

## A1. Datos del proyecto

Coordinador	Enrique Monte Vázquez
Título	<b>Tirosol y farnesol como moléculas autorreguladoras en <i>Trichoderma</i> y señalizadoras en la interacción <i>Trichoderma</i> -planta.</b>
Organismo	Universidad de Salamanca
Centro	Centro Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias

## A2. Datos de cada subproyecto

Referencia	AGL2012-40041-C02-02
Investigador principal	Santiago Gutiérrez Martín
Título	<b>Farnesol como molécula autorreguladora en <i>Trichoderma</i> . Señalización de tirosol y farnesol en la interacción <i>Trichoderma</i> -judía</b>
Entidad	Universidad de León
Centro	Escuela Superior y Técnica de Ingeniería Agraria.

## B. Resumen del proyecto para difusión pública

<p>El presente proyecto se ha basado en determinar el efecto del farnesol producido por <i>Trichoderma</i> en las interacciones hongo-planta. Para ello se clonó el gen <i>dpp1</i> que codifica para una diacilglicerol pirofosfatasa, implicada en la producción de farnesol a partir de la desfosforilación del farnesil pirofosfato (FPP). El gen se clonó inicialmente de <i>Trichoderma parareesei</i> y <i>T. reesei</i>. En estos hongos este gen se intentó silenciar mediante la generación de estructuras de RNA en horquilla interrumpidas por un intron (ihpRNAs). Como resultado en ninguno de los dos hongos mencionados se consiguió un nivel de silenciamiento suficiente para continuar con los estudios. Este dato llevó a la conclusión de que el gen <i>dpp1</i> presentaba alguna peculiaridad que impedía su correcto silenciamiento, como podría ser su localización en el genoma o bien que se tratara de un gen esencial para la supervivencia del hongo, con lo que su silenciamiento a alto nivel o su interrupción génica serían inviables. Es importante considerar que la síntesis de farnesol puede considerarse una vía para la regulación de los niveles intracelulares de FPP, molécula central en la síntesis de varios grupos de terpenos, como es el caso del ergosterol.</p> <p>En base a los resultados anteriores se modificó la estrategia inicial y se abordó la sobreexpresión del gen <i>dpp1</i> en la cepa <i>T. harzianum</i> CECT 2413 (T34), cepa de biocontrol ampliamente caracterizada. El análisis de los transformantes permitió concluir que el gen <i>dpp1</i> se expresaba en la cepa control a niveles prácticamente indetectables, lo que puede ser una explicación a los insuficientes niveles de silenciamiento obtenidos anteriormente. La sobreexpresión del gen <i>dpp1</i> resultó en un incremento de los niveles intracelulares de farnesol, que en el caso del transformante T34-dpp1.3 eran superiores al 100%. El gen <i>dpp1</i> se expresaba a un nivel relativo más de 1000 veces superior en todos los transformantes analizados, comparando con la cepa control (T34-43b1.3). Este nivel no concordaba con el incremento en los niveles de farnesol detectados, lo cual puede ser debido a que la síntesis de farnesol es un proceso reversible, y teniendo en cuenta que este compuesto es tóxico para el propio hongo, el exceso de farnesol podría estar siendo canalizado hacia otros compuestos. En el caso de los transformantes analizados, y en consonancia con esa hipótesis, se observaron incrementos importantes en los niveles de ergosterol que en el caso de T34-dpp1.3 fueron mayores del 80%.</p> <p>La sobreexpresión del gen <i>dpp1</i> no afectó al fenotipo de las plantas inoculadas con T34-dpp1.3, sin embargo todos los genes relacionados con defensa analizados se reprimieron relativamente, en comparación con plantas inoculadas con la cepa control. Además de ello en plantas inoculadas con T34-dpp1.3 e infectadas con <i>Botrytis cinerea</i> se observó una fuerte inducción de los genes de defensa relacionados con la ruta del salicilato (genes <i>PR1b1</i> y <i>PR-P2</i>) en comparación con plantas inoculadas con la cepa control también infectadas con el patógeno, lo que indicaría que el silenciamiento del gen <i>dpp1</i>, y la modificación en los niveles de farnesol, escualeno y ergosterol podrían estar sensibilizando a la planta, expresando a mayor nivel los genes de defensa cuando el patógeno infectaba a la planta.</p> <p>Finalmente, los estudios en cultivos hidropónicos en judía permitieron observar que a bajas concentraciones el farnesol era tóxico para esta planta, mientras que a concentraciones superiores a 2 mM el efecto revertía.</p>
---