

Revisión / Review

**EL GÉNERO FÚNGICO *Trichoderma* Y SU RELACIÓN CON CONTAMINANTES ORGÁNICOS E INORGÁNICOS**

Rosalba ARGUMEDO-DELIRA<sup>1</sup>, Alejandro ALARCÓN<sup>1\*</sup>, Ronald FERRERA-CERRATO<sup>1</sup> y Juan José PEÑA-CABRIALES<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Área de Microbiología. Postgrado de Edafología. Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5. Montecillo 56230, Estado de México. \* Correo electrónico: aalarconcp@gmail.com. Tel (595) 952-0200 Ext. 1280; Fax (595) 952-0287

<sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología Ambiental. Departamento de Biotecnología y Bioquímica. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Km 9.6 Libramiento Norte, Carretera Irapuato-León, Guanajuato

(Recibido agosto 2008, aceptado febrero 2009)

Palabras clave: biorremediación, hidrocarburos del petróleo, plaguicidas, metales pesados

**RESUMEN**

Las especies de hongos que pertenecen al género *Trichoderma* han sido plenamente caracterizadas por tener aplicación en el ámbito agrícola, principalmente para el control biológico de otros organismos patógenos que atacan a los cultivos. Sin embargo, los estudios sobre su comportamiento y su efecto en ambientes terrestres y acuáticos contaminados han sido escasamente estudiados. Esta revisión pretende hacer una compilación de toda la información actualizada disponible, respecto a la interacción de *Trichoderma* en presencia de contaminantes de origen orgánico (hidrocarburos del petróleo, explosivos y plaguicidas) e inorgánico (metales pesados y cianuro) con el fin de conocer el potencial de este grupo fúngico en la biorremediación de ambientes contaminados. No obstante, para tales fines, es necesario realizar investigaciones enfocadas en evaluar sus respuestas fisiológicas, bioquímicas y moleculares ante diferentes tipos de contaminantes, y definir con ello su posible aplicación en los diferentes sistemas de biorremediación.

Key words: bioremediation, petroleum hydrocarbons, pesticides, heavy metals

**ABSTRACT**

The *Trichoderma* fungal species have been fully characterized due to their application to agriculture since they are important antagonists for several horticultural plant pathogens. In contrast, the behavior and the effects of these fungi at contaminated soils have been scarcely studied. This review compiles updated information about the interactions among *Trichoderma* species and organic (petroleum hydrocarbons, explosives, and pesticides) and inorganic (heavy metals and cyanide) pollutants in order to know their potential for remediating contaminated environments. Nevertheless, for such purposes, it is needed further experimental research based on applying *Trichoderma* species either to study their physiological, biochemical and molecular responses when exposed to several types of pollutants, or to assess their potential application into the several processes of bioremediation.

---

## INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Trichoderma* representan un grupo de hongos filamentosos que pertenecen al Reino Mycetozoa (fungi), división Eumycota, subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, orden Hyphales (Moniliales) y familia Moniliaceae (Alexopoulos y Mims 1979, Subramanian 1983). Aunque de acuerdo con Kuhls *et al.* (1997), Lieckfeldt *et al.* (1999), Samuels y Chaverri (2003), Samuels (2005) y Jaklitsch *et al.* (2006), la clasificación taxonómica del género *Trichoderma* sería Reino Mycetozoa (Fungi), División Eumycota, Subdivisión Ascomycotina, Clase Euascomycetes, Orden Hypocreales, Familia Hypocreae y Género *Trichoderma* e *Hypocrea*.

Estos hongos se caracterizan por predominar en los ecosistemas terrestres (suelos agrícolas, pastizales, bosques y desiertos) y acuáticos (Zhang *et al.* 2005). Algunas especies son de vida libre en el suelo, oportunistas, simbioses de plantas, y otras son micoparásitas. Además, pueden colonizar distintos ambientes, debido a su alta capacidad reproductiva (Bissett 1991, Harman *et al.* 2004). Los requerimientos nutrimentales de estos hongos filamentosos son pocos, aunque su crecimiento es favorecido por la materia orgánica, y su humedad y temperatura óptimas de crecimiento se encuentran en un rango de 25 a 30 °C (Papavizas 1985). Sin embargo, se pueden adaptar y sobrevivir en condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad (Widden y Scattolin 1988, Jackson *et al.* 1991).

De manera particular, los hongos del género *Trichoderma* se pueden encontrar en la rizosfera, donde son capaces de competir por nutrientes y espacio con otros microorganismos. Además, este grupo fúngico es importante para las plantas, al contribuir en el control de hongos fitopatógenos ya que poseen propiedades micoparasíticas y antibióticas, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades para diferentes plantas hortícolas (Score y Palfreyman 1994, Druzhinina y Kubicek 2005, Ávila-Miranda *et al.* 2006, Rojo *et al.* 2007). Las cepas de *Trichoderma* más comercializadas para el control biológico son *Trichoderma viride*, *T. polysporum* y *T. harzianum*, la cual es la más utilizada y reportada en la literatura (Harman 2000, Ávila-Miranda *et al.* 2006, Rojo *et al.* 2007).

Los miembros del género *Trichoderma* tienen el potencial de sintetizar y liberar enzimas como polisacaridasas, celulasas, xilanasas y quitinasas, las cuales se han aprovechado en procesos industriales (Kubicek y Harman 1998, Verma *et al.* 2007). La

explotación comercial de estas enzimas es diversa, ya que se emplean para producir detergente de ropa, aceite de oliva, vino, cerveza, jugos, alimentos para animales y en la producción de algunos combustibles (Reese y Mandels 1989, Galante *et al.* 1993, Walsh *et al.* 1993, Verma *et al.* 2007). Por ejemplo, las celulasas de *T. reesei* se utilizan en el blanqueo de pulpa de papel, y son una alternativa amigable al convencional blanqueo con cloro, evitando el problema ambiental del cloro generado por dicho proceso (Buchert *et al.* 1994).

Las especies del género *Trichoderma* pueden producir diversos metabolitos secundarios dentro de los que se encuentran algunas toxinas como la gliotoxina (Brian 1944, Di Pietro *et al.* 1993) y hormonas de crecimiento como auxinas y giberelinas (Kleifeld y Chet 1992). Así, *T. harzianum* y otras especies del género son capaces de incrementar el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Lynch *et al.* 1991, Ousley *et al.* 1994). Gravel *et al.* (2007) probaron la capacidad de *T. atroviride* para promover el crecimiento de plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Por otra parte, *Trichoderma* sp. ha sido utilizada en la industria de los aromatizantes porque es capaz de producir el metabolito 6-pentil- $\alpha$  pirona que proporciona el aroma de coco al utilizar aceites vegetales comerciales (ricino, avellana, uva y linaza) como sustrato (Bonnarme *et al.* 1997).

Los antecedentes mencionados resaltan la importancia y los efectos benéficos que tienen las especies de *Trichoderma* para la producción agrícola y para la industria (Esposito y Da Silva 1998). Sin embargo, los estudios relacionados con la interacción de este género fúngico con los contaminantes presentes en el suelo han recibido limitada atención. Por lo anterior, el presente trabajo se enfoca a la revisión de las respuestas de los hongos del género *Trichoderma* ante la presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos, con el fin de evaluar su potencial como agente biológico aplicado a sistemas de biorremediación en sistemas terrestres y acuáticos contaminados (BBSRC 1999, Jansson 2003, Lynch y Moffat 2005).

### ***Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos**

Las sustancias orgánicas están formadas de carbono, hidrógeno y oxígeno, principalmente. Algunos ejemplos de compuestos orgánicos son los terpenos, los ácidos grasos, las proteínas, los carbohidratos, los ácidos nucleicos, así como algunos compuestos contaminantes como los hidrocarburos del petróleo, los plaguicidas, los colorantes, etc.

Algunas especies de hongos filamentosos inclu-

yendo aquellas del género *Trichoderma*, pueden degradar diferentes fuentes de residuos celulósicos y lignocelulósicos procedentes de la industria papelera (Durand *et al.* 1988, Kubicek *et al.* 1993, Weil *et al.* 1994, Mokeev *et al.* 1998, Itävaara *et al.* 1999, van Wyk 1999, Schulein 2000, Szengyel *et al.* 2000, van Wyk 2001a,b, Zaldívar *et al.* 2001, Olsson *et al.* 2003, van Wyk y Mohulatsi 2003, Pečiulytė 2007).

Con base en esta capacidad enzimática, las especies de *Trichoderma* pueden potencialmente contribuir en la degradación de compuestos orgánicos contaminantes depositados en el suelo. De manera específica, la forma en que un microorganismo interactúa con un contaminante de naturaleza orgánica, es diferente a la de un contaminante de origen inorgánico (Shannon y Unterman 1993). Los microorganismos pueden transformar los contaminantes orgánicos en compuestos que presenten menor o mayor toxicidad, con respecto al compuesto original. En contraste, algunos microorganismos pueden degradar completamente los contaminantes orgánicos, lo que implica su completa mineralización hasta compuestos inocuos como agua y dióxido de carbono (Alexander 1981). En los siguientes apartados se mencionan las interacciones de hongos del género *Trichoderma* con diferentes contaminantes de origen orgánico.

### **Plaguicidas, compuestos organoclorados y compuestos organofosforados**

Los plaguicidas son un foco de contaminación generado por las actividades agrícolas. Su mal manejo y persistencia provoca la contaminación de mantos acuíferos, suelo e incluso alimentos (Chiron *et al.* 2000, Sun y Chen 2008). Lo anterior puede potencialmente causar alteraciones en el ambiente y la salud humana, debido a que estas sustancias pueden ser bioacumuladas y biomagnificadas en la cadena alimenticia (Harrison *et al.* 1998, Binelli y Provini 2004, Li *et al.* 2008). Con base en su diferente composición y estructura química, la biodegradación de estas sustancias depende de la complejidad y estabilidad de la molécula del plaguicida. El 1,1,1-Tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano (DDT) es un plaguicida que permanece en la naturaleza durante un tiempo excesivamente largo. Así, el DDT se identifica como un insecticida de alta persistencia con una vida media mayor a 100 días, aunque por ejemplo, en algunos bosques su vida media llega a ser de 20 a 30 años (Mitra y Raghu 1998). Sin embargo, hongos como *Phanerochaete chrysosporium*, son capaces de transformarlo enzimáticamente al inducir la deshalogenación vía procesos aerobios (Bumpus y Aust 1987, Paszczyński y Crawford 1995).

Varias especies de *Trichoderma* son capaces de

degradar plaguicidas, debido a su actividad enzimática. Esta capacidad bioquímica permite vislumbrar el potencial de aplicación de *Trichoderma* en la biorremediación de sitios contaminados teniendo con ello una relevancia ecológica (Matsumura y Bousch 1968, Smith 1995). No obstante, la respuesta de *Trichoderma* ante plaguicidas debe ser evaluada para conocer sus potencialidades y limitaciones en la degradación de este tipo de compuestos orgánicos. Como ejemplo, insecticidas como forato o carbofurano (con vida media en el ambiente de 9.1 a 10.4 meses) pueden estimular o inhibir el crecimiento de especies de *Trichoderma* (Das *et al.* 2003). Más aún, *T. viride* contribuye en la degradación del herbicida triflurina (concentración inicial: 1 mg L<sup>-1</sup>) en más del 90 % en aproximadamente 10 días (Zayed *et al.* 1983). Anderson y Domsch (1976) mencionan que la degradación del herbicida arvadex (concentración inicial: 2.5 mg L<sup>-1</sup>) por *T. harzianum* es muy lenta en cultivo líquido, ya que fue menor al 20% después de 10 días de incubación. En contraste, las especies *T. harzianum* y *T. longipilus* son sensibles al herbicida fosfotricina a una concentración de 1 mM (Ahmad y Malloch 1995).

La mayoría de los plaguicidas organoclorados como el DDT, el dieldrin y el endosulfán, son persistentes en la naturaleza y presentan alta toxicidad. No obstante, se ha documentado que *Trichoderma* es capaz de degradar estos tres plaguicidas (Bixby *et al.* 1971, Kutz *et al.* 1991, Hay y FoCht 1998, Snedeker 2001). Los principales metabolitos de biodegradación de endosulfan por *T. harzianum* son el sulfato de endosulfán y el diol de endosulfán, que se generan por la acción de un sistema enzimático oxidativo. Lo anterior sugiere que la enzima hidrolítica sulfatasa es la responsable indirecta de la formación del diol de endosulfan (Katayama y Matsumura 1993, Mukherjee y Mittal 2005).

Una de las actividades industriales cuyas descargas causan efectos adversos sobre el medio ambiente es la industria de la celulosa (Sponza 2003), la cual utiliza cloro y dióxido de cloro durante el proceso de blanqueo de la pulpa (Stinchfield y Woods 1995). En este proceso se generan diversos compuestos organoclorados altamente tóxicos, entre ellos se encuentran 4,5-dicloroguaiacol, 3,4,5-tricloroguaiacol, 4-etil-2-metoxifenol, pentaclorofenol, 2,3,5,6-tetracloro-4-metoxifenol, eugenol, tetracloroguaiacol, 4,5,6-tricloroguaiacol, hexaclorociclohexano, ácido hexadecanoico, 2-metoxifenol, 2,6-dimetoxifenol, 4,5-dicloro-2-metoxifenol, por mencionar algunos (Kovacs *et al.* 1995, Gaete *et al.* 2000). Algunas especies del género *Trichoderma* pueden degradar

pentacloronitrobenzeno y pentaclorofenol, pero no degradan al hexaclorociclohexano (Cserjesi y Jhonson 1972, Coque *et al.* 2003, Montiel *et al.* 2004). En este sentido, se ha demostrado que *T. harzianum* tiene la capacidad de degradar 2,4,6-triclorofenol, 4,5-dicloroguaiacol, 3,4,5-tricloroguaiacol, tetracloroguaiacol y otros compuestos halogenados (van Leeuwen *et al.* 1997).

Los compuestos sintéticos organofosforados son empleados como insecticidas, plastificantes y como armas químicas, que se caracterizan por tener alta toxicidad hacia mamíferos y que se encuentran contaminando tanto ecosistemas acuáticos como terrestres (Singh y Walker 2006). Así, *T. harzianum* es capaz de utilizar el insecticida organofosforado clorpirifos como fuente de azufre y de fósforo (Omar 1998) y también es capaz de degradar glifosato y ácido aminometil fosfórico (Krzysko-Lupicka *et al.* 1997).

### Ácido acrílico y colorantes

El ácido acrílico, el acrilato de metilo, el acrilato de etilo y el acrilato de butilo son empleados para elaborar cubiertas termoplásticas, adhesivos, selladores para pinturas de látex, principalmente (Hellwig *et al.* 1997). La movilidad en el suelo del ácido acrílico y de sus ésteres es muy alta; además, el ácido acrílico y el acrilato de metilo muestran baja biodegradabilidad en el suelo en comparación con el acrilato de etilo y butilo, los cuales pueden tener efectos tóxicos en los organismos (Staples *et al.* 2000). Dave *et al.* (1996) indican que *Trichoderma* sp. es capaz de degradar 2 g L<sup>-1</sup> de ácido acrílico neutralizado con NaOH, al utilizarlo como única fuente de carbono durante cuatro días. Sin embargo, esta capacidad de degradación aumentó hasta 10 g L<sup>-1</sup> al neutralizar al ácido acrílico con Ca(OH)<sub>2</sub>, durante seis días.

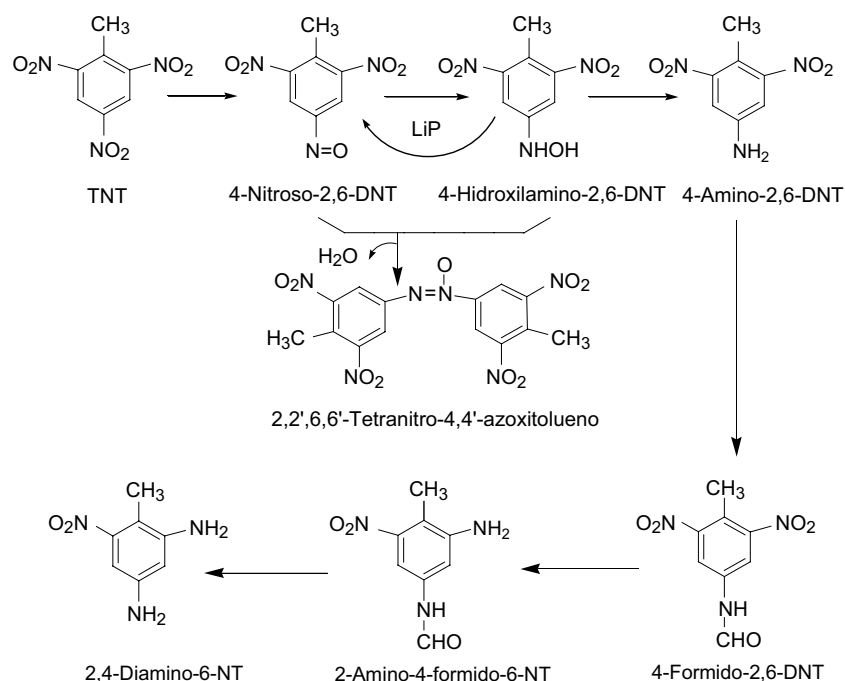
Los colorantes aniónicos (ácidos), catiónicos (básicos) y no-iónicos que son liberados por la industria textil y de alimentos, representan una amenaza latente para el ambiente ya que son sustancias orgánicas complejas con varios anillos aromáticos de carácter recalcitrante (Mishra y Tripathi 1993). Para reducir la contaminación por colorantes se han empleado métodos físicos, químicos y biológicos. Los dos primeros métodos son caros y no específicos, por lo que los métodos biológicos utilizando bacterias, hongos y algunas algas, han adquirido mayor importancia (Kaushik y Malik 2009). Entre los hongos más utilizados para ese fin se encuentran *Coriolus versicolor*, *Trametes versicolor*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *P. chrysosporium*, *Rhizopus arrhizus*, *Ganoderma applanatum* y *Pleurotus ostreatus* por mencionar algunos (Kapdan *et al.* 2000, Fu y Vira-

raghavan 2001, Aksu 2003, Pazarlioglu *et al.* 2005, Aksu y Cagatay 2006, Aksu *et al.* 2007, Matos *et al.* 2007, Zhao y Hardin 2007). En lo que respecta a *Trichoderma*, Sadhasivam *et al.* (2007) utilizaron al micelio de *T. harzianum* como adsorbente para remover rodamina 6G en un sistema por lotes. En dicho trabajo, la cantidad de colorante adsorbida (mg g<sup>-1</sup>) aumentó al incrementar el tiempo de agitación, hasta alcanzar un equilibrio a los 120 minutos para concentraciones de 10 a 50 mg L<sup>-1</sup>. De esta forma, la máxima remoción del colorante se obtuvo en la dosis de 1.0 g en 50 mL con pH de 8.0. Este estudio sugiere el uso de la biomasa de *T. harzianum* para la remoción de colorantes.

### Explosivos

En el caso de compuestos explosivos, el 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) es conocido por su alta toxicidad y mutagenicidad en animales, peces, plantas y microorganismos, y es relativamente tóxico para los humanos por inhalación, absorción oral y contacto con la piel, provoca cianosis y anemia (Simini *et al.* 1995, Robidoux *et al.* 1999). El proceso de fabricación de este explosivo ha contribuido en la contaminación de suelo y de sistemas acuáticos (Valsaraj *et al.* 1998). Como alternativa para la remediación de suelos contaminados con explosivos se ha acudido a la incineración con una efectividad de hasta 99.9 %. Sin embargo, este proceso contribuye a la destrucción de la estructura del suelo, además de liberar compuestos tóxicos a la atmósfera (Hundal *et al.* 1997, Krumholz *et al.* 1997).

Los métodos biológicos para remediar suelos contaminados son más amigables con el ambiente, por lo cual se ha tratado de encontrar tecnologías biológicas que puedan aplicarse con dichos fines (Palmer *et al.* 1997). En suelos contaminados con TNT se ha logrado aislar bacterias y hongos capaces de degradarlo, de los cuales se han identificado algunos géneros fúngicos como *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, y *Trichoderma*, los cuales muestran variaciones en su tolerancia hacia el TNT (Bennett *et al.* 1995). En el caso particular de *T. viride*, este hongo es capaz de transformar al TNT en un 16 % en metabolitos solubles como 2,2',6,6'-tetranitro-4,4'-azoxitolueno, 4-amino-2,6-dinitrotolueno y 2-hidroxilamino-4,6-dinitrotolueno. Además, este hongo presenta mayor tolerancia al TNT, en comparación con *Schizophyllum commune* y *Cladosporium resinae* (Bayman y Radka 1997). En condiciones anaerobias los grupos nitrogenados del TNT se reducen uno a uno en grupos amino; sin embargo, cada proceso de reducción es más lento y menos completo que el anterior. Si las



**Fig. 1.** Metabolitos intermediarios formados durante la degradación aerobia de TNT por *Phanerochaete chrysosporium* (Spain 1995). Los intermediarios 2,2',6,6'-tetranitro-4,4'-azoxitolueno y 4-amino-2,6-dinitrotolueno han sido reportados durante la degradación de TNT por *Trichoderma viride* (Bayman y Radka 1997)

condiciones pasan a una condición aerobia, los intermediarios parcialmente reducidos forman productos de condensación de tipo azo, que son moléculas más estables y por lo tanto más recalcitrantes, además de ser agentes mutagénicos. La anterior ruta de degradación del TNT (**Fig. 1**) ha sido caracterizada a través de la actividad del hongo causante de la pudrición blanca de la madera *P. chrysosporium* (Fernando *et al.* 1990, Spain 1995). Algunos de los intermediarios formados durante la degradación de TNT por *P. chrysosporium*, también han sido reportados para *T. viride* (Bayman y Radka 1997).

### Hidrocarburos del petróleo

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH, por sus siglas en inglés) son constituyentes del petróleo considerados agentes carcinogénicos y teratogénicos (Chen y Liao 2006, Liao y Chiang 2006) los cuales son susceptibles de ser biodegradados vía actividad microbiana (Cerniglia *et al.* 1985). Chaîneau *et al.* (1999) reportaron la capacidad que tienen algunas especies de *Trichoderma* para degradar hidrocarburos saturados y aromáticos presentes en aceites combustibles (**Cuadro I**). Con base en estos resultados se observó que la estructura química de los hidrocarburos influyó en la capacidad de degradación

por *Trichoderma*. Así, la degradación de hidrocarburos saturados es mayor en comparación con aquellas para los hidrocarburos aromáticos. No obstante,

**CUADRO I.** CAPACIDAD DE DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS SATURADOS Y AROMÁTICOS PRESENTES EN ACEITE COMBUSTIBLE, POR CUATRO ESPECIES DEL GÉNERO *Trichoderma* (Chaîneau *et al.* 1999)

Especie de <i>Trichoderma</i>	Porcentaje de degradación total* (%)	Fracción de hidrocarburos degradados** (%)	
		Saturados	Aromáticos
<i>Trichoderma polysporum</i>	27±9	54	28
<i>Trichoderma koningii</i>	24±5	34	21
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	27±4	33	24
<i>Trichoderma harzianum</i>	26±5	39	12

\*Las cepas fueron crecidas en 179 mg de aceite combustible durante 30 días a 27 °C.

\*\*Los porcentajes de degradación de cada fracción de hidrocarburos fueron estimados a partir del porcentaje de degradación total obtenido para cada cepa, considerado como 100 %

los mecanismos de degradación que presentan las especies del género *Trichoderma* para este tipo de sustancias químicas, aún no son del todo entendidas.

Como en la mayoría de los hidrocarburos del petróleo, su estructura química y la temperatura a que están expuestos son factores que afectan directamente su degradación (Leahy y Colwell 1990, Whyte *et al.* 1999). En este sentido, Hughes *et al.* (2007) expusieron a *T. koningii* y *Trichoderma* sp. ante diferentes hidrocarburos saturados (dodecano, hexadecano) y aromáticos (ácido benzoico, ácido-*p*-hidroxibenzoico, tolueno, fenol, bifenilo, naftaleno, *m* y *p*-xileno y etilbenceno) a dos temperaturas (4 y 17 °C). Por una parte, los hidrocarburos aromáticos tuvieron mayor inhibición del crecimiento hifal en comparación con los hidrocarburos saturados, denotando la alta toxicidad de los compuestos aromáticos en el crecimiento de ambos hongos. Por otra parte, el crecimiento de los hongos en presencia de los hidrocarburos, disminuyó en todos los casos a 4 °C, demostrando con ello que la temperatura afecta no solo su crecimiento sino también su posible capacidad de degradación.

Ravelet *et al.* (2000) demostraron que *T. harzianum*, *T. pseudokoningii* y *T. viride* tienen la capacidad de degradar pireno. Además de utilizar al pireno como fuente de carbono, *T. harzianum* contribuyó en la degradación de 65 y 33.7 % de este compuesto monoaromático a partir de las concentraciones de 50 y 100 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente (Saraswathy y Hallberg 2002). Por otra parte, Matsubara *et al.* (2006) mencionan que el porcentaje de degradación de 400 mg L<sup>-1</sup> de pireno y fenantreno por *T. harzianum*, fue menor al 10 % en comparación con los hongos *Pycnoporus coccineus* y *Coprinus cinereus* cuyo porcentaje promedio de degradación fue del 65 al 80 %, en ambos contaminantes.

El porcentaje de degradación de benzo[*a*]pireno (BaP) que presenta *T. viride* es relativamente similar al de *Fusarium solani* (**Cuadro II**), pero mayor al de *F. oxysporum*. Aún cuando *T. viride* degradó BaP, no se detectaron actividades enzimáticas relacionadas con la degradación de este hidrocarburo aromático policíclico, como son la lacasa y la peroxidasa, sugiriendo que esta especie de *Trichoderma* posiblemente tiene otro sistema enzimático para degradar BaP (Verdin *et al.* 2004).

### **Trichoderma y su relación con contaminantes inorgánicos**

Las sustancias inorgánicas se consideran sustancias inanimadas o inertes y ejemplos de ellas son los metales, los minerales primarios y los secundarios,

**CUADRO II.** CAPACIDAD DE DEGRADACIÓN DE BENZO[*a*]PIRENO POR ALGUNAS ESPECIES DE HONGOS FILAMENTOSOS (Verdin *et al.* 2004)

Especie de hongo	Porcentaje de degradación (%)
<i>Trichoderma viride</i>	50
<i>Fusarium solani</i>	58
<i>Fusarium oxysporum</i>	30

La concentración inicial de benzo[*a*]pireno fue de 0.4 mM, los cultivos fúngicos fueron incubados a 25 °C durante 30 días

los ácidos minerales, las bases, las sales, los óxidos de metales y no metales, etc. La interacción microbiana que existe con los metales es diferente a aquella que se presenta con los compuestos orgánicos. En particular, los metales no pueden transformarse en otras sustancias, ni tampoco están sujetos a procesos de mineralización. En este caso, el microorganismo inmoviliza los metales a través de mecanismos fisiológicos y bioquímicos que favorecen la quelatación, la acumulación, la biosorción, etc., así como también puede cambiar su estado de oxidación (Vullo 2003). No obstante, los microorganismos también son capaces de movilizar los iones metálicos por medio de la biolixiviación (Brombacher *et al.* 1998).

### **Elementos potencialmente tóxicos**

Alloway (1995) propuso el término de elementos potencialmente tóxicos (EPT) para incluir a elementos esenciales o no esenciales y metaloides. Los EPT son contaminantes de origen inorgánico generalmente de carácter metálico, que afectan al ambiente ya que dependiendo de su estado de oxidación pueden ser movilizados en el suelo y lixiviados a través del perfil edáfico hacia los mantos freáticos, y con ello producirse la contaminación del agua (Palacios *et al.* 1989). Varios microorganismos del suelo son capaces de acumular altas concentraciones de EPT en su biomasa por efecto de sus actividades fisiológicas. De este modo, los microorganismos pueden producir (intra o extracelularmente) compuestos quelatantes de EPT (Babich y Stotzky 1985, Díaz-Raviña y Baath 1996).

En suelos contaminados con EPT se han encontrado aislados fúngicos del género *Trichoderma*, denotando con ello su capacidad para tolerar estos contaminantes inorgánicos, cuyo potencial tóxico es elevado. En el **cuadro III** se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias de diferentes metales para el crecimiento de *Trichoderma* sp. en condiciones *in vitro* (Zafar *et al.* 2007). Sin embargo, se ha reportado que *T. viride* tiene la

**CUADRO III.** CONCENTRACIONES DE ALGUNOS METALES CAUSANTES DE LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Trichoderma* sp. EN MEDIO DE CULTIVO\* (Zafar *et al.* 2007)

Metal	Concentración mínima inhibitoria (mg L <sup>-1</sup> )
Cobalto	4
Cromo	6
Cobre	4
Cadmio	3
Níquel	3

\* Las cajas fueron incubadas a 29±1 °C durante 2 a 5 días hasta observar el crecimiento fúngico sobre la superficie del medio de cultivo Sabouraud dextrosa agar

capacidad de remover altas concentraciones de cromo hexavalente [Cr(VI)] de soluciones acuosas (Morales-Barrera y Cristiani-Urbina 2006). Por su parte, Vankar y Bajpai (2008) probaron diferentes especies de *Trichoderma* ante varias concentraciones (4, 6, 8 y 10 mg L<sup>-1</sup>) de Cr(VI), las cuales mostraron una biosorción promedio de 97.4 %, en un rango de pH de 5.5 a 5.8. Además, mencionan que para valores fuera de tal rango de pH, la capacidad de biosorción disminuyó significativamente. La biosorción vía microbiana es más económica tanto en términos de costo de instalación como de operación y mantenimiento, pues los métodos químicos resultan costosos debido a que el agente activo no puede ser recuperado para su posterior reutilización (Cañizares-Villanueva 2000).

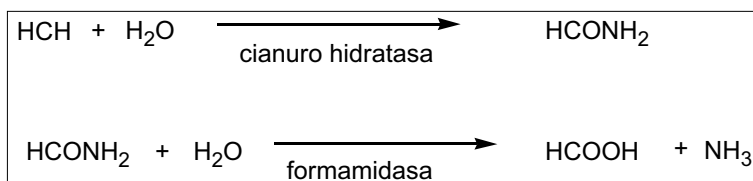
La presencia de EPT puede afectar la nutrición del hongo que se refleja en el limitado crecimiento del micelio. Lo anterior se ejemplifica con la disminución del micelio, longitud y ramificaciones de *T. viride* observada en presencia de Cu y de Cd (Gadd *et al.* 2001). Algunos estudios reportan la habilidad de *T. viride* para tolerar y bioacumular Cu en su biomasa. Por ejemplo, Anand *et al.* (2006) señalan una remoción de 3.4 mg L<sup>-1</sup> en 72 h, a partir de una concentración inicial de 100 mg de CuCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, señalando también que la temperatura y el pH afectan la biosorción de Cu por este hongo. Algunos EPT como el Cd (1-2 mM) además de reducir el crecimiento, también pueden inducir cambios en la diferenciación morfológica y causar mutaciones en *T. viride* (Frank *et al.* 1993). En contraste, el crecimiento de *T. viride* es significativamente inhibido a concentraciones de mercurio de 1 a 5 mM, pero sin inducir mutaciones en este organismo (Frank *et al.* 1993).

*Trichoderma atroviride* aislada de lodos procedentes de aguas residuales, presenta tolerancia

a altos contenidos de Zn, Cd y Cu. Sin embargo, el crecimiento de este hongo disminuyó en presencia de la combinación binaria de cualquiera de estos metales, debido al aumento de su toxicidad (López-Errasquín y Vázquez 2003). Por otra parte, *T. asperellum* presenta la capacidad de tolerar altas concentraciones de aluminio (100-200 mM) bajo un rango de pH de 2.2-2.5. Además, este hongo indujo un incremento en el pH alrededor de 6.2-7.0, como estrategia fisiológica para favorecer la precipitación del aluminio y evitar de esa forma sus efectos tóxicos (Kawai *et al.* 2000).

La tolerancia de un microorganismo hacia los EPT es dependiente también de varios factores como el pH, el cual produce una amplia gama de respuestas en su tolerancia y susceptibilidad. De este modo, la acumulación de Zn por *T. harzianum* incrementó hasta diez veces cuando el pH fue de 3 y 5. Por otra parte, la biosorción de Cu, Cd y Zn por *T. viride* (en promedio de 78 µmol g<sup>-1</sup> de tejido seco) fue 5.5 veces más baja en comparación con la observada por las arcillas montmorillonita y caolinita (435 µmol g<sup>-1</sup>). Pero cuando se expresa por unidad de superficie enlazada con el metal, el hongo (con 36.6 µmol m<sup>-2</sup>) presentó mayor capacidad de adsorción que las arcillas (con 3.1 µmol m<sup>-2</sup>) (Morley y Gadd 1995). Lo anterior demuestra que el hongo *Trichoderma* es capaz de retener metales en abundante cantidad en su micelio, así como en sus esporas (Loksha y Somashekar 1989).

El arseniato de cromo y cobre (CCA) es utilizado como protector de madera utilizada en exteriores, cuyos residuos contribuyen en la contaminación de ecosistemas terrestres y acuáticos (Kartal y Muehl 2001, Helsen y van Den Bulck 2005). Para evitar este problema ambiental, se han utilizado procesos químicos que involucran el uso de algunos ácidos minerales y orgánicos para separar los tres componentes que forman esta sal, de tal manera que puedan ser reciclados (Kartal *et al.* 2004). Alternativamente a este proceso químico, se han utilizado bacterias y hongos con capacidad de secretar ácidos orgánicos como el ácido oxálico y el ácido cítrico (Kartal *et al.* 1991, Clausen y Smith 1998). Así, Kartal *et al.* (2006) probaron la capacidad de algunos hongos filamentosos para producir ácido oxálico y remover CCA (en una concentración de 0.6 %) a partir de madera impregnada con dicho compuesto, encontrando que *T. viride* TRV 4847 es uno de los tres mejores hongos productores de ácido oxálico. Además, la remoción de cobre durante el proceso de remediación utilizando *Trichoderma* fue mayor al 90 %, mientras que para cromo y arsénico la remoción fue del 20 y del 40 %,



**Fig. 2.** Mecanismo enzimático propuesto para *Trichoderma* spp. durante la degradación de cianuro (Ezzi y Lynch 2005).

respectivamente. Lo anterior indica que *Trichoderma* puede ser empleado para dar tratamiento a las maderas tratadas con CCA.

### Cianuro

El cianuro es liberado al ambiente en desechos sólidos y aguas residuales de las diferentes actividades industriales como el galvanizado de metales, electrolisis de aluminio, gasificación de carbón, lixiviación de minerales y en la síntesis de fármacos, fibras y plásticos (Nazly y Knowles 1981). A su vez, el cianuro es un inhibidor metabólico que daña a las células (Knowles y Bunch 1986). Los residuos que van acompañados con cianuro se han tratado mediante la utilización de técnicas químicas como la precipitación, la neutralización, la hidrólisis y procesos de oxidación-reducción, por mencionar algunas, que son agresivas con el ambiente. Por lo anterior, se buscan otras alternativas biológicas para la remediación de los sistemas contaminados con este compuesto (Richards y Shieh 1989). El hongo *Trichoderma* sp. se ha empleado para la destoxificación de cianuro ya que posee dos enzimas (rodanasa y cianuro hidratasa) capaces de degradarlo (Ezzi y Lynch 2002). Además, la adición de glucosa como una fuente de carbono alternativa al medio contaminado incrementa la velocidad de degradación del cianuro por las cepas de *Trichoderma* spp. (Ezzi y Lynch 2005a,b). Varias especies de *Trichoderma* tienen la capacidad de metabolizar cianuro vía rodanasa y cianuro hidratasa (**Fig. 2**), pero no se ha encontrado evidencia de que utilicen la ruta de la  $\beta$ -cianoalanina sintetasa (Ezzi y Lynch 2003), lo que indica que no es común encontrar esta enzima en los hongos, en comparación con plantas y algunas bacterias (Raybuck 1992). A su vez, Ezzi y Lynch (2005a) han demostrado que la degradación de cianuro de potasio en el suelo (50 y 100 mg kg<sup>-1</sup>) es posible al utilizar *Trichoderma* spp. en combinación con plantas como chícharo (*Pisum sativum* L.) y trigo (*Triticum aestivum* L.). Lo anterior denota el potencial uso de cepas del grupo *Trichoderma* en sistemas de fitorremediación, lo cual requiere de mayor estudio.

### CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La presente revisión expone el potencial de algunas especies del género *Trichoderma* para ser utilizadas como elemento de biorremediación en la destoxificación de contaminantes orgánicos e inorgánicos tanto en suelos como en agua. Con base en los estudios de tipo básico sobre la interacción contaminante-*Trichoderma* (principalmente bajo sistemas *in vitro* en medios sólidos y líquidos) se vislumbran ciertas perspectivas del uso de estos hongos en sistemas aerobios de biorremediación. A pesar de tenerse cierta información, se requiere mayor estudio para identificar aquellos mecanismos fisiológicos, bioquímicos y moleculares que tienen las especies del género *Trichoderma* para tolerar, acumular, destoxificar, transformar y mineralizar contaminantes de origen tanto orgánico como inorgánico. Más aún, se requiere validar el uso de aquellas especies de *Trichoderma* cuya tolerancia y capacidad de degradación de compuestos orgánicos haya sido demostrada en condiciones *in vitro*, mediante sistemas de biorremediación *in vivo* utilizando suelo contaminado crónicamente o de manera artificial.

### AGRADECIMIENTOS

Trabajo parcialmente financiado por el proyecto SEP-CONACyT 79456. R.A-D agradece al CONACyT por el apoyo otorgado durante sus estudios de doctorado. Los autores agradecen las observaciones y sugerencias al manuscrito por parte de dos revisores anónimos.

### REFERENCIAS

- Ahmad I. y Malloch D. (1995). Interaction of soil microflora with the bioherbicide phosphinothricin. *Agric. Ecosystem Environ.* 54, 165-174.
- Aksu Z. (2003). Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochem.* 38, 1437-1444.



- Aksu Z. y Cagatay S.S. (2006). Investigation of biosorption of gemazol turquoise blue-G reactive dye by dried *Rhizopus arrhizus* in batch and continuous systems. *Sep. Purif. Technol.* 48, 24-35.
- Aksu Z., Kilic N.K., Ertugrul S. y Donmez G. (2007). Inhibitory effects of chromium(VI) and remazol black B on chromium(VI) and dyestuff removals by *Trametes versicolor*. *Enzyme Microbiol. Technol.* 40, 1167-1174.
- Alexander M. (1981). Biodegradation of chemical of environmental concern. *Science* 211, 132-138.
- Alexopoulos C.J. y Mims C.W. (1979). *Introductory Mycology*. 3ªed. Nueva York, Wiley.
- Alloway B.J. (1995). Soil processes and the behavior of metals. In: *Heavy metals in soils*. (B.J. Alloway, Ed.). Blackie A. & P. London, Reino Unido.
- Anand P., Isar J., Saran S. y Saxena R.K. (2006). Bioaccumulation of copper by *Trichoderma viride*. *Bioresour. Technol.* 97, 1018-1025.
- Anderson J.P. y Domsch K.H. (1976). Microbial degradation of the thiolcarbamate herbicide, diallate, in soils and pure culture of soil microorganisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 11, 1-7.
- Ávila-Miranda M.E., Herrera-Estrella A. y Peña-Cabriaes J.J. (2006). Colonization of the rhizosphere, rhizoplane and endorhiza of garlic (*Allium sativum* L.) by strains of *Trichoderma harzianum* and their capacity to control allium white-rot under field conditions. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1823-1830.
- Babich H. y Stotzky G. (1985). Heavy metal toxicity to microbe mediated ecological processes: a review and potential application to regulatory policies. *Environ. Res.* 36, 111-137.
- Bayman P. y Radka G.V. (1997). Transformation and tolerance of TNT (2,4,6-trinitrotoluene) by fungi. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 39, 45-53.
- BBSRC. 1999. A joint research council review of bioremediation research in the United Kingdom. Biotechnology and Biological Sciences Research Council, EPSRC y NERC, Swindon, Reino Unido, 55 p.
- Bennett J.W., Hollrah P., Waterhouse A. y Horvath K. (1995). Isolation of bacteria and fungi from TNT-contaminated composts and preparation of <sup>14</sup>C-ring labeled TNT. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 95, 420-430.
- Binelli A. y Provini A. (2004). Risk for human health of some POPs due to fish from Lake Iseo. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 58, 139-145.
- Bissett J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Can. J. Bot.* 69, 2373-2417.
- Bixby M.W., Bousch G.M. y Matsumura F. (1971). Degradation of dieldrin to carbon dioxide by soil fungus *Trichoderma koningii*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64, 491-494.
- Bonnarme P., Djian A., Latrasse A., Féron G., Giniés C., Durand A. y Le Querré J.-L. (1997). Production of 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone by *Trichoderma* sp. from vegetable oils. *J. Biotechnol.* 56, 143-150.
- Brombacher C., Bachofen R. y Brandl H. (1998). Development of a laboratory-scale leaching plant for metal extraction from fly ash by *Thiobacillus* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 1237-1241.
- Brian P.W. (1944). Production of gliotoxin by *Trichoderma viride*. *Nature* 154, 667-668.
- Buchert J., Ranua M., Siika-aho M., Pere J. y Viikari J. (1994). *Trichoderma reesei* cellulases in bleaching of kraft pulp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40, 941-945.
- Bumpus J.A. y Aust S.D. (1987) Biodegradation of DDT [1,1,1-Trichloro-2,2-Bis(4-chlorophenyl)Ethane] by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2001-2008.
- Cañizares-Villanueva R.O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Rev. Latinoamer. Microbiol.* 42, 131-143.
- Cerniglia C.E., White G.L. y Heflich R.H. (1985). Fungal metabolism and detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Arch. Microbiol.* 143, 105-110.
- Chaîneau C.H., Morelb U.J., Duponta J., Burya E. y Oudota J. (1999). Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. *Sci. Total Environ.* 227, 237-247.
- Chen S. y Liao C. (2006). Health risk assessment on human exposed to environmental polycyclic aromatic hydrocarbons pollution sources. *Sci. Total Environ.* 366, 112-123.
- Chiron S., Fernandez-Alba A., Rodriguez A. y Garcia-Calvo E. (2000). Pesticide chemical oxidation: state-of-the-art. *Water Res.* 34, 366-377.
- Clausen C.A. y Smith R.L. (1998). Removal of CCA from treated wood by oxalic acid extraction, steam explosion, and bacterial fermentation. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 20, 251-257.
- Coque J.J.R., Alvarez-Rodriguez M.L. y Larriba G. (2003). Characterization of an inducible chlorophenol *O*-methyltransferase from *Trichoderma longibrachiatum* involved in the formation of chloroanisoles and determination of its role in cork taint of wines. *Appl. Environ. Microbiol.* 9, 5089-5095.
- Cserjesi A.J. y Jhonson E.L. (1972). Methylation of pentachlorophenol by *Trichoderma virgatum*. *Can. J. Microbiol.* 18, 45-49.
- Das A.C., Chakravarty A., Sukul P. y Mukherjee D. (2003). Influence and persistence of phorate and carbofuran insecticides on microorganisms in rice field. *Chemosphere* 53, 1033-1037.

- Dave H., Ramakrishna C. y Desai J.D. (1996). Degradation of acrylic acid by fungi from petrochemical activated sludge. *Biotechnol. Lett.* 18, 963-964.
- Díaz-Raviña M. y Baath E. (1996). Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increased metal levels. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2970-2977.
- Di Pietro A., Lorito M., Hayes C.K., Broadway R. M. y Harman G.E. (1993). Endochitinase from *Gliocladium virens*: Isolation, characterization and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology* 83, 308-313.
- Druzhinina I. y Kubicek C.P. (2005). Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters. *J Zhejiang.* 6B, 100-112.
- Durand H., Clanet M. y Tiraby G. (1988). Genetic improvement of *Trichoderma reesei* for large scale cellulase production. *Enzyme Microbiol. Technol.* 10, 341-346.
- Espósito E. y Da Silva M. (1998). Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Crit. Rev. Microbiol.* 24, 89-98.
- Ezzi M. y Lynch J.M. (2002). Cyanide catabolizing enzyme in *Trichoderma* spp. *Enzyme Microbiol. Technol.* 31, 1042-1047.
- Ezzi M. y Lynch J.M. (2003). Characterisation of the rhodanese enzyme in the *Trichoderma* spp. *Enzyme Microbiol. Technol.* 32, 629-634.
- Ezzi M. y Lynch J.M. (2005a). Biodegradation of cyanide by *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp. *Enzyme Microbiol. Technol.* 36, 849-854.
- Ezzi M.I. y Lynch J.M. (2005b). Plant microcosm studies demonstrating bioremediation of cyanide toxicity by *Trichoderma* and *Fusarium* spp. *Biol. Fertil. Soils.* 42, 40-44.
- Fernando T., Bumpus J.A. y Aust S.D. (1990). Biodegradation of TNT (2,4,6-trinitrotoluene) by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1666-1671.
- Frank V., Tánová G. y Takácsová L. (1993). Effects of cadmium and mercury on growth and differentiation of *Trichoderma viride*. *Zentralbl Mikrobiol.* 148, 229-232.
- Fu Y. y Viraraghavan T. (2001). Fungal decolourization of dye wastewaters: a review. *Biores. Technol.* 79, 251-62.
- Gadd M.G., Ramsay L., Crawford J.W. y Ritz K. (2001). Nutritional influence on fungal colony growth and biomass distribution in response to toxic metals. *Enzyme Microbiol. Technol.* 204, 311-316.
- Gaete H., Larrain A., BaySchmith E., Baeza J. y Rodríguez J. (2000). Ecotoxicological assessment of two pulp mills effluents, locate in the Biobío river basin (Chile, Central). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 65, 183-189.
- Galante Y.M., Monteverdi R., Inama S., Caldini C., De Conti A., Lavelli V. y Bonomi F. (1993). New applications of enzymes in wine making and olive oil production. *Ital. J. Biochem.* 4, 34.
- Gravel V., Antoun H. y Tweddell R.J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil. Biol. Biochem.* 39, 1968-1977.
- Harman G.E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis.* 84, 377-393.
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I. y Lorito M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 43-56.
- Harrison H., Wearne S., Gem D.M., Gleadle M.G., Starting J. y Thorpe S. (1998). Time trends in human dietary exposure to PCDDs, PCDFs and PCBs in the UK. *Chemosphere* 37, 1657-1670.
- Hay A.G. y FoCht D.D. (1998). Cometabolism of 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane by *Pseudomonas acidovorans* M3GY grown on biphenyl. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2141-2146.
- Hellwig J., Gembardt C.H.R. y Murphy S.R. (1997). Acrylic acid: two-generation reproduction toxicity study in wistar rats with continuous administration in the drinking water. *Food Chem. Toxicol.* 35, 859-868.
- Helsen L. y van Den Bulck E. (2005). Review of disposal technologies for chromated copper arsenate (CCA) treated wood waste, with detailed analyses of thermochemical conversion processes. *Environ. Pollut.* 134, 301-314.
- Hughes K.A., Bridge P. y Clark M.S. (2007). Tolerance of Antarctic soil fungi to hydrocarbons. *Sci. Total Environ.* 372, 539-548.
- Hundal L.S., Singh J., Bier E.L., Shea P.J., Comfort S.D. y Powers W.L. (1997). Removal of TNT and RDX from water and soil using iron metal. *Environ. Pollut.* 97, 55-59.
- Itävaara M., Siika-aho M. y Viikari L. (1999). Enzymatic degradation of cellulose-based materials. *J. Polym. Environ.* 7, 67-73.
- Jackson A.M., Whipps J.M. y Lynch J.M. (1991). Effects of temperature, pH and water potential on growth of four fungi with disease biocontrol potential. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 7, 494-501.
- Jaklitsch W.M., Samuels G.J., Dodd S.L., Lu B.S. y Druzhinina I.S. (2006). *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Studies Mycol.* 55, 135-177.

- Jansson J.K. (2003). Marker and reporter genes: Illuminating tools for environmental microbiologists. *Curr. Opin. Microbiol.* 6, 310-316.
- Kapdan I.K., Kargia F., McMullan G. y Marchant R. (2000). Effect of environmental conditions on biological decolourization of textile dyestuff by *C. versicolor*. *Enzyme Microbiol. Technol.* 26, 381-387.
- Kartal S.N. y Muehl J. (2001). Particleboard made from remediated CCA-treated-wood: Evaluation of panel properties. *Forest Prod. J.* 51, 61-64.
- Kartal S.N., Katsumata N., Imamura Y. (2006). Removal of copper, chromium, and arsenic from CCA-treated wood by organic acids released by mold and staining fungi. *Forest Prod. J.* 56, 33-37.
- Kartal S.N., Larsen M., Winandy J.E., y Highley T.L. (1991). Role of oxalic acid in incipient brown-rot decay. *Mat. Und Org.* 26, 191-213.
- Kartal S.N., Munir E., Kakitani T. y Imamura Y. (2004). Bioremediation of CCA-treated wood by brown-rot fungi *Fomitopsis palustris*, *Caniophora puteana* and *Laetiporus sulphureus*. *J. Wood Sci.* 50, 182-188.
- Katayama A. y Matsumura F. (1993). Degradation of organochlorine pesticides, particularly endosulfan, by *Trichoderma harzianum*. *Environ. Toxicol. Chem.* 12, 1059-1065.
- Kaushik P. y Malik A. (2009). Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. *Environ. Int.* 35, 127-141.
- Kawai F., Zhang D. y Sugimoto M. (2000). Isolation and characterization of acid- and Al-tolerant microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 189, 143-147.
- Kleifeld O. y Chet I. (1992). *Trichoderma harzianum*-interaction with plants and effect on growth response. *Plant Soil* 144, 267-272.
- Knowles C.J. y Bunch A.W. (1986). Microbial cyanide metabolism. *Adv. Microbiol. Physiol.* 27, 73-111.
- Kovacs T.G., Gibbons G.J.S., Tremblay B.I., O'Connor P.H. y Voss R.H. (1995). The effects of secondary treated bleached Kraft mill effluent on aquatic organisms as assessed by short-term and long-term tests. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 31, 7-22.
- Krumholz L.R., Li J., Clarkson W.W., Wilber G.G. y Sultita J.M. (1997). Transformation of TNT and related aminotoluenes in groundwater aquifer slurries under different electron accepting conditions. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 18, 161-169.
- Krzysko-Lupicka T., Stroff W., Kubs K., Skorupa M., Wieczorek P., Lejczak B. y Kafarski P. (1997). The ability of soil borne fungi to degrade organophosphate carbon-to-phosphorus bonds. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 549-552.
- Kubicek C.P. y Harman G.E. (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium*: Basic biology, taxonomy and genetics. *Trends Microbiol.* 6, 459-460.
- Kubicek C.P., Messner R., Gruber F., Mach R.L., y Kubicek-Pranz E.M. (1993). The *Trichoderma* cellulase regulatory puzzle: from the interior life of a secretory fungus. *Enzyme Microbiol. Technol.* 15, 90-99.
- Kuhls K., Lieckfeldt E., Sammuels G.J., Meyer W., Kubicek C.P. y Börner T. (1997). Revision of *Trichoderma* sect. Longibrachiatum including related teleomorphs based on analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Mycologia* 89, 442-460.
- Kutz F.W., Wood P.H. y Bottimore D.P. (1991). Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 120, 1-82.
- Leahy J.G. y Colwell R.R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.* 54, 305-315.
- Li X., Gan Y., Yang X., Zhou J., Dai J. y Xu M. (2008). Human health risk of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in edible fish from Huairou Reservoir and Gaobeidian Lake in Beijing, China. *Food Chem.* 109, 348-354.
- Liao C. y Chiang K. (2006). Probabilistic risk assessment for personal exposure to carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in Taiwanese temples. *Chemosphere* 63, 1610-1619.
- Lieckfeldt E., Samuels G.J., Nirenberg H. y Petrini O. (1999). A morphological and molecular perspective of *Trichoderma viride*: is it one or two species. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 2428-2428.
- Lokesh S. y Somashekar R.K. (1989). Biosorption potency of heavy metals by some fungi. *Curr. Sci.* 58, 571-573.
- López-Errasquín E. y Vázquez C. (2003). Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge. *Chemosphere* 50, 137-143.
- Lynch J.M. y Moffat A.J. (2005). Bioremediation-prospects for the future application of innovative applied biological research. *Ann. Appl. Biol.* 146, 217-221.
- Lynch J.M., Wilson K.L., Ousley M.A. y Whipps J.M. (1991). Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. *Lett. Appl. Microbiol.* 12, 59-61.
- Matos J.F.S., Bezerra R.M.F. y Dias A.A. (2007). Screening of fungal isolates and properties of *Ganoderma applanatum* intended for olive mill wastewater decolourization and dephenolization. *Lett. Appl. Microbiol.* 45, 270-275.
- Matsubara M., Lynch J.M. y De Leij F.A.A.M. (2006). A simple screening procedure for selecting fungi with potential for use in the bioremediation of contaminated land. *Enzyme Microbiol. Technol.* 39, 1365-1372.
- Matsumura F. y Bousch G.M. (1968). Degradation of insecticides by a soil fungus *Trichoderma viride*. *J. Econ. Entomol.* 61, 610-612.

- Mishra G. y Tripathy M. (1993). A critical review of the treatments for decolourization of textile effluent. *Colourage* 40, 35-38.
- Mitra J. y Raghu K. (1998). Long term DDT pollution in tropical soils: effect of DDT and degradation products on soil microbial activities leading to soil fertility. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 585-591.
- Mokeyev A.N., Iljin V.A. y Gradova N.B. (1998). Biotechnological degradation of the radioactive cellulose containing waste. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 5, 441-445.
- Montiel A.M., Fernández F.J., Marcial J., Soriano J., Barrios-González J. y Tomasini A. (2004). A fungal phenoloxidase (tyrosinase) involved in pentachlorophenol degradation. *Biotechnol. Lett.* 26, 1353-1357.
- Morales-Barrera L. y Cristiani-Urbina E. (2006). Removal of hexavalent chromium by *Trichoderma viride* in an airlift bioreactor. *Enzyme Microbiol. Technol.* 40, 107-113.
- Morley G. F. y Gadd G.M. (1995). Sorption of toxic metal by fungi and clay minerals. *Mycol. Res.* 99, 1429-1438.
- Mukherjee I. y Mittal A. (2005). Bioremediation of endosulfan using *Aspergillus terreus* and *Cladosporium oxysporum*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 75, 1034-1040.
- Nazly N. y Knowles C.J. (1981). Cyanide degradation by immobilized fungi. *Biotechnol. Lett.* 3, 363-368.
- Olsson L., Christensen T.M.I.E., Hansen K.P. y Palmqvist E.A. (2003). Influence of the carbon source on production of cellulases, hemicellulases and pectinases by *Trichoderma reesei* Rut C-30. *Enzyme Microbiol. Technol.* 33, 612-619.
- Omar S.A. (1998). Availability of phosphorus and sulfur of insecticide origin by fungi. *Biodegradation* 9, 327-336.
- Ousley M.A., Lynch J.M. y Whipps J.M. (1994). Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. *Biol. Fertil. Soils.* 17, 85-90.
- Palacios G., Gómez I., Mataix J. y Guerrero C. (1989). Disponibilidad de níquel en un suelo fuertemente calcáreo y su incidencia sobre la solubilidad de calcio y magnesio. *Edafología* 5, 129-134.
- Palmer W.G., Beaman J.R., Walters D.M. y Creasia D.A. (1997). Bioavailability of TNT residues in composts of TNT-contaminated soils. *J. Toxicol. Environ. Health.* 51, 97-103.
- Papavizas G.C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23, 23-54.
- Paszczynski A. y Crawford R.L. (1995). Potential for bioremediation of xenobiotic compounds by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biotechnol. Progr.* 11, 368-379.
- Pazarlioglu N.K., Urek R.O. y Ergun F. (2005). Biodecolourization of direct blue 15 by immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. *Process Biochem.* 40, 1923-1929.
- Pečiulytė D. (2007). Isolation of cellulolytic fungi from waste paper gradual recycling materials. *Ekologija* 53, 11-18.
- Ravelet C., Krivobok S., Sage L. y Steiman R. (2000). Biodegradation of pyrene by sediment fungi *Eisenia andrei*. *Chemosphere* 40, 557-563.
- Raybuck, S.A. (1992). Microbes and microbial enzymes for cyanide degradation. *Biodegradation* 3, 3-18.
- Robidoux P.I., Hawari J., Thiboutot S., Ampleman G. y Sunahara G.I. (1999). Acute toxicity of 2,4,6-trinitrotoluene in earthworm (*Eisenia andrei*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 44, 311-321.
- Reese E.T. y Mandels M. (1989). Rolling with the times: production and applications of *Trichoderma reesei* cellulase. *Annual Reports of Fermentative Processes* 7, 1-20.
- Richards D.J. y Shieh W.K. (1989). Anoxic-oxic activated sludge treatment of cyanides and phenols. *Biotechnol. Bioeng.* 33, 32-38.
- Rojo F.G., Reynoso M.M., Ferez M., Chulze S.N. y Torres A.M. (2007). Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions. *Crop Prot.* 26, 549-555.
- Sadhasivam S., Savithaa S. y Swaminathana K. (2007). Exploitation of *Trichoderma harzianum* mycelial waste for the removal of rhodamine 6G from aqueous solution. *J Environ Manage.* 85, 155-161.
- Samuels G.J. (2005). Changes in taxonomy, occurrence of the sexual stage and ecology of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96, 195-206.
- Samuels G.J. y Chaverri P. (2003). *Hypocrea/Trichoderma* (ascomycota, hypocreales, hypocreaceae): species with green ascospores. *Stud. Mycol.* 48, 1-116.
- Saraswathy A. y Hallberg R. (2002). Degradation of pyrene by indigenous fungi from a former gasworks site. *FEMS Microbiol. Lett.* 210, 227-232.
- Schulein M. (2000). Protein engineering of cellulases. *Biochim Biophys Acta* 1543, 239-252.
- Score A.J. y Palfreyman J.W. (1994). Biological control of the dry rot fungus *Serpula lacrymans* by *Trichoderma* spp.: The effects of complex and synthetic media on interaction and hyphal extension rates. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 33, 115-128.
- Shannon M.J.R. y Unterman K. (1993). Evaluating bioremediation: Distinguishing fact from fiction. *Annu. Rev. Microbiol.* 47, 715-738.
- Simini M., Wentsel R.S., Checkai R.T., Phillips C.T., Chester N.A., Major M.A. y Amos J.C. (1995). Evaluation of soil toxicity at joliet army ammunition plant. *Environ. Toxicol. Chem.* 14, 623-630.

- Singh B.K. y Walker A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol. Rev.* 30, 428-471.
- Smith W.H. (1995). Forest occurrence of *Trichoderma* species: Emphasis on potential organochlorine (Xenobiotic) degradation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 32, 179-183.
- Snedeker S.M. (2001). Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ. Health Perspect.* 109, 35-47.
- Spain J.C. (1995). Biodegradation of nitroaromatic compounds. *Annu. Rev. Microbiol.* 49, 523-555.
- Sponza D. (2003). Application of toxicity tests into discharges of the pulp-paper industry in Turkey. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 54, 74-86.
- Staples C.A., Murphy S.R., McLaughlin J.E., Leung H.W., Cascieri T.C. y Farr C.H. (2000). Determination of selected fate and aquatic toxicity characteristics of acrylic acid and a series of acrylic esters. *Chemosphere* 40, 29-38.
- Stinchfield A.E. y Woods M.G. (1995). Reducing chlorinated organics compounds from bleached kraft mills through first stage substitution of chlorine dioxide for chlorine. *Tappi J.* 78, 117-125.
- Subramanian C.V. (1983). *Hyphomycetes; taxonomy and biology* 1ª Ed). Academic Press, Nueva York, 502.
- Sun F. y Chen H. (2008). Monitoring of pesticide chlorpyrifos residue in farmed fish: Investigation of possible sources. *Chemosphere* 71, 1866-1869.
- Szengyel Z., Zacchi G., Varga A. y Reczey K. (2000) Cellulase production of *Trichoderma reesei* Rut C-30 using steam-pretreated spruce: hydrolytic potential of cellulases on different substrate. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 86, 679-691.
- Valsaraj K.T., Qaisi K.M., Constant W.D., Thibodeaux L.J. y Ro K.S. (1998). Diffusive transport of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) from contaminated soil to overlying water. *J. Hazard Mater.* 59, 1-6.
- Vankar P.S. y Bajpai D. (2008). Phyto-remediation of chrome-VI of tannery effluent by *Trichoderma* species. *Desalination* 222, 255-262.
- van Leeuwen J.A., Nicholson B.C., Levay G., Hayes K.P. y Mulcahy D.E. (1997). Transformation of free tetrachloroguaiacol to bound compounds by fungi isolated from Lake Bonney, south-eastern South Australia. *Mar. Freshwater Res.* 48, 551-557.
- van Wyk J.P.H. (1999). Saccharification of paper products by cellulase from *Penicillium funiculosum* and *Trichoderma reesei*. *Biomass Bioenergy* 16, 239-242.
- van Wyk J.P.H. (2001a). Sequential bioconversion of used paper to sugars by cellulases from *Trichoderma reesei* and *Penicillium funiculosum* *The Environmentalist* 21, 211-220.
- van Wyk J.P.H. (2001b). Biotechnology and the utilization of biowaste as a resource for bioproduct development. *Trends Biotechnol.* 19, 172-177.
- van Wyk J.P.H. y Mohulatsi M. (2003). Biodegradation of wastepaper by cellulase from *Trichoderma viride*. *Bioresour. Technol.* 86, 21-23.
- Verdin A., Sahraoui A.L. y Durand R. (2004). Degradation of benzo[ $\alpha$ ]pyrene by mitosporic fungi and extracellular oxidative enzymes. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 53, 65-70.
- Verma M., Brar S.K., Tyagi R.D., Surampalli R.Y. y Valéro J.R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochem. Eng. J.* 37, 1-20.
- Vullo D. (2003). Microorganismos y metales pesados una interacción en beneficio del medio ambiente. *Rev. Quím. Viva* 2, 1-20.
- Walsh G.A., Power R.F. y Headon D.R. (1993). Enzymes in the animal feed industry. *Trends Biotechnol.* 11, 424-430.
- Weil J., Westgate P., Kohlmann K. y Ladisch M.R. (1994). Cellulose pretreatments of lignocellulosic substrates. *Enzyme Microbiol. Technol.* 16, 1002-1004.
- Whyte L.G., Slagman S.J., Pietrantonio F., Bourbonnise L., Koval S.F., Lawrence S.R., Innis E.W. y Greer C.W. (1999). Physiological adaptations involved in alkane assimilation at a low temperature by *Rhodococcus* sp. strain Q15. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 2961-2968.
- Widden P. y Scattolin V. (1988). Competitive interactions and ecological strategies of *Trichoderma* species colonizing spruce litter. *Mycologia* 80, 795-803.
- Zaldívar M., Velásquez J.C., Contreras I. y Pérez L.M. (2001). *Trichoderma aureoviride* 7-121, a mutant with enhanced production of lytic enzymes: its potential use in waste cellulose degradation and/or biocontrol. *Electron. J. Biotechnol.* 4, 1-7.
- Zafar S., Aqil F. y Ahmad I. (2007). Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. *Bioresour. Technol.* 98, 2557-2561.
- Zayed S.M., Mostafa I.Y., Farghaly M.M., Attaby H.S., Adam Y.M. y Mahdy F.M. (1983). Microbial degradation of trifluralin by *Aspergillus carneus*, *Fusarium oxysporum* and *Trichoderma viride*. *J. Environ. Sci. Health B.* 18, 253-67.
- Zhang C., Druzhinina I., Kubick C.P. y Xu T. (2005). *Trichoderma* biodiversity in China: evidence for a north to southern distribution of species in East Asia. *FEMS Microbiol. Lett.* 251, 251-257.
- Zhao X. y Hardin I.R. 2007. HPLC and spectrophotometric analysis of biodegradation of azo dyes by *Pleurotus ostreatus*. *Dyes Pigm.* 73, 322-325.