T34, potencian las respuestas sistémicas incrementando la capacidad defensiva de las plantas frente al ataque de patógenos. Las alteraciones en el contenido de exudados de las plantas consecuencia del ataque de patógenos ayudan a las plantas a mantener las poblaciones de organismos beneficiosos. La utilización de compost de alperujo como sustrato activa respuestas de defensa de las plantas vía RSA ocasionando un estrés suave o eustrés sin ningún efecto negativo sobre su crecimiento y con un efecto beneficioso frente a los patógenos.

PALABRAS CLAVE: RSA, RSI, *Trichoderma* spp., compost de alperujo.

1. Introducció

Comencem aquest article fent referència al fantàstic llibre escrit per Cook i Baker (1983), *The nature and practice of biological control of plant patho*. En el capítol 6, «La planta hoste i el control biològic», s'estableixen els primers conceptes d'inducció de resistència a les malalties, i se sintetitzen en dues pàgines els coneixements que es tenien fins al moment sobre aquesta temàtica, que recollien catorze publicacions científiques d'entre els anys 1964-1982 i que resumim a continuació.

a) L'activació dels mecanismes de defensa de les plantes es pot estimular amb la inoculació de soques avirulentes de microorganismes patògens o soques no patogèniques.

b) En inoculacions seqüencials de microorganismes avirulents, els mecanismes de protecció es poden detectar a partir de dues hores després de la introducció, i millor encara després de vint-i-quatre hores.

c) La protecció es pot desencadenar amb la inoculació de microorganismes morts per temperatura elevada abans de l'aplicació de soques virulentes.

d) La inducció de resistència és sistèmica i no està limitada a la zona d'inoculació del no patogen.

e) Aquesta estimulació sistèmica podria ser deguda a l'alliberament d'hormones que es desplaçarien pel xilema a diferents llocs de la planta.

f) Les cultivars d'una mateixa espècie vegetal difereixen en la velocitat de produir cal·losa, capes d'abscisió, oclusions, deposicions de fenols, lignines i altres mesures per a restringir o segellar la infecció.

g) La inducció de resistència implica una estimulació, és a dir, passar a un estat «d'alerta» o d'acceleració de la resposta, que d'altra manera en la planta també es donaria però seria massa tard per a limitar el patogen adequadament.

Aquestes afirmacions estan avui molt més documentades amb una gran diversitat de patògens i d'organismes beneficiosos per a les plantes i amb unes metodologies molt acurades (genòmica, proteòmica, metabolòmica, etc.).

Al llarg d'aquest article pretenem revisar si els set punts exposats anteriorment segueixen vigents i quina n'ha estat l'evolució. El segon objectiu és presentar una síntesi dels estudis duts a terme pel grup de Fitopatologia de la secció de Fisiologia Vegetal de la Universitat de Barcelona (UB) en l'activació de la defensa de les plantes emprant:

a) l'agent de control biològic *Trichoderma asperellum*, soca T34, o b) compost obtingut de residus orgànics.

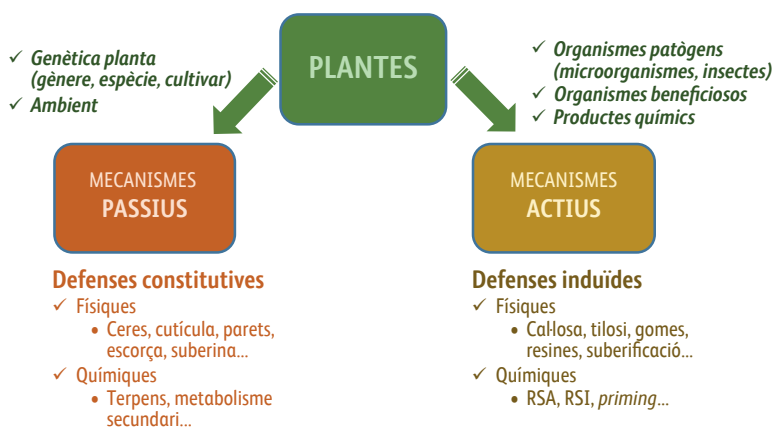
2. La inducció de resistència de les plantes

2.1. Les hormones i la inducció de defenses de les plantes davant dels patògens

Un aspecte que ha estat clau per a induir la resistència de les plantes és acceptar que, com els animals, tenen un sistema immunitari conseqüència de les interaccions complexes a les quals han hagut de fer front al llarg de la seva evolució amb un ventall molt ampli d'organismes beneficiosos, d'organismes patògens (microorganismes, nematodes i insectes) (estrès biòtic) i de condicions ambientals adverses (estrès abiòtic). En general, observem que les plantes són resistents a la majoria de patògens i que només són sensibles a uns quants que els ocasionen malalties. Això és degut al fet que les plantes tenen defenses constitutives o passives, com poden ser les ceres i parets que bloquegen l'entrada d'aquests organismes, però també són capaces de reconèixer que estan sent atacades i reaccionar davant d'aquest fet (defenses actives). Les plantes disposen de receptors a escala cel·lular que els permeten reconèixer senyals de l'entorn i desencadenar una successió de processos bioquímics que donen com a resultat l'expressió de gens o la síntesi de substàncies (figura 1). Les plantes reconeixen molècules dels patògens que anomenem *inductors exògens* i també reconeixen fragments de les mateixes parets vegetals (induc-

FIGURA 1

Esquema general dels mecanismes de defensa de les plantes. Mecanismes passius (defenses constitutives) i mecanismes actius (defenses induïdes), conseqüència del reconeixement de les plantes a senyals del seu entorn



RSA: resistència sistèmica adquirida; RSI: resistència sistèmica induïda.

FONT: Elaboració pròpia.

tors endògens) i hi responen activant les seves defenses. Els patògens, per la seva part, poden manipular les vies de senyalització de la defensa de la planta en benefici propi, cosa que n'afecta la capacitat per a defensar-se.

En les plantes, les hormones són essencials en el creixement, en el desenvolupament, en la reproducció i en la supervivència, i els canvis en la seva concentració o en la sensibilitat comporten que tinguin respostes adaptatives. Específicament, l'àcid salicílic, l'àcid jasmònic i l'etilè són les principals hormones implicades en la regulació de les respostes immunitàries de les plantes (Pieterse i Loon, 1999). Tot i que recentment també s'ha vist que la resta d'hormones (auxines, àcid abscísic, citocinines, etc.) estan interconnectades, cosa que permet a les plantes una adaptació ràpida. La despesa energètica en defensa es fa a expenses dels recursos metabòlics del creixement i del desenvolupament.

Els estudis de les respostes hormonals de les plantes a l'atac dels patògens s'han fet principalment en plantes model, com *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) i el tabac (*Nicotiana tabacum*), amb mutants i transgènics obtinguts a partir de plantes salvatges. Aquests mutants tenen impedides, de manera específica, alguna de les rutes de síntesi d'una determinada hormona, i si s'hi observa alguna alteració important en els nivells de resistència a un determinat patògen respecte a la planta salvatge, s'interpreta que la resposta està regulada per aquella hormona específica.

Tal com han observat Sticher, Mauch-Mani i Métraux (1997), les defenses de les plantes davant dels patògens comporten el reforç de les defenses constitutives de les parets cel·lulars amb la síntesi de lignina i la formació de papil·les de cal·losa, també amb la producció de metabòlits antimicrobians (fitoalexines) i de proteïnes relacionades amb la patogènesi (proteïnes RP o PR, de l'anglès *pathogenesis-related proteins*) com glucanases, quitinases, etc. La incorporació de lignina reforça mecànicament la paret cel·lular de les plantes, també la fa més difícil de degradar enzimàticament pels patògens que la volen envair i extreure'n els nutrients. A la vegada, els precursors de la síntesi de lignina poden ser tòxics per als patògens o provocar-los la lignificació de les estructures d'invasió. Està àmpliament documentada en les plantes la formació de papil·les als llocs d'infecció en resposta a la invasió del patògen i que aquesta formació en restringeix la penetració. La síntesi de proteïnes RP es va descriure als anys setanta en fulles de tabac infectades amb el virus del mosaic del tabac i, posteriorment, s'ha descrit davant molts altres agents patògens, com fongs, nematodes, insectes i certs productes químics. Aquestes proteïnes s'acumulen al lloc de la infecció i, en menor mesura, a llocs distants. Un indicador de l'activació dels mecanismes de defensa de les plantes és l'activació de l'enzim fenilalanina amoniliasa; aquest enzim proveeix de precursors per a la síntesi de lignina i derivats fenilpropanoids (alguns tipus de fitoalexines) implicats en la resistència de les plantes. La inhibició de l'activitat de la fenilalanina amoniliasa redueix la resistència davant de patògens en diversos tipus de plantes.

El reconeixement del patògen pot provocar un esclat oxidatiu al lloc d'infecció amb l'acumulació ràpida d'espècies reactives de l'oxigen, les quals tenen activitat antimicrobiana. Aquestes espècies reactives de l'oxigen també es troben implicades en la senyalització, que comporta una resposta hipersensible i la mort cel·lular d'unes poques cèl·lules de les plantes (resposta local), de manera que el patògen queda aïllat de la resta de cèl·lules i així la planta evita mals posteriors. La resposta hipersensible és efectiva només davant de patògens del tipus biotròfics (que s'alimenten dels nutrients dels teixits vius de les plantes, mitjançant unes estructures anomenades *haustoris*), però no davant de patògens necrotròfics (que destrueixen les cèl·lules de les plantes i s'alimenten dels teixits morts). Els necrotròfics sintetitzen toxines i activen els senyals de defensa de les plantes quan els enzims del patògen alliberen fragments de les parets vegetals (Agrios, 2005).

2.2. Mecanismes implicats en la inducció de resistència sistèmica en les plantes

La planta, una vegada ha desencadenat una resposta hipersensible al lloc d'infecció, també pot respondre de manera sistèmica a llocs distals i aquests teixits no infectats queden protegits davant d'una invasió posterior d'un patògen. Aquesta inducció de resistència amb una duració més prolongada s'anomena *resistència sistèmica adquirida* (RSA o SAR, de l'anglès *systemic acquired resistance*). Es caracteritza per l'activació de gens específics de síntesi de proteïnes RP (activitat antimicrobiana) i per un increment dels nivells d'àcid salicílic en teixits locals o distants. Aquest tipus de resistència s'expressa en condicions de camp i contra un ampli espectre d'organismes (per exemple, pot estar induïda per un fong i actuar contra bacteris i virus). La inducció de la RSA es dona després d'unes poques hores d'inocular el patògen i es pot mantenir contra el mateix patògen, o un altre, després de diverses setmanes (Sticher, Mauch-Mani i Métraux, 1997). L'àcid salicílic no és l'única molècula mòbil implicada en la senyalització de la RSA: hi ha estudis que proposen el salicilat de metil com la molècula que es desplaça a teixits llunyans i que després es converteix en àcid salicílic. El salicilat de metil se sintetitza a partir de l'àcid salicílic al lloc de la infecció (Park *et al.*, 2007).

Les plantes també fan servir una altra ruta hormonal de resposta de defensa, que és independent de l'àcid salicílic i dependent del jasmonat de metil i de l'etilè. Aquesta ruta de defensa en les plantes s'anomena *resistència sistèmica induïda* (RSI o ISR, de l'anglès *induced systemic resistance*) i no comporta la inducció de transcrits de proteïnes RP (Pie-terse *et al.*, 1996).

Durant molt de temps s'ha acceptat que les respostes de defensa induïdes per la ruta de l'àcid salicílic eren les més efectives davant de patògens biotròfics, mentre que la ruta del

jasmonat de metil i l'etilè predominava en les interaccions contra patògens necrotròfics i insectes. Amb el temps, però, s'han fet evidents moltes excepcions que han fet pensar que les respostes de les plantes són molt específiques i diverses (Ton *et al.*, 2002). També s'ha demostrat que es donen interaccions antagonistes i sinèrgiques entre les dues rutes de senyalització i que totes les altres hormones influencien ambdues rutes principals de defensa (Bari i Jones, 2009).

La RSA i la RSI estan molt descrites en el cas d'atacs produïts per microorganismes patògens. D'altra banda, les plantes, per desfer-se dels insectes herbívors, han optat per dues estratègies de defensa induïdes per l'insecte en alimentar-se: *a*) defensa directa contra l'organisme atacant, *b*) defensa indirecta a través de l'atracció dels enemics naturals. En el primer cas, està molt estudiada la inducció sistèmica molt ràpida, amb la síntesi de proteïnes inhibidores, les proteïnases, que s'uneixen a les proteases digestives del budell de l'insecte, el qual deixa de menjar. S'ha vinculat la síntesi de proteïnases a l'activació de la síntesi de l'àcid jasmònic. En el segon cas, les plantes activen la producció d'un ampli ventall de compostos orgànics volàtils que atrauen enemics paràsits o depredadors de l'insecte atacant. L'àcid jasmònic i l'etilè sembla que tenen un paper important en la senyalització d'ambdós tipus de resposta. L'àcid salicílic i altres hormones estan implicats en la modulació d'aquestes respostes (Erb, Meldau i Howe, 2012).

2.3. Compostos químics com a activadors de la resistència de les plantes

Des de 1979 és conegut que l'aplicació exògena d'àcid salicílic redueix els símptomes produïts pel virus del mosaic del tabac i, posteriorment, es va demostrar en diferents patògens fúngics i bacterians. Va ser Loon (1983), de la Universitat d'Utrecht, qui va vincular l'àcid salicílic amb la RSA i l'acumulació de proteïnes RP. Finalment, dos grups de treball, de manera independent (Malamy *et al.*, 1990, i Métraux *et al.*, 1990), van confirmar que l'àcid salicílic actuava de senyalització endògena de la RSA. A partir d'aquests estudis es va relacionar, en diverses espècies vegetals, l'aplicació exògena de diferents compostos amb l'activació de la RSA per a fer front a diferents patògens: compostos orgànics naturals, com l'àcid jasmònic, el jasmonat de metil, però també l'àcid oleic, lino-leic, linolènic, etc.; compostos inorgànics, com sals de fosfat, pols de SiO₂, i compostos químics sintètics, alguns anàlegs funcionals de l'àcid salicílic, com l'àcid 2,6-dicloroisoni-cotinic, o el benzotriazol, però també el propenazol (fungicida de la classe dels 1,2-ben-zotiazols) o l'àcid β-aminobutíric.

2.4. La inducció de resistència o l'activació de la capacitat defensiva de les plantes per organismes beneficiosos

La inducció de resistència, com hem vist fins ara, està associada a una activació directa de gens de defensa que comporta la síntesi i l'acumulació de compostos defensius, proteïnes amb diversos tipus d'acció, compostos volàtils, etc. En diferents estudis s'ha vist que, en alguns casos, aquesta capacitat defensiva no comporta sempre una activació directa de gens de defensa, sinó que permet una resposta més ràpida, més gran i més efectiva dels mecanismes de defensa quan posteriorment la planta és exposada a patògens. Aquest tipus d'estimulació o potenciació de la resposta s'anomena *sensibilització* (*priming* en anglès), no comporta una expressió contínua dels mecanismes de defensa i és, per tant, metabòlicament menys costosa que l'activació directa dels gens de defensa (Conrath, Pieterse i Mauch-Mani, 2002; Trillas i Segarra, 2009).

En el sòl i la rizosfera no només trobem organismes patògens, també hi ha organismes beneficiosos, com fongs antagonistes dels patògens, micorrizes i bacteris no patògens, alguns dels quals poden facilitar elements minerals i promoure el creixement de les plantes. S'ha vist que la planta també pot reconèixer els microorganismes beneficiosos; això li permet no activar la seva resposta contra aquests microorganismes i alhora li serveix com a estímul per a posar en alerta el seu sistema immunitari via sensibilització (Mauch-Mani *et al.*, 2017).

Els estudis d'inducció de resistència en planta per part dels organismes beneficiosos es fan separant físicament els organismes patògens dels no patògens, per tal d'evitar fenòmens de competència per l'espai i/o els nutrients, antibiosi o parasitisme entre patògens i beneficiosos. Bàsicament, es fan servir dues tècniques: a) la separació d'arrels, o *split root*, és a dir, tenir el patògen edàfic en una part de les arrels i l'organisme beneficiós en l'altra; b) l'aplicació de l'organisme beneficiós a les arrels o al substrat de la planta i l'estudi de les respostes de reducció de malaltia enfront d'un patògen foliar.

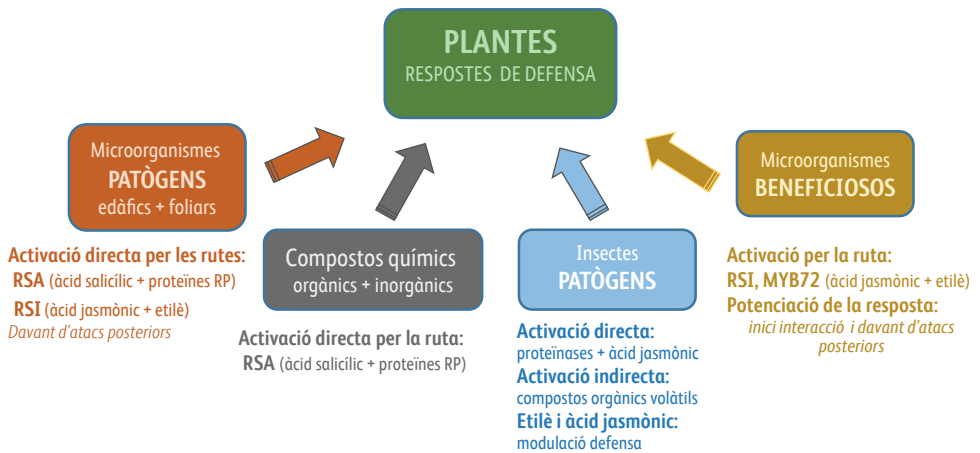
S'han dut a terme molts estudis de RSI i RSA emprant diverses soques de *Pseudomonas*, com ara, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. aeruginosa* i també *Serratia marcescens*, que de manera genèrica s'han anomenat *rizobacteris promotors de creixement*, els quals s'ha vist que, a més de millorar el creixement de les plantes i solubilitzar elements minerals, també poden reduir malalties causades per patògens molt diversos. Loon, Bakker i Pieterse (1998) en fan una revisió i presenten, a més, resultats per a diverses soques. Concretament, amb la soca S97 de *P. fluorescens*, la protecció només s'aconseguia amb la soca viva, però no és ben clar si en la reducció de malaltia operen altres mecanismes d'acció. A la Universitat d'Utrecht s'ha treballat amb diverses soques de *P. fluorescens*, segurament la més estudiada ha estat la WCS417, per la tècnica de separació d'arrels, emprant la soca viva i morta per calor contra patògens com els fongs *Fusarium oxysporum* f. sp.

dianthi o *F. oxysporum* f. sp. *raphani*. Amb *P. putida*, soca 89B-27, l'activació de la defensa es perllonga diverses setmanes (més de cinc); les poblacions del bacteri cauen de 10^8 a 10^3 ufc/g d'arrel en tres setmanes. En el cas de *P. fluorescens* WCS374 i WCS417, només s'observa inducció de resistència (RSI) i reducció de la malaltia a partir d'unes determinades poblacions bacterianes a les arrels (10^5 ufc/g d'arrel). En els estudis amb poblacions elevades del patògen *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* sembla que la RSI és insuficient per a reduir el desenvolupament de la malaltia i, en casos d'incidència de malaltia baixa, l'efecte del bacteri és tan petit que estadísticament no sempre s'hi observen diferències. Per tant, es fa important escollir uns determinats nivells de malaltia per a observar aquesta activació de la defensa de les plantes.

Les plantes inoculades amb el patògen foliar *P. syringae* pv. *tomato* o bé ruixades amb àcid salicílic o amb el seu anàleg, l'àcid 2,6-dicloroisonicotínic, en esprai, van desenvolupar inducció de resistència i van acumular mRNA de proteïnes RP, concretament RP-1, RP-2 i RP-5 (Pieterse *et al.*, 1996). I les plantes inoculades amb les soques WCS417 o WCS358 de *P. fluorescens* van desenvolupar RSI, però no van mostrar inducció en l'expressió de gens RP ni acumular proteïnes RP, la qual cosa va demostrar que aquests bacteris promotors del creixement activen rutes de senyalització diferents de RSA. La soca

FIGURA 2

Activació de la resposta de defensa de les plantes per microorganismes patògens i beneficiosos, insectes i substàncies químiques



RSA: resistència sistèmica adquirida; RSI: resistència sistèmica induïda; RP: relacionades amb la patogènesi.

FONT: Elaboració pròpia.

WCS374, tot i la capacitat de produir *in vitro* grans quantitats d'àcid salicílic, no va induir resistència sistèmica en *Arabidopsis*, mentre que sí que ho va aconseguir la soca WCS358, que no era capaç de produir àcid salicílic (Wees *et al.*, 1997).

Caldria remarcar que diferents grups de treball fan servir indistintament la terminologia RSA o RSI; no obstant això, s'ha arribat a un acord en el sentit que el terme genèric seria *inducció de resistència*. D'altra banda, el grup de la Universitat d'Utrecht ha optat per anomenar *RSI* les respostes independents de l'àcid salicílic induïdes per organismes beneficiosos, mentre que empren *RSA* per a indicar les respostes d'inducció dependents de l'àcid salicílic degudes a patògens (Pieterse *et al.*, 2002).

A la figura 2 es mostren de manera esquemàtica els diferents tipus d'inducció de resistència que s'han introduït en el text.

3. Estudis d'inducció de resistència en plantes per l'agent de control biològic *Trichoderma asperellum*, soca T34

Aquests estudis amb aquest agent de control biològic s'han dut a terme a la Facultat de Biologia de la UB, també a la Universitat d'Utrecht i a l'Escola d'Agricultura de Barcelona (UPC).

a) Metodologia per a l'anàlisi conjunta d'àcid salicílic i àcid jasmònic

L'any 2006, en el transcurs d'una tesi doctoral i donat l'interès en aquell moment per l'anàlisi de les principals hormones implicades en la resistència contra patògens, vam desenvolupar un mètode ràpid i sensible per a determinar de manera simultània els nivells en planta de les dues hormones principals implicades en la defensa: àcid salicílic i àcid jasmònic (Segarra *et al.*, 2006). Aquesta metodologia, basada en cromatografia líquida acoblada a espectrometria de masses, era ràpida i donava molt bons resultats quant als límits de detecció, repetibilitat i linealitat, i millorava metodologies anteriors (com les de Meuwly i Métraux, 1993, i Rakwal *et al.*, 2002). L'objectiu en aquesta primera aproximació a la problemàtica era doble: mostrar la fiabilitat de la tècnica que empraria el grup en publicacions posteriors, i fer unes primeres mesures en diferents teixits de cogombre (*Cucumis sativus* L., cv. Negrito). No es va fer separació espacial i en el substrat de cultiu es van aplicar els fongs *Trichoderma asperellum* soca T34 (Trillas-Gay i Cotxarrera Vilaplana, 2002) com a agent de control biològic, i el patògen *Rhizoctonia solani*. Els resultats obtinguts no van mostrar diferències significatives en el contingut d'àcid salicílic i àcid jasmònic en cotiledons i arrels, entre les plantes de control i les tractades amb T34 amb absència del patògen, mentre que en les plantes inoculades amb el patògen es van obtenir valors significativament superiors per a les dues hormones i els dos tipus de teixits.

b) *Estudi dels mecanismes d'acció de la soca T34 de Trichoderma asperellum*

L'any 2007, i per a estudiar els mecanismes d'acció de T34 durant les primeres hores d'interacció amb les arrels de les plantes, vam fer estudis hormonals (àcid salicílic i àcid jasmònic), de l'activitat peroxidasa (una activitat típica de resposta de les plantes davant dels patògens) i del proteoma (Segarra *et al.*, 2007a). Aquesta vegada es va fer separació espacial entre l'agent de control i el patogen tot emprant el patogen foliar *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (*Psl*) en cultiu hidropònic de cogombre. Després de 24 hores d'aplicar T34 a les arrels, es va inocular el patogen ruixant amb esprai els cotiledons amb 100 µl d'una suspensió de *Psl* (densitat òptica₆₆₀ = 1). En els estudis de malaltia, els tractaments van ser tres: plantes de control, sense patogen ni T34; plantes inoculades amb *Psl* sense T34, i plantes inoculades amb *Psl* i tractades amb T34 a dosis altes (10⁷ conidis/ml). En els estudis de l'activitat peroxidasa i hormonals (àcid salicílic i àcid jasmònic), els tractaments van ser: plantes inoculades amb *Psl* sense T34 i plantes inoculades amb *Psl* i tractades amb T34 a tres dosis diferents (10⁵, 10⁶ i 10⁷ conidis/ml).

En els estudis de malaltia, 48 hores després d'aplicar-hi *Psl*, els resultats van mostrar uns nivells de malaltia significativament més baixos en el tractament amb T34 a les arrels respecte de les no tractades, cosa que indicava que el mecanisme que operava en aquella reducció era exclusivament a través de planta, donat que es podien descartar mecanismes com parasitisme i antagonisme. Els resultats també van mostrar que els nivells d'àcid salicílic i d'àcid jasmònic i l'activitat peroxidasa s'incrementaven en els cotiledons en funció de les concentracions de T34 aplicades a les arrels, la qual cosa suggeria que les induccions de resposta en la planta depenen de la concentració de T34. En les primeres hores d'interacció es va observar una reacció similar a la RSA, resultat de la colonització de les arrels per T34 aplicat a concentracions elevades (Trillas i Segarra, 2009). Com a conseqüència de la protecció foliar contra *Psl*, es van observar nivells alts d'àcid salicílic i d'àcid jasmònic i d'activitat peroxidasa en funció de la concentració de T34 aplicada. Els estudis de proteòmica van identificar vint-i-vuit proteïnes en els cotiledons que resultaven afectades amb la colonització per T34, a diferència del tractament de control (absència de T34). Disset proteïnes estaven sobreexpressades i onze inhibides; les sobreexpressades estaven implicades en reaccions d'espècies reactives d'oxigen, en respostes d'estrès, en la biosíntesi d'isoprenoides, en la biosíntesi d'etilè i en el metabolisme fotosintètic, fotorespiratori i dels hidrats de carboni. En resum, les plantes amb les arrels colonitzades per T34 sobreexpressaven uns grups de proteïnes orientades a la defensa, implicades directament en la protecció, que en modificaven el metabolisme d'un estat assimilatori a un estat defensiu (Segarra *et al.*, 2007a).

c) *Comparació entre les respostes induïdes pel bacteri Pseudomonas fluorescens, soca WCS417r, i el fong Trichoderma asperellum, soca T34*

L'any 2009, en col·laboració amb la Universitat d'Utrecht, es va fer un estudi comparatiu amb dos microorganismes beneficiosos: el bacteri *P. fluorescens*, soca WCS417r, i el fong *T. asperellum*, soca T34, bons colonitzadors de les arrels i amb una demostrada capacitat supressora de malaltia davant d'un ampli ventall de patògens de les plantes (Segarra *et al.*, 2009). Els estudis es van fer en *Arabidopsis thaliana*, en la cultivar salvatge (Col-0) i en tres mutants: el mutant *myb72-1*, que tenia impedida la ruta RSI; el mutant *npr1-1*, que tenia impedides les dues rutes RSI i RSA, i el mutant *sid2-1*, que tenia impedida la ruta de biosíntesi de l'hormona àcid salicílic. WCS417r es va inocular a la dosi de 5×10^7 ufc/g de substrat i T34 es va inocular a la dosi de 10^5 ufc/g de substrat. Es va avaluar la reducció de malaltia davant dels patògens foliars següents: el bacteri *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, l'oomicet biotrófic *Hyaloperonospora parasitica* i el fong necrotròfic *Plectosphaerella cucumerina*. Els dos organismes beneficiosos van reduir significativament la malaltia provocada per *P. syringae* respecte de les plantes tractades només amb el patògen, i la reducció induïda per T34 era superior a la de WCS417r. De manera semblant, les arrels colonitzades per T34 van reduir més i de manera més significativa les malalties ocasionades per *H. parasitica* i *P. cucumerina*. El comportament de T34 va ser similar al de WCS417r, així T34 no es va associar a una activació transcripcional directa de gens associats a RSA, però sí a una potenciació de l'expressió del gen *LOX2* —que respon a l'àcid jasmònic— quan es va tractar amb jasmonat de metil i a una potenciació de la formació de cal·losa en els estomes de les fulles, el punt d'entrada de *H. parasitica*. El sistema de defensa d'*Arabidopsis* indueix habitualment la formació de cal·losa, la qual cosa impedeix l'entrada del patògen, en aproximadament un 20% dels estomes, amb T34. En canvi, les deposicions de cal·losa van ser en aproximadament un 60% dels estomes, un valor significativament més alt. En trobar similituds entre els dos organismes beneficiosos, es va indagar si la ruta de la RSI era regulada de manera similar i es va demostrar que la inducció de resistència funcionava de manera independent de l'àcid salicílic i que en els dos organismes el factor de transcripció de les arrels MYB72 tenia un paper rellevant en els primers senyals d'inducció de la RSI (Segarra *et al.*, 2009).

d) *Inducció de resistència per la soca T34 davant la podridura grisa del tomàquet*

Més tard, es va treballar amb un altre patògen foliar, el fong necrotròfic *Botrytis cinerea* inoculat (a la concentració de 10^5 conidis/ml) a les fulles de tomaquera (*Solanum lycopersicum* cv. Roma) cultivada en perlita, un substrat baix en nutrients i microorganismes (Fernández, Segarra i Trillas, 2014). T34 es va obtenir del producte comercial T34 Biocontrol® i es va aplicar a la concentració de 10^4 ufc/ml de substrat. Ambdós es van aplicar en trasplantar la tomaquera del planter al test, i es va prolongar l'experiment catorze dies. La severitat de la malaltia es va reduir un 35% respecte de les plantes sense T34, reducció

només atribuïda a la inducció dels mecanismes de defensa de la planta. Les plantes amb les arrels colonitzades per T34, respecte de les de control, van tenir una millor absorció de nutrients (Mg, P, B, Cu) i una millor distribució de C i N, que van comportar un creixement més gran, mesurat a partir de l'àrea foliar total, el pes sec i l'altura. En aquest estudi es va demostrar que la ruta de senyalització no estava regulada per les hormones àcid salicílic i àcid abscísic. El conjunt de mesures fisiològiques va indicar que les plantes cultivades en perlita i amb T34 no mostraven cap tipus d'estrès.

e) *Estudi dels exsudats radiculars en tomaquera infectada amb Botrytis cinerea*

En un estudi posterior, i treballant amb el mateix patosistema, es va aplicar T34 (10^4 ufc/ml) al substrat on es van trasplantar les llavors de tomàquet germinades en condicions estèrils. Després de catorze dies es va inocular el patogen a les fulles (10^5 conidis/ml); en aquest temps, les poblacions de T34 havien augmentat deu vegades, és a dir, $3,85 \times 10^5$ ufc/ml. L'experiment va durar dues setmanes més, i es va estudiar si la presència de *B. cinerea* modificava el patró dels sucres exsudats per les arrels de la planta i si aquests sucres interferien en les poblacions de T34 (Fernández, Segarra i Trillas, 2017).

Els resultats obtinguts van mostrar una reducció evident de la gravetat de malaltia en les plantes amb arrels colonitzades per T34 i també un canvi en el patró de secreció de sucres, amb un increment significatiu de les concentracions d'àcid glucònic i un detriment significatiu dels nivells d'inositol i sacarosa. Aquests canvis van comportar un manteniment en les poblacions de T34 en les plantes tractades amb T34 i infectades per *B. cinerea*, respecte de les no infectades pel patogen i confirmaven l'existència d'una comunicació fulla-arrel.

f) *Estudi comparatiu dels compostos volàtils alliberats a les arrels per les soques de dues espècies de Trichoderma (T. asperellum T34 i T. harzianum T78)*

En aquest estudi es van comparar les soques T34 de *T. asperellum* i T78 de *T. harzianum*, en plantes d'*Arabidopsis* i de tomàquet davant del patogen *B. cinerea*, i es va demostrar que els compostos volàtils (jasmonat de metil) alliberats a les arrels per les dues soques de *Trichoderma*, estimulaven l'expressió del gen *MYB72*, específic de la ruta de senyalització RSI, i que aquesta activació estava vinculada a l'absorció de ferro i a la reducció significativa dels nivells de DNA de *B. cinerea* en fulla (Martínez-Medina *et al.*, 2017).

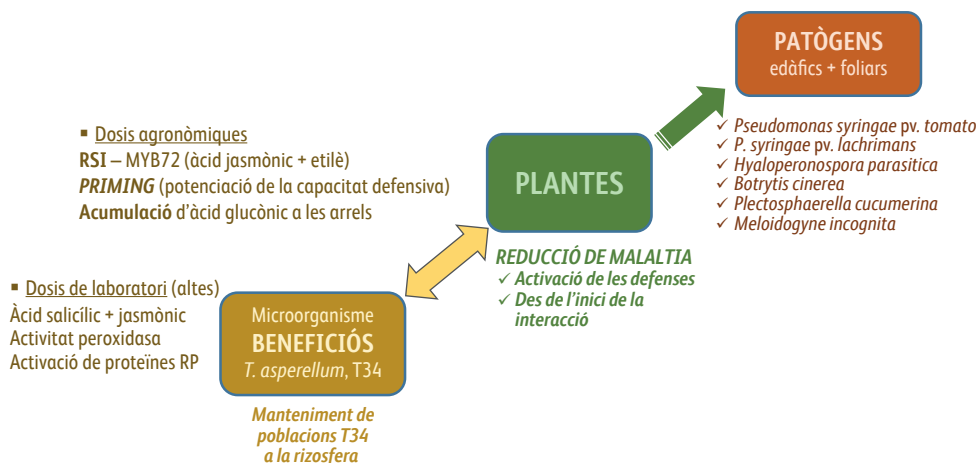
g) *Estudi comparatiu de les soques de dues espècies de Trichoderma (T. asperellum T34 i T. harzianum, T22) davant el fong nematòfag Pochonia chlamydosporia*

En aquest estudi, es van comparar dues soques comercials de productes biològics autoritzats a la Unió Europea (UE) per a la protecció de les plantes, *T. asperellum* T34 i *T. harzianum* T22, davant un aïllat seleccionat d'un sòl supressor de nematodes, el fong nematòfag *Pochonia chlamydosporia*, amb bona capacitat per a reduir *Meloidogyne incognita*. Per tècniques de separació d'arrels, es va comprovar com tots dos formulats de *Trichoderma* activaven la RSI contra *M. incognita* en plantes de tomàquet (cosa que no va succeir en

plantes de cogombre) i en reduïen significativament el nombre d'ous i la massa d'ous. A més a més, el percentatge d'ous parasitats per *P. chlamydosporia* no va resultar afectat per T34, la qual cosa mostrava la compatibilitat d'ambdós tipus de microorganismes beneficiosos (Pocurull *et al.*, 2020).

FIGURA 3

Activació de la resposta de defensa de les plantes induïda per *Trichoderma asperellum*, soca T34 (aplicat a les arrels o al substrat de cultiu), en *Arabidopsis thaliana* i *Solanum lycopersicum*



RSI: resistència sistèmica induïda; RP: relacionades amb la patogènesi.

FONT: Elaboració pròpia.

A la figura 3 es mostren els diferents aspectes de la inducció de resistència per l'organisme beneficiós *T. asperellum*, soca T34, davant de diversos bacteris, fongs i nematodes fitopatògens.

4. Estudis d'inducció de resistència en plantes per l'ús de composts com a substrats de cultiu, duts a terme a la Facultat de Biologia de la UB

Alguns composts, obtinguts per la descomposició aeròbica de residus orgànics, s'empren en l'agricultura com a substrats, esmenes orgàniques i adobs. Són materials rics en nutrients i microorganismes que poden millorar el creixement i la salut de les plantes d'una

manera semblant als sòls supressors de determinats patògens i, a la vegada, poden reduir els *inputs* en agroquímics (Hoitink, Schmitthener i Herr, 1975; Trillas-Gay, Hoitink i Madden, 1986; Hoitink i Boehm, 1999; Noble i Coventry, 2005, Avilés, Borrero i Trillas, 2011). Els composts, en aquest moment, són productes que s'estan revalorant a la UE (DOUE, 2019) en l'àmbit de l'agricultura i l'economia circulars. El nostre grup de recerca de la UB fa diversos anys que avalua la supressivitat natural de composts procedents de residus agroindustrials davant de patògens edàfics.

a) *Estudi del comportament de diversos composts davant de diverses torbes*

En un primer estudi recollit en la publicació de Segarra *et al.* (2007b) es va avaluar el comportament davant d'un patògen foliar (*B. cinerea*) d'alguns composts procedents de residus de suro, residus de la producció de xampinyó, residus de l'elaboració del vi i de l'oli, així com de diverses torbes. Les plantes crescudes en un substrat de compost presentaven fulles més resistents a la malaltia produïda per *B. cinerea* que les plantes crescudes en torba. Les fulles de plantes crescudes en compost mostraven quantitats més altes de Mo, Ca, Si (els dos últims elements poden conferir més resistència a l'atac d'un fong necrotròfic com *B. cinerea*). Cal afegir que els composts presentaven més conductivitat elèctrica (contingut en nutrients) i més activitat microbiana (mesurada com a activitat β -glucosidasa). No obstant això, els resultats ens van suggerir fenòmens d'inducció a través de planta.

b) *Estudis en planta d'Arabidopsis sobre els mecanismes de defensa induïda per compost de sansa*

L'any 2013 es van publicar dos estudis que s'havien dut a terme. En el primer (Segarra *et al.*, 2013), s'avaluava un compost madur obtingut de residus de la indústria d'obtenció de l'oli i de fulles d'olivera per tal de determinar si produïa alteracions en l'expressió gènica de plantes d'*Arabidopsis* que poguessin indicar inducció de resistència sistèmica. Les anàlisis es van fer mitjançant la tècnica de bioxip (*microarray*, en anglès) (mesura l'expressió d'una selecció de milers de gens), tot comparant les respostes de les plantes inoculades amb *B. cinerea* (10^6 conidis/ml) crescudes en compost respecte de les crescudes en perlita. El percentatge de fulles infectades va ser significativament més baix en les plantes crescudes en compost. Les anàlisis van mostrar una expressió diferencial de 178 gens (155 eren sobreexpressats i 23 eren inhibits) en les plantes crescudes en compost respecte de les crescudes en perlita. Les funcions de 38 dels gens sobreexpressats corresponien a respostes a l'estrès, a estímuls biòtics (bacteris, fongs...), a estímuls químics i abiòtics, a estímuls de l'àcid salicílic i l'àcid abscísic, a l'estrès oxidatiu, a respostes de defensa immunitària (RSA...), etc. Cal remarcar l'expressió de gens vinculats a proteïnes *PR1*, els quals es van activar de manera significativament superior i de manera similar en les plantes crescudes en compost (sense el patògen) i en les plantes crescudes en perlita i inoculades amb el patògen, respecte de les plantes només crescudes en perlita.

En les plantes crescudes en compost i inoculades amb *B. cinerea* l'activació va ser significativament més gran. El compost va desencadenar respostes en les plantes que compartien semblances amb l'activació per RSA i les respostes d'estrès abiòtic dependent i independent a l'àcid abscísic.

El segon treball (Segarra, Elena i Trillas, 2013) es va plantejar amb el mateix compost i la perlita com a substrats de cultiu, però amb diversos genotips d'*Arabidopsis thaliana*, el salvatge (Col-0) i els mutants: *jar1-1*, que té impedita la ruta de l'àcid jasmònic o hi és insensible, i *sid2-1*, que té impedita la ruta de biosíntesi de l'àcid salicílic. El patògen *B. cinerea* es va aplicar també a 10^6 conidis/ml i totes les plantes es van adobar amb la solució nutritiva Hoagland (50%), que proveeix de tots els nutrients essencials. L'anàlisi de la composició mineral de les fulles d'*Arabidopsis* no va mostrar cap diferència significativa entre les plantes crescudes en els dos tipus de substrats amb patògen i sense, cosa que permetia descartar, en el cas de reducció de malaltia, l'efecte de la nutrició. Les plantes Col-0 i *jar1-1* crescudes en compost van mostrar una reducció de fulles infectades del 30%, mentre que el mutant *sid2-1* no va reduir la malaltia. Aquests resultats van suggerir que el compost requeria la ruta de senyalització de l'àcid salicílic per a induir les respostes de resistència en planta.

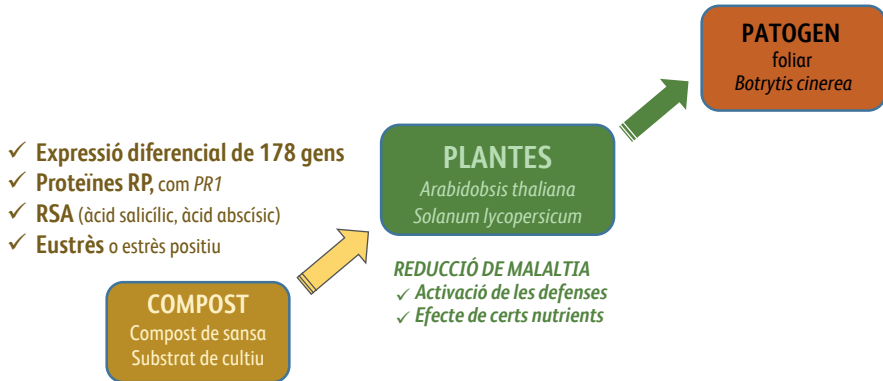
c) *Estudis en tomaquera sobre els mecanismes de defensa induïda per compost de sansa*

En un estudi posterior, emprant compost madur de residus procedents de la indústria de l'oli, *B. cinerea* com a patògen foliar i plantes de tomàquet cv. Roma, les plantes crescudes en compost van presentar una reducció de la severitat en la malaltia del 60% respecte de les crescudes en perlita. Les hormones àcid salicílic i àcid abscísic estaven implicades en la inducció de resistència sistèmica induïda pel compost. Les mesures fisiològiques (com l'estat hídric, la relació arrel/brot, els isòtops estables de C i la fluorescència de la clorofil·la), que es van efectuar en les plantes crescudes en compost, van mostrar valors propers a una situació d'estrès. No obstant això, les plantes crescudes en compost van donar valors de creixement, altura i biomassa superiors als de les plantes crescudes en perlita, la qual cosa suggereix que les plantes crescudes en compost no havien estat sotmeses a un estres pròpiament dit, sinó a un eustrès o estrès positiu, que va activar la resistència immunitària de la planta davant del patògen (Fernández, Segarra i Trillas, 2014).

A la figura 4 es mostren aspectes clau vinculats a la inducció de resistència per part de compost obtingut de subproductes de la indústria de l'oli emprat com a substrat de cultiu.

FIGURA 4

Activació de la resposta de defensa de les plantes induïda per compost de sansa, emprat com a substrat de cultiu



RSA: resistència sistèmica adquirida; RP: relacionades amb la patogènesi.

FONT: Elaboració pròpia.

5. Conclusions

Pel que fa als set punts descrits en el capítol 6 del llibre de Cook i Baker (1983), són vigents els que fan referència a l'activació de les defenses per part dels organismes beneficiosos, patògens i patògens avirulents. En canvi, la implicació de les hormones vegetals és més complexa del que originalment es pensava: les principals hormones són àcid salicílic, àcid jasmònic i etilè, però també altres hormones i alguns dels seus precursors de síntesi hi estan implicats.

Els patògens, en colonitzar les plantes per a envair-les, provoquen l'activació de mecanismes de defensa, però no sols al lloc d'infecció, atès que poden enviar senyals a altres parts de la planta.

Tècniques com la cromatografia acoblada a espectrometria de masses permeten quantificar valors hormonals molt baixos en les plantes, de la mateixa manera que l'ús de plantes mutants permet dilucidar la implicació de les hormones en les diverses vies de senyalització.

Es confirmen dues rutes principals de defensa: RSA i RSI, la primera vinculada a la síntesi de l'hormona àcid salicílic i proteïnes relacionades amb la defensa de les plantes, i la segona vinculada a la senyalització per les hormones àcid jasmònic i etilè. La sensibi-

lització o potenciació de la defensa no comporta una expressió contínua de l'activació de la defensa, cosa que per a la planta representa un estalvi metabòlic.

D'altra banda, l'estudi de l'expressió gènica ha permès identificar la importància de determinats gens com *MYB72* en les principals rutes de transcripció de senyals RSI.

Alguns compostos volàtils propis de la planta, precursors de la ruta de síntesi de l'àcid salicílic o de l'àcid jasmònic, estan implicats en la transmissió de senyals a llargues distàncies en les plantes. A més, l'aplicació de diverses substàncies químiques naturals o de síntesi també poden activar la resposta immunitària de les plantes.

Els organismes beneficiosos, colonitzadors de la rizosfera, també tenen capacitat d'activar els mecanismes de defensa de les plantes de manera similar a les vacunes (per analogia amb la medicina humana), no d'una manera directa, com els patògens, sinó amb la potenciació de la capacitat de defensa de les plantes.

La nostra experiència en l'anàlisi dels mecanismes d'acció de *Trichoderma asperillum*, soca T34, ens permet concloure que la ruta d'activació principal és per RSI i per sensibilització amb independència del tipus de patogen (biotròfic o necrotròfic) i planta, i que la ruta a través de la RSA es dona aplicant concentracions molt elevades de T34, més aviat en condicions de laboratori. L'activació de la capacitat de defensa de les plantes per algunes soques de microorganismes beneficiosos, com T34, es mostra com un mecanisme d'acció més en el control de les malalties, al qual cal sumar altres mecanismes com: parasitisme, antibiosi i competència per nutrients i espai (dades no presentades en aquest resum).

La nostra experiència en l'estudi dels mecanismes implicats en la supressivitat natural de composts obtinguts de residus orgànics ens permet concloure que certs composts, actuant «com un tot», tenen capacitat per a activar la resposta immunitària de les plantes, i la RSA és la ruta d'activació principal. No es pot descartar l'efecte positiu de determinats taxons de microorganismes (dades no presentades en aquest resum), ni de determinats nutrients en els composts que millorin les defenses naturals ni la salut de les plantes.

Bibliografia

- AGRIOS, G. N. (2005). *Plant pathology*. 5a ed. Estats Units d'Amèrica: Elsevier Academic Press. 921 p.
- AVILÉS, M.; BORRERO, C.; TRILLAS, M. I. (2011). «Review on compost as an inducer of disease suppression in plants grown in soilless culture». *Dynamic Soil, Dynamic Plant. Global Science Book*, núm. 5, p. 1-11.
- BARI, R.; JONES, J. D. G. (2009). «Role of plant hormones in plant defence responses». *Plant Molecular Biology*, núm. 69, p. 473-488.

- CONRATH, U.; PIETERSE, C. M. J.; MAUCH-MANI, B. (2002). «Priming in plant-pathogen interactions». *Trends in Plant Science*, núm. 5, p. 210-216.
- COOK, R. J.; BAKER, K. F. (1983). *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society. 539 p.
- DOUE = UNIÓ EUROPEA (2019). «Reglament (UE) 2019/1009 del Parlament Europeu i del Consell, de 5 de juny de 2019, pel qual s'estableixen disposicions relatives a la posada a disposició al mercat dels productes fertilitzants UE i es modifiquen els reglaments (CE) núm. 1069/2009 i (CE) núm. 1107/2009 i es deroga el reglament (CE) núm. 2003/2003». *Diari Oficial de la Unió Europea*, L170, p. 1-114.
- ERB, M.; MELDAU, S.; HOWE, G. A. (2012). «Role of phytohormones in insect-specific plant reactions». *Trends in Plant Science*, núm. 17, p. 250-259.
- FERNÁNDEZ, E.; SEGARRA, G.; TRILLAS, M. I. (2014). «Physiological effects of the induction of resistance by compost or *Trichoderma asperellum* strain T34 against *Botrytis cinerea* in tomato». *Biological Control*, núm. 78, p. 77-85.
- (2017). «Increased rhizosphere populations of *Trichoderma asperellum* strain T34 caused by secretion pattern of root exudates in tomato plants inoculated with *Botrytis cinerea*». *Plant Pathology*, núm. 66, p. 1110-1116.
- HOITINK, H. A. J.; BOEHM, M. J. (1999). «Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon». *Annual Review of Phytopathology*, núm. 37, p. 427-446.
- HOITINK, H. A. J.; SCHMITTHENER, A. F.; HERR, L. J. (1975). «Composted bark for control of root rot in ornamentals». *Ohio Report*, núm. 60, p. 25-26.
- LOON, L. C. van (1983). «The induction of pathogenesis-related proteins by pathogens and specific chemicals». *Netherlands Journal of Plant Pathology*, núm. 89, p. 265-273.
- LOON, L. C. van; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. (1998). «Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria». *Annual Review of Phytopathology*, núm. 36, p. 453-483.
- MALAMY, J.; CARR, J. P.; KLESSIG D. F.; RASKIN, I. (1990). «Salicylic acid a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection». *Science*, núm. 250, p. 1002-1004.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; WEES, S. C. M. van; PIETERSE, C. M. J. (2017). «Airborne signals from *Trichoderma* fungi stimulate iron uptake responses in roots resultin in priming of jasmonic acid dependet defence in shoots of *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum*». *Plant Cell and Environment*, núm. 40, p. 2691-2705.
- MAUCH-MANI, B.; BACELLI, I.; LUNA, E.; FLORS, V. (2017). «Defense priming: An adaptative part of induced resistance». *Anual Review of Plant Biology*, núm. 68, p. 485-512.
- MÉTRAUX, J. P.; SIGNER, H.; RYALS, J.; WARD, E.; WYSS-BENZ, M. [et al.] (1990). «Increase in salicilic acid the onset of systemic acquired resistance in cucumber». *Science*, núm. 250, p. 1004-1006.

- MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J. P. (1993). «Ortho-anisic acid as internal standard for the simultaneous quantitation of salicylic acid and its putative biosynthetic precursors in cucumber leaves». *Analytical Biochemistry*, núm. 214, p. 500-505.
- NOBLE, R.; COVENTRY, E. (2005). «Suppression of soil-borne diseases with composts: A review». *Biocontrol Science and Technology*, núm. 15, p. 3-20.
- PARK, S. W.; KAIMOYO, E.; KUMAR, D.; MOSHER, S.; KLESSIG, D. F. (2007). «Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance». *Science*, vol. 318, núm. 5847, p. 113-116. DOI 10.1126/science.1147113. PMID: 17916738.
- PIETERSE, C. M. J.; LOON, L. C. van (1999). «Salicylic acid-independent plant defence pathways». *Trends in Plant Science*, núm. 4, p. 52-58.
- PIETERSE, C. M. J.; WEES, S. C. M. van; HOFFLAND, E.; PELT, J. A. van; LOON, L. C. van (1996). «Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression». *Plant Cell*, núm. 8, p. 1225-1237.
- PIETERSE, C. M. J.; WEES, S. C. M. van; TON, J.; PELT, J. A. van; LOON, L. C. van (2002). «Signalling in rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*». *Plant Biology*, núm. 4, p. 535-544.
- POCURULL, M.; FULLANA, A. M.; FERRO, M.; VALERO, P.; ESCUDERO, N.; SAUS, E.; GABALDÓN, T.; SORRIBAS, F. J. (2020). «Commercial formulations of *Trichoderma* induce systemic plant resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato and the effect is additive to that of the Mi-1.2 resistance gene». *Frontiers in Microbiology*, núm. 10, article 3042, p. 1-10.
- RAKWAL, R.; TAMOGAMI, S.; AGRAWAL, G. K.; IWAHASHI, H. (2002). «Octadecanoid signaling component “burst” in rice (*Oryza sativa* L.) seedling leaves upon wounding by cut and treatment with fungal elicitor chitosan». *Biochemical Biophysical Research Communication*, núm. 295, p. 1041-1045.
- SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; BELLIDO, D.; ODENA, M. A.; OLIVEIRA, E.; TRILLAS, I. (2007a). «Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum*, strain T34». *Proteomics*, núm. 7, p. 3943-3952.
- SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; BORRERO, C.; AVILÉS, M.; TRILLAS, I. (2007b). «The suppressive effects of composts used as growth media against *Botrytis cinerea* in cucumber plants». *European Journal Plant Pathology*, núm. 117, p. 393-402.
- SEGARRA, G.; ELENA, G.; TRILLAS, I. (2013). «Systemic resistance against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis* triggered by an olive marc compost substrate requires functional SA signalling». *Physiological and Molecular Plant Pathology*, núm. 82, p. 46-50.
- SEGARRA, G.; ENT, S. van der; TRILLAS, I.; PIETERSE, C. M. J. (2009). «MYB72, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by fungal and bacterial beneficial microbe». *Plant Biology*, núm. 11, p. 90-96.

- SEGARRA, G.; JÁUREGUI, O.; CASANOVA, E.; TRILLAS, I. (2006). «Simultaneous quantitative LC-ESI-MS/MS analyses of salicylic acid and jasmonic acid in crude extracts of *Cucumis sativus* under biotic stress». *Phytochemistry*, núm. 67, p. 395-401.
- SEGARRA, G.; SANTPERE, G.; ELENA, G.; TRILLAS, I. (2013). «Enhanced *Botrytis cinerea* resistance of *Arabidopsis* plants grown in compost may be explained by increased expression of defense-related genes, as revealed by microarray analysis». *PLoS One*, núm. 8 (2), p. e56075.
- STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. (1997). «Systemic acquired resistance». *Annual Review of Phytopathology*, núm. 35, p. 235-270.
- TON, J.; PELT, J. A. van; LOON, L. C. van; PIETERSE, C. M. J. (2002). «Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in *Arabidopsis*». *Molecular Plant-Microbe Interactions*, núm. 15, p. 27-34.
- TRILLAS, M. I.; SEGARRA, G. (2009). «Chapter 8 Interaction between nonpathogenic fungi and plants». *Advances in Botanical Research*, núm. 51, p. 321-359.
- TRILLAS-GAY, M. I.; COTXARRERA VILAPLANA, L. (2002). «Substrates containing a *Trichoderma asperellum* strain for biological control of *Fusarium* and *Rhizoctonia*». PCT/ES02/00311. WO 03/000866A1.
- TRILLAS-GAY, M. I.; HOITINK, H. A. J.; MADDEN, L. V. (1986). «Nature of suppression of *Fusarium* wilt of radish in a container medium amended with composted hardwood bark». *Plant Disease*, núm. 70, p. 1023-1027.
- WEES, S. C. M. van; PIETERSE, C. M. J.; TRIJSSENAAR, A.; VAN'T WESTENDE, Y.; HARTOG, F. [et al.] (1997). «Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria». *Molecular Plant-Microbe Interactions*, núm. 10, p. 716-724.