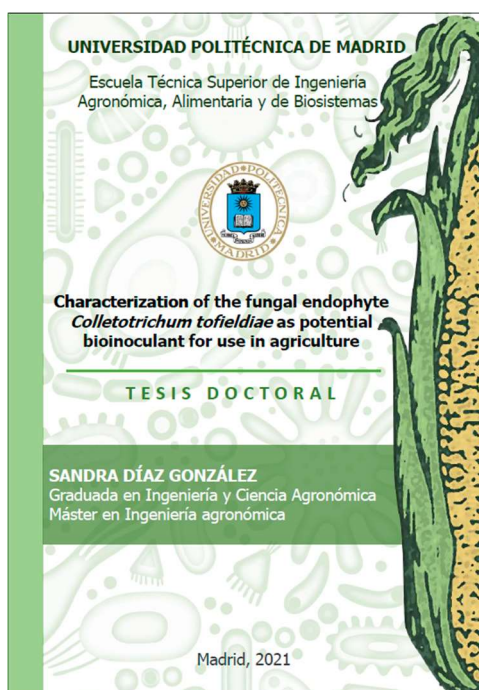


## TESIS DOCTORAL

### “Characterization of the fungal endophyte *Colletotrichum tofieldiae* as potential bioinoculant for use in agriculture”



**DOCTORANDA:** Sandra Díaz González

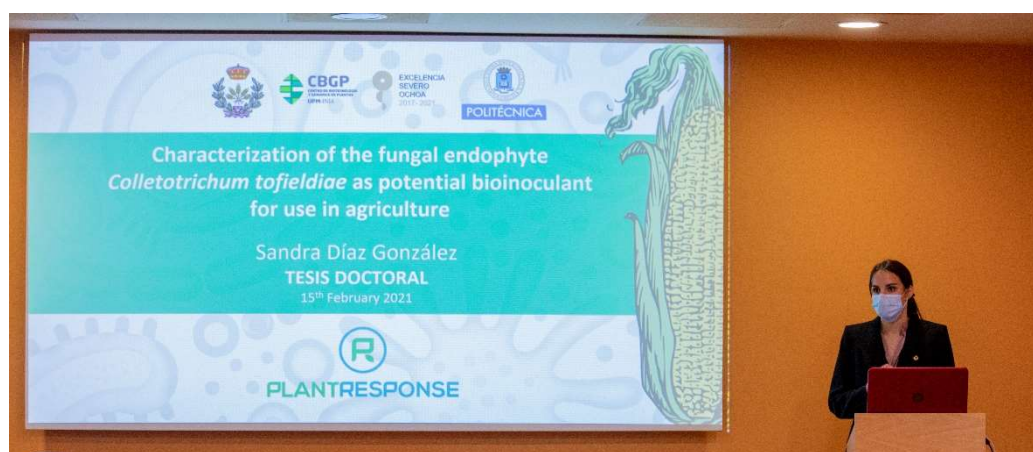
**DIRECTORES:** Dra. Soledad Sacristán y Dr. Frédéric Brunner

**INSTITUCIONES:** ETSI Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas y Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP) de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM) y PlantResponse Biotech S.L.

**FECHA Y LUGAR DE LECTURA:** 15 de febrero de 2021, online

**TRIBUNAL:** Presidente - Dr. Fernando García-Arenal (CBGP-UPM); Secretaria – Dra. Aurora Fraile (CBGP-UPM); Vocal – Dr. Íñigo Zabalgoageazcoa (Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca – IRNASA; CSIC); Vocal - Dr. Michael Thon (Instituto Hispano-Luso de Investigaciones

Agrarias, Universidad de Salamanca); Vocal - Dra. María José Pozo (Estación Experimental del Zaidín, CSIC).



**Fotografía del acto de lectura y defensa.** Sandra Díaz González durante el acto de defensa. La tesis, que tiene la Mención de Doctorado Industrial, recibió la calificación de sobresaliente *cum laude*.

## RESUMEN

Los hongos endófitos se han descrito como herramientas biológicas para mejorar el rendimiento y la tolerancia de las plantas tanto a estreses bióticos como a abióticos. La cepa Ct0861 del hongo endófito *Colletotrichum tofieldiae* (Ct) establece una interacción mutualista con *Arabidopsis thaliana*, promoviendo el crecimiento de las plantas y la producción de silicuas en condiciones de baja disponibilidad de fosfato (Pi). Hasta ahora, esta interacción solo se había observado en la naturaleza en el centro de España y la capacidad de Ct0861 para colonizar y conferir beneficios a otras especies de plantas no se había explorado.

Ct es una especie de hongos ubicua, descrita en varios países alrededor del mundo, pero que nunca se había descrito en el continente americano. Con el objetivo doble de estudiar y comparar la eficacia de diferentes aislados, y de promover la comercialización en los Estados Unidos (EE. UU.), veintidós nuevas cepas endófitas de Ct fueron aisladas de plantas de *A. thaliana* provenientes de una población silvestre de Carolina del Norte (EE. UU.). Un análisis de polimorfismo amplificado de retrotransposón-microsatélite (Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism, REMAP) indicó cierta variabilidad genética entre aislados de diferentes orígenes geográficos. Las cepas de Ct estimularon el crecimiento de las plantas, principalmente en condiciones limitantes de Pi, pero también bajo concentraciones de Pi suficientes, acelerando el ciclo reproductivo y aumentando la producción de frutos. Sin embargo, no se observó ningún efecto cuando a la escasez de nutrientes se añadió el estrés debido a restricción de agua. La expresión de los genes *Pht1;2* y *Pht1;3*, implicados en la absorción de Pi de la planta, también se incrementó en concentraciones limitantes de Pi en plantas inoculadas con las cepas de Ct. Estos resultados sugieren que el efecto beneficioso de Ct y las señales moleculares de la interacción se conservan en las distintas cepas, independientemente de su origen geográfico.

Además de su ubicuidad, Ct ha sido descrito como un hongo generalista con una amplia gama de plantas huésped, tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas, lo que sugiere la posible extensión de su efecto beneficioso a cultivos. Observaciones mediante microscopía confocal de la cepa Ct0861-GFP indicaron

que Ct0861 coloniza plántulas de maíz y tomate de una manera similar a la descrita previamente en *A. thaliana*. Los experimentos *in vitro* y los ensayos en invernadero o en campo abierto mostraron que Ct0861 puede aumentar la biomasa y el rendimiento de tomate, pimiento y maíz. Estos resultados se obtuvieron en condiciones óptimas de Pi, lo que apunta a la existencia de modos de acción diferentes a los descritos en *Arabidopsis*. Además, Ct0861 también mostró un efecto beneficioso en plantas de maíz cultivadas con riego limitado, lo que sugiere cierta tolerancia al estrés hídrico.

En resumen, este trabajo ha ampliado los conocimientos previos sobre el endófito Ct, demostrando que es un hongo ubicuo y generalista de gran valor como bioinoculante agrícola.

La investigación ha sido financiada por el Programa Estatal de Promoción del Talento y su Empleabilidad en I+D+I a través de un Doctorado Industrial (DI-15-07906) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Esta tesis doctoral se ha realizado entre la empresa PlantResponse Biotech S.L y el grupo "Ecological and molecular factors involved in fungal endophytism and pathogenesis" liderado por la Dra. Soledad Sacristán del Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP UPM-INIA), con la acreditación de Centro de Excelencia Severo Ochoa (SEV-2016-0672, 2017-2021).

## **PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS DOCTORAL**

**Díaz-González, S.;** Marín, P.; Sánchez, R.; Arribas, C.; Kruse, J.; González-Melendi, P.; Brunner, F.; Sacristán, S. (2020) Mutualistic Fungal Endophyte *Colletotrichum tofieldiae* Ct0861 Colonizes and Increases Growth and Yield of Maize and Tomato Plants. *Agronomy*, 10, 1493. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101493>