

Detección de genes *Epl1* y *Sm1* en *Trichoderma* spp. antagonistas contra hongos fitopatógenos

Detection of *Epl1* and *Sm1* genes in *Trichoderma* spp. antagonists against phytopathogenic fungi

Orlando José Martínez-Canto¹ ,
Jairo Cristóbal-Alejo¹ ,
José María Tun-Suárez¹ ,
Arturo Reyes-Ramírez^{1*} 

¹Tecnológico Nacional de México/I.T. Conkal. Avenida Tecnológico s/n, CP. 97345. Conkal, Yucatán, México.

*Autor de correspondencia:
arturo.reyes@itconkal.edu.mx

Nota científica

Recibida: 09 de enero 2021
Aceptada: 03 de agosto 2021

Como citar: Martínez-Canto OJ, Cristóbal-Alejo J, Tun-Suárez JM, Reyes-Ramírez A (2021) Detección de genes *Epl1* y *Sm1* en *Trichoderma* spp. antagonistas contra hongos fitopatógenos. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 8(2): e2791. DOI: 10.19136/era.a8n2.2791

RESUMEN. *Trichoderma* spp. se utilizan como método de biocontrol de fitopatógenos causantes de pérdidas agrícolas. El objetivo de este trabajo fue identificar nueve cepas de *Trichoderma*, determinar la capacidad antagonista contra *Fusarium oxysporum* y *Corynespora cassiicola*, así como los genes que codifican los elicidores *Sm1* y *Epl1* de la resistencia sistémica en plantas. La capacidad antagonista contra fitopatógenos se determinó mediante enfrentamientos duales. La identificación molecular correspondió a *T. asperellum* (19-31), *T. erinaceum* (10-15), *T. ghanense* (21-39) y *T. harzianum* (18-31, 05E-60, 20-35, 13-01, 01-01, 29-54). Las cepas, 10-15, 19-31 y 05E-60 presentaron mayor capacidad de inhibición micelial contra *F. oxysporum*, mientras las cepas 32-09 y 27-08 contra *C. cassiicola*. Los metabolitos volátiles de las cepas 27-08, 21-39 y 05E-60 inhibieron el crecimiento de *F. oxysporum*. La presencia de los genes *Epl1* fueron identificados en las cepas 19-31 y 10-15, y *Sm1* en las cepas 27-08 y 32-09. **Palabras clave:** *Corynespora cassiicola*, *Fusarium oxysporum*, inhibición micelial, metabolitos volátiles.

ABSTRACT. *Trichoderma* spp. are used as a method of biocontrol of phytopathogenic that cause agricultural losses. The objective of this work was to identify nine *Trichoderma* strains, determine the antagonistic capacity against *Fusarium oxysporum* and *Corynespora cassiicola*, as well as the genes that encode the elicitors *Sm1* and *Epl1* of systemic resistance in plants. The antagonistic capacity against phytopathogens was determined through dual confrontations. The molecular identification corresponded to *T. asperellum* (19-31), *T. erinaceum* (10-15), *T. ghanense* (21-39) and *T. harzianum* (18-31, 05E-60, 20-35, 13-01, 01-01, 29-54). Strains 10-15, 19-31 and 05E-60 showed greater mycelial inhibition capacity against *F. oxysporum*, while the strains 32-09 and 27-08 against *C. cassiicola*. The volatile metabolites of 27-08, 21-39 and 05E-60 strains inhibited the growth of *F. oxysporum*. The presence of the *Epl1* genes were identified in 19-31 and 10-15 strains, and *Sm1* in 27-08 and 32-09 strains. **Key words:** *Corynespora cassiicola*, *Fusarium oxysporum*, micelial inhibition, volatile metabolites.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas el manejo para el control de plagas y enfermedades que afectan a los cultivos ha sido mediante el uso excesivo de plaguicidas que tienen un severo impacto negativo sobre la salud humana y el medio ambiente (Adnan *et al.* 2019). Una alternativa efectiva para combatir los patógenos presentes en el suelo y mitigar los efectos adversos que ocasionan los compuestos organosintéticos es el empleo de microorganismos como biocontroladores (Al-askar *et al.* 2021, Ghoniem *et al.* 2021). Al respecto, se sabe que *Trichoderma*, organismo simbionte de plantas de bajo costo, efectivo y amigable con el ambiente (Sood *et al.* 2020) ejerce mecanismos de control por micoparasitismo, competencia, antibiosis, suprime la actividad de organismos patógenos por actividades enzimáticas, mantiene la micro flora del suelo y aumenta el crecimiento y producción de las plantas (Thapa *et al.* 2020). Además de que induce resistencia y tolerancia contra estrés biótico y abiótico (Alfiky y Weiskopff 2021).

Con el tiempo las plantas han desarrollado mecanismos de defensa, la presencia de patógenos es capaz de activar, mediante señales, múltiples respuestas protectoras tanto locales como sistémicas, que logran disminuir la posibilidad de infecciones y reducir el impacto de una plaga (Enebe y Babalola 2019). Se sabe que *Trichoderma* posee la facultad de activar el sistema inmune de las plantas (Aamir *et al.* 2019). La resistencia sistémica inducida (RSI), generalmente señalada como un método o un fenómeno para mejorar el sistema inmunológico inherente de la planta, también la resistencia sistémica adquirida (RSA), importante en la mejora de defensa de las plantas contra patógenos, que se refiere a una vía de transducción de señales (Murali *et al.* 2021). Estos mecanismos de defensa son regulados por diferentes tipos de elicidores, como las proteínas *Sm1* y su homóloga, *Epl1* (Tanaka y Kahmann 2021). Tanto *Sm1* como *Epl1* son proteínas no catalíticas que pertenecen a la familia de las cerato-plataninas, bastante comunes en microorganismos en los que realizan diferentes funciones (Ramírez-Valdespino *et al.* 2019), en organismos

patógenos son indispensables para lograr una patogenicidad, y también necesarias e importantes en la señalización de las moléculas que intervienen en la inducción de resistencia en las plantas (Chen *et al.* 2020). La proteína *Sm1* activa la resistencia sistémica inducida en las primeras etapas de la interacción planta-*Trichoderma* mediante la acumulación del ácido jasmónico (AJ) y etileno (ET) (Guzmán-Guzmán *et al.* 2019), impulsada por la acción de los organismos necrotróficos, otorgándole a la planta mayor capacidad de respuesta frente a infecciones, lo que resulta en una estrategia de defensa efectiva (Salas-Marina *et al.* 2015). Mientras que la proteína *Epl1* producida de forma endógena en la planta y esencial para la señalización de las vías del ácido salicílico (AS), induce la resistencia sistémica adquirida como medida de defensa al ataque de patógenos biotróficos y hemibiotróficos, y se dispersa en toda la planta (Gomes *et al.* 2017). Si bien, las vías de señalización del AS, AJ y ET para inducir la resistencia en las plantas son mutuamente antagonistas, se ha evidenciado que entre algunas especies de *Trichoderma* hay correlación entre estas fitohormonas debido a la sobreposición de genes relacionados a la RSI y RSA detectados en plantas tratadas con *Epl1* y *Sm1* (Cheng *et al.* 2018), lo que sugiere que ambos elicidores funcionan de forma sinérgica en los dos sistemas de defensa inducido por *Trichoderma* (Salas-Marina *et al.* 2015). Con base en lo anterior el objetivo del presente trabajo fue identificar, por medio de biología molecular, cepas de *Trichoderma* spp.; además de evaluar, *in vitro*, la eficacia contra *F. oxysporum* y *C. cassiicola*, así como determinar los genes que codifican los elicidores *Sm1* y *Epl1* relacionados con la resistencia sistémica en las plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos utilizados

En total se utilizaron 13 cepas de *Trichoderma* spp. nueve cepas sin identificar, una identificada molecularmente (*T. asperellum* Ta13-17, GenBank: MH015346.1), y tres cepas reportadas, *T. virens* 27-08, *T. virens* 32-09 (Moo *et al.* 2018)

y *T. virens* 05-02 (Candelero *et al.* 2015), todas de la colección del laboratorio de Fitopatología del TecNM/Campus Conkal. Los fitopatógenos *F. oxysporum* y *C. cassiicola* fueron aislados previamente de *Capsicum chinense*.

Identificación molecular de *Trichoderma* spp

Para la identificación a nivel de especie, se realizaron extracciones de DNA a partir de cultivos monospóricos en medio agar dextrosa y papa (PDA) (BD Bioxon[®], México) de cinco días de crecimiento a 28 °C, se realizó un raspado superficial del micelio de las placas Petri y se utilizó el Kit ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrepTM (Zymo Research Corp, USA). La identificación se realizó mediante las secuencias internas ITS1-5.8S-ITS2 del ARN ribosomal (White *et al.* 1990). Los productos de PCR se enviaron a secuenciar a la empresa Psomagen USA. Las secuencias obtenidas se analizaron en el programa BioEdit Sequence Alignment Editor y los resultados se compararon con la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI), mediante el programa Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).

Antagonismo de *Trichoderma* spp. contra *F. oxysporum* y *C. cassiicola*

Para evaluar el antagonismo de *Trichoderma* spp. contra *F. oxysporum* y *C. cassiicola* se utilizó la técnica de cultivos duales, para lo cual se utilizaron cajas de Petri con medio PDA y se sembraron diametralmente en dirección opuesta un disco de micelio activo de los fitopatógenos y de las cepas de *Trichoderma*. Las cajas se incubaron a 28 °C, y se realizaron mediciones del crecimiento micelial cada 24 h. Para la prueba de metabolitos volátiles se utilizaron dos cajas de Petri de 70 mm con medio PDA, una sobrepuerta encima de otra, de tal manera que en el centro de la caja colocada como base (caja inferior) se sembró un disco de micelio de cada cepa de *Trichoderma*, mientras que en la tapa (caja superior) un disco de micelio de los fitopatógenos, y se incluyó como testigo el patógeno sin el antagonista. Las cajas se sellaron con doble capa de parafilm, se mantuvieron a temperatura constante de 28 °C y se midió el crecimiento del micelio cada 24 h (Dennis y

Webster 1971). La medición se realizó hasta observar que alguna cepa cubriera por completo el área total de la caja y se comparó con el control en ausencia del antagonista. El efecto antagónico de cada cepa se calculó mediante la medición de la inhibición del crecimiento micelial.

Determinación de genes *Sm1* y *Epl1*

El diseño de iniciadores específicos *Sm1* y *Epl1*, se realizó por medio de una búsqueda de las secuencias de cada gen mediante el programa BLAST del NCBI. Se obtuvieron los marcadores de secuencia expresada (EST) de cada gen, a partir de los cuales se diseñaron los iniciadores mediante edición manual y con el programa Primer3 Input (versión 0.4.0) (Untergasser *et al.* 2007). Se diseñaron dos pares iniciadores para cada gen, para *Sm1* se utilizaron dos secuencias del gen que codifica para una proteína pequeña de *T. virens* (DQ121133 y XM_014104331) (iniciador directo 5'-TCTCCTACGACACCGGCTAC-3' y reverso 5'-GAGACCGCAGTTCTAACAG-3'), con un tamaño de 353 bp. Para el gen *Epl1* se utilizaron las secuencias de *T. atroviride* (AJ9018799) y de *T. asperellum* (AJ902344); (iniciador directo 5'-CTTCAAGCTTGCTCTCTCA-3') y reverso (5'-GCCAAGACGTAGATGGTCTT-3') con un tamaño de 267 bp. Las reacciones por PCR se realizaron bajo las siguientes condiciones: desnaturización inicial a 94 °C durante 3 min; 30 ciclos de desnaturización de 94 °C por 1 min, alineamiento a 53 °C por 30 s y extensión durante 45 s a 72 °C; con extensión final de 72 °C durante 5 min, y almacenamiento final a 10 °C. Los productos de PCR se visualizaron por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2% (Sigma, USA) y se tiñeron con SYBRTM Green (Invitrogen, USA). Los productos de PCR se enviaron a secuenciar a la empresa Psomagen USA. Las secuencias obtenidas se analizaron en el programa BioEdit Sequence Alignment Editor y, posteriormente, los consensos se obtuvieron mediante el programa EMBOSS Needle Pairwise Sequence Alignment, y se compararon los resultados con la base de datos del NCBI mediante el programa BLAST.

Análisis estadístico de datos

En la evaluación de *Trichoderma* como antagonista de *F. oxysporum* y *C. cassiicola* cada prueba se realizó por triplicado. Con los datos que arrojaron las variables de respuesta se realizó un análisis de varianza y se utilizó el método Tukey ($p \leq 0.05$) para comparar las medias, con la ayuda del programa InfoStat versión 2020.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base a las características morfológicas y las secuencias internas ITS1-5.8S-ITS2 del ARN ribosomal, la identificación de los aislados corresponde a *T. asperellum*, *T. erinaceum*, *T. ghanense* y seis aislados de *T. harzianum* (Tabla 1). La variedad entre especies de *Trichoderma* ha sido reportada, siendo común aislar *T. harzianum*, la diversidad intra e interespecífica es generada por las diferentes condiciones en donde se ha desarrollado los aislados de *Trichoderma*, llegando a tener diferencias en sus características (Moo *et al.* 2018).

De las 13 cepas de *Trichoderma* evaluadas contra la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *C. cassiicola*, *T. erinaceum* 10-15 fue la que mostró mayor inhibición contra *F. oxysporum*, con un 90.5%, seguido de las cepas *T. asperellum* 19-31 con 84.9%, y *T. harzianum* 05E-60 con 84.5%. Al respecto, Aamir *et al.* (2019) evaluaron la capacidad antagónica in vitro de diversas especies de *Trichoderma* contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y reportaron que *T. erinaceum* registró la mayor capacidad inhibitoria micelial de *F. oxysporum*, seguido de *T. asperellum* y *T. longibranchiatum*, resultados que concuerdan con los de este estudio. Por otro lado, estudios previos indican que *T. asperellum* tiene una capacidad de inhibición micelial de hasta 81% para *F. incarnatum* e inhibición total de *F. oxysporum* al evaluar diferentes concentraciones de ácido cítrico obtenido de esta especie (Al-Askar *et al.* 2021, Intana *et al.* 2021). En tanto que *C. cassiicola*, en la inhibición micelial *T. virens* 32-09 tuvo una capacidad de inhibición de 75.1%, seguido de la cepa *T. virens* 05-02 con 71.6% (Tabla 2); trabajos con especies de *Trichoderma* han demostrado la capacidad de inhibir el

crecimiento de *C. cassiicola*, en particular con *T. asperellum* y *T. harzianum* (Maza *et al.* 2012). Sobre lo mismo, Baiyee *et al.* (2019) reportan que *T. spirale* T76-1 inhibió el crecimiento micelial de *C. cassiicola* y *Curvularia aerea*, en un 84.68 y 93.03%, respectivamente, los cuales son hongos causantes de la mancha foliar en lechuga (*Lactuca sativa*). Esto podría sugerir que las cepas de *Trichoderma* secretan más, o producen metabolitos más fuertes que inhiben el crecimiento micelial de fitopatógenos (Li *et al.* 2019), además de que las especies de *Trichoderma* fueron aislados de diferentes lugares, lo que puede interpretarse como un ejemplo de que las especies pueden desarrollarse mediante una selección forzada por el ambiente o las condiciones ecológicas particulares (Moo *et al.* 2018). *Trichoderma* ha demostrado ser un hongo muy flexible, tiene una alta capacidad reproductiva, es muy eficiente en la toma y utilización de nutrientes, además de ser muy agresivo contra hongos fitopatógenos (Contreras-Cornejo *et al.* 2016, Adnan *et al.* 2019).

En lo que se refiere a metabolitos volátiles, las 13 cepas de *Trichoderma* evaluadas contra *F. oxysporum* y *C. cassiicola* mostraron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los hongos fitopatógenos, en relación al testigo. Sin embargo, *T. harzianum* 05E-60 tuvo mayor inhibición en el crecimiento micelial sobre *C. Cassiicola* con 71.1%, seguido de *T. erinaceum* 10-15 con 58.5% (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 2). Por otro lado, en relación al efecto inhibitorio de crecimiento de *F. oxysporum*, *T. virens* 27-08 tuvo una mayor inhibición micelial con 46.3%, seguido de *T. ghanense* 21-39 con 39.7% y *T. harzianum* 05E-60 con 38%. Se conoce que *Trichoderma* spp. tienen la capacidad de producir metabolitos que generan fungistasis, es decir, inhiben la germinación de esporas de sus competidores, lo que le otorga ventaja al competir por espacio y nutrientes (El-Sharkawy *et al.* 2018). Al respecto, Osorio *et al.* (2016) reportaron resultados similares al evaluar la inhibición de *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani* con un efecto inhibitorio de entre 7.81 y 51.56%. Del mismo modo, Baiyee *et al.* (2019) evaluaron la capacidad inhibitoria de *T. spirale* T76-1 sobre *C. cassiicola* y *Curvularia aerea* y reportaron una inhibición del 41.29

Tabla 1. Identificación molecular de cepas de *Trichoderma* spp.

Aislado	Localidad	Homología con el NCBI-GenBank		
		Especie	Identidad (%)	No. accesión
19-31	Tzucacab ¹	<i>T. asperellum</i>	99.83	MH911417.1
10-15	Buctzotz ²	<i>T. erinaceum</i>	100	MH748164.1
21-39	Peto ¹	<i>T. ghanense</i>	100	MF078652.1
18-31	Halachó ²	<i>T. harzianum</i>	99.67	KF201295.1
05E-60	Dzilam González ²	<i>T. harzianum</i>	99.17	KJ767088.1
20-35	Tzucacab ²	<i>T. harzianum</i>	99.84	KF201295.1
13-01	Conkal ²	<i>T. harzianum</i>	100	MH153633.1
01-01	Tizimín ¹	<i>T. harzianum</i>	100	MH153633.1
29-54	Akil ¹	<i>T. harzianum</i>	100	MH153633.1

Denominación y origen geográfico de aislados nativos de las diferentes cepas de *Trichoderma* del suelo, con¹ y sin² uso agrícola, en municipios del estado de Yucatán, México.

Tabla 2. Inhibición del crecimiento micelial y por metabolitos volátiles de *Trichoderma* spp. contra hongos fitopatógenos.

Especie	Inhibición del crecimiento micelial (%)		Inhibición por volátiles (%)	
	<i>F. oxysporum</i>	<i>C. cassiicola</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>C. cassiicola</i>
<i>T. asperellum</i> 19-31	84.9 ± 1.5 ^{ab}	32.1 ± 18.1 ^{cde}	15.9 ± 7.5 ^{bc}	33.7 ± 3.4 ^{de}
<i>T. erinaceum</i> 10-15	90.5 ± 2.4 ^a	37.8 ± 5.9 ^{bcd}	14.3 ± 4.0 ^{bc}	58.5 ± 6.4 ^{ab}
<i>T. ghanense</i> 21-39	81.1 ± 2.3 ^b	34.2 ± 2.5 ^{cde}	39.7 ± 4.9 ^a	45.0 ± 7.4 ^{bcd}
<i>T. harzianum</i> 18-31	83.3 ± 5.1 ^{ab}	24.7 ± 11.1 ^{cde}	31.5 ± 6.6 ^{ab}	43.8 ± 2.3 ^{bcd}
<i>T. harzianum</i> 05E-60	84.5 ± 4.9 ^{ab}	46.0 ± 5.5 ^{bcd}	38.0 ± 5.9 ^a	71.1 ± 6.2 ^a
<i>T. harzianum</i> 13-01	80.9 ± 1.7 ^{bc}	50.9 ± 2.9 ^{bcd}	27.4 ± 4.6 ^{ab}	56.0 ± 6.4 ^{abc}
<i>T. harzianum</i> 01-01	83.7 ± 0.4 ^{ab}	22.0 ± 12.6 ^e	27.8 ± 2.0 ^{ab}	47.3 ± 9.0 ^{bcd}
<i>T. harzianum</i> 20-35	80.3 ± 4.1 ^{bc}	24.1 ± 7.6 ^{de}	35.6 ± 1.7 ^{ab}	51.0 ± 5.7 ^{bcd}
<i>T. harzianum</i> 29-54	84.1 ± 1.7 ^{ab}	34.9 ± 7.5 ^{cde}	6.1 ± 2.5 ^{cd}	56.2 ± 9.2 ^{abc}
<i>T. asperellum</i> 13-17	80.1 ± 5.9 ^{bc}	52.0 ± 8.0 ^{abc}	4.3 ± 4.0 ^{cd}	51.4 ± 5.8 ^{abcd}
<i>T. virens</i> 27-08	59.6 ± 8.4 ^e	65.5 ± 3.5 ^{ab}	46.3 ± 6.6 ^a	26.3 ± 7.8 ^e
<i>T. virens</i> 32-09	68.4 ± 4.9 ^{ed}	75.1 ± 7.9 ^a	24.1 ± 4.1 ^{ab}	36.3 ± 6.1 ^{cde}
<i>T. virens</i> 05-02	73.7 ± 2.4 ^{cd}	71.6 ± 2.3 ^a	33.2 ± 6.5 ^{ab}	46.2 ± 9.9 ^{bcd}
Testigo	0.0 ± 0.0 ^f	0.0 ± 0.0 ^f	0.0 ± 0.0 ^d	0.0 ± 0.0 ^f

Medias con letra diferente en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$)

y 42.35%, respectivamente, señalando que los compuestos volátiles, junto con la competición y las actividades enzimáticas, son mecanismos involucrados en el biocontrol. Esta capacidad de producir metabolitos secundarios le otorga a *Trichoderma* spp. ventajas selectivas en procesos como competencia, simbiosis, transporte de metales, señalización y actividad microparasítica (Manganiello *et al.* 2018).

Para comprobar la presencia los genes *Epl1* y *Sm1* que codifican proteínas reportadas como promotoras de la RSI en plantas, se realizó el análisis de las secuencias de nucleótidos obtenidos de los fragmentos de PCR, donde las secuencias de *T. asperellum* 19-31 y *T. erinaceum* 10-15 mostraron homología con el gen *Epl1*; mientras que *T. virens* 27-08 y *T. virens* 32-09 con el gen *Sm1* (Tabla 3). Esto revela que los genes *Sm1* y *Epl1* tienen regiones con-

servadas entre las secuencias de un mismo grupo de hongos previamente reportados. Al respecto, se sabe que estos genes del género *Trichoderma* codifican proteínas que realizan diversas funciones en su interacción con las plantas. *Sm1* se ha reportado principalmente en *T. virens*, lo que concuerda con los resultados hallados en este trabajo, cuya función en las plantas es la inducción de genes relacionados con la defensa, la producción de especies reactivas de oxígeno y compuestos fenólicos (Ramírez-Valdespino *et al.* 2019); sin embargo, Freitas *et al.* (2013) evidenciaron la presencia de *Sm1* en *T. atroviride* y *T. harzianum*, pero sin determinar su función. Por otro lado, se ha reportado que *Epl1*, proteína elicitora de la inducción de genes relacionados con la defensa de la planta y de la activación del sistema inmune (Ramírez-Valdespino *et al.* 2019), está presente en

Tabla 3. Identificación de genes involucrados en la Resistencia Sistémica en *Trichoderma* spp.

Especie	Homología en el GenBank			
	Gen	Identidad (%)	e-valor	Acces. GenBank
<i>T. asperellum</i> 19-31	<i>Epl1</i>	100.00	2e-163	JN966997
<i>T. erinaceum</i> 10-15	<i>Epl1</i>	98.62	7e-103	XM_014082295
<i>T. virens</i> 27-08	<i>Sm1</i>	97.70	5e-169	DQ494198
<i>T. virens</i> 32-09	<i>Sm1</i>	99.12	1e-170	DQ121133

un mayor número de especies de *Trichoderma*, en el presente trabajo se detectó en la especie *T. erinaceum* y, en la especie *T. asperellum* resultado similar a lo reportado por Yu *et al.* (2018), además de que estudios previos lo reportan en *T. longibrachiatum* (Vargas *et al.* 2008), *T. atroviridae* (Salas-Marina *et al.* 2015), *T. harzianum* (Gomes *et al.* 2017) y *T. formosa* (Cheng *et al.* 2018). Tanto *Sm1*, como su ortóloga *Epl1* son moléculas señalizadoras esenciales para lograr la aceleración en la resistencia, local y sistémica, de las plantas. De manera general, *Sm1* interviene en la inducción de la RSI que se basa en la señalización del AJ y ET, mientras que *Epl1* participa en la señalización del AS, necesario para la RSA (Gomes *et al.* 2017, Ramírez-Valdespino *et al.* 2019).

Las especies *T. erinaceum* 10-15, *T. asperellum* 19-31 y *T. harzianum* 05E-60 inhibieron

en mayor porcentaje el crecimiento micelial de *F. oxysporum*; mientras que *T. virens* 32-09 y *T. virens* 05-02 tuvieron los mejores porcentajes de inhibición contra *C. cassiicola*. Los metabolitos volátiles de *T. virens* 27-08, *T. ghanense* 21-39 y *T. harzianum* 05E-60 mostraron mayor efecto inhibitorio contra *F. oxysporum*, pero solo *T. harzianum* 05E-60 destacó en la inhibición de crecimiento micelial contra *C. cassiicola*. Cuatro cepas presentaron genes que codifican para proteínas relacionadas con la resistencia sistémica; en *T. asperellum* 19-31 y *T. erinaceum* 10-15 se identificó a *Epl1*, mientras que en *T. virens* 27-08 y *T. virens* 32-09 a *Sm1*. Por lo que estas cepas son una opción para el control de fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* y *Corynespora cassiicola* y con el potencial de activar la respuesta sistémica en las plantas.

LITERATURA CITADA

- Aamir M, Kashyap SP, Zehra A, Dubey MK, Singh VK, Ansari WA, Upadhyay RS, Singh S (2019) *Trichoderma erinaceum* bio-priming modulates the WRKYs defense programming in tomato against the *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) challenged condition. Frontiers in Plant Science 10: 911. DOI: 10.3389/fpls.2019.00911.
- Adnan M, Islam W, Shabir A, Khan KA, Ghamr HA, Huang Zhiqun Chen HY, Lu G (2019) Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. Microbial Pathogenesis 129: 7.18. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.01.042.
- Al-Askar AA, Saber WI, Ghoneem KM, Hafez EE, Ibrahim AA (2021) Crude citric acid of *Trichoderma asperellum*: tomato growth promotor and suppressor of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Plants 10: 222. DOI: 10.3390/plants10020222.
- Alfiky A, Weisskopf L (2021) Deciphering *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for better development of bio-control applications. Journal of Fungi 7: 1-18. DOI: 10.3390/jof7010061.
- Baiyee B, Pornsuriya C, Ito S, Sunpapao A (2019) *Trichoderma spirale* T76-1 displays biocontrol activity against leaf spot on lettuce (*Lactuca sativa* L.) caused by *Corynespora cassiicola* or *Curvularia aeria*. Biological Control 129: 125-200.

- Chen J, Karuppiah V, Dou D (2020) Multiplayer interaction of *Trichoderma* and plant in the induced plant resistance. In: Gupta VK, Zeilinger S, Singh HB, Druzhinina I (eds). New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering: Recent developments in *Trichoderma* research. Elsevier. Amsterdam, Netherlands. pp: 141-155.
- Cheng CH, Shen BN, Shang QW, Liu LYD, Peng KC, Chen YH, Chen FF, Huu SF, Wang YT, Wang HC, Wu HY, Lo CT, Lin SS (2018) Gene-to-gene network analysis of the mediation of plant innate immunity by the eliciting plant response-like 1 (*Epl1*) Elicitor of *Trichoderma formosa*. Molecular Plant-Microbe Interactions 31: 683-691.
- Candelero DJ, Cristóbal AJ, Reyes R A, Gamboa AMM, Ruíz SE, Tun SJM (2015) *Trichoderma* spp. fostering growth on *Capsicum chinense* Jacq. seedlings and antagonistic against *Meloidogyne incognita*. Phyton, International Journal of Experimental Botany 84: 113-119.
- Contreras-Cornejo HA, Macías-Rodríguez L, Del Val E, Larsen J (2016) Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. FEMS Microbiology Ecology 92: 1-17.
- Dennis C, Webster J (1971) Antagonistic properties of species group of *Trichoderma* II production of non-volatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society 57: 41-48.
- El-Sharkawy HH, Rashad YM, Ibrahim SA (2018) Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* spp. Physiological and Molecular Plant Pathology 103: 84-91.
- Enebe MC, Babalola OO (2019) The impact of microbes in the orchestration of plants resistance to biotic stress: a disease management approach. Applied Microbiology and Biotechnology 103: 9-25.
- Freitas RS, Steindorff AS, Ramada MHS, De Siqueira SJL, Noronha EF, Ulhoa CJ (2013) Cloning and characterization of a protein elicitor *Sm1* gene from *Trichoderma harzianum*. Biotechnology Letters 36: 783-788.
- Gomes EV, Ulhoa CJ, Cardoza RE, Silva RN, Gutiérrez S (2017) Involvement of *Trichoderma harzianum* Epl-1 protein in the regulation of botrytis virulence- and tomato defense-related genes. Frontiers in Plant Science 8: 1-11. DOI: 10.3389/fpls.2017.00880.
- Ghoniem AA, Abd E-Hai KM, El-khatib AY, Eldadamony NM, Mahmoud SF, Elsayed A (2021) Enhancing the Potentiality of *Trichoderma harzianum* against Pythium pathogen of beans using chamomile (*Matricaria chamomilla*, L.) Flower Extract. Molecules 26: 1178. DOI: 10.3390/molecules26041178.
- Guzmán-Guzmán P, Porras-Troncoso MD, Olmedo-Bonfil V, Herrera-Estrella A (2019) *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. Phytopatology 52: 1-43. DOI: 10.1094/PHTO-07-18-0218-RVW.
- Intana W, Kheawleng S, Sunpapo A (2021) *Trichoderma asperellum* T76-14 released volatile organic compounds against postharvest fruit rot in muskmelons (*Cucumis melo*) caused by *Fusarium incarnatum*. Journal of Fungi 7: 46. DOI: 10.3390/jof7010046.
- Li N, Islam MT Kang S (2019) Secreted metabolite-mediated interactions between rhizosphere bacteria and *Trichoderma* biocontrol agents. PLoS ONE 14(12): e0227228. DOI: 10.1371/journal.pone.0227228.
- Manganiello G, Sacco A, Ercolano MR, Vinale F, Lanzuise S, Pascale A, Napolitano M, Lombardi N, Lorito M, Woo SL (2018) Modulation of tomato responses to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and its secondary metabolite harzianic acid. Frontiers in Microbiology 9: 1966. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01966.
- Maza M, Starzonelli EA, Yasem MG (2012) Evaluación *in vitro* de aislamientos nativos de *Trichoderma* como agentes de biocontrol y promoción del crecimiento inicial en soja. Revista Agronómica del Noroeste Argentino 32: 55-62.

- Moo F, Cristóbal J, Reyes A, Tun J, Gamboa M, Islas-Flores I (2018) Incompatibilidad interespecífica de especies de *Trichoderma* contra *Meloidogyne incognita* en *Solanum lycopersicum*. *Scentia Fungorum* 47: 37-45.
- Murali M, Naziya B, Ansari MA, Alomary MN, AlYahya S, Almatroudi A, Thriveni MC, Gowtham HG, Singh SB, Aiyaz M, Kalegowda N, Lakshmidhi N, Amruthesh KN (2021) Bioprospecting of rhizosphere-resident fungi: Their role and importance in sustainable agriculture. *Journal of Fungi* 7: 314. DOI: 10.3390/jof7040314.
- Osorio E, Hernández F, Rodríguez R, Varela S, Estrada B, López J (2016) Actividad antagonista de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Investigación y Ciencia* 67: 5-11.
- Ramírez-Valdespino CA, Casas-Flores S, Olmedo-Monfil V (2019) *Trichoderma* as a model to study effector-like molecules. *Frontiers in Microbiology* 10: 1-14. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01030.
- Salas-Marina MA, Isordia-Jasso MI, Islas-Osuna MA, Delgado-Sánchez P, Jiménez-Bremont JF, Rodríguez-Kessler M, Rosales-Saavedra MT, Herrera-Estrella A, Casas-Flores S (2015) The *Epl1* and *Sm1* proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different life style pathogens in *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science* 6: 1-13. DOI: 10.3389/fpls.2015.00077.
- Sood M, Kapoor D, Kumar V, Sheteiw MS, Ramakrishnan M, Landi M, Araniti F, Sharma A (2020) *Trichoderma*: The “Secrets” of a multitalented biocontrol agent. *Plants* 9: 762. DOI: 10.3390/plants9060762.
- Tanaka S, Kahmann R (2021) Cell wall-associated effectors of plant-colonizing fungi. *Mycologia* 113: 247-260.
- Thapa S, Rai N, Limbu AK, Joshi A (2020) Impact of *Trichoderma* sp. in agriculture: A review. *Journal of Biology and Today's World* 9: 227. DOI: 10.35248/2322-3308.20.09.225.
- Untergasser A, Nijveen H, Rao X, Bisseling T, Geurts R, Leunissen JA (2007) Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Research* 35: 71-77.
- Vargas WA, Djonovic S, Sukno SA, Kenerley CM (2008) Dimerization controls the activity of fungal elicitors that trigger systemic resistance in plants. *Journal of Biological Chemistry* 283: 19804-19815.
- White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press. San Diego. pp: 315-321.
- Yu W, Mijiti G, Huang Y, Fan H, Wang Y, Liu Z (2018) Functional analysis of eliciting plant response protein *Epl1-Tas* from *Trichoderma asperellum* ACCC30536. *Scientific Reports* 8: 1-13. DOI: 10.1038/s41598-018-26328-1.