

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**BIOMASSA E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* Mill
N.E.Br ex Britton & P. Wilson CULTIVADAS COM DIFERENTES
ISOLADOS DE *Trichoderma* spp.**

Sinara Miranda Lima

**CRUZ DAS ALMAS – BA
DEZEMBRO– 2024**

**BIOMASSA E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba*
Mill N.E.Br ex Britton & P. Wilson CULTIVADAS COM
DIFERENTES ISOLADOS DE *Trichoderma* spp.**

Sinara Miranda Lima
Bióloga, UFRB, 2022

Dissertação apresentada ao
Colegiado do Programa de Pós-
Graduação em Ciências Agrárias da
Universidade Federal do Recôncavo
da Bahia, como requisito parcial para
a obtenção do Título de Mestre em
Ciências Agrárias (Área de
Concentração: Agricultura Tropical).

Orientador: Prof^a. Dr^a. Franceli da Silva
Coorientador: Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares

**CRUZ DAS ALMAS-BA
DEZEMBRO— 2024**

FICHA CATALOGRÁFICA

L732b

Lima, Sinara Miranda.

Biomassa e teor de óleo essencial de *Lippia alba* Mill
N. E. Br ex Britton & P. Wilson cultivadas com diferentes
isolados de *Trichoderma* spp / Sinara Miranda Lima._ Cruz
das Almas, BA, 2024.
58f.; il.

(Dissertação) – Universidade Federal do Recôncavo da
Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas,
Mestrado em Ciências Agrárias.

Orientadora: Prof. Dra. Franceli da Silva.

Coorientadora: Prof. Dra. Ana Cristina Fermino
Soares.

1.Plantas medicinais – Cultivo. 2.Plantas oleaginosas –
Essências e óleos essenciais. 3.Fungos fitopatogênicos –
Manejo – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da
Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.
II.Título.

CDD: 581.634

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.
Responsável pela Elaboração Antonio Marcos Sarmiento das Chagas
(Bibliotecário - CRB5 / 1615).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO

**BIOMASSA E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* Mill
N.E.Br ex Britton & P. Wilson CULTIVADAS COM DIFERENTES
ISOLADOS DE *Trichoderma* spp.**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de

Sinara Miranda Lima

Aprovada em 17 de Dezembro de 2024

Documento assinado digitalmente
 FRANCIELI DA SILVA
Data: 11/03/2025 19:51:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Francieli da Silva
(UFRB)
Orientadora

Documento assinado digitalmente
 CINTIA ARMOND
Data: 11/03/2025 06:40:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Cintia Armond
(UFRB)
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente
 VIVIANE MODESTO ARRUDA
Data: 10/03/2025 22:39:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Viviane Modesto Arruda
(UEMG)
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

*Á meus pais, Francisco e Simone,
que são meu alicerce,
a quem devo tudo, e a irmã,
Gabriela, por ser “casa”.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me dado forças e nunca ter me desamparado ao longo de todo este caminho e por ter me proporcionado chegar até aqui.

Aos meus pais, Francisco e Simone, e a minha irmã, Gabriela, por serem o meu alicerce, por todo o apoio e amor incondicional, vocês são o meu exemplo de vida, sem vocês eu não teria chegado tão longe, essa conquista é nossa.

Aos meus queridos Gabriel, Vivian, Maria Eduarda, Eliseu, Bianca, Thaise e Iara por todos os momentos de descontração, por estarem sempre comigo, nos momentos bons e ruins, amo cada um de vocês.

A Luiz, por toda ajuda no campo, na coleta das plantas, no laboratório, pelas risadas, pelos perrengues e por sua amizade, serei grata.

A meu amigo Marcelino, que apesar da distância, sempre comigo, pelas conversas, conselhos e por sua amizade, levarei para a vida.

A Gilvanda por todo suporte e disponibilidade para me ajudar, sempre solicita, serei eternamente grata.

As técnicas Lene e Veronica do laboratório de Microbiologia por todo auxílio, atendendo aos meus pedidos.

Ao GEPLAM e todos aqueles que fizeram parte desse grupo, pela acolhida, por todo o aprendizado e todo conhecimento compartilhado, minha eterna gratidão.

A UFRB e a CAPES, pelo suporte e apoio financeiro.

A minha orientadora, Franceli da Silva, por todos os conhecimentos compartilhados, todo auxílio, conversas, conselhos e puxões de orelha, sempre buscando o melhor de mim. É o exemplo de profissional no qual irei me espelhar, gratidão por todo o carinho e cuidado.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho, minha mais sincera gratidão.

**BIOMASSA E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* Mill N.E.BR ex
Britton & P. Wilson CULTIVADAS COM DIFERENTES ISOLADOS DE
Trichoderma spp.**

RESUMO GERAL

A *Lippia alba* (Verbenaceae) é uma espécie com importância econômica devido a produção de compostos bioativos, como o óleo essencial, que conferem as mesmas propriedades antimicrobianas. Vários fatores podem influenciar na produção de óleo essencial, como o uso de microrganismos promotores de crescimento, que interfere na interação planta-microrganismo e pode desencadear a ativação de mecanismos de defesa da planta, aumentando a produção de bioativos. Portanto, a pesquisa tem por objetivo avaliar a influência do *Trichoderma* na produção de biomassa, teor de óleo essencial e qualidade de mudas de *L. alba*, cultivadas em casa de vegetação. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e em campo, na Fazenda Experimental, situadas na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia no campus de Cruz das Almas. As mudas foram produzidas em sacos de polietileno contendo mistura de solo e húmus, sendo realizadas aplicações da suspensão de diferentes isolados *Trichoderma* (TCS 87, F12 e *Trichoderma* de bromélia) nos intervalos de 0, 5, 10, 20 e 30 dias. Em campo foram testados os isolados TCS 87, F12, *Trichoderma* da bromélia e Mix dos isolados, nos tempos 0, 15, 30 e 45 dias. O delineamento utilizado em ambos foi em blocos casualizados, em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo as parcelas principais constituídas pelas plantas inoculadas com e sem os isolados de *Trichoderma* e nas subparcelas, os tempos de colheita com três repetições. Foram avaliados os parâmetros fitotécnicos das plantas e índice de qualidade de Dickson para a qualidade das mudas. Na análises dos dados utilizou-se o programa estatístico R. A Análise de Componentes Principais (ACP) reduziu a dimensionalidade de 13 variáveis analisadas para 2 componentes principais. O PC1 conseguiu separar as mudas dos grupos G1, G3 e G4, enquanto o PC2 agrupou as mudas do G2. Portanto, foi possível concluir que o uso dos isolados de *Trichoderma* na produção de mudas de *Lippia alba*, promove um aumento numérico da biomassa e do sistema radicular, principalmente entre 20 e 30 dias após a inoculação. Todos os isolados de *Trichoderma* tiveram resposta positiva em relação a produção de mudas. Em campo, os tratamentos proporcionaram incremento numérico de biomassa e teor de óleo essencial, no tempo de 30 e 45 dias.

Palavras-chave: bioelicitador, cadeia produtiva, erva cidreira, bioativos

**BIOMASS AND ESSENTIAL OIL CONTENT OF *Lippia alba* Mill N.E.Br ex
Britton & P. Wilson CULTIVATED WITH DIFFERENT ISOLATES OF
Trichoderma spp.**

GENERAL ABSTRACT

Lippia alba (Verbenaceae) is an economically important species due to the production of bioactive compounds, such as essential oil, which confer the same antimicrobial properties. Several factors can influence the production of essential oil, such as the use of growth-promoting microorganisms, which interfere in the plant-microorganism interaction and can trigger the activation of plant defense mechanisms, increasing the production of bioactives. Therefore, the research aims to evaluate the influence of *Trichoderma* on the production of biomass, essential oil content and quality of *L. alba* seedlings, grown in a greenhouse. The experiment was conducted in a greenhouse and in the field, at the Experimental Farm, located at the Federal University of Recôncavo da Bahia on the Cruz das Almas campus. The seedlings were produced in polyethylene bags containing a mixture of soil and humus, and a suspension of different *Trichoderma* isolates (TCS 87, F12 and *Trichoderma* from bromeliad) was applied at intervals of 0, 5, 10, 20 and 30 days. In the field, the isolates TCS 87, F12, *Trichoderma* from bromeliad and Mix of isolates were tested at times of 0, 15, 30 and 45 days. The design used in both was randomized blocks, in a split-plot scheme in time, with the main plots consisting of plants inoculated with and without *Trichoderma* isolates and the subplots, the harvest times with three replicates. The phytotechnical parameters of the plants and the Dickson quality index for the quality of the seedlings were evaluated. The statistical program R was used to analyze the data. Principal Component Analysis (PCA) reduced the dimensionality of 13 variables analyzed to two principal components. PC1 was able to separate the seedlings from groups G1, G3 and G4, while PC2 grouped the seedlings from G2. Therefore, it was possible to conclude that the use of *Trichoderma* isolates in the production of *Lippia alba* seedlings promotes a numerical increase in biomass and root system, mainly between 20 and 30 days after inoculation. All *Trichoderma* isolates had a positive response in relation to seedling production. In the field, the treatments provided a numerical increase in biomass and essential oil content, at 30 and 45 days.

Key words: bioelicitor, production chain, lemon balm, bioactives

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: Produção de mudas de *Lippia alba* cultivadas com diferentes isolados de *Trichoderma spp.*

Tabela 1. Correlação das variáveis analisadas com o primeiro (PC1) e segundo componentes principais (PC2)35

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. *Lippia alba* Mill N.E. Brown 13

Figura 2. Isolado de *Trichoderma* sp cultivado em meio de cultura BDA17

CAPÍTULO 1: Produção de mudas de *Lippia alba* cultivadas com diferentes isolados de *Trichoderma spp.*

Figura 01- Altura, diâmetro do caule, comprimento de raiz, número de folhas de mudas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma spp.* em diferentes tempos de avaliação.....31

Figura 02- Volume de raiz de mudas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma spp.* em diferentes tempos de avaliação.....32

Figura 03- Massa seca e fresca das folhas e raízes de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma spp.* em diferentes tempos de avaliação.....32

Figura 4. Mudas de *Lippia alba* inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma* em diferentes tempos de avaliação. *Legenda: : Controle (CT), TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), *Trichoderma* isolado de bromélia (TB), *Trichoderma* endofítico isolado de folhas de sisal (F12) e os tempos de avaliação (0, 5, 10, 20 e 30).34

Figura 5. Gráfico de análise de componentes principais (ACP) do crescimento de mudas de *Lippia alba* inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma spp.* Legenda: Controle (CT0, CT5, CT10, CT20, CT30); TCS 87 (TCS870, TCS875, TCS8710, TCS8720, TCS8730); *Trichoderma* da Bromélia (TB0, TB5, TB10, TB20, TB30); *Trichoderma* endofítico do sisal (F120, F125, F1210, F1220, F1230).....35

Figura 6. Dendograma do crescimento de mudas de *Lippia alba* inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma* em diferentes tempos utilizando o método de Ward e distância euclidiana.....37

CAPÍTULO 2: Avaliação do efeito de diferentes isolados de *Trichoderma spp.* na produção de biomassa e óleo essencial de plantas de *Lippia alba* cultivadas em campo.

Figura 1- Altura de plantas de <i>Lippia alba</i> com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	49
Figura 2- Número de folhas e inflorescências de plantas de <i>Lippia alba</i> com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	49
Figura 3- Número de folhas de <i>Lippia alba</i> inoculadas com tratamento MIX em diferentes tempos de avaliação.....	50
Figura 4- Incidência de Ferrugem em folhas de <i>Lippia alba</i> cultivadas com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	50
Figura 5- Comprimento de raízes de plantas de <i>Lippia alba</i> com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	51
Figura 6- Massa fresca e seca de plantas de <i>Lippia alba</i> com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	51
Figura 7- Plantas de <i>Lippia alba</i> inoculadas com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> em diferentes tempos de avaliação. *Legenda: : Controle (CT), TCS 87 (<i>Trichoderma asperellum</i>), <i>Trichoderma</i> isolado de bromélia (TB), <i>Trichoderma</i> endofítico isolado de folhas de sisal (F12) e o MIX de isolados (MIX) e os tempos de avaliação (0, 15, 30 e 45).....	52
Figura 8- Teor de óleo essencial de plantas de <i>Lippia alba</i> com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	53
Figura 9- Óleo essencial de <i>Lippia alba</i> inoculadas com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> em diferentes tempos de avaliação. *Legenda: : Controle (CT), TCS 87 (<i>Trichoderma asperellum</i>), <i>Trichoderma</i> isolado de bromélia (TB), <i>Trichoderma</i> endofítico isolado de folhas de sisal (F12) e o MIX de isolados (MIX) e os tempos de avaliação (0, 15, 30 e 45).....	54

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 <i>Lippia alba</i> : Caracterização e Importância Econômica	14
2.2 Óleos essenciais	15
2.3 Interação planta x microrganismo benéfico	17
2.4 <i>Trichoderma</i>	18
2.5 <i>Trichoderma</i> como promotor de crescimento	18
2.6 Influência do <i>Trichoderma</i> na produção de metabólitos secundários	19
3. REFERÊNCIAS	21
CAPÍTULO 1 – Produção de mudas de <i>Lippia alba</i> cultivadas com diferentes isolados de <i>Trichoderma spp.</i>	25
1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 Obtenção do material vegetal e Propagação das mudas	28
2.2 Obtenção e preparo do inóculo	28
2.3 Delineamento experimental	29
2.4 Variáveis analisadas	29
2.5 Análise estatística	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4. CONCLUSÕES	39
5. REFERÊNCIAS	40
CAPÍTULO 2 – Avaliação do efeito de diferentes isolados de <i>Trichoderma spp.</i> na produção de biomassa e óleo essencial de plantas de <i>Lippia alba</i> cultivadas em campo	43
1. INTRODUÇÃO	45
2. MATERIAL E MÉTODOS	46
2.1 Obtenção do material vegetal e Propagação das mudas	46
2.2 Obtenção e preparo do inóculo	46
2.3 Delineamento experimental	47
2.4 Avaliação dos dados fitotécnicos	47
2.5 Determinação da umidade e Extração de óleo essencial	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4. CONCLUSÕES	54
5. REFERÊNCIAS	55
ANEXOS	57

1. INTRODUÇÃO GERAL

A *Lippia alba* é uma espécie medicinal que se destaca como uma das plantas mais utilizadas na medicina popular, devido a presença de óleos essenciais (OE) produzidos e acumulados nos tricomas glandulares de suas folhas e rico em moléculas bioativas (Silva-Santos *et al.*, 2023). Diversos estudos encontrados na literatura relatam a atividade biológica dessas moléculas, despertando o interesse de diversos setores, desde a medicina tradicional até as indústrias farmacológicas e agroquímicas (Carvalho *et al.*, 2018; De Castro *et al.*, 2020). Com a crescente demanda por esses compostos bioativos, no caso da *L. alba*, os óleos essenciais, têm se intensificado a busca por metodologias mais sustentáveis e eficientes para desenvolver a cadeia produtiva desta planta, buscando o aumento da biossíntese desse metabólito secundário (Georgiev *et al.*, 2009).

O uso de microrganismos benéficos é uma tecnologia de inovação bastante promissora a ser utilizada para estimular a síntese e acúmulo de biotivos em espécies medicinais. Isso porque possuem a capacidade de modular o desenvolvimento de mudas, resultado da evolução das plantas em simbiose com esses seres, que possuem a capacidade de colonizar os tecidos vegetais produzindo moléculas sinalizadoras, como o óxido nítrico e reguladores de crescimento como o etileno, participando, de maneira benéfica do processo de desenvolvimento das plantas (Branco, *et al.*, 2019).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são considerados microrganismos benéficos, com algumas espécies endofíticas, sendo um dos principais grupos estudados para aplicações no controle biológico e para aumento do crescimento vegetal. O *Trichoderma* possui a capacidade de influenciar de forma benéfica na germinação de sementes, desenvolvimento e rendimento das culturas e na produção de mudas, devido a produção de substâncias que atuam na promoção de crescimento, promovendo melhorias na nutrição das plantas, pela solubilização de fosfato e síntese de ácido indolacético, tornando-se de grande importância para agricultura, pois atuam no controle biológico, indutor de resistência de plantas (Chagas *et al.*, 2017) e atuam também na síntese e acúmulo de metabólitos secundários.

Os metabólitos secundários são compostos bioativos oriundos do metabolismo secundário dos vegetais, sendo altamente específicos, desempenhando importante papel na evolução dos vegetais, adaptação da espécie a ambientes adversos e nas interações ecológicas no ecossistema em que a planta está inserida.

Abrigam uma infinidade de moléculas ativas, como por exemplo, os terpenos, classe dos óleos essenciais, o qual possui diversas aplicações (Borges; Amorim, 2020).

Desse modo, sabendo dos benefícios proporcionados pela interação das plantas com os microrganismos benéficos, como é o caso dos fungos do gênero *Trichoderma*, objetivou-se avaliar a ação dos isolados de *Trichoderma* na produção de mudas e selecionar o mais eficiente para tal, assim como testar a eficiência dos isolados de *Trichoderma* spp. na produção de biomassa e teor de óleo essencial de *Lippia alba* cultivadas em campo em diferentes tempos de colheita e determinar o tempo de colheita onde há uma maior produção desse metabólito.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Lippia alba*: Caracterização e Importância Econômica

Pertencente à ordem das Lamiales, a família Verbenaceae engloba uma variedade de plantas com aproximadamente 1.200 espécies distribuídas em cerca de 35 gêneros. São predominantemente encontradas em regiões tropicais e subtropicais, com uma presença limitada em áreas temperadas. Geralmente, apresentam-se como arbustos ou árvores, ocasionalmente como trepadeiras ou ervas (Xu e Chang, 2017). Esta família apresenta uma grande importância, pois inclui gêneros com diversas espécies com potencial medicinal, entre eles *Stachytarpheta* e *Lantana*, destacando-se o gênero *Lippia*, considerado o maior deles, com 140 espécies nativas das Américas e da África, sendo o Brasil considerado centro de diversidade, abrangendo 87 espécies e 5 variedades, distribuídas em diversos domínios fitogeográficos, como Cerrado, Floresta Atlântica, Caatinga (Malik *et al.*, 2021; Cardoso *et al.*, 2021; Salimena e Cardoso, 2020). Dentre as espécies pertencentes a este gênero, uma das mais estudadas é a *Lippia alba* (Figura 1).

Figura 1. *Lippia alba* Mill N.E.BR ex Britton & P.Wilson



A *L. alba* é uma planta aromática, amplamente utilizada na medicina tradicional e na etnofarmacologia devido as suas propriedades digestivas, sedativas, anti-inflamatórias e analgésicas (Mendonza *et al.*, 2022). Suas aplicações na medicina popular são na forma de extratos, infusões e óleos essenciais, possuindo um amplo espectro de ação, apresentando potencial para ser utilizado na indústria alimentícia, para conservação de alimentos, em infecções gastrointestinais (Souza *et al.*, 2017; Rivera *et al.*, 2016) e na agricultura. O potencial que a *L. alba* apresenta associa-se às suas características agrônômicas, como a rusticidade, a rapidez em que coloniza

devido a sua forma de propagação (estaquia), o alto vigor, alogamia, capacidade de florescer vegetar o ano inteiro e por fim, devido a sua plasticidade fenotípica (Tavares;Momenté;Nascimento, 2011).

Esta é uma espécie altamente valiosa devido ao teor de óleos essenciais produzidos pela mesma, podendo ser utilizada como fonte de bioativos no desenvolvimento de produtos a serem aplicados em diversos segmentos da indústria, na formulação de cosméticos e perfumaria, como também na agricultura, devido ao potencial antimicrobiano atribuído a seus óleos essenciais (Silva Júnior *et al.*, 2024). Os OE's produzidos pela *L.alba*, são compostos voláteis oriundos do seu metabolismo secundário, sendo constituídos por uma mistura de hidrocarbonetos saturados e insaturados, álcoois, aldeídos, ésteres, éteres, cetonas, fenóis e terpenos (Ali *et al.*, 2015). Os componentes principais do OE da *L.alba* são os terpenos, os quais apresentam alto potencial para aplicação em diversos segmentos da indústria e devido a isso a demanda no mercado tem aumentado, e juntamente a ela, a necessidade de pesquisas e práticas mais sustentáveis e economicamente viáveis para aumentar a produção desses metabólitos secundários (Nogueira Sobrinho *et al.*, 2021; Hassini *et al.*, 2019).

Sabe-se que fatores genéticos diversos e outros fatores bióticos e abióticos podem levar a variações significativas na composição química dos óleos essenciais, pois eles podem causar alterações nas rotas metabólicas, levando a síntese de diferentes compostos (Soares *et al.*, 2019). Esses fatores podem ser relacionados ao clima, como temperatura, radiação solar e até mesmo o horário de colheita da planta e, somado a isso surgem as interações interespecíficas da planta com os insetos, plantas vizinhas e os microrganismos (Sá Filho *et al.*, 2022).

A influência de microrganismos benéficos sobre o desenvolvimento das plantas é bastante ampla, e pode tornar-se uma alternativa para aumentar as chances de sucesso na produção de *L.alba*.

2.2 Óleos essenciais

Sabe-se que as plantas possuem dois metabolismos, o primário e o secundário. O metabolismo primário é responsável pela produção de metabólitos essenciais ao desenvolvimento e sobrevivência da planta, já o secundário está relacionado a síntese de princípios ativos que desempenham funções ecológicas, permitindo a adaptação e sobrevivência da planta em ambientes adversos (Rockenbach, 2018). Dentre as classes de princípios ativos que são produto do metabolismo secundário, temos os terpenos, os quais englobam um grande número de compostos e uma diversidade de moléculas, muitas das vezes insolúveis em água

e de baixa densidade, como os óleos essenciais (OEs), composto bioativo que possui grande importância econômica (Garcia, Carril, 2009).

Os OEs são compostos bioativos oriundos do metabolismo secundário das plantas aromáticas e medicinais, e correspondem a uma pequena fração da composição total da planta (menos de 5%) da matéria seca do vegetal (Falleh *et al.*, 2019; Valderrama & Ruiz, 2018). São fitoquímicos encontrados naturalmente, obtidos de aproximadamente 60 famílias de plantas, compostos por 20 a 60 componentes bioativos diferentes em diferentes concentrações apresentando atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiparasitária, inseticida, antioxidante e anti-séptica (Sahu *et al.*, 2024).

São definidos como uma mistura complexa de componentes químicos bioativos, como terpenos, terpenóides e fenólicos, de baixo peso molecular, sendo altamente voláteis, líquidos e incolores em temperatura ambiente, pouco solúveis em água e altamente solúveis em solventes orgânicos possuem um odor bastante característico, sendo eles os responsáveis pelos aromas específicos das plantas aromáticas (Falleh *et al.*, 2020).

Os OEs desempenham um importante papel para as interações ecológicas entre as plantas, servindo como sinalizadores químicos na comunicação intra e interespécies, atração de polinizadores, repelência de ataques de herbívoros, defesa contra patógenos, sendo de grande valia na sobrevivência e adaptação das plantas em ambientes diversos (Carvalho, 2023). O óleo essencial de *L.alba* caracteriza-se com diferentes quimiotipos, que estão relacionados com os seus componentes majoritários, como o linalol, citral e a carvona (Tavares *et al.*, 2005). Os óleos essenciais possuem alto potencial biológico, e por este motivo, possuem grande importância econômica e são utilizados nos mais variados segmentos industriais e mais recentemente têm sido utilizados na agricultura.

Há relatos na literatura demonstrando o potencial fungicida do óleo essencial de *L.alba* no controle de fungos fitopatogenos, que causam diversos prejuízos às grandes culturas de importância econômica como o *Fusarium* spp., *Penicillium* spp, *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e potencial nematicida contra *Meloidogyne incognita* (Fontana *et al*, 2020), demonstrando ser uma alternativa promissora para ser incorporada na agricultura, no desenvolvimento de produtos para controle de doenças em plantas, diminuindo o uso de insumos químicos visando uma agricultura mais ecológica e sustentável.

2.3 Interação Planta X Microrganismo benéfico

O microbioma do solo tem um importante papel na fertilidade do solo, tendo uma participação ativa na ciclagem de nutrientes, permitindo ao microbioma, desempenhar outras funções, como melhorias na absorção de nutrientes e controle de fitopatógenos. Portanto, a interação planta-microbioma é essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, pois interage com diversos outros fatores abióticos, como o tipo de solo, e fatores bióticos como espécies de plantas, os quais impactam diretamente essa relação por meio dos exsudatos radiculares (Vélez-Martínez, *et al.*, 2023).

Os microrganismos podem interagir com as plantas de diversas formas e o resultado dessa interação pode fornecer diversos benefícios para a planta hospedeira, como por exemplo, favorecendo o seu desenvolvimento, ou se caso esse microrganismo venha a parasitar a planta, pode ocasionar o efeito inverso, diminuindo o crescimento da planta até leva-lá a morte. Desse modo, surge a importância de estudos dos grupos microbianos que realizam algum tipo de interação com as plantas, com a finalidade de compreender esses mecanismos, impulsionando aqueles que auxiliam no crescimento e desenvolvimento dos vegetais, bem como no controle de doenças causadas por fitopatógenos (Queiroz e Oliveira, 2023).

Dentro do grupo dos fungos presentes no microbioma das plantas, tem-se os fungos do gênero *Trichoderma*, que são amplamente conhecidos por sua alta competitividade no meio ambiente, levando a alterações da comunidade microbiana do solo e da planta. A sua colonização é bem-sucedida em diversos ambientes e esse microrganismo é utilizado para o controle de fitopatógenos, devido a seus mecanismos de ação, a exemplo da competição por nutrientes, produção de enzimas que tem a capacidade de hidrolisar a parede celular do hospedeiro e produção de metabólitos secundários (Pascholati *et al.*, 2019).

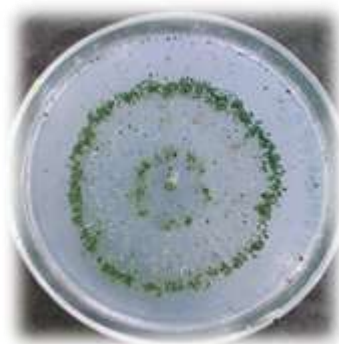
Além desses mecanismos de ação, os fungos do gênero *Trichoderma* atuam diretamente na raiz, favorecendo o desenvolvimento radicular das plantas hospedeiras, uma vez que ocorre a produção ou controle de hormônios vegetais capazes de melhorar o desenvolvimento radicular, a exemplo das auxinas (Zin e Badaluddin, 2020). Dessa forma, os fungos do gênero *Trichoderma*, têm sido amplamente utilizados para aplicação no controle biológico na produção agrícola, uma vez que esses fungos são capazes de suprimir o crescimento dos fitopatógenos e regular a taxa de crescimento das plantas.

2.4 *Trichoderma*

Os fungos do gênero *Trichoderma* (Figura 2) são organismos pertencentes ao filo Ascomycota, caracterizados como microrganismos de vida livre encontrados no solo, compondo a rizosfera de diversos ecossistemas terrestre, sendo encontrados tipicamente em solos ricos em matéria orgânica, assim como em solos arenosos, alcalinos e até mesmo em solos áridos (Contreras-Cornejo *et al.*, 2024).

São fungos filamentosos, caracterizados por possuírem suas hifas septadas, apresentando um rápido crescimento, o que permite a colonização do substrato em que se encontra. Possui uma alta produção de conídios, as estruturas reprodutivas assexuadas, os quais são dispersados pelo ar, pela água e outros agentes, contribuindo para a disseminação desse fungo (Gary, 2006).

Figura 2. *Trichoderma* sp. cultivado em placa de Petri



Possuem diversos mecanismos de ação que, indiretamente resultam na promoção do crescimento vegetal. Esses microrganismos competem com outros, incluindo os fungos fitopatogênicos, produzindo metabólitos com ação antifúngica e enzimas que degradam a celulose (Harman *et al.*, 2020) sendo bastante utilizados no biocontrole de doenças de plantas. Tem também a capacidade de colonizar a rizosfera das plantas, estabelecendo uma relação simbiótica com as raízes, promovendo o crescimento vegetal (Zin; Badaluddin, 2020).

Tem sido bastante utilizado na agricultura, com o objetivo de reduzir o uso de insumos químicos, aumentar a produtividade das culturas e melhorar a sustentabilidade e a autorregulação dos agroecossistemas (Harman *et al.*, 2020; Zin; Badaluddin, 2020).

2.5 *Trichoderma* como promotor de crescimento

Os fungos do gênero *Trichoderma* tem sido bastante estudado e utilizado na agricultura pois estimulam o crescimento das plantas através de mecanismos diretos e indiretos, dentre os quais estão a produção de metabólitos que influenciam na

fisiologia da planta; alterações na sua bioquímica; solubilização de nutrientes e proteção contra microrganismos e herbivoria (Macías-Rodríguez *et al.*, 2020).

Esses mecanismos relacionam-se ao fato do *Trichoderma* atuar na solubilização e absorção de nutrientes, aumentando a superfície de absorção das raízes da planta; causar a diminuição dos níveis de etileno nas plantas, o que resulta em seu crescimento; aumentar a eficiência do uso do nitrogênio; melhorar a atividade fotossintética e amenizar os efeitos causados pelo estresse ambiental (Meyer, Mazzaro; Silva, 2019; Moreira *et al.*, 2022).

O processo de indução de crescimento pelo *Trichoderma* tem início apartir da colonização das raízes da planta, processo que resulta em respostas físicas ou bioquímicas, dando início a uma cascata de sinalização química, na qual as plantas produzem metabólitos secundários, como resposta de defesa a colonização do fungo nas células corticais das raízes (Prudêncio *et al.*, 2020). Para driblar as barreiras de defesa imposta pelas plantas, o *Trichoderma* pode produzir estratégias que consistem na produção de hormônios para estabelecer uma relação mutualística, a longo prazo, sem que surjam obstáculos que venham dificultar o estabelecimento das raízes e o processo de simbiose (Kashyap *et al.*, 2017).

A colonização da rizosfera pelo *Trichoderma* resulta em respostas de defesa local e sistêmica nas plantas. Os receptores de reconhecimento padrão presentes na membrana celular da planta reconhecem os efetores celulares que são secretados pelo *Trichoderma*. Quando o microrganismo é reconhecido, a planta responde reprogramando os genes envolvidos no sistema de defesa e desenvolvimento, ativando sistemas antioxidantes e sinalização via fitohormônios que resultam na defesa do estresse abiótico, aumentando as respostas de defesa contra insetos, fungos fitopatógenos, bactérias, assim como na síntese e liberação de compostos voláteis de plantas que tem a capacidade de atração de predadores de insetos praga, maior resistência e adaptação das plantas a estresses abióticos e promove o crescimento dos vegetais (Woo *et al.*, 2023).

2.6 Influência do *Trichoderma* na produção de metabólitos secundários

A síntese de compostos ativos está relacionada aos mecanismos de defesa das plantas contra diferentes tipos de fatores de estresse bióticos e abióticos, que, quando detectado pela planta, desencadeia uma cascata de reações, resultando na indução do metabolismo secundário dos vegetais (Silva-Santos *et al.*, 2023).

O metabolismo secundário dos vegetais é um processo químico, no qual as substâncias ativas são sintetizadas e decompostas nas plantas, desempenhando funções específicas em condições específicas. Os microrganismos estão amplamente

relacionados com a regulação do metabolismo primário, o qual é essencial para o crescimento e metabolismo secundário das plantas, onde atuam na proteção das plantas contra condições de estresse, melhorando a absorção dos nutrientes pelas raízes, promovendo o crescimento e o acúmulo de metabólitos, aumento a resiliência das plantas (Lv et al., 2024). Alguns microrganismos, além de produzirem seus próprios metabólitos secundários, podem também se associar as plantas para acelerar a biossíntese de compostos bioativos das mesmas (Singh, et al., 2022).

Diversos estudos foram realizados relacionados ao uso de *Trichoderma*, em espécies de frutíferas, ornamentais e florestais, podendo ser utilizado também para promoção de crescimento de espécies medicinais e aromáticas, como em *Mentha arvensis*, a inoculação com *Trichoderma* aumentou a produção de biomassa, assim como o rendimento de óleo essencial produzido por esta espécie (Singh et al., 2019). Em plantas de coentro, Sirin et al. (2022) constatou que houve um aumento de aproximadamente 60% na produção de óleo essencial e frutos quando submetidas ao tratamento com *Trichoderma asperellum* B35.

3. REFERÊNCIAS

- ALI, B.; AL-WABER, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, A.S.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review Asiático. **Pac. J. Trop. Biomed.** 2015.
- BORGES, P. L.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v.11, p.54-67, 2020.
- CARDOSO, P. H.; O'LEARY, N.; OLMSTEAD, R.G.; MORONI, P.; THODE, V. A.; An update of the Verbenaceae genera and species numbers. **Plant Ecology and Evolution**, v. 154, n. 1, p. 80-86, 2021.
- CARVALHO, P. M. M.; MACÊDO, C. A. F.; RIBEIRO, T. F.; SILVA, A. A.; DA SILVA, R. E. R.; MORAIS, L. P.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A.; BARBOSA, R. Effect of the *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its main constituents, citral and limonene, on the tracheal smooth muscle of rats **Biotechnol. Rep.**, v.17, p. 31-34, 2018.
- CARVALHO, Z. S. DE. Potencial fitoquímico dos óleos essenciais: exploração e aplicações. **Boletim Científico Agrônomo do CCAAB/UFRB**, v. 1, 2023.
- CHAGAS, L.F.B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 97-102, 2017.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A. ; SCHMOLL, M.; ESQUIVEL-AYALA, B. A.; GONZÁLEZ-ESQUIVEL, C. E.; ROCHA-RAMÍREZ, V.; LARSEN, J. Mechanisms for plant growth promotion activated by *Trichoderma* in natural and managed terrestrial ecosystems. **Microbiological Research**, v. 281, 2024.
- DE CASTRO, K. M.; BATISTA, D. S.; SILVA, T. D.; FORTINI, E. A.; SOUSA FELIPE, S. H.; FERNANDES, A. M.; SOUSA, M.J.; NASCIMENTO, L. S. Q.; CAMPOS, V. R., GRAZUL, R. M.; VICCINI, L. F.; OTONI, W. C. Water deficit modulates growth, morphology, and the essential oil profile in *Lippia alba* L. (Verbenaceae) grown *in vitro*. **Plant Cell Tissue Organ Cult.**, v. 141, p. 55-65, 2020.
- FALLEH, H.; JEMA, M.B.; KAIS, D.; ABID, S.; MARIEM, S.; RIADH, K. Application of mixture design for optimal antimicrobial activity: Combined treatment of essential oils of *Syzygium romanticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Myrtus communis* and *Lavandula stoechas* against *Escherichia coli*. **Journal of Processing e Preservation**, 2019.
- FALLEH, H.; JEMMA, M. B.; SAADA, M.; KSOURI, R. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. **Food Chemistry**, v. 330, 2020.
- FONTANA, D. C.; SCHIMDT, D.; KULCZYNSKI, S. M.; CARON, B.O.; PRETTO, M. M.; MARIOTTO, A. B., SANTOS, J.; HOLZ, E. Fungicidal potential of essential oils in control of *Fusarium* spp. and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Arquivos Do Instituto Biológico**, v.87, 2020.
- GARCÍA, A. A.; CARRIL, E. P. Metabolismo Secundário de Plantas. Reduca (Biología). **Serie Fisiologia Vegetal**, V.2, P.119 -145, 2009.

GIORGIEV, M. I.; WEBER, J.; MACIUK, A. Bioprocessing of plant cell cultures for mass production of targeted compounds. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 83, p. 809-823, 2009.

HARMAN, G.; KHADKA, R.; DONI, F.; UPHOFF, N. Benefits to plant health and productivity from enhancing plant microbial symbionts. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 61-65, 2021.

HASSINI I.; RIOS, J. J.; GARCIA-IBÁÑEZ, P.; BAENAS, N.; CARVAJAL, M.; MORENO, D. A. Comparative effect of elicitors on the physiology and secondary metabolites in broccoli plants. **Plant Physiol**, v.239, p. 1–9, 2019.

KASHYAP, P. L.; RAI, P.; SRIVASTAVA, A. K.; KUMAR, S. *Trichoderma* para uma agricultura resiliente ao clima. **Mundo J. Microbiol. Biotecnologia**, v.33, p. 155, 2017.

LV, J.; YANG, S.; ZHOU, W.; LIU, Z.; TAN, J.; WEI, M. Microbial regulation of plant secondary metabolites: Impact, mechanisms and prospects. **Microbiological Research**, v.283, 2024.

MACÍAS-RODRIGUEZ, L.; CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; ADAME-GARNICA, S. G.; DEL-VAL, E.; LARSEN, J. The interactions of *Trichoderma* at multiple trophic levels: inter-kingdom communication. **Microbiol. Res.**, v. 240, 2020.

MENDONZA, J. D.S.; CORREIA, L. C.; SAAD, J. C.C.; SIQUEIRA, W. J.; MING, L.C.; CAMPOS, F. G.; BOARO, C. S. F.; MARQUES, M. O. M. Effect of irrigation depth on biomass production and metabolic profile of *Lippia alba* (linalool chemotype) essential oil. **Agricultural Water Management**, v. 262, 2022.

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. *Trichoderma*: Uso na agricultura. **EMBRAPA**. 538 p. Brasília, 2019.

MOREIRA, G. C.; CARNEIRO, C.N.; ANJOS, G. L.; DE SOUZA, C.B.C.; DE ABREU, C.B.; DO PRADO, N. B.; SILVA, F.; DIAS, F.S. *Trichoderma* no controle biológico e promoção de crescimento vegetal. **Ciências agrárias [livro eletrônico]**, v. 1, 14 p. Rio de Janeiro, 2022.

NOGUEIRA SOBRINHO, A.C.; MORAIS, S. M.; MARINHO, M. M.; SOUZA, N. V.; LIMA, D. M. Antiviral activity on the Zika virus and larvicidal activity on the Aedes spp. of *Lippia alba* essential oil and β -caryophyllene. **Ind Crops Prod**, v.162, p.113-281, 2021.

PASCHOLATI, S. F.; SOUZA, V.; FILHO, J. C. Indução de resistência por *Trichoderma*. **Trichoderma: Uso na Agricultura**; Embrapa Soja: Brasília, Brazil, v. 1, p. 235-254, 2019.

PRUDÊNCIO, O. G. R.; DAUTT-CASTRO, M.; ESTRADA-RIVERA, M.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, M.C.; JIJÓN-MORENO, S.; CASAS-FLORES, S. *Trichoderma* na rizosfera. Em Desenvolvidos Novos e Futuros em Biotecnologia Microbiana e Bioengenharia. **Elsevier**, v. 1, 2020.

QUEIROZ, A. T. S., OLIVEIRA, B. C. Ação de microrganismos promotores do crescimento de plantas: uma revisão sistemática da literatura. **Revista psipro**, v. 2, p. 98–112, 2023.

RIVERA, A. T.; ORTEGA-QUADROS, M.; GALVIS-PAREJA, D.; MERINI, L. J.; MARTÍNEZ-PABÓN, M.C. Efeito dos óleos essenciais de *Lippia alba* e *Cymbopogon citratus* sobre biofilmes de *Streptococcus mutans* e citotoxicidade em células CHO. **J. Etnofarmacol.**, v. 194 , p. 749 - 754 ,2016.

ROCKENBACH, A.P.; RIZZARDI, A. M.; NUNES, A. L.; BIANCHI, M. A.; CAVERZAN, A.; SCHNEIDER, T. Interferência entre plantas daninhas e a cultura: alterações no metabolismo secundário. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, p. 59- 70, 2018.

SÁ FILHO, J.C.F.; NIZIO, D. A. C.; OLIVEIRA, A. M. S.; ALVES, M. F.; OLIVEIRA, R. C.; QUEIROZ-LUZ, J. M.; NOGUEIRA, P. C. L.; ARRIGONI-BLACK, M. F.; BLANK, A. F. Geographic location and seasonality affect the chemical composition of essential oils of *Lippia alba* accessions. **Industrial Crops and Products**, v.188, 2022.

SAHU, A.; PARAI, D.; CHOUDHARY, H.; SINGH, D. Essential Oils as Alternative Antimicrobials: Current Status. **Recent Advances in Anti-Infective Drug Discovery**, v.1, p. 56-72, 2024.

SALIMENA, F. R. G., CARDOSO, P. H. *Lippia* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15170>. Acesso em: 22 de abr. 2024.

SILVA JÚNIOR, A.Q. Molecular modelling and anticholinesterase activity of the essential oil from three chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson (Verbenaceae). **Heliyon**, v.10, 2024.

SILVA-SANTOS, L.; NETO, L. P.; CORTE-REAL, N.; SPERANDIO, M. V. P.; CAMARA, C.A.G.; MORAES, M.M.; ULISSES, C. Yeast extract and chitosan elicitation improves essential oil, regulates plant growth and antioxidative system in *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown (Verbenaceae). **South African Journal of Botany**, v.163, p. 756-769, 2023.

SINGH, S.; TRIPATHI, A.; MAJI, D.; AWASTHI, A.; VAJPAEE, P.; KALRA, A. Evaluating the potential of combined inoculation of *Trichoderma harzianum* and *Brevibacterium halotolerans* for increased growth and oil yield in *Mentha arvensis* under greenhouse and field conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 131, p. 173-181, 2019.

SINGH, D.; THAPA, S.; MAHAWAR, H.; KUMAR, D.; GEAT, N.; SINGH, S. K. Prospecting potential of endophytes for modulation of biosynthesis of therapeutic bioactive secondary metabolites and plant growth promotion of medicinal and aromatic plants. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.115 , p. 699–730, 2022.

SINGH, S.; TRIPATHI, A.; MAJI, D.; AWASTHI, A.; VAJPAYEE, P.; KALRA, A. Evaluating the potential of combined inoculation of *Trichoderma harzianum* and *Brevibacterium halotolerans* for increased growth and oil yield in *Mentha arvensis* under greenhouse and field conditions. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v.10, p.166- 173, 2022.

SOUZA, R.C.; COSTA, M.M.; BALDISSEROTTO, B.; HEINZMANN, B. M.; SCHMIDT, D.; CARON, B.O.; COPATTI, C.E. Antimicrobial and synergistic activity of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Lippia alba* against *Aeromonas* spp. **Micróbio. Patog.** v.113, 2017.

SOARES, C.H.N.; JÚNIOR, P.C.D.; CAMPOS, I. M., AMORIM, G. T. S.; FERREIRA, M.G.; CHAVES, D. S. A.; SOUZA, M. A.A. Selection of genotypes (citral chemotype) of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown regarding seasonal stability of the essential oils chemical profile. **Ind. Crop. Prod.**, v.139, p. 1-8, 2019.

TAVARES, E.S.; JULIÃO, L. S.; LOPES, D.; BIZZO, H.R.; LAGE, C. L.S.; LEITÃO, S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, 2005.

TAVARES, I. B.; MOMENTÉ, V. G. ; DO NASCIMENTO, I. R. *Lippia alba*: estudos químicos, etnofarmacológicos e agrônômicos. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, 2011.

VALDERRAMA, F., RUIZ, F. Uma abordagem de controle ideal para destilação a vapor de óleos essenciais de plantas aromáticas. **Computadores e Engenharia Química**, v.117, 2018.

VÉLEZ-MARTÍNEZ, G.A.; DUQUE-ZAPATA, J. D.; REYES-ARDILA, W. L.; FLÓREZ, J. E. M.; GALLO, S. A. D.; ARIZA, L. A. D.; LÓPEZ-ÁLVAREZ, D. Comparative Analysis of Bacteria, Fungi, and Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Medicinal Plants *Lippia alba* and *Petiveria alliacea* in Colombia. **Diversity**, v.15, 2023.

WOO, S.L.; LINDA, R.; LORITO, M.; MONTE, E. *Trichoderma* : a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. **Nat Rev Microbiol**, v. 21 ,p. 312–326, 2023.

XU, Z., CHANG, L. Verbenáceas. In: Identificação e Controle de Ervas Daninhas Comuns. **Springer**, v.3, 2017.

ZIN, A. N.; BADALUDDIN, A.N. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications, **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, 2 ed, p.168-178, 2020.

CAPÍTULO 1

Produção de mudas de *Lippia alba* cultivadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.

RESUMO: A *Lippia alba* é uma espécie de interesse econômico devido a presença de compostos ativos que têm uma vasta aplicação em diferentes segmentos na indústria, e, mais recentemente, esses metabólitos tem sido utilizados na agricultura, por possuírem potencial contra fitopatógenos, na elaboração de produtos naturais visando a agricultura autoregulável. Portanto, faz-se necessário produzir mudas com maior vigor e qualidade, utilizando tecnologias de inovação como o uso de microrganismos benéficos promotores de crescimento, como os fungos do gênero *Trichoderma*, o qual possui a capacidade de colonizar as raízes da planta, proporcionando melhorias na absorção dos nutrientes, deixando-os disponíveis para a planta. Portanto, o objetivo foi avaliar a ação de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. na produção de mudas de *L. alba* cultivadas em casa de vegetação. As mudas foram produzidas em sacos de polietileno contendo mistura de solo e húmus, sendo realizadas aplicações da suspensão de diferentes isolados *Trichoderma* (TCS 87, F12 e *Trichoderma* de bromélia) nos intervalos de 0, 5, 10, 20 e 30 dias. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo as parcelas principais constituídas pelas plantas inoculadas com e sem os isolados de *Trichoderma* e nas subparcelas, os tempos de colheita com três repetições. Foram avaliados os parâmetros fitotécnicos das plantas e índice de qualidade de Dickson. As análises dos dados obtidos foram realizadas no programa estatístico R. A Análise de Componentes Principais (ACP) reduziu a dimensionalidade de 13 variáveis analisadas para 2 componentes principais, além de agrupar as amostras de acordo com os tratamentos recebidos. O PC1 conseguiu separar as mudas dos grupos G1, G3 e G4, enquanto o PC2 agrupou as mudas do G2. O PC1 apresenta uma forte correlação positiva com as variáveis altura, diâmetro do caule, comprimento e volume de raiz, número de folhas e internódios, massa seca e fresca das folhas e massa seca e fresca da raiz. Essas variáveis apresentaram maiores valores nas mudas do G1, representadas pelas mudas avaliadas aos 20 dias sem inoculação (CT) e as avaliadas aos 30 dias inoculadas com TCS87, TB e F12, seguidas pelas mudas do G3, avaliadas 20 dias após inoculação com TB e TCS87. O PC2 está correlacionado negativamente com o tamanho dos internódios e positivamente com a massa seca total e o índice de qualidade de Dickson. Os maiores valores de massa seca total e índice de qualidade de Dickson e os menores tamanhos de internódios foram obtidos nas mudas do G2, representadas pelas mudas avaliadas 5 dias após inoculação com TCS87 e pelas mudas avaliadas no mesmo dia que foram inoculadas com TB. Portanto, foi possível concluir que o uso dos isolados de *Trichoderma* na produção de mudas de *Lippia alba*, promove um aumento numérico da biomassa e do sistema radicular, principalmente entre 20 e 30 dias após a inoculação. Esse fator biológico de interação pode se traduzir em aumento de produtividade no campo, pois as mudas estão aptas a ir a campo com 30 dias. Todos os isolados de *Trichoderma* tiveram resposta positiva em relação a produção de mudas.

Palavras chave: microrganismos, endófito, raízes, biomassa

CAPÍTULO 1

Production of *Lippia alba* seedlings cultivated with different isolates of *Trichoderma* spp.

ABSTRACT: *Lippia alba* is a species that has been extensively studied due to the presence of active compounds that it produces, which makes it economically attractive to the market, since these compounds have a wide range of applications in different segments of the industry, and, more recently, these metabolites have been used in agriculture, as they have potential against phytopathogens. Therefore, it is necessary to produce seedlings with greater vigor and quality, and a viable alternative is the use of beneficial growth-promoting microorganisms, such as fungi of the genus *Trichoderma*, which have the ability to colonize the roots of the plant, providing improvements in the absorption of nutrients, making them available to the plant. Therefore, this study aimed to evaluate the action of different isolates of *Trichoderma* spp. in the production of *L. alba* seedlings grown in a greenhouse. The seedlings were produced in polyethylene bags containing a mixture of soil and humus, and applications of the suspension of different *Trichoderma* isolates (TCS 87, F12 and *Trichoderma* from bromeliad) were carried out at intervals of 0, 5, 10, 20 and 30 days. The design used was randomized blocks, in a split-plot scheme in time, with the main plots consisting of plants inoculated with and without *Trichoderma* isolates and the subplots, the harvest times with three replicates. The phytotechnical parameters of the plants and the Dickson quality index were evaluated. The analyses of the data obtained were performed in the statistical program R. Principal Component Analysis (PCA) reduced the dimensionality of 13 analyzed variables to 2 principal components, in addition to grouping the samples according to the treatments received. PC1 was able to separate the seedlings of groups G1, G3 and G4, while PC2 grouped the seedlings of G2. PC1 presents a strong positive correlation with the variables height, stem diameter, root length and volume, number of leaves and internodes, dry and fresh mass of leaves and dry and fresh mass of roots. These variables showed higher values in G1 seedlings, represented by seedlings evaluated 20 days without inoculation (CT) and those evaluated 30 days after inoculation with TCS87, TB and F12, followed by G3 seedlings, evaluated 20 days after inoculation with TB and TCS87. PC2 is negatively correlated with internode size and positively correlated with total dry mass and Dickson quality index. The highest values of total dry mass and Dickson quality index and the smallest internode sizes were obtained in G2 seedlings, represented by seedlings evaluated 5 days after inoculation with TCS87 and by seedlings evaluated on the same day they were inoculated with TB. Therefore, it was possible to conclude that the use of *Trichoderma* isolates in the production of *Lippia alba* seedlings promotes a numerical increase in biomass and root system, mainly between 20 and 30 days after inoculation. This biological factor of interaction can translate into increased productivity in the field, as the seedlings are ready to go to the field after 30 days. All *Trichoderma* isolates had a positive response in relation to seedling production.

Key words: microorganisms, endophyte, roots, biomass

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda pelas plantas medicinais, seja para consumo ou obtenção dos bioativos, tem se buscado formas de otimizar a produção de mudas, utilizando microrganismos promotores de crescimento, como por exemplo, os fungos do gênero *Trichoderma*. Os benefícios desse microrganismo para a planta é dependente de processos que envolvem sinalização química, onde as raízes liberam uma série de compostos, que atuam na rizosfera, favorecendo o estabelecimento da interação desse fungo com as raízes da planta (Guzmán-Guzmán, *et al.*, 2019).

Sabe-se que a *Lippia alba* é uma espécie de grande importância por seu potencial bioativo, devido a produção dos óleos essenciais, o que a torna economicamente atrativa para diversos segmentos da indústria (Vian, *et al.*, 2019) e mais recentemente para a agricultura. No entanto, ainda são escassos os estudos encontrados na literatura, com relação a produção de mudas dessa espécie utilizando microrganismos promotores de crescimento.

Os fungos do gênero *Trichoderma* são conhecidos por desempenharem esse papel. São fungos filamentosos de vida livre, encontrados no solo, associados as raízes das plantas, se destacam devido a sua alta capacidade reprodutiva, sobrevivência em ambientes adversos e eficiência na utilização dos nutrientes, devido a sua capacidade de modificar a rizosfera (Azevedo *et al.*, 2017). O *Trichoderma* tem se destacado na agricultura devido ao seu potencial para o biocontrole, sendo aplicados no solo contra ataques de patógenos e também para aumentar o crescimento e a produtividade dessas plantas (Joo; Hussein, 2022).

Trabalhos realizados por Chagas Júnior e colaboradores (2014, 2021, 2022) demonstraram o efeito benéfico do *Trichoderma* no crescimento da cultura da soja e do feijão. Há relatos também do uso desse microrganismo em espécies frutíferas, como o maracujá (Santos *et al.*, 2010) e também sua aplicação em espécies medicinais e aromáticas, como a *Mentha arvensis*, onde o uso do *Trichoderma* promoveu o aumento da produção de biomassa e de metabólitos secundários produzidos pela espécie estudada (Singh *et al.*, 2019).

Desse modo a associação do *Trichoderma* com a *L. alba*, pode ser tecnologia de inovação para se obter sucesso na produção de mudas para esta espécie, e diante disso, este trabalho tem por objetivo avaliar a ação de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. na produção de mudas de *L. alba* cultivadas em casa de vegetação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em casa de vegetação situada na Fazenda Experimental de Produção Vegetal nas dependências do CCAAB, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, na cidade de Cruz das Almas, Bahia. O experimento foi conduzido no período de Março a Maio de 2024.

2.1 Obtenção do material vegetal e Propagação das mudas

As mudas de *Lippia alba* foram produzidas a partir de plantas matrizes presentes na área experimental localizadas na Fazenda Experimental de Produção Vegetal, CCAAB, UFRB.

O método de propagação utilizado foi por estaquia, utilizando ramos herbáceos e semilenhosos da planta matriz, contendo aproximadamente 20 centímetros de comprimento e um par de folhas reduzidas pela metade. As estacas foram colocadas para enraizar em sacos de polietileno com a capacidade para 1 L, contendo como substrato, uma mistura de solo e húmus de minhoca, utilizando a proporção de 2:1. Após o período de 15 dias após o plantio, foi iniciada a aplicação dos tratamentos.

2.2 Obtenção e preparo do inóculo

Os isolados de *Trichoderma* foram obtidos da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB.

Os fungos foram replicados em placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e armazenados em B.O.D com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas durante 7 dias. Após o crescimento total do microrganismo foi adicionada a placa de Petri, 20 mL de água destilada autoclavada e duas gotas de Tween 20® onde, com o auxílio de uma alça de Drigalsky estéril foi realizada a raspagem dos propágulos fúngicos e posteriormente foi retirada uma alíquota dessa suspensão para contagem dos esporos, utilizando a câmara de Neubauer (Leandro *et al.*, 2007). Após a contagem, foi realizado o ajuste da concentração para 10^7 esporos/mL, onde foram inoculados 10 mL da suspensão dos esporos nos intervalos de 0, 5, 10, 20 e 30 dias no solo, próximo às raízes das plantas. Serão utilizados quatro isolados de *Trichoderma*, sendo eles: TCS 87, isolado de solo de cultivo de bananeira; TB, *Trichoderma* isolado de Bromélia; F12, isolado endofítico oriundo de folhas de sisal e o Controle.

2.3 Delineamento Experimental

O delineamento foi em blocos casualizados, em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo as parcelas principais constituídas pelas plantas cultivadas com e sem isolados de *Trichoderma* e nas subparcelas, os tempos de colheita com três repetições.

2.4 Variáveis Analisadas

Foram avaliados os seguintes dados fitotécnicos, onde foram coletadas 12 plantas nos intervalos de 0, 5, 10, 20 e 30 dias após a aplicação da suspensão dos isolados de *Trichoderma*.

- Altura, em centímetros com o auxílio de uma trena, sendo utilizada como padrão a medida do maior ramo.
- Número de folhas, considerando apenas as folhas fotossinteticamente ativas;
- Número e tamanho dos internódios, em centímetros, com o auxílio de um paquímetro digital.

Para o tamanho dos internódios foi utilizado como padrão o ramo o qual foi medido a variável altura, sendo realizada a contagem e a medição dos internódios e foi feita uma média, somando-se os valores obtidos e dividindo pelo número de entrenos que foi contado, obtendo-se o tamanho dos internódios.

- Diâmetro do caule, em centímetros com um auxílio de um paquímetro digital
- Volume de raiz, em centímetros cúbicos com o auxílio de uma proveta

A determinação do volume das raízes foi realizada a cada coleta, onde as raízes foram lavadas e secas e, posteriormente submersas em uma proveta contendo 20 mL de água destilada. O volume foi determinado pela diferença entre os volumes inicial e final do recipiente, obtendo-se a resposta do volume de raiz, por equivalência de unidades (BASSO, 1999).

- Comprimento de raiz, em centímetros com o auxílio de uma fita métrica
- Massa fresca e seca da parte aérea e da raiz com o auxílio de uma balança semi-analítica (g)

A massa fresca da parte aérea e das raízes das plantas foram determinadas com o auxílio de uma balança semianalítica (g). As raízes foram submetidas a secagem em estufa de ventilação fechada a 65°C até obtenção da massa constante e as folhas foram secas a temperatura de 45°C e posteriormente foi determinada a massa seca.

- Índice de Qualidade de Dickson (IQD)

O índice de Qualidade de Dickson foi calculado pela fórmula abaixo,

$$IQD = \frac{MST(g)}{\frac{H(cm)}{DC(mm)} + \frac{MSPA(g)}{MSR(g)}}$$

Onde:

MST= Massa seca total, em gramas H=

Altura, em centímetros

MSPA= Massa seca da parte aérea, em gramas DC=

Diâmetro do caule, em milímetros

MSR= Massa seca da raiz, em gramas

2.5 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise multivariada utilizando a técnica de componentes principais (ACP) e análise hierárquica de cluster (HCA) para agrupamento das amostras de acordo com os tratamentos testados, com auxílio do programa R Development Core Team (2023).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 em anexo, encontram-se os resultados com as médias das variáveis analisadas. Com relação a variável altura (Figura1) nota-se que os maiores valores foram obtidos aos 20 e aos 30 dias, pelos isolados TCS 87, TB e F12, apresentando o incremento de 24,98%, 51,93% e 42,38% respectivamente. O número de folhas (Figura 1) e o número de internódios e o tamanho entre nós são medidas correlacionadas e também foram observadas as maiores médias aos 20 e aos 30 dias após a inoculação pelos isolados TCS 87, TB e F12.

Figura 01- Altura, diâmetro do caule, comprimento de raiz, número de folhas de mudas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. em diferentes tempos de avaliação



O diâmetro do caule também apresentou as maiores médias aos 20 e aos 30 dias após a inoculação dos isolados testados, TCS87, TB e F12, proporcionando o incremento de 20,83%, 26% e 24,5% respectivamente.

A medida do diâmetro do caule é uma variável bastante importante e não deve ser desprezada, pois está relacionada com a capacidade de sobrevivência da muda após o seu plantio em campo, uma vez que o aumento dessa variável se relaciona com a capacidade da absorção dos nutrientes por parte das raízes e sua translocação para a parte aérea da muda (Steffen *et al.*, 2019).

As variáveis volume (Figura 2) e comprimento de raiz também apresentaram os maiores valores nas mudas inoculadas com os tratamentos nos tempos de 20 e 30 dias após a inoculação proporcionando o incremento para volume de raiz de 77,26% (TCS87), 72,31% (TB) e 75,74% (F12) e para comprimento de raiz, os isolados TB e F12 proporcionaram o incremento de 15% e 12,21% respectivamente.

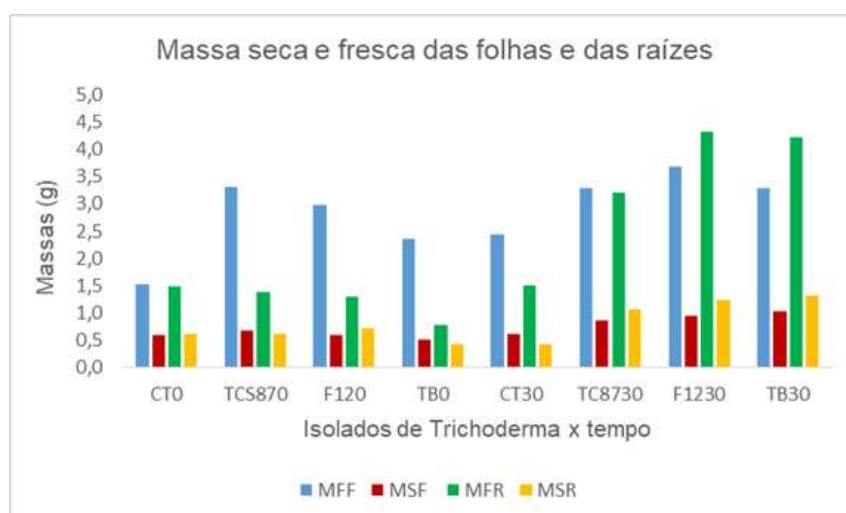
O comprimento e o volume da raiz são variáveis importantes, uma vez que o *Trichoderma* é um microrganismo que atua diretamente no sistema radicular, portanto, um aumento no volume das raízes significa uma maior superfície de absorção e o maior comprimento de raiz proporciona a planta explorar maiores profundidades do solo em busca de nutrientes. O *Trichoderma* tem a capacidade de solubilizar os micronutrientes do solo moderadamente solúveis e insolúveis, que tem efeito no acúmulo de biomassa; aumenta a capacidade fotossintética de fixação de carbono; atua no controle dos níveis de fitohormônios e modifica as condições ambientais da planta, modificando o pH do solo, aumentando a disponibilidade de nutrientes para as plantas, promovendo um ambiente favorável para o desenvolvimento das plantas (Oyesola, *et al.*, 2024).

Figura 02- Volume de raiz de mudas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. em diferentes tempos de avaliação



Com relação a massa seca e a massa fresca de raízes as plantas inoculadas com os isolados testados apresentaram as maiores médias nos tempos de 30 e 20 dias. O incremento proporcionado aos 30 dias pelos isolados testados foi de 57,2% (TCS87), 81,47%(TB) e 70% (F12) para massa fresca de raízes e para massa seca das raízes incremento foi de 42,6%(TCS87), 68,7% (TB) e de 42% (F12), aos 30 dias após inoculação. Isso se deve a capacidade de absorção de água e nutrientes por parte das raízes, indicando que plantas inoculadas com *Trichoderma*, tem uma vantagem no desenvolvimento e absorção de nutrientes, que se converte em maior produtividade, em comparação as plantas que não possuem associação com esse microrganismo (Sá *et al.*, 2024).

Figura 03- Massa seca e fresca das folhas e raízes de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. em diferentes tempos de avaliação



A massa fresca e seca das folhas (Figura 3) também apresentam as maiores médias aos 20 aos 30 dias após a inoculação havendo o incremento de 28,57% (TB), 19,02%

(F12) e 1,20% (TCS87) de massa fresca em relação ao tempo zero e de massa seca houve um incremento de 20%(TCS87), 50,48% (TB) e 38,29% (F12) em relação ao tempo zero. Os incrementos observados na massa seca podem estar relacionados com a produção de metabólitos que atuam na promoção de crescimento, ou como indutores da produção dos mesmos pela planta a qual o *Trichoderma* está colonizando. Substâncias como as auxinas (IAA) são de grande importância na emergência de raízes laterais e raízes adventícias, além de acelerar o desenvolvimento das mesmas, provocando expansão e diferenciação nos tecidos da planta (SÁ et al., 2024).

Sabe-se que os fungos do gênero *Trichoderma* possuem diferentes mecanismos para proporcionar o incremento no crescimento das plantas. Algumas espécies têm a capacidade de aumentar a área de superfície do sistema radicular, proporcionando a planta o acesso a uma infinidade de nutrientes, já outras tem a capacidade de solubilizar os nutrientes menos disponíveis, deixando-os livres para que a planta possa absorver, como o ferro, por exemplo (Chagas Junior et al., 2022).

A variável massa seca total foi calculada para ser utilizada na fórmula do índice de qualidade de Dickson. A mesma apresentou as maiores médias nas plantas inoculadas aos 20 dias. O índice de qualidade de Dickson apresentou as maiores médias nas plantas inoculadas com os isolados testados nos 20 e nos 30 dias. Apesar de não expressar diferenças significativas das plantas do controle, a inoculação com os isolados de *Trichoderma* proporcionaram incrementos nas variáveis analisadas.

O *Trichoderma* necessita de um período para estabelecer as relações com o sistema radicular da planta, pois, é um processo que envolve diversas etapas. A primeira delas é o reconhecimento, seguido de aderência e penetração nas raízes da planta, em seguida, o microrganismo coloniza as raízes da planta, produzindo e liberando substâncias que favorecem a solubilização de nutrientes e os disponibilizando para as raízes (Mayer et al. 2019). Estudos realizados por Jesus (2020) e Lima (2022) associando o uso do *Trichoderma* na produção de mudas de *L. alba*, demonstraram que são necessárias pelo menos duas aplicações do isolado a cada 15 dias para que os efeitos proporcionados pela inoculação do microrganismo comecem a ser observados, logo, os benefícios dessa interação são efetivos após os 30 dias da inoculação, como os resultados observados no presente estudo.

Na figura 4 é possível observar os efeitos da inoculação dos diferentes isolados de *Trichoderma* na produção de mudas de *Lippia alba* nos diferentes tempos de avaliação (0, 5, 10, 20 e 30 dias após a inoculação).

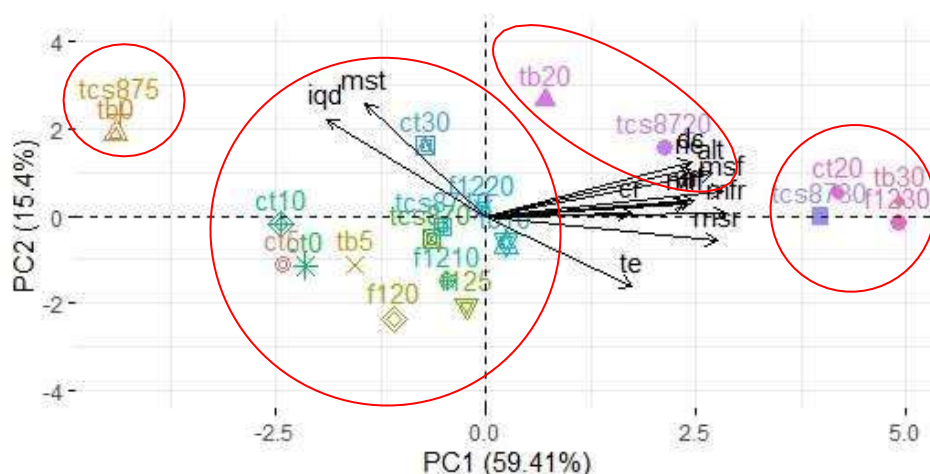
Figura 4: Mudas de *Lippia alba* inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma* em diferentes tempos de avaliação. *Legenda: : Controle (CT), TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), *Trichoderma* isolado de bromélia (TB), *Trichoderma* endofítico isolado de folhas de sisal (F12) e os tempos de avaliação (0, 5, 10, 20 e 30).



Os dados de altura, diâmetro do caule, comprimento e volume da raiz, número de folhas e internódios, tamanho dos internódios, massa seca e fresca das folhas, massa seca e fresca da raiz, massa seca total e índice de qualidade de Dickson foram utilizados como matriz de resposta.

A Análise de Componentes Principais (ACP) reduziu a dimensionalidade de 13 variáveis para 2 componentes principais, além de agrupar as amostras de acordo com os tratamentos recebidos (inoculação com diferentes isolados de *Trichoderma* em diferentes tempos). A ACP mostrou que o primeiro componente principal (PC1) e o segundo componente principal (PC2) explicaram 74,81% da variabilidade dos dados, sendo 59,41% explicados pelo PC1 e 15,4% pelo PC2 (Figura 1). A ACP distinguiu as mudas de *Lippia alba* em 4 grupos conforme o tratamento: grupo 1 (G1) com as mudas dos tratamentos TCS8730, CT20, TB30 e F1230; grupo 2 (G2) com as mudas tratadas com TCS875 e TB0; grupo 3 (G3) com as mudas dos tratamentos TB20 e TCS8720; e grupo 4 (G4) com as mudas dos tratamentos CT0, CT5, CT10, CT30, TB10, TB5, TCS870, TCS8710, F120, F125, F1210 e F1220. Este resultado demonstra que o crescimento das mudas de *Lippia alba* está relacionado à inoculação com diferentes *Trichodermas* em diferentes tempos de avaliação.

Figura 5. Gráfico de análise de componentes principais (ACP) do crescimento de mudas de *Lippia alba* inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Legenda: Controle (CT0, CT5, CT10, CT20, CT30); TCS 87 (TCS870, TCS875, TCS8710, TCS8720, TCS8730); *Trichoderma* da Bromélia (TB0, TB5, TB10, TB20, TB30); *Trichoderma* endofítico do sisal (F120, F125, F1210, F1220, F1230).



O PC1 conseguiu separar as mudas dos grupos G1, G3 e G4, enquanto o PC2 agrupou as mudas do G2. De acordo com a Tabela 2, o PC1 apresenta uma forte

correlação positiva com as variáveis altura, diâmetro do caule, comprimento e volume de raiz, número de folhas e internódios, massa seca e fresca das folhas e massa seca e fresca da raiz. Essas variáveis apresentaram maiores valores nas mudas do G1, representadas pelas mudas avaliadas aos 20 dias sem inoculação (CT) e as avaliadas aos 30 dias inoculadas com TCS87, TB e F12, seguidas pelas mudas do G3, avaliadas 20 dias após inoculação com TB e TCS87.

O PC2 está correlacionado negativamente com o tamanho dos internódios e positivamente com a massa seca total e o índice de qualidade de Dickson. Os maiores valores de massa seca total e índice de qualidade de Dickson e os menores tamanhos de internódios foram obtidos nas mudas do G2, representadas pelas mudas avaliadas 5 dias após inoculação com TCS87 e pelas mudas avaliadas no mesmo dia que foram inoculadas com TB.

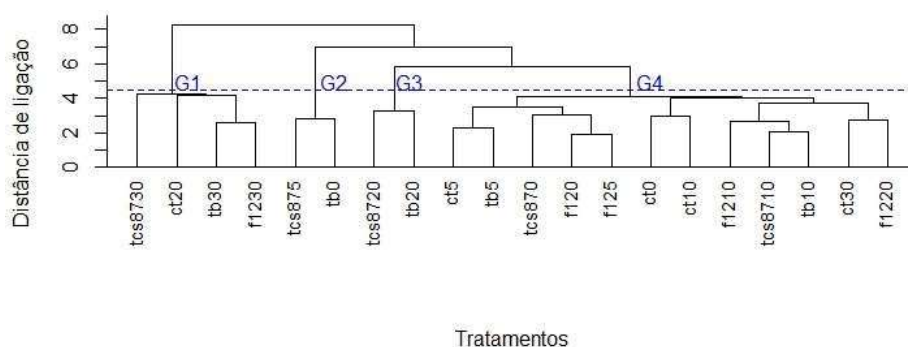
Tabela 1. Correlação das variáveis analisadas com o primeiro (PC1) e segundo componentes principais (PC2).

Variável	Coeficientes	
	PC1	PC2
ALT	0.32	0.22
NF	0.29	0.08
NE	0.29	0.25
TE	0.20	-0.38
DC	0.29	0.28
VR	0.28	0.07
CR	0.20	0.02
MFF	0.28	0.06
MSF	0.33	0.14
MFR	0.34	0.01
MSR	0.32	-0.13
MST	-0.17	0.59
IQD	-0.22	0.51

A análise hierárquica de cluster (HCA) é uma técnica exploratória que classifica os dados com base em suas semelhanças. Uma das maneiras mais comuns de visualizar a AHC é através de dendrogramas. O método de Ward determina quais dados devem ser agrupados ao subtrair a soma das distâncias quadradas de cada observação em relação à média do cluster (Moreira *et al.*, 2022).

A Figura 2 mostra o dendrograma resultante da análise hierárquica de agrupamentos usando o método de Ward e a distância euclidiana. A HCA agrupou as mudas de *Lippia alba* em 4 grupos com base nas semelhanças entre os dados dentro dos mesmos grupos e nas diferenças entre os dados de grupos diferentes, complementando os resultados obtidos pela ACP.

Figura 6. Dendrograma do crescimento de mudas de *Lippia alba* inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma* em diferentes tempos utilizando o método de Ward e distância euclidiana.



Esses achados indicam que diferentes combinações de tratamento e tempos de avaliação influenciam significativamente as características de crescimento das mudas, com o G1 e G3 mostrando melhor desempenho em termos de altura e biomassa, enquanto o G2 se destaca pela qualidade geral e eficiência na alocação de fotoassimilados, conforme indicado pelo índice de qualidade de Dickson.

Os microrganismos possuem uma grande importância quando se fala em proteger as plantas contra estresses abióticos e biótico, promover melhorias na absorção de nutrientes, promovendo o crescimento e o acúmulo de metabólitos pelas plantas, ao mesmo tempo em que aumentam a resiliência dessas plantas (Nível *et al.*, 2024). Dentre a infinidade de microrganismos que compõe a rizosfera, o fungos do gênero *Trichoderma*, tem sido alvo de intensas pesquisas, devido aos seus diversos mecanismos de ação, que fornecem vários benefícios para as plantas.

A promoção do crescimento das plantas é um dos efeitos benéficos de maior importância, induzido pelo *Trichoderma*, pois ele melhora o crescimento das plantas em resultado das propriedades ambientais da rizosfera, envolvendo mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento, como a produção de metabólitos bioativos que modulam aspectos da fisiologia da planta; alterações na bioquímica; solubilização de nutrientes biologicamente indisponíveis e proteção das plantas contra patógenos (biocontrole)(Contreras-Cornejo *et al.*, 2024).

Um dos mecanismos mais frequentemente utilizados para explicar os efeitos que o *Trichoderma* promove no crescimento das plantas, é a produção de auxinas (Contreras-Cornejo *et al.*, 2009, 2016). Diversos estudos encontrados na literatura relatam que no início da interação *Trichoderma*-planta, ocorre a produção e

a liberação de metabólitos como auxinas e compostos proteicos por parte do *Trichoderma*, os quais são percebidos pelas raízes, alterando múltiplos hormônios e mecanismos que controlam o crescimento e desenvolvimento da planta em condições normais ou de estresse (Bae *et al.*, 2011; Garnica-Vergara *et al.*, 2015; Contreras-Cornejo *et al.*, 2016). A colonização do sistema radicular pelo *Trichoderma*, resulta na proteção na rizosfera contra fitopatógenos, além de sistema radicular mais desenvolvido, favorecendo a absorção de nutrientes e água (Contreras-Cornejo *et al.* 2013, 2015, 2016).

Fungos do gênero *Trichoderma*, têm sido bastante utilizados devido a sua característica de promover o crescimento e o vigor das plantas (Chagas *et al.*, 2017) e tem sido bastante utilizados na produção de mudas de diversas espécies, incluindo as medicinais. Uma das espécies de *Trichoderma* mais estudadas em pesquisas envolvendo a promoção de crescimento vegetal foi o *Trichoderma harzianum*. Esta espécie associada a plantas medicinais e aromáticas, demonstram que o mesmo promove o crescimento das plantas, protegendo contra ataques de patógenos, porém, existem exceções, mesmo tratando-se de uma mesma espécie, nem todos os isolados tem a capacidade de promover o crescimento e vigor da cultura, ou seja, nem sempre, a planta responde a inoculação do microrganismo (Stewart e Hill, 2014; Singh *et al.*, 2019).

A inoculação com *Trichoderma* no estágio inicial do desenvolvimento das plantas proporciona maiores benefícios em termos de desenvolvimento das raízes e da absorção de nutrientes, sendo que o aumento do crescimento das plantas após a inoculação com *Trichoderma* depende da cultura, ou genótipo da planta (Sirin *et al.*, 2022).

Há relatos na literatura do uso de isolados de *Trichoderma asperellum* B36 em algumas espécies medicinais, onde houve a promoção de crescimento das raízes e no metabolismo secundário de *Salvia miltiorhiza* e em plantas de coentro, aumentou a produção de biomassa, número de frutos e óleo essencial (Ming *et al.*, 2013). Em plantas de hortelã inoculadas com o microrganismo, também apresentou um aumento significativo da biomassa das raízes e da parte aérea, bem como o conteúdo de fotoassimilados.

Isso indica que o efeito mais evidente da ação do *Trichoderma* é no sistema radicular, onde o fungo, por meio da liberação de compostos químicos, estabelece uma relação com as raízes da planta, e esse processo de reconhecimento, não acontece de forma imediata. Estudos realizados anteriormente por Lima (2022) com mudas de *L.alba* cultivadas com *T.asperellum* demonstraram que o tempo de

resposta da *Lippia* a inoculação com microrganismo, ocorre 30 dias após a primeira inoculação.

No formato de cultivo tradicional, sem o uso de enraizadores ou fertilizantes as mudas de *L.alba* produzidas por estaquia se encontram aptas para serem levadas á campo no período de 50-60 dias. Júnior e colaboradores (2018), utilizando fertilizante organomineral, conseguiu reduzir o tempo de produção das mudas de *L. alba* entre 20-50 dias. Nas avaliações realizadas aos 20 e aos 30 dias, as plantas inoculadas com os diferentes isolados, apresentaram um incremento de biomassa quando comparadas as plantas avaliadas no tempo 0, mesmo não se diferenciando estatisticamente do controle. As mudas produzidas com a inoculação dos isolados de *Trichoderma* entre 20-30 dias apresentam um sistema radicular bem desenvolvido, já aptas para serem levadas á campo, ou seja, comparado aos resultados encontrados por Junior e colaboradores, o uso do *Trichoderma* reduziu o tempo de produção das mudas de *Lippia alba* em aproximadamente 20 dias.

4. CONCLUSÕES

O uso dos isolados de *Trichoderma* na produção de mudas de *Lippia alba*, promove um aumento numérico da biomassa e do sistema radicular, principalmente entre 20 e 30 dias após a inoculação. Esse fator biológico de interação traduz-se em aumento de produtividade no campo, pois as mudas estão aptas a ir a campo com 30 dias. Todos os isolados de *Trichoderma* tiveram resposta positiva em relação a produção de mudas.

5. REFERÊNCIAS

- ANJOS, G.L.; MOREIRA, G.C.; CARNEIRO, C.N.; DIAS, F.S. Effect of phyto regulators on the composition of phenolic compounds in chili peppers (*Capsicum frutescens*) and exploratory analysis. **Scientia Horticulturae**, v. 292, 2022.
- AZEVEDO, G. B.; NOVAES, Q.S.; AZEVEDO, T.O.S.; SILVA, H.F.; SOBRINHO, G.G.R.; NOVAES, A.B. Efeito de *Trichoderma* spp. no crescimento de mudas clonais de *Eucalyptus camaldulensis*. **Scientia Florestalis**, v.45, p. 343-352, 2017.
- BAE, H.; ROBERTS, D.P.; LIM, H.Y.; STREM, M.D.; SOO-CHUL, P.; RYU, C.M.; MELNICK, R.L.; BAILEY, B.A. Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. **Mol. Plant Microbe Interact**, Virginia, v.24, n.5, p.336– 51, 2011.
- BASSO, S.M.S. **Caracterização morfológica e fixação biológica de nitrogênio de espécies de Adesmia DC e Lotus L.** TESE (Doutorado)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.
- CHAGAS, L.F.B.; CHAGAS, A.F.; DE CASTRO, H.G. Phosphate solubilization capacity and indole acetic acid production by *Trichoderma* strains for biomass increase on basil and mint plants. **J. Agric**, v. 92, 176–185, 2017.
- CHAGAS JÚNIOR, A. F.; OLIVEIRA, A.G.; SANTOS, G.R.; REIS, A.F.B.; CHAGAS, L.B.C. Promoção de crescimento em feijão-caupi inoculado com rizóbio e *Trichoderma* spp. no cerrado. **Revista Caatinga**, v.27, p. 190-199, 2014.
- A. F.; CHAGAS, L.F.B.; MARTINS, A.L.L.; COLÔNIA, B.S.O.; OLIVEIRA, R.S. Soybean productivity with *Trichoderma asperellum* seed treatment in different regions of the Brazilian Cerrado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.16, 2021.
- CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOUZA, M.C.; MARTINS, A. L.L.; LIMA, C.A.; DE SOUZA, K. A.O.; SANTANA, P.A.A.C.P.; LOPES, M.B.; CHAGAS, L.F. Eficiência de *Trichoplus* (*Trichoderma asperellum*) como promotor de crescimento vegetal em soja em campo no cerrado. **Research, Society and Development**, v. 11, p. 1-13, 2022.
- CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; SCHMOLL, M.; ESQUIVEL-AYALA, B.A.; GONZALEZ- ESQUIVEL, C.E.; ROCHA-RAMÍREZ, V.; LARSEN, J. Mechanisms for plant growth activated by *Trichoderma* in natural and managed terrestrial ecosystems. **Microbiological Research**, v. 281, 2024.
- CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS- RODRIGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a planta beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin- dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.149, p.1579-1592, 2009.
- CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; ORTIZ-CASTRO, R.; LÓPEZ-BUCIO, J. Promotion of plant growth and the induction of systemic defense by *Trichoderma*: Physiology, genetics and gene expression. **Trichoderma Biology and Applications**, p.175–196, 2013.
- CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; LÓPEZ-BUCIO, J.S.; MÉNDEZ-BRAVO, A.;

MACÍAS- RODRIGUEZ, L.; RAMOS-VEGA, M.; GUEVARA-GARCÍA, A.A.; LOPÉZ-BUCIO, J. Mitogen-activated protein kinase 6 and ethylene and auxin signaling pathways are involved in *Arabidopsis* root-system architecture alterations by *Trichoderma atroviride*. **Mol Plant Microbe Interact**, v.28, p.701–710, 2015.

CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; DEL VAL, E.; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v.92, p.1-17, 2016.

DICKSON, A.; LEAF, A., L.; HOSNER, J, F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in Nurseries. **Forestry Chronicle**, v. 36, p. 10-13. 1960.

GARNICA-VERGARA, A.A.; BARRERA-ORTIZ, S.; MUÑOZ-PARRA, E.; RAYA-GONZALEZ,J.; MÉNDEZ-BRAVO, A., MACÍAS-RODRIGUEZ, L.; RUIZ-HERRERA, L.F.; LÓPEZ-BUCIO, J. The volatile 6-pentyl-2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ethylene insensitive 2 functioning. **New Phytol**, v.209, p.1496–1512, 2015.

GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M.D.; OLMEDO- MONFI, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* Species: Versatile Plant Siymbionts. **Phytopathology**, v.109, 2019.

JESUS, V. F. **Lippia alba (Mill) N. Brown ASSOCIADA ao Trichoderma spp.: BIOMASSA, ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das almas, 2020.

JOO, J. H.; HUSSEIN, K. H. Biological Control and Plant Growth Promotion Properties of Volatile Organic Compound-Producing Antagonistic *Trichoderma* spp. **Front.Plant Sci**, v.13, 2022.

JÚNIOR, J.C.A.; SHINOZAKI, G.A.; MICHETTI, C.A.; DE LIMA, C.B. Produção de mudas de erva cidreira por estaquia com adição de fertilizante organomineral. **Convibra**, 2018.

LEANDRO, L. F. S.; GUZMÁN, T.; FERGUSON, L.M.; FERNÁNDEZ, G.E.; LOUWS, F.J. Population dynamics of *Trichoderma* in fumigated and compostamended soil and on strawberry roots. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p.237- 246, 2007.

LIMA, S. M. **Produção de mudas e Teor de óleo essencial de Lippia alba (MILL.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson SOB INOCULAÇÃO COM Trichoderma asperellum**. TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO- Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2022.

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. *Trichoderma*: Uso na agricultura. **EMBRAPA**, p. 538, 2019.

MING,O.; SU, C.; ZHENG,C.; JIA, M.; ZHANG, Q.;ZHANG, H.; RAHMAN, K.; HAN, T.; QUIN,L. Elicitors from the endophytic fungus *Trichoderma atroviride* promote *Salvia miltiorrhiza* hairy root growth and tanshinone biosynthesis. **Journal of Experimental Botany**,v.64, p.5687–5694, 2013.

MOREIRA, G.C.; CARNEIRO,C.N.; ANJOS, G.L.;SILVA, F.; SANTOS, J.L.O.;DIAS, F.S. Support vector machine and PCA for the exploratory analysis of *Salvia officinalis* samples treated with growth regulators based in the agronomic parameters and multielement composition. **Food Chemistry**, v.373, 2022.

NÍVEL, J.; YANG, S.; ZHOU, W.; ZHONGWANG, L.; TAN, J.; WEI, M. Microbial regulation of plant secondary metabolites: Impact, mechanisms and prospects. **Microbiological Research**, v. 283, 2024.

OYESOLA, L. O.; ALECRIM –KINGE, T.; BELLO, O. A.; TAIWO, O.; OBEMBE, O.O. *Trichoderma*: A review of its Mechanisms of Action in Plant Disease Control. **Preprints**, 2024.

R CORE TEAM (2023). *_R: A Language and Environment for Statistical Computing_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SÁ, R. A.; DA COSTA, A.C.T.; JÚNIOR, J.B.D.; ALBRECHT, L.P. *Trichoderma* na promoção de crescimento da cultura da soja na região oeste do Paraná. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, v.17, n.1, p.1194-1208, 2024

SINGH, S.; TRIPATHI, A.; MAJI, D.; AWASTHI, A.; VAJPAYEE, P.; KALRA, A. Evaluating the potential of combined inoculation of *Trichoderma harzianum* and *Brevibacterium halotolerans* for increased growth and oil yield in *Mentha arvensis* under greenhouse and field conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 131, p. 173-181, 2019.

SANTOS, H. A.; MELLO, S.C.M.; PEIXOTO, J.R. Associação de isolados de *Trichoderma* spp. e ácido indol-3- butírico (AIB) na promoção de enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro. **Bioscience Journal**, v.26, p.966-972, 2010.

SIRIN, E.; ERTUK, Y.; KAZANKAYA, A. Effects of PGPR, AMF and *Trichoderma* Applications on Adaptation Abilities to Different Biotic and Abiotic Conditions in Medicinal and Aromatic Plants. **Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology**, v.10, p.166-173, 2022.

STEWART, A.; HILL, R. Applications of *Trichoderma* in plant growth promotion. **Biotechnology and biology of Trichoderma**. Elsevier, p. 415-428, 2014.

STEFFEN, G.P. K.; MALDANER, J.; PECCATTI, A. *Trichoderma asperelloides* promove crescimento inicial em mudas de *Corymbia citriodora*. **Enciclopedia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1699-1708, 2019.

VIAN, A. L.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; BEHLING, A. Propagação vegetativa de *Aloysia trphylla* e *Lippia alba*: Efeito da posição do ramo da estaca no ramo e do substrato. **Enciclopédia Biosfera**, v.16, p.1280, 2019.

CAPÍTULO 2

Avaliação do efeito de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. na produção de biomassa e óleo essencial de plantas de *Lippia alba* cultivadas em campo

RESUMO: As interações entre as plantas e os microrganismos presentes no solo são de grande importância para o crescimento, desenvolvimento e produtividade desses vegetais. Em espécies medicinais, como é o caso da *Lippia alba*, esses microrganismos, como os fungos do gênero *Trichoderma*, podem, além de aumentar a produção da biomassa, estimular a produção de metabólitos secundários, que no caso da *L. alba*, é o óleo essencial. Logo, o objetivo deste trabalho é testar a eficiência de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. na produção de biomassa e teor de óleo essencial de *Lippia alba* cultivadas em campo em diferentes tempos de colheita e determinar o tempo de colheita onde há uma maior produção desse metabólito. As mudas cultivadas em casa de vegetação serão transplantadas para o campo experimental. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas no tempo, onde foram inoculados 10 mL da suspensão dos esporos dos diferentes isolados a serem testados quinzenalmente nas covas, próximo a base das plantas. Foram avaliadas variáveis fitotécnicas e o teor de óleo essencial das plantas com 0, 15, 30 e 45 dias após a aplicação. As médias das variáveis analisadas foram submetidas a análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância e regressão, com auxílio do programa R. Todos os isolados testados proporcionaram incremento numérico de biomassa e aumento no teor de óleo essencial. O período onde houve a maior produção de biomassa foi aos 30 dias, sendo proporcionados pelo Mix de isolados e pelo TB (*Trichoderma* da bromélia). Logo pode-se concluir que o período onde se obtém a maior produção de biomassa de *L.alba* é nos 30 dias após a inoculação do *Trichoderma*, e entre 15 e 30 dias obtém-se o maior teor de óleo essencial dessas plantas, sendo proporcionado pelo Mix dos isolados.

Palavras chave: bioproduto, medicinal, interações, terpenos

CAPÍTULO 2

Evaluation of the effect of different isolates of *Trichoderma* spp. on the production of biomass and essential oil of *Lippia alba* plants grown in the field

ABSTRACT: The interactions between plants and microorganisms present in the soil are of great importance for the growth, development and productivity of these plants. In medicinal species, such as *Lippia alba*, these microorganisms, such as fungi of the genus *Trichoderma*, can, in addition to increasing biomass production, stimulate the production of secondary metabolites, which in the case of *L. alba*, is the essential oil. Therefore, the objective of this study is to test the efficiency of different isolates of *Trichoderma* spp. in the production of biomass and essential oil content of *Lippia alba* grown in the field at different harvest times and to determine the harvest time when there is a greater production of this metabolite. The seedlings grown in the greenhouse will be transplanted to the experimental field. The experimental design was in randomized blocks, in a scheme of plots subdivided in time, where 10 mL of the spore suspension of the different isolates to be tested were inoculated biweekly in the holes, near the base of the plants. Phytotechnical variables and the essential oil content of the plants were evaluated at 0, 15, 30 and 45 days after application. The means of the analyzed variables were subjected to analysis of variance and Tukey's test at 5% significance and regression, with the aid of the R program. All the tested isolates provided a numerical increase in biomass and an increase in the essential oil content. The period with the highest biomass production was at 30 days, provided by the Mix of isolates and by TB (*Trichoderma* of the bromeliad). Therefore, it can be concluded that the period with the highest biomass production of *L. alba* is 30 days after inoculation of *Trichoderma*, and between 15 and 30 days the highest essential oil content of these plants is obtained, provided by the Mix of isolates.

Key words: bioproduct, medicinal, interactions, terpenes

1. INTRODUÇÃO

As interações entre plantas e microrganismos têm amplo reconhecimento, o que é atribuído ao seu papel emergente em aplicações agrícolas, farmacológicas e ecológicas. Nas interações entre organismos e o ambiente, as plantas e os microrganismos produzem diversos metabólitos e proteínas que exibem funções variadas. A biossíntese de diversos metabólitos é essencial para adaptação e interações ambientais (Tiwari *et al.*, 2023).

Sabe-se que a biossíntese de moléculas ativas pode ser estimulada e que bioelicitores têm sido utilizados para promover o acúmulo de compostos bioativos em plantas medicinais (Zhai *et al.*, 2018). Dentre eles, podemos destacar os fungos do gênero *Trichoderma*, algumas consideradas endofíticas, encontradas em tecidos foliares ou nas raízes, fornecendo diversos benefícios para a planta hospedeira (Cumplings *et al.*, 2016) atuando como agente promotor de crescimento e no biocontrole na agricultura, atuando direta ou indiretamente no controle de fitopatógenos e na indução de resistência das plantas, por meio da produção e secreção de moléculas estimuladoras (Gomes *et al.*, 2015).

Essas moléculas produzidas pelo *Trichoderma* ativam a expressão de genes de defesa da planta, promovendo o seu crescimento, desenvolvimento das raízes e o aumento da disponibilidade de nutrientes (Gomes *et al.*, 2017) atuando também na biossíntese de metabólitos secundários, a exemplo, os óleos essenciais.

O gênero *Lippia* apresenta uma diversidade de espécies aromáticas, de interesse comercial, devido a produção de compostos bioativos, nesse caso, os óleos essenciais. São bastante utilizadas na medicina popular, na forma de chás e infusões, assim como na indústria cosmética e farmacêutica (Oliveira *et al.*, 2014; Castilho *et al.*, 2019) para o desenvolvimento de produtos e processos, com diversas aplicabilidades. Dentre as espécies pertencentes a este gênero, a *Lippia alba* está entre as mais estudadas devido as suas atividades biológicas significativas, como a antioxidante, antimicrobiana, anti-hipertensivo, dentre outras (Costa *et al.*, 2020). Todo esse potencial biológico atribui-se a presença de compostos bioativos, que são resultantes do metabolismo secundário desse vegetal que caso da *L. alba*, é o óleo essencial.

Apesar de ser uma planta bastante estudada devido aos seus diversos potenciais, ainda são escassos trabalhos visando o desenvolvimento da cadeia produtiva dessa espécie associada a microrganismos benéficos, afim de aumentar a produção e a disponibilidade dos bioativos que a mesma oferece. Desse modo, este trabalho tem por objetivo testar a eficiência de diferentes isolados de *Trichoderma*

spp. na produção de biomassa e teor de óleo essencial de *Lippia alba* cultivadas em campo em diferentes tempos de colheita e determinar o tempo de colheita onde há uma maior produção desse metabólito.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em Campo situado na Fazenda Experimental de Produção Vegetal nas dependências do CCAAB, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, na cidade de Cruz das Almas, Bahia no período de julho a outubro de 2024.

2.1 Obtenção do material vegetal e Propagação das mudas

As mudas de *Lippia alba* foram produzidas a partir de plantas matrizes presentes na área experimental localizadas na Fazenda Experimental de Produção Vegetal, CCAAB, UFRB.

O método de propagação utilizado foi por estaquia, utilizando ramos herbáceos e semilenhosos da planta matriz, contendo aproximadamente 20 centímetros de comprimento e um par de folhas reduzidas pela metade. As estacas foram colocadas para enraizar em sacos de polietileno com a capacidade para 2 L, contendo como substrato, uma mistura de solo e húmus de minhoca, utilizando a proporção de 2:1. Posteriormente, as mudas foram levadas a campo e após um período de quinze dias iniciou-se a aplicação dos tratamentos.

2.2 Obtenção e preparo do inóculo

Os isolados de *Trichoderma* foram obtidos da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB.

Os fungos foram replicados em placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e armazenados em B.O.D com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas durante 7 dias. Após o crescimento total do microrganismo foi adicionada a placa de Petri, 20 mL de água destilada autoclavada e duas gotas de Tween 20® onde, com o auxílio de uma alça de Drigalsky estéril foi realizada a raspagem dos propágulos fúngicos e posteriormente foi retirada uma alíquota dessa suspensão para contagem dos esporos, utilizando a câmara de Neubauer (Leandro *et al.*, 2007). Após a contagem, foi realizado o ajuste da concentração para 10^7 esporos/mL, onde serão inoculados 10 mL da suspensão dos esporos no solo, próximo às raízes das plantas. Os isolados utilizados foram o

TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), F12 (*Trichoderma asperellum*), TB (*Trichoderma* isolado de Bromélias) e a mistura dos três isolados (MIX) nos intervalos de tempo de 0, 15, 30 e 45 dias.

2.3 Delineamento Experimental

O delineamento adotado foi em blocos casualizados, em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo as parcelas principais constituídas pelas plantas cultivadas com e sem isolados de *Trichoderma* e nas subparcelas, os tempos de colheita com três repetições.

2.4 Avaliação dos dados Fitotécnicos

As avaliações foram realizadas ao longo do tempo com o objetivo de observar a influência dos isolados de *Trichoderma* spp. no crescimento e desenvolvimento da *Lippia alba*. A massa fresca da parte aérea e das raízes das plantas serão determinadas com o auxílio de uma balança semianalítica (g). As raízes foram submetidas a secagem em estufa de ventilação fechada a 65°C até obtenção da massa constante e as folhas foram secas a temperatura de 45°C e posteriormente foi determinada a massa seca.

2.5 Determinação de Umidade e Extração de Óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método da hidrodestilação conforme metodologia descrita por Teles (2010), no laboratório de fitoquímica do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB. As folhas foram submetidas a secagem em estufa de circulação forçada a 45° C, em seguida foram colocadas no balão volumétrico com capacidade para 2.000 ml onde posteriormente adicionou-se água destilada até que o material vegetal fosse coberto. O balão foi acoplado em equipamento Clevenger aquecido com o auxílio da manta térmica. O processo durou 150 minutos após a condensação da primeira gota.

O OE das folhas foi retirado do aparelho com o uso da pipeta do tipo Pasteur, e pesado em balança analítica para determinação do teor do óleo essencial (%) massa/massa (g de óleo a cada 100g de massa fresca). O óleo foi armazenado em frascos de vidro com capacidade para 2 mL, identificados e armazenados sob refrigeração e ao abrigo da luz.

Para a determinação do teor de umidade foi utilizada a equação : $[(\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) / \text{Peso inicial}] \times 100$. As amostras de material fresco foram separadas para

determinar o teor de umidade, sendo as amostras em triplicatas, contendo 3 gramas de material vegetal fresco. Posteriormente foram submetidas a secagem á 65° C, até atingir uma massa constante.

A determinação do teor do óleo essencial (%) foi calculada a partir da Base Livre de Umidade (BLU), utilizando a equação descrita por Santos et al., (2004):

$$TO = Vo/Bm - (Bm \times U/100) \times 100$$

Onde,

To = Teor do óleo essencial

Vo= Volume/peso do óleo extraído

Bm = Biomassa vegetal

U (%) = Umidade

$(Bm \times U) / 100$ = Quantidade de umidade ou água presente na biomassa

$\{Bm - [(Bm \times U)/100]\}$ = Quantidade de biomassa seca, isenta de água ou livre da umidade.

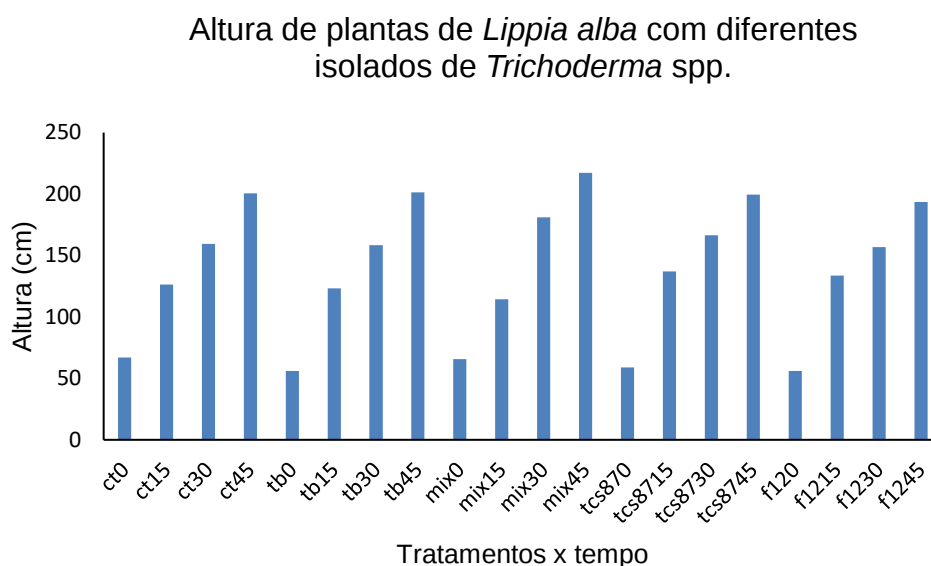
2.6 Análise Estatística

Os dados do experimento foram submetidos a análise de variância, e de acordo a significância do teste, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5 % de significância e regressão com o auxílio do programa R Core Team (2023).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

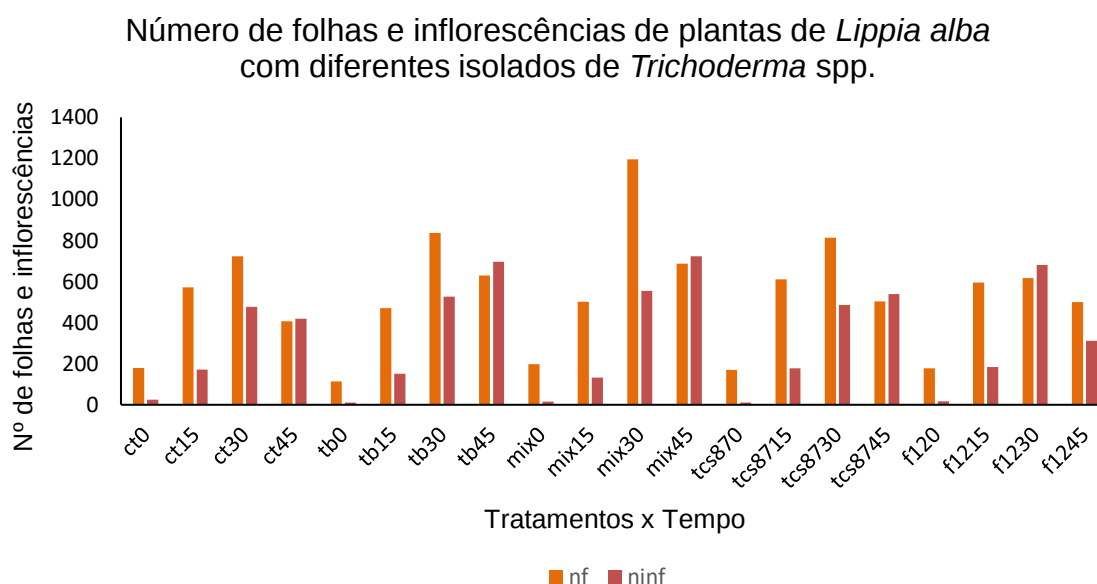
Houve efeito significativo ($p < 0,05$) da interação dos isolados de *Trichoderma* e do tempo para apenas uma variável analisada (Número de folhas) (Tabela 1 em anexo). A variável altura (Figura 1) apresentou maiores médias aos 30 e aos 45 dias após a aplicação dos tratamentos testados, havendo um incremento de 64,52% (TB); 63,80% (MIX); 64,6%(TCS87); 64,28% (F12) aos 30 dias e 72,1%; 69,8%; 70,50%; 71,49% respectivamente aos 45 dias. Esses incrementos observados na variável altura podem ser atribuídos possivelmente a uma maior produção de hormônios de crescimento vegetal, como as auxinas, que estimulam o crescimento da planta (Rodrigues et al., 2023).

Figura 1- Altura de plantas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.



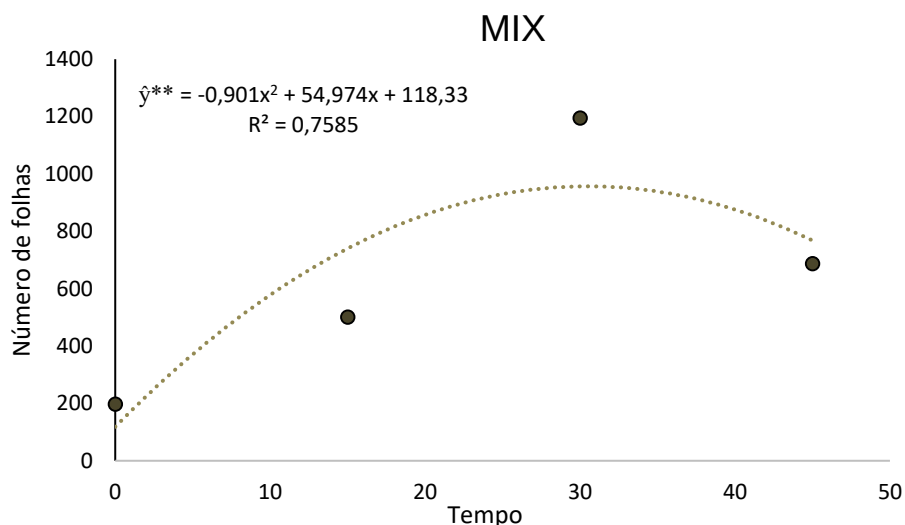
O número de folhas (Figura 2) apresentou maiores médias aos 30 dias após a inoculação, apresentando incremento de 86,4 % (TB); 83,4% (MIX); 71% (F12) e 79% (TCS87). O número de inflorescências apresentou as maiores médias aos 30 e aos 45 dias após inoculação com *Trichoderma* spp.

Figura 2- Número de folhas e inflorescências de plantas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.



Analisando o efeito do tempo para a variável número de folhas nas plantas cultivadas com *Trichoderma* spp., observa-se que o modelo que obteve o melhor ajuste para esta variável foi o modelo quadrático, indicando que no decorrer dos dias há um aumento na produção de folhas, atingindo seu máximo aos 30 dias e posteriormente ocorre a diminuição desta variável (Figura 3).

Figura 3- Número de folhas de *Lippia alba* inoculadas com tratamento MIX em diferentes tempos de avaliação



Essa redução no número de folhas pode ser explicada pela incidência de Ferrugem nas folhas das plantas (Figura 5), causando o aparecimento de manchas circulares escuras nas folhas, seguido de amarelecimento e queda das mesmas. Em alguns tratamentos a incidência da Ferrugem foi menor, como no MIX de isolados. Isso pode ser explicado porque além de promover uma absorção de nutrientes mais eficiente, o *Trichoderma* também induz a resistência sistêmica nas plantas e produzem compostos promotores de crescimento, que proporcionam um aumento significativo no crescimento das plantas (Asghar *et al.*, 2024).

Os microrganismos ajudam a proteger as plantas de estresses bióticos e abióticos, melhorando a absorção de nutrientes pelas plantas, promovendo o crescimento e o acúmulo de metabólitos, ao mesmo tempo em que aumentam a resistência das plantas (Lv *et al.*, 2024).

Figura 4- Incidência de Ferrugem (*Puccinia sp.*) em folhas de *Lippia alba* cultivadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp

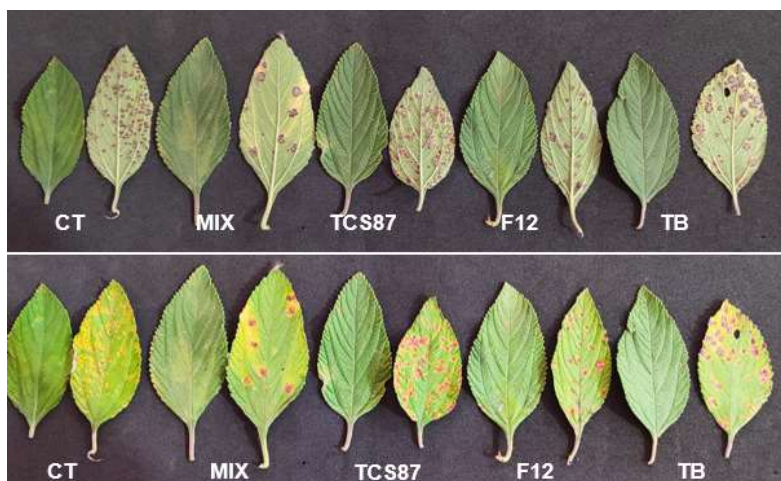
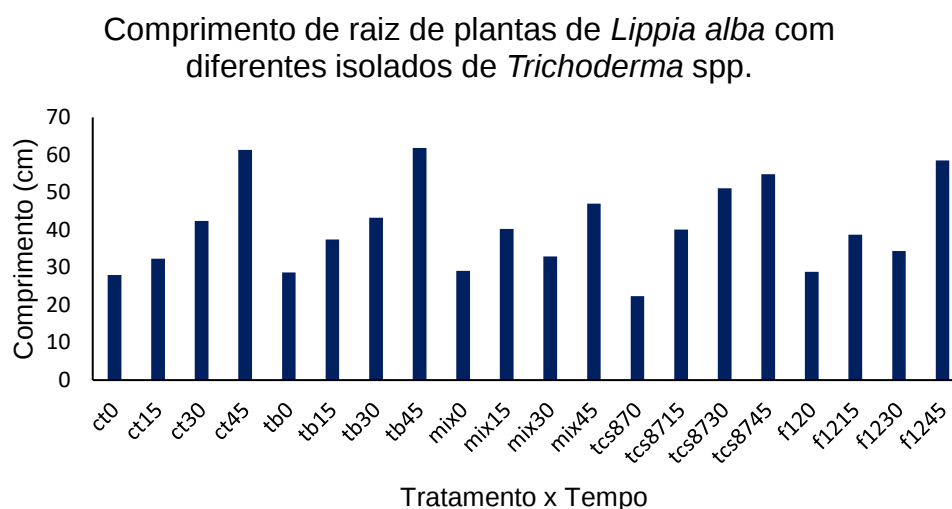
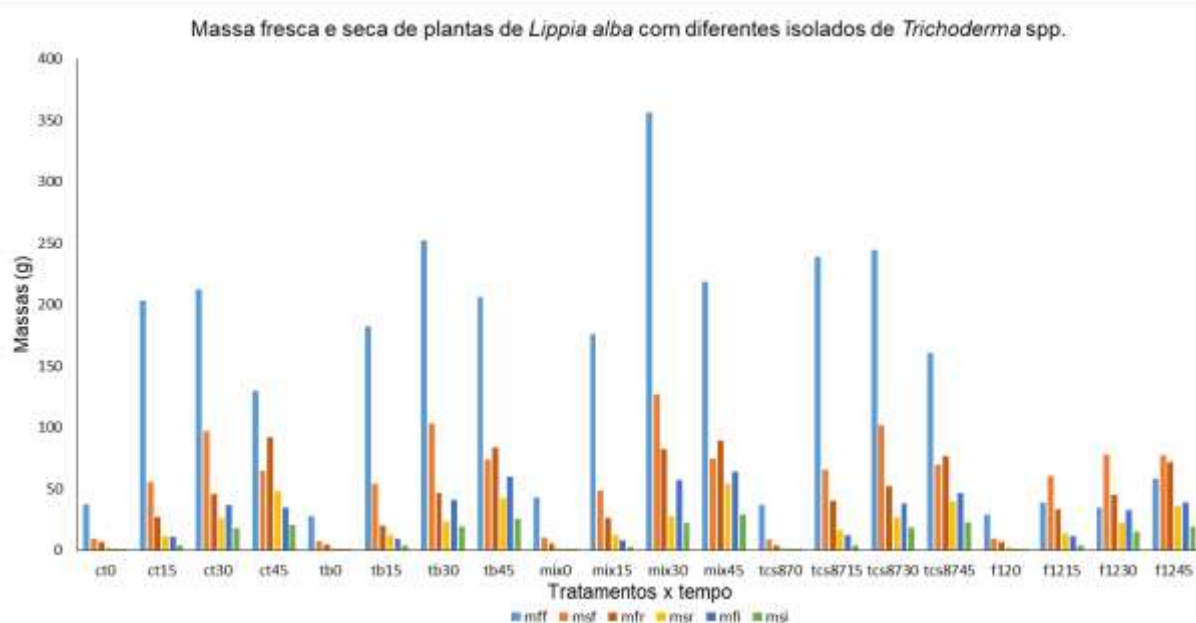


Figura 5- Comprimento de raízes de plantas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.



O comprimento de raiz obteve o incremento de 33% (TB), 11% (MIX), 56% (TCS87) e 15% (F12) em relação ao tempo zero, aos 30 dias pós aplicação da suspensão dos isolados. Os fungos do gênero *Trichoderma*, tem se destacado como um importante grupo de fungos promotores de crescimento de plantas em solos de rizosfera, uma vez que atuam nas raízes das plantas. Essa característica é devido a sua capacidade de aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas, facilitando a solubilização de minerais do solo, melhorando a eficiência e ciclagem dos nutrientes, o que resulta em uma utilização mais eficiente dos nutrientes pelas plantas (Asghar et al., 2024).

Figura 6- Massa fresca e seca de plantas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp



As massas fresca e seca das folhas (Figura 4) também apresentam as maiores médias aos 30 e aos 45 dias após a inoculação havendo o incremento de 82% (TB), 16% (F12),

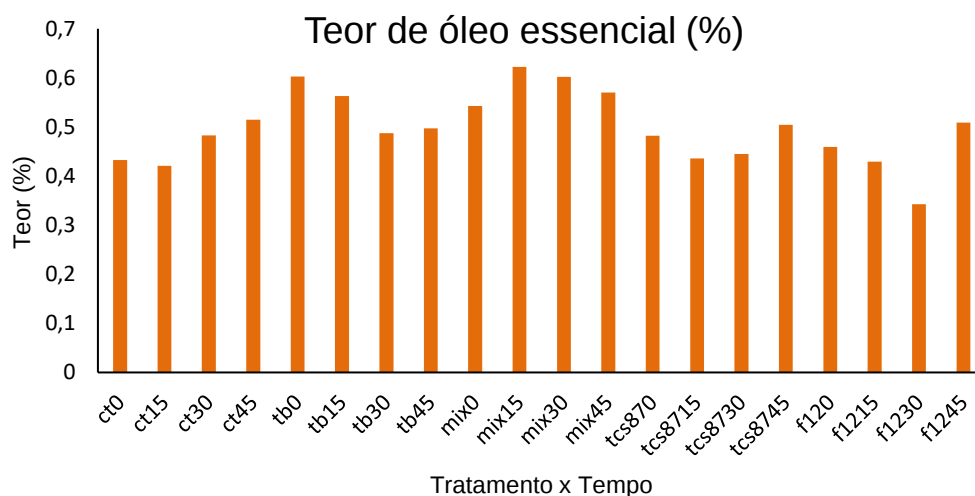
84% (TCS87) e 88% (MIX) de massa fresca em relação ao tempo zero e de massa seca houve um incremento de 91%(TCS87), 93% (TB), 87% (F12) e 91% (MIX) em relação ao tempo zero. A massa fresca e seca das raízes, apresentou um incremento de 89% (TB), 93%(MIX), 93%(TCS87) e 85% (F12) em massa fresca e para massa seca, foi de 92% (TB), 92%(MIX), 94%(TCS87) e 90%(F12) em relação ao tempo zero. A massa seca e fresca das inflorescências obtiveram os maiores valores aos 30 e aos 45 dias pós aplicação dos isolados.

O incremento observado nos tratamentos com o isolados de *Trichoderma* pode ser atribuído a capacidade que o microrganismo tem de produzir ácido indol-3-acético, o AIA, que é caracterizado como um metabólito que estimula a produção de raízes e acúmulo de biomassa na parte aérea, pois regula a ação de H^+ -ATPase na membrana plasmática das raízes (Rodrigues *et al.*, 2023).

Figura 7- Plantas de *Lippia alba* inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma* em diferentes tempos de avaliação. *Legenda: : Controle (CT), TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), *Trichoderma* isolado de bromélia (TB), *Trichoderma* endofítico isolado de folhas de sisal (F12) e o MIX de isolados (MIX) e os tempos de avaliação (0, 15, 30 e 45).



Figura 8- Teor de óleo essencial de plantas de *Lippia alba* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.



Não houve diferença estatística com relação ao teor de óleo essencial, no entanto, vale ressaltar que mesmo não diferindo do controle, plantas produzidas com a inoculação dos diferentes isolados de *Trichoderma* apresentaram aumento no teor, quando comparadas ao tempo zero (sem inoculação). Os óleos essenciais das plantas cultivadas com os isolados de *Trichoderma* apresentaram variações em sua coloração, como é possível observar na Figura 8. Possivelmente, essa alteração de coloração pode estar relacionada com a produção de algum composto ativo em maior quantidade. Os tratamentos que apresentaram essa modificação, foram o MIX (mistura dos isolados) e o TB (*Trichoderma* isolado de Bromélia).

Sabe-se que fatores bióticos e abióticos podem levar a variações significativas na composição química dos óleos essenciais, pois eles podem causar alterações nas rotas metabólicas, levando a síntese de diferentes compostos (Soares *et al.*, 2019). Podemos citar, dentre esses fatores o clima, temperatura, radiação solar e até mesmo o horário de colheita da planta e, somado a isso surgem as interações interespecíficas da planta com os insetos, plantas vizinhas e os microrganismos presentes no solo (Sá Filho *et al.*, 2022).

Microrganismos presentes na rizosfera tem uma relação direta com a regulação do metabolismo primário das plantas, o qual está relacionado com as funções de crescimento e desenvolvimento dos vegetais, e também com o metabolismo secundário. Eles ajudam a proteger as plantas contra estresses biótico e abiótico, melhorando a absorção de nutrientes, promovendo o crescimento e acúmulo de metabólitos (Lv *et al.*, 2024).

Figura 9- Óleo essencial de *Lippia alba* inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma* em diferentes tempos de avaliação. *Legenda: : Controle (CT), TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), *Trichoderma* isolado de bromélia (TB), *Trichoderma* endofítico isolado de folhas de sisal (F12) e o MIX de isolados (MIX) e os tempos de avaliação (0, 15, 30 e 45).



Diferente das grandes culturas, a qualidade é um dos parâmetros mais importantes quando se fala em plantas medicinais em comparação com o rendimento. Essa qualidade é determinada pela quantidade de metabólitos secundários produzidos pela planta. Uma técnica que tem se destacado é o uso de insumos de origem microbiana, o qual possui a capacidade de melhorar significativamente o rendimento e a qualidade das plantas medicinais (Liu *et al.*, 2024).

Na literatura encontra-se alguns trabalhos relatando que o uso de insumos de origem microbiana, alguns deles a base de *Trichoderma*, proporcionou o aumento dos metabólitos secundários de *Curcuma longa* (Wu *et al.*, 2017) e Goji berry (Li *et al.*, 2013 e Yin *et al.*, 2018). Esses resultados demonstram que os fungos do gênero *Trichoderma* se destacam como uma tecnologia inovadora para o cultivo de plantas medicinais, visando a produção de metabólitos secundários, que no caso da *Lippia alba* é o óleo essencial.

4. CONCLUSÕES

Todos os isolados testados proporcionaram um aumento numérico de biomassa das plantas de *Lippia alba*, destacando o tratamento MIX que proporcionou as maiores médias. O tempo de colheita onde se obteve a maior produção de biomassa foi aos 30 dias após a inoculação com a suspensão do microrganismo, e para o rendimento de óleo essencial, o tempo variou entre 15 e 45 dias.

5. REFERÊNCIAS

- ASGHAR, W.; CRAVEN, K.D.; KATAOKA, R.; MAHMOOD, A.; ASGHAR, N.; RAZA, T.; IFTIKHAR, F. The application of *Trichoderma* spp., an old but new useful fungus, in sustainable soil health intensification: A comprehensive strategy for addressing challenges, **Plant Stress**, v. 12, 2024.
- CASTILHO, V.V.C; LEITÃO, S.G.; SILVA, V. D.; MIRANDA, C.O.; SANTOS, C.S.; BIZZO, H.R.; SILVA, N.C.B. In vitro propagation of a carvacrol-producing type of *Lippia origanoides* Kunth: A promising oregano-like herb, **Industrial Crops and Products**, 2019.
- COSTA, P. S.; OLIVEIRA, S. S.; SOUZA, E. B.; BRITO, E. H. S.; CAVALCANTE, C. S. P.; MORAIS, S. M.; LEAL, A. L. A. B.; BARRETO, H. M.; TEIXEIRA, A. M. R.; NOGUEIRA, C. E. S.; FONTENELLE, R. O. S.; SANTOS, H. S. Antifungal Activity and Synergistic Effect of Essential oil from *Lippia alba* Against *Trichophyton rubrum* and *Candida* spp. **Rev. Virtual Quim**, v. 12, p. 1529- 1540, 2020.
- CUMMINGS, N.J.; AMBRÓSIO, A.; BRAITHWAITE, S.; BISSET, J. Diversidade de *Trichoderma* endofítica de raiz de Bornéu da Malásia **Mycol. Progresso**, p. 50, 2016.
- GOMES, E.V.; COSTA, M.N.; DE PAULA, R.G.; AZEVEDO, R.R.; DA SILVA, F.L.; NORONHA, E.F.; ULHOA, C.J.; MONTEIRO, V.N.; CARDOZA, R.E.; GUTIÉRREZ, S.; SILVA, R.N. The Cerato-Platanin protein Epl-1 from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self cell wall protection. **Sci. Rep.**, 2015.
- GOMES, E.V.; ULHOA, C.J.; CARDOZA, R.E.; SILVA, R.N.; GUTIÉRREZ, S. Involvement of *Trichoderma harzianum* Epl-1 Protein in the Regulation of *Botrytis* Virulence- and Tomato Defense-Related Genes Frente. **Plant Sci.**, 8, 2017.
- LEANDRO, L. F. S.; GUZMÁN, T.; FERGUSON, L.M.; FERNÁNDEZ, G.E.; LOUWS, F.J. Population dynamics of *Trichoderma* in fumigated and compostamended soil and on strawberry roots. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p.237- 246, 2007.
- LI, X.G.; ZHOU, Q.Q.; LI, J.; WANG, Y.K. Effects of two microbial fertilizers on yield and quality of *Lycium barbarum* in Jingdian Irrigation área **J Sichuan Agric Univ**, v. 31, p. 6, 2013.
- LIU C.; XIE, J.; ZHONG, P.; PAN, G.; ZHANG, S.; JIN, J. Microbial Fertilizer: A Sustainable Strategy for Medicinal Plants Production, **Phyton-International Journal of Experimental Botany**, v.93, p.1221-1236, 2024.
- LV, J.; YANG, S.; ZHOU, W.; LIU, Z.; TAN, J.; WEI, M. Microbial regulation of plant secondary metabolites: Impact, mechanisms and prospects. **Microbiological Research**, v. 283, 2024.
- R CORE TEAM (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- RODRIGUES, J. I. M.; SILVA, J.R.L.; FILHO, M.A.V.N.; VIEIRA, L. R.; OLIVEIRA, F.A.; BARATA, G.S.; MARTINS, W.B.R. Eficiência do uso de bioestimulantes para a produção de mudas de Ipê-roxo (*Handroanthus impetiginosus* Mart.). **Advances in Forestry Science**, v.10, p.2099-2107, 2023.

SANTOS, A.S.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F.J.C.; ROCHA NETO, O.G. **Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório**. EMBRAPA, 2004. (Comunicado Técnico)

SÁ FILHO, J.C.F.; NIZIO, D.A.C.; OLIVEIRA, A.M.S.; ALVES, M.F.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J.M.Q.; NOGUEIRA, P.C.L.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; BLANK, A.F. Geographic location and seasonality affect the chemical composition of essential oils of *Lippia alba* accessions. **Industrial Crops and Products**, v.188, 2022.

SOARES, C.H.N.; JÚNIOR, P.C.D.; CAMPOS, I.M.; AMORIM, G.T.; CARMO, M.G.F.; CHAVES, D.S.A.; SOUZA, M.A.A. Selection of genotypes (citral chemotype) of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown regarding seasonal stability of the essential oils chemical profile. **Industrial Crops and Products**, v.139, p. 1-8, 2019.

TELES S. **Avaliação do teor e da composição química das folhas de Lippia alba (Mill) n.e.br. e mentha piperita l. cultivadas em Cruz das Almas, Santo Antônio de Jesus e Amargosa, submetidas às diferentes épocas de colheita e processos de secagem**. DISSERTAÇÃO, (Mestrado em Ciências Agrárias) - UFRB, Cruz das Almas-BA, 2010.

TIWARI, P.; KANG, S.; BAE, H. Plant-endophyte associations: Rich yet under-explored sources of novel bioactive molecules and applications. **Microbiological Research**, v. 266, 2023.

OLIVEIRA, D.R.; LEITÃO, G.G.; FERNANDES, P.D.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. **Rev. Bras. Farmacogn.** v.24, p.206–214, 2014.

WU, X. F.; ZHAO, G.X.; LU, M.; YANG, K.F. Effect of a new microbial fertilizer woyiduo on the yield and quality of turmeric **Sci Technol Sichuan Agric** v.9, p. 36-40, 2017.

YING, Z. R.; HUANG, J.C.; GUI, L.G.; LEI, J.Y.; ZHAO, Y. Effects of microbial fertilizer on physical and chemical properties of primary saline alkali soil and growth of *Lycium barbarum* **Ningxia Agric For Sci Technol**, v.12, p. 48-51, 2018

ZHAI, X.; LUO, D.; LI, X.; HAN, T.; JIA, M.; KONG, Z.; JI, J.; RAHMAN, K.; QUIN, L.; ZHENG, C. Endophyte *Chaetomium globosum* D38 Promotes Bioactive Constituents Accumulation and Root Production in *Salvia miltiorrhiza*, **Frontiers in Microbiology**, v.8, 2018.

ANEXOS

Tabela 1- Valor da média e desvio padrão das variáveis: Altura (ALT), Número de folhas (NF), Número de internódios (NE), Diâmetro do caule (DC), Volume de raiz (VR), Comprimento de raiz (CR), Massa fresca das folhas (MFF), Massa seca das folhas (MSF), Massa fresca da raiz (MFR), Massa seca da raiz (MSR), Massa seca total (MST) e Índice de Qualidade de Dickson (IQD) de *Lippia alba* analisadas em diferentes tempos de coleta, com e sem aplicação de diferentes isolados *Trichoderma spp.* *Legenda: Controle (CT), TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), *Trichoderma* isolado de bromélia (TB), *Trichoderma* endofítico isolado de folhas de sisal (F12) e os tempos de avaliação (0, 5, 10, 20 e 30)

TRAT	ALT (cm)	NF	NE	TE	DC (cm)	VR (ml)	CR (cm)	MFF (g)	MSF (g)	MFR (g)	MSR (g)	MST (g)	IQD
CT0	26,27±7,5	18,33±7,1	5,17±0,3	2,98±0,4	0,37±0,1	0,84±0,8	19,92±4,6	1,53±0,4	0,60±0,3	1,49±0,9	0,62±0,6	1,31±0,8	0,019±0,01
CT5	18,78±3,9	24,17±5	5,33±0,3	2,59±0,1	0,38±0,1	1,08±0,6	23,42±1,9	2,26±0,9	0,43±0	0,66±0,1	0,39±0	1,09±0,1	0,017±0,01
CT10	26,28±7,2	20,00±6,1	5,50±1,7	2,65±0,7	0,43±0,1	0,50±0,2	20,92±7,7	2,29±1,2	0,44±0,3	0,72±0,5	0,35±0,2	1,27±0,1	0,021±0,01
CT20	37,90±10	31,33±10,8	6,83±2,5	2,85±1,2	0,47±0,1	2,50±1,8	25,42±4,8	4,81±2,6	1,09±26	3,76±1,6	0,98±0,4	1,11±0	0,014±0
CT30	31,08±6,3	26,67±2,8	7,67±2,8	2,33±0,9	0,45±0,1	0,92±0,9	22,50±6,5	2,44±1,3	0,61±0,3	1,50±1,3	0,42±0,1	1,53±0,4	0,023±0,01
TCS870	24,98±4,4	24,00±9,3	5,33±1,2	2,46±0,5	0,38±0	1,08±0,3	28,42±5	3,32±1,1	0,68±0,2	1,37±0,2	0,62±0,1	1,10±0,3	0,017±0
TCS875	21,55±6,6	21,50±5,2	5,67±1,5	2,28±1,2	0,38±0	0,92±1	21,00±6,9	1,63±1	0,38±0,1	0,58±0,5	0,26±0,2	2,14±1,2	0,043±0,04
TCS8710	29,17±2,1	24,67±4,1	6,17±0,6	2,96±0,5	0,42±0,1	0,59±0,4	26,04±7,1	2,95±0,7	0,60±0,2	1,12±0,7	0,51±0,3	1,32±0,4	0,019±0,01
TCS8720	34,58±5,7	28,17±4	7,50±1	3,00±0,4	0,47±0,1	1,92±0,6	28,25±3,3	3,79±2,2	0,92±26	2,55±1,1	0,61±0,3	1,65±0,5	0,024±0,01
TCS8730	33,22±9,7	31,33±3	7,33±1,5	3,05±1,4	0,48±0,1	4,75±5,2	26,67±3,4	3,28±1	0,85±0,4	3,20±2,2	1,08±0,6	0,97±0,4	0,015±0,01
TB0	18,85±7,6	15,17±5,5	4,83±0,8	2,21±1,1	0,37±0,1	0,67±0,6	22,67±10,7	2,35±1,6	0,51±0,4	0,78±0,9	0,41±0,5	2,04±1,2	0,042±0,03
TB5	21,62±5,5	25,00±2,3	5,00±0,9	2,42±0,6	0,39±0,1	1,09±0,8	26,17±5,8	2,05±1	0,45±0,2	2,06±1,5	0,52±0,3	0,91±0,1	0,016±0
TB10	28,92±2,9	26,50±2,2	5,67±1,8	3,20±0,7	0,44±0,1	0,67±0,6	23,00±3,5	3,22±1	0,72±0,3	1,54±0,9	0,70±0,4	1,20±0,5	0,020±0,01
TB20	36,03±6,8	27,17±2,8	8,50±3	2,60±0,5	0,43±0,1	1,17±0,9	31,17±3,8	3,24±1	0,77±26	1,57±1,2	0,53±0,5	2,04±1,2	0,028±0,03
TB30	39,22±9,2	30,17±6,5	9,33±2,3	2,96±0,3	0,50±0,1	2,42±0,8	26,67±3,9	3,29±0,5	1,03±0,2	4,21±1,6	1,31±0,4	0,88±0,3	0,013±0,01
F120	22,30±4,5	20,17±9,8	5,50±0	3,07±0,6	0,34±0	0,75±0,2	26,58±4,7	2,98±1	0,58±0,1	1,30±0,8	0,72±0,3	0,87±0,2	0,014±0,01
F125	23,08±4,4	23,17±9	5,83±0,6	3,01±0,8	0,36±0,1	1,33±0,9	29,67±5,3	2,74±1	0,59±0,2	1,85±0,7	0,70±0,1	0,83±0,2	0,013±0
F1210	28,35±5,2	27,33±3,5	6,50±1	3,05±0,6	0,39±0	0,59±0,3	20,88±6,6	2,74±0,8	0,55±0,1	1,44±0,4	0,59±0,1	0,95±0,3	0,013±0,01
F1220	30,97±11,2	26,00±10,8	7,17±3,3	2,70±0,5	0,42±0	2,00±2	21,92±4,8	1,99±0,8	0,61±26	2,16±1,6	0,60±0,5	1,19±0,5	0,019±0,01
F1230	38,70±5,4	25,83±6,8	10,00±1,5	2,95±0,4	0,45±0,1	3,08±3	30,28±2,4	3,68±1,2	0,94±0,4	4,33±2,3	1,24±0,2	0,83±0,5	0,009±0

Tabela 2-Altura (ALT), Número de folhas (NF), Tamanho de internódios (TI), Diâmetro do caule (DC), Número de inflorescência (NINF), Comprimento de raiz (CR), Massa fresca das folhas (MFF), Massa seca das folhas (MSF), Massa fresca da raiz (MFR), Massa seca da raiz (MSR), Massa fresca da inflorescência (MFI), Massa seca da inflorescência (MSI) e Teor de óleo essencial (TOE) de *Lippia alba* analisadas em diferentes tempos de coleta, com e sem aplicação de diferentes isolados *Trichoderma spp.* *Legenda: Controle (CT), TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), *Trichoderma* isolado de bromélia (TB), *Trichoderma* endofítico isolado de folhas de sisal (F12), Mix de isolados (MIX) e os tempos de avaliação.

TRAT	ALT (cm)	NF	NINF	TI	DC (cm)	CR (cm)	MFF (g)	MSF (g)	MFR (g)	MSR (g)	MFI (g)	MSI (g)	TOE(%)
CT0	66,94 a	179 b	25 a	5,15 a	0,68 a	28,0 a	37,71 a	9,65 a	6,55 a	2,42 a	0,53 a	0,26 a	0,43 a
CT15	126,44 a	572 b	170 a	6,24 a	1,14 a	32,33 a	203,34 a	55,76 a	27,10 a	11,63 a	10,54 a	3,62 a	0,42 a
CT30	159,44 a	722 b	476 a	6,52 a	1,19 a	42,44 a	212,03 a	97,10 a	45,88 a	25,92 a	36,82 a	17,65 a	0,48 a
CT45	200,46 a	406 b	419 a	6,50 a	1,50 a	61,33 a	129,99 a	64,61 a	91,90 a	48,09 a	34,67 a	20,68 a	0,51 a
TCS870	58,83 a	170 b	11 a	4,46 a	0,57 a	22,33 a	36,96 a	8,94 a	3,65 a	2,14 a	0,20 a	0,11 a	0,48 a
TCS8715	137,00 a	611 b	177 a	6,60 a	1,29 a	40,11 a	239,14 a	65,69 a	40,44 a	13,60 a	11,98 a	3,97 a	0,43 a
TCS8730	166,56 a	813 b	486 a	6,58 a	1,40 a	51,11 a	244,51 a	101,64 a	52,25 a	22,03 a	37,82 a	18,61 a	0,45 a
TCS8745	199,94 a	502 b	540 a	6,23 a	3,20 a	54,83 a	160,47 a	69,78 a	76,44 a	35,90 a	46,63 a	22,41 a	0,50 a
TB0	56,17 a	114 b	10 a	4,68 a	0,61 a	28,72 a	27,68 a	7,02 a	4,82 a	1,77 a	0,22 a	0,12 a	0,60 a
TB15	123,22 a	471 b	151 a	7,65 a	1,15 a	37,44 a	182,08 a	54,43 a	19,69 a	12,51 a	9,68 a	3,75 a	0,56 a
TB30	158,33 a	837 ab	527 a	6,59 a	1,36 a	43,28 a	252,53 a	102,86 a	46,50 a	23,68 a	40,87 a	19,35 a	0,48 a
TB45	201,33 a	630 b	696 a	6,66 a	1,38 a	61,83 a	206,09 a	73,61 a	83,39 a	42,54 a	59,55 a	25,30 a	0,49 a
F120	56,00 a	177 b	17 a	4,88 a	0,65 a	28,89 a	28,89 a	9,60 a	6,64 a	1,43 a	0,38 a	0,18 a	0,46 a
F1215	133,67 a	596 b	185 a	6,68 a	1,27 a	38,72 a	38,72 a	60,17 a	33,01 a	16,39 a	11,38 a	4,16 a	0,43 a
F1230	156,78 a	617 b	681 a	6,32 a	1,32 a	34,39 a	34,39 a	78,24 a	45,02 a	26,71 a	32,82 a	15,36 a	0,34 a
F1245	193,44 a	500 b	312 a	6,60 a	3,22 a	58,50 a	58,50 a	77,33 a	71,49 a	39,68 a	38,67 a	19,20 a	0,50 a
MIX0	65,56 a	198 b	16 a	5,53 a	0,74 a	29,11 a	42,71 a	10,37 a	5,50 a	1,97 a	0,31 a	0,18 a	0,54 a
MIX15	114,33 a	501 b	131 a	7,05 a	1,21 a	40,28 a	176,01 a	48,35 a	26,41 a	12,16 a	7,85 a	2,72 a	0,62 a
MIX30	181,11 a	1196 a	544 a	6,91 a	1,49 a	32,96 a	356,62 a	126,80 a	82,48 a	27,73 a	56,79 a	22,03 a	0,60 a
MIX45	217,22 a	688 b	723 a	6,74 a	3,57 a	47,00 a	218,38 a	74,33 a	89,18 a	53,87 a	63,81 a	29,03 a	0,57 a
CV 1 (%)	12,6	37,9	46,8	9,9	62,9	18,6	39,1	34,7	33,1	29,9	47,7	36,0	22,5
CV 2 (%)	9,6	26,8	47,4	11,0	77,4	16,0	28,0	26,3	41,2	34,6	42,0	44,6	22,5