

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

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL  
*LIPPIA ALBA* (MILL) N.E.BR COM HIDROGEL, INOCULADAS  
OU NÃO COM *TRICHODERMA***

**ANA CAROLINA DE OLIVEIRA FERNANDES**

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA  
OUTUBRO-2023**

**PRODUÇÃO E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL *Lippia alba* (MILL)  
N.E.BR COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE HIDROGEL,  
INOCULADO OU NÃO COM *Trichoderma***

**ANA CAROLINA OLIVEIRA FERNANDES**

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2023

Tese 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 Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

**Orientadora:** Profa. Dra. Franceli Silva

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA  
OUTUBRO-2023**

## FICHA CATALOGRÁFICA

F363p

Fernandes, Ana Carolina Oliveira.

Produção de biomassa e teor de óleo essencial *Lippia alba* (Mill) N.e.Br com hidrogel, inoculadas ou não com *Trichoderma* / Ana Carolina Oliveira Fernandes.\_ Cruz das Almas, BA, 2023. 81f.; il.

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

Orientadora: Prof. Dra. Franceli Silva.

1.Erva-cidreira – Produção vegetal. 2.Erva-cidreira – Plantas medicinais. 3.Essências e óleos essenciais – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 633

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

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL  
*LIPPIA ALBA* (MILL) N.E.BR COM HIDROGEL, INOCULADAS  
OU NÃO COM *TRICHODERMA***

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE  
ANA CAROLINA OLIVEIRA FERNANDES**

Realizada em 27 de OUTUBRO de 2023

Profa. Dra. Franceli Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia -UFRB  
Examinador Interno (Orientadora)

Profa. Dra. Cintia Armond  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia -UFRB  
Examinador Interno

Profa. Dra. Maira Cristina Marques Fonseca  
Universidade Federal de Viçosa -UFV  
Examinador Externo

Prof. Dr. Filipe José Nogueira Madeira  
Instituto Politécnico de Bragança - IPB  
Examinador Externo

Profa. Dra. Isabel Cristina de Sousa Rodrigues  
Centro de Investigação de Montanha -CIMO  
Examinador Externo

## DEDICATÓRIA

A todos que estiveram  
comigo durante essa jornada,  
em especial ao GEPLAM.

## OFEREÇO

A Deus.

À minha família, meus **pais Antônio e Elena**, meus irmãos **Paula e Rai**, minha querida tia **Gildasia**, ao meu companheiro Wilson e aos grandes amores da minha vida Arthur e Kadu.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, por ter guiado meus passos nessa longa caminhada e por me mostrar a melhor maneira para superar os obstáculos, dando-me forças e iluminando-me, permitindo a conclusão de mais essa etapa em minha vida acadêmica.

Aos meus pais Elena e Antônio, pelo apoio, incentivo, pelo amor e dedicação, enfim por tudo o que sou.

A toda minha família em especial a minha tia Gildasia por fazer parte da minha vida e

sempre acreditar em mim.

A meus irmãos Paula e Raí pelo apoio incondicional e incentivo.

A Luiza pelo carinho e por abraçar meus filhos.

Em conjunto Luiza e Paula por não soltar a minha mão, por compartilharem dos momentos felizes e dos desesperos, tornando esse caminho mais leve.

Ao meu companheiro Wilson pelo incentivo constante e momentos partilhados.

Ao meu filho Arthur, por me mostrar a mais grandiosa forma de Amar, a meu pequeno Kadu por me mostrar o quão forte eu posso ser.

A Poli e Ju pela amizade incondicional.

Ao mestre e amigo Luciano Souza pelas, ensinamentos e Amizade. Muito obrigado por todo aprendizado, que vai muito além dos conhecimentos científicos.

Aos amigos conquistados nesta jornada, em especial a minha turma de Doutorado, Elisangela, Jaqueline, Flaviana e Carize pelos momentos que passamos juntos.

Ao GEPLAM e todos que fizeram parte desse grupo por me abraçar, por todo aprendizado compartilhado, em especial Sinara e Gilvanda, por se doarem vocês foram de suma importância para a conclusão dessa etapa.

A professora Franceli da Silva, por todos os ensinamentos, apoio, compreensão e paciência, empenho e dedicação, GRATIDÃO e “vamos em frente”.

A UFRB e todo Bloco “L” pela convivência diária.

Ao programa de pós-graduação em Ciências Agrárias, professores, alunos e funcionários.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por conceder a minha bolsa de estudos.

MUITO OBRIGADA a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que eu chegasse até aqui. Aos que citei, agradeço por acreditarem no meu potencial, principalmente quando nem eu acreditava.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

**Figura 1-** Resultado dos tratamentos sobre as mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 e 30 dias após o plantio em função dos manejos do substrato de cultivo.....55

**Figura 2:** Heatmap dos parâmetros de crescimento de mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 (A) e 30 (B) dias após o plantio, em função dos manejos do substrato de cultivo: [T1] controle; [T2] aplicação de hidrogel; [T3] inoculação com *Trichoderma asperellum*; [T4] associação hidrogel e *Trichoderma*.....56

**Figura 3:** Teor de óleo essencial de mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 e 30 dias após o plantio, em função dos manejos do substrato de cultivo.....59

### CAPÍTULO 3

**Figura 1:** Altura (a), número de hastes (b), número de folhas (c), número de inflorescências (d) de *Lippia alba*, cultivadas na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.....76

**Figura 2:** Massa fresca das folhas (a), Massa fresca das inflorescências (b), Massa fresca da raiz (c), Massa seca das folhas (d) de *Lippia alba*, cultivadas na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.....77

**Figura 3:** Massa seca das folhas (a), Massa seca da raiz (b), Diâmetro médio das hastes (c), Comprimento de raiz (d) de *Lippia alba*, cultivadas na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.....78

**Figura 4:** Teor de óleo essencial (c) de *Lippia alba*, cultivadas na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.....79

**Figura 5:** Análises de componentes principais (PCA) para as variáveis de crescimento e os teores de óleos essenciais de plantas de *Lippia alba*, na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.....80

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

**Tabela 1:** Potencial de promoção de crescimento de espécies de *Trichoderma* em plantas medicinais e seus efeitos sobre os metabólitos secundários publicados no período de 2018 a 2023.....36

### CAPÍTULO 2

**Tabela 1:** Características relacionadas ao crescimento de mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 e 30 dias após o plantio em diferentes manejos do substrato de cultivo.....53

### CAPÍTULO 3

**Tabela 1:** Variáveis Altura (ALT), Diâmetro das hastes (DH), Número de hastes (NH), Número de folhas (NF), Número de inflorescência (NI), Comprimento da raiz (CP), Massa fresca da parte aérea (MFPA), Massa fresca da raiz (MFR), Massa fresca da inflorescência (MFI), Massa seca da raiz (MSR), Massa seca da inflorescência (MSI), Massa seca da parte aérea (MSPA) e Teor de óleo essencial de *Lippia alba* analisadas em diferentes tempos de cultivo, com (CT) ou sem (ST) inoculação de *Trichoderma asperellum*.....75



## SUMÁRIO

REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25
ARTIGO 1 .....	29
<b>POTENCIAL DE <i>Trichoderma</i> spp. PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS .....</b>	<b>29</b>
1.Introdução.....	32
2.Material e Métodos .....	34
3.Resultados e Discussão .....	34
4.Conclusão .....	43
5.Referências Bibliográficas .....	44
ARTIGO 2 .....	47
<b>PRODUÇÃO DE MUDAS E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia alba</i> (MILL.) N.E.Br ex Britton &amp; P. Wilson EM DIFERENTES SUBSTRATOS COM INOCULAÇÃO DE <i>Trichoderma asperellum</i> .....</b>	<b>48</b>
1.Introdução.....	51
2.Materiais e Métodos .....	52
3.Resultados e Discussão .....	55
4.Conclusão .....	65
5.Referências Bibliográficas.....	66
ARTIGO 3 .....	70
<b>BIOMASSA, TEOR DE OLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia alba</i> (MILL.) N.E.Br ex Britton &amp; P. Wilson ASSOCIADAS AO <i>Trichoderma asperellum</i> .....</b>	<b>70</b>
1.Introdução.....	73
2.Materiais e Métodos .....	74
3.Resultados e Discussão .....	77
4.Conclusão .....	86
5.Referências bibliográficas .....	87

## **PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL) N.E.BR COM HIDROGEL, INOCULADAS OU NÃO COM *Trichoderma asperellum***

Autora: Ana Carolina Oliveira Fernandes

Orientadora: Dra. Franceli da Silva

**RESUMO:** A *Lippia alba* é uma planta medicinal que possui importância econômica devido a produção de compostos bioativos, dentre os quais podemos citar, os óleos essenciais. Sendo assim, associar o *Trichoderma* a *L. alba* pode favorecer o seu crescimento e desenvolvimento, produzindo plantas de melhor qualidade e vigor. Logo, um dos objetivos desse trabalho foi avaliar a influência do *T. asperellum* e hidrogel na produção de biomassa e metabólitos especiais e no teor de óleo essencial em mudas de *L. alba* cultivadas em casa de vegetação. As avaliações foram realizadas aos 15 e 30 dias após a inoculação. Os tratamentos influenciaram significativamente a massa fresca, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz das mudas de *L. alba* aos 15 dias, enquanto aos 30 dias influenciou na altura, massa fresca de raiz, comprimento de raiz, número de hastes e teor de óleo essencial. Os resultados indicam um efeito positivo no incremento de fitomassa das mudas de *L. alba*, aos 15 e 30 dias proporcionado pelo hidrogel e *Trichoderma*, separadamente. Já no cultivo em campo, em que o objetivo foi avaliar o efeito da inoculação com *T. asperellum* sobre a biomassa e, teor de óleo essencial em plantas de *L. alba*, a diferentes tempos após a inoculação. Aos 30 dias, todas as variáveis diferenciaram-se entre si, onde as plantas cultivadas com duas aplicações de *Trichoderma* apresentaram as maiores médias, com exceção da altura. Aos 45 dias, todas as variáveis analisadas apresentaram diferenças significativas, com médias superiores para as plantas de *L. alba* cultivadas com o *T. asperellum* em comparação com o controle (Sem *T. asperellum*), indicando que três aplicações da suspensão de *Trichoderma* já é o suficiente para aumentar o crescimento e o acúmulo de fitomassa dessas plantas. Com relação ao teor de óleo essencial, só houve diferença significativa aos 45 dias, com três aplicações de *T. asperellum*.

**Palavras-chave:** interação, medicinal, erva-cidreira

**BIOMASS PRODUCTION AND ESSENTIAL OIL CONTENT *Lippia alba*  
(MILL) N.E.BR WITH HYDROGEL, INOCULATED OR NOT WITH  
*Trichoderma***

Author: Ana Carolina Oliveira Fernandes

Adviser: Dra. Franceli da Silva

**ABSTRACT:** *Lippia alba* is a medicinal plant that has economic importance due to the production of bioactive compounds, such as essential oils. Combining *Trichoderma* with *L. alba* can favor its growth and development, producing plants of better quality and vigor. Therefore, the objective of this work was to evaluate the influence of *T. asperellum* and hydrogel on the production of biomass and special metabolites and on the essential oil content in *L. alba* seedlings grown in a greenhouse. The evaluations were carried out at 15 and 30 days after inoculation. The treatments significantly influenced the fresh mass, dry mass of the aerial part and dry mass of the roots of *L. alba* seedlings at 15 days, while at 30 days they influenced the height, fresh mass root length, root length, number of stems and essential oil content. The results indicate a positive effect on the increase in phytomass of *L. alba* seedlings, at 15 and 30 days provided by the hydrogel and *Trichoderma*, separately. The essential oil content was higher in the control seedlings, differing from the other treatments.

In field cultivation, the objective was to evaluate the effect of inoculation with *T. asperellum* on biomass and essential oil content in *L. alba* plants, at different times after inoculation. At 30 days, all variables differed from each other, where plants cultivated with two applications of *Trichoderma* presented the highest averages, with the exception of height. At 45 days, all analyzed variables showed significant differences, with higher averages for *L. alba* plants cultivated with *T. asperellum* compared to the control (Without *T. asperellum*), indicating that three applications of the *Trichoderma* suspension are already enough to increase the growth and accumulation of phytomass of these plants. Regarding the production of special metabolites, there was only a significant difference in the essential oil content after 45 days, with three applications of *T. asperellum*, which provided the highest essential oil content.

**Keywords:** interaction, medicinal, lemon balm

## REFERENCIAL TEÓRICO

### 1 *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown

A *Lippia alba* é uma espécie brasileira da família Verbenácea e, caracterizada como um arbusto de até 1,50 m de altura de ramos finos, esbranquiçados e quebradiços. É plantada e usada em todo Brasil por suas propriedades analgésicas, antiespasmódicas, calmante, sedativa e citostática; seus efeitos terapêuticos já foram comprovados cientificamente (Silva et al, 2015).

A família Verbanaceae compreende cerca de 175 gêneros e 2800 espécies distribuídas mundialmente. *Lippia* é o quarto maior gênero com aproximadamente 120 espécies, sendo abundante nas regiões do cerrado e caatinga, com destaque para a Chapada Diamantina-Bahia e Espinhaço-MG com alta diversidade desse gênero (Flora do Brasil, 2020).

A espécie é aromática, cujo aroma está relacionado aos constituintes predominantes nos óleos essenciais, os quais podem variar qualitativamente e quantitativa, em função de diversos fatores, tais como: estações do ano, época de floração, idade da planta, quantidade de água circulante, resultante da precipitação, fatores geográficos e climáticos (Aguiar et al.; 2008).

O Brasil apresenta a maior diversidade em espécies do gênero *Lippia* e está representado por cerca de 120 espécies conspícuas por sua aparência durante o período de floração curto e fragrância geralmente forte e agradável (Fabri et al., 2011). A erva-cidreira brasileira (*L. alba*) é uma planta bastante promissora para as indústrias farmacêuticas, aromáticas e perfumaria; podendo ser indicada também para indústrias de defensivos agrícolas, devido às propriedades antifúngica, inseticida e repelente (Yamamoto et al., 2008).

As excelentes características agrônômicas da *L. alba* reforçam sua aplicabilidade como produtora de óleos essenciais, tornando-a uma espécie de grande potencial industrial. É um vegetal com rápido desenvolvimento, que floresce o ano todo, com inflorescências que geram inúmeros frutos, de elevada rusticidade, sendo capaz de se desenvolver em condições de solo pouco fértil (Biasi; Costa, 2003). Assim, o óleo essencial de *L. alba*, produzidos

principalmente em suas folhas, apresenta composição química variada, a qual é influenciada pelo genótipo da planta e fatores ambientais.

A *L. alba* possui alguns quimiotipos identificados, que apresentam diferenças quanto à composição química do óleo essencial, sendo os componentes majoritários o citral, a carvona e o linalol (Julião et al., 2001). Os quimiotipos diferem quanto à resposta de enraizamento apesar de todos apresentarem certa facilidade para formação de raízes.

A obtenção de mudas para instalação de uma área de produção pode ser feita de várias maneiras. A propagação de plantas do gênero *Lippia* via sementes pode ser dificultada pelo tamanho e baixo poder germinativo das mesmas (Bispo et al., 2016), além disso, plantas reproduzidas sexualmente possuem muita variabilidade genética, e conseqüentemente variabilidade na síntese de compostos do metabolismo especial (Batista, Botrel e Figueiredo, 2015).

No estudo realizado por Biasi e Costa (2003) demonstrou que os tipos de estacas afetam no desenvolvimento das raízes, sendo recomendadas as que apresentam pelo menos um par de folhas, uma vez que estas continuam o processo fotossintético, disponibilizando carboidratos, hormônios, além de outras substâncias que estimulam o crescimento das raízes adventícias (Hartmann et al., 2011). Em outro estudo foi possível observar que não é necessário o uso do ácido indolbutírico, e que a depender da espécie de *Lippia*, existe a influência da parte de onde é retirada da planta matriz, seja da parte apical ou mediana. (Bispo, 2015).

A estaquia é uma forma de propagação vegetativa que consiste no desenvolvimento de uma nova planta formando gemas apicais e raízes adventícias, proporcionando a produção de clones (Pinto; Franco, 2009). Este método possui a vantagem de garantir a seleção de genótipos superiores, além da maior produção de mudas em menor espaço de tempo (Neves et al., 2006).

De acordo com Paiva e Gomes (2001), a propagação vegetativa é de grande importância quando se deseja multiplicar um genótipo que apresenta características que podem se perder quando propagadas por sementes. No caso das plantas medicinais, a propagação vegetativa é uma forma de evitar variações

nos teores dos princípios ativos e de manter a qualidade do produto final (Marchese & Figueira, 2005).

O processo de formação radicular é influenciado pelo substrato, que precisa fornecer água, oxigênio e nutrientes em quantidades adequadas (Souza et al., 2016). A incorporação de hidrogel aos substratos tem sido estudada nos últimos anos, pois permitem uma maior retenção de água e nutrientes, que podem ser liberados lentamente para as plantas devido aos ciclos de absorção-liberação, além de aumentarem a porosidade, e conseqüentemente o espaço de aeração (Navroski et al., 2016). Associado ao *Thichoderma* spp. pode ser uma estratégia para favorecer o crescimento de mudas de *L. alba* e um bom desenvolvimento em campo.

## **2 ÓLEOS ESSENCIAIS**

As plantas, sem exceção, produzem compostos através do seu metabolismo que são indispensáveis para garantir sua sobrevivência. Estes compostos podem ser divididos em metabólitos primários, que são encontrados em todas as células vegetais e importantes para o seu desenvolvimento, fundamentais para as funções vitais da planta como nos processos de fotossíntese, respiração, transporte de solutos e assimilação de nutrientes (Souza et al., 2010). E, em metabólitos secundários, sendo através dessas substâncias que as plantas “sentem” e “se fazem sentir” no ambiente, isto é, se comunicam com a sua biota associada. Por essas razões, designadas a esse tipo tão importante de substâncias como “metabólitos especiais” (Gottlieb & Borin, 2012), que são produzidos como forma de proteção à microrganismos e insetos predadores (Aciole, 2009).

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou essências, são misturas complexas de compostos naturais extremamente voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, com aparência oleosa à temperatura ambiente (Aciole, 2009; Cunha et al., 2012; Heinzmann et al., 2016), e vem sendo amplamente utilizadas na medicina popular, indústria cosmética, farmacêutica e alimentícia (Santos, 2019).

Nas plantas desempenham um papel importante na proteção dos vegetais contra bactérias, vírus, fungos, inclusive contra o ataque de herbívoros, além de atrair insetos polinizadores e dispersores de sementes (Bakkali et al., 2008). Pode-se citar outras funções biológicas que os óleos essenciais exercem sobre as plantas, como a proteção contra o calor e estresse oxidativo, a comunicação entre indivíduos da mesma espécie e o efeito alelopático (Unsicker et al., 2009).

Os óleos essenciais são produzidos e armazenados em estruturas secretoras que podem ser externas ou internas, podendo ser encontradas em várias partes da planta como nas sementes, cascas, caules, raízes, flores, folhas e nos frutos, como por exemplo: sementes (noz moscada), casca (pau-rosa), caule (canela), raízes (gengibre), flores (rosas e jasmim) e frutos (laranja, limão e erva-doce). A sua composição química é muito complexa, um único óleo essencial pode conter 20-200 componentes diferentes (Cunha et al., 2012; Heinzmann et al., 2016).

Sua composição pode variar conforme a localização, como por exemplo, o óleo das cascas de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) é rico em aldeído cinâmico, enquanto que os das folhas e das raízes desse mesmo vegetal são ricos em eugenol e cânfora, respectivamente. É importante ressaltar que o óleo, além de apresentar composição química, características físico-químicas e odores bem diferentes de distintas partes da mesma planta também pode variar significativamente no mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo (Simões; Spitzer, 2010).

Os óleos essenciais apresentam como propriedades físico-químicas volatilidade, instabilidade na presença de luz, oxigênio, substâncias oxidantes, redutoras, meios com pH extremos, ou meios com traços de metais que podem catalisar reações de decomposição e transformação. Dada a sua complexa composição, apresentam alta probabilidade de sofrerem modificações físico-químicas devido às reações entre seus próprios constituintes ou entre eles e o meio (Bandoni; Czepak, 2008; Astani; Reichling; Schnitzler, 2009).

Além de serem responsáveis pelo odor agradável e característico de muitos vegetais, os óleos apresentam funções biológicas variadas, tais como inibição do crescimento de outras espécies (alelopatia), proteção contra predadores e atração

de polinizadores (Inouye, 2003; Simões; Sptizer, 2010). Devido a essas características e também, por apresentarem ações biológicas e propriedades organolépticas variadas, é que os óleos essenciais são importantes matérias-primas industriais, utilizadas na manufatura de produtos nos setores da perfumaria, cosmética, farmacêutica, higiene e limpeza, alimentícia e bebidas (Pauli, 2001).

Muitos óleos voláteis são utilizados em função de suas propriedades terapêuticas e para a aromatização de formas farmacêuticas destinadas a uso oral. Os óleos apresentam propriedades farmacológicas bem estabelecidas, como ação inseticida e acaricida (JAENSON et al., 2005), antifúngica (Kordali et al., 2005), antileishmaniose (Rosa et al., 2003), antimicrobiana (Ponce et al., 2003), antioxidante (Marin et al., 2008), entre outras.

Aromas e fragrâncias incorporadas dentro dos alimentos, perfumes e produtos cosméticos possuem alto valor mundial. O interesse econômico relativo a componentes aromáticos de plantas direciona a atenção para a seleção de espécies comercialmente cultivadas, considerando quantidade e qualidade das substâncias voláteis (Paviani, 2004).

A composição dos óleos voláteis de uma planta é determinada geneticamente, mas as condições em que sobrevivem no ambiente são capazes de afetar significativamente a produção de seus metabólitos secundários (Morais, 2009). Fatores climáticos, como temperatura e umidade relativa do ar, a composição do solo em que o vegetal se desenvolve, seu ciclo vegetativo e as interações das plantas com outros organismos são alguns dos aspectos determinantes para a variabilidade química (Masotti et al., 2009)

Os óleos essenciais são formados, principalmente, por monoterpenos (C<sub>10</sub>) e sesquiterpenos (C<sub>15</sub>) voláteis de forma cíclica e acíclica. Possuem, geralmente, odor característico e auxiliam nas interações entre plantas, insetos e outros organismos, estando estes componentes presentes em quantidades variadas em diversos órgãos vegetais. São comumente encontrados nas folhas e flores, em cavidades especializadas denominadas canais secretores e pêlos glandulares (Harbone, 1987). Aromas e fragrâncias incorporadas dentro dos alimentos, perfumes e produtos cosméticos possuem alto valor no mercado 21



mundial. O interesse econômico relativo a componentes aromáticos de plantas direciona a atenção para a seleção de espécies comercialmente cultivadas, considerando quantidade e qualidade das substâncias voláteis (Paviani, 2004).

### **3 INTERAÇÃO PLANTA X MICRORGANISMO**

O entendimento da interação microrganismo-planta possui uma importância ímpar para a compreensão das interações orgânicas ao longo do processo evolutivo. (Rhoden, 2019).

As interações biológicas existentes nos ecossistemas possuem papel fundamental por garantir a perpetuação das espécies de plantas, animais ou outros seres vivos (Gonçalves, 2015; Lovatto et al., 2012; Brown, 2002). Estas por sua vez, possuem interferência direta das condições ambientais (REIS, 2005). No solo, a diversidade microbiana existente, possibilita o equilíbrio dinâmico, podendo acarretar em melhorias na estrutura física, química e biológica, a exemplo da ciclagem de nutrientes, atividades metabólicas, biorremediadores de solos contaminados, retenção e disponibilidade de água e nutrientes que são indispensáveis no funcionamento sustentável do agroecossistema (Moreira et al., 2018; Benintende et al., 2008).

A superfície das plantas é um dos primeiros sítios de contato com os microrganismos, onde há estruturas como a cutícula e os tricomas, que podem interferir nessa interação inicial. A rizosfera, camada do solo mais próxima das raízes, é o lugar onde ocorre o maior número de interações entre plantas e microrganismos (Bhattacharyya & Jha, 2012). Essa região compõe um habitat ideal para os microrganismos multifuncionais, pois nela encontram-se uma gama de compostos liberados pelas plantas (exsudatos radiculares), os quais são utilizados no metabolismo e crescimento microbiano (Rout, 2014).

A interação dos microrganismos com as plantas na rizosfera pode ocorrer de diferentes formas: microrganismos de vida livre localizados na matriz do solo rizosférico, microrganismos associados à superfície da raiz da planta ou rizoplano e microrganismos que se encontram dentro dos tecidos da raiz, nos espaços

intercelulares ou intracelulares, sendo conhecidos como endofíticos (Santoyo et al., 2016).

Além das interações intra/interespecíficas que são encontrados na rizosfera ou solo, as plantas também apresentam microrganismos associados aos seus órgãos vegetais, denominados de fungos endofíticos, estes estão presente em todos os vegetais (Firáková et al., 2007; Strobel; Daisy, 2003). Esses fungos apresentam a capacidade de viver na planta, intercelularmente, sem causar algum tipo de doença (Schulz; Boyle, 2005).

Os mecanismos pelos quais os microrganismos multifuncionais promovem o crescimento das plantas podem ser diretos ou indiretos (Vejan et al., 2016). Diretamente, aprimorando a absorção e acúmulo de nutrientes essenciais às plantas (Schlaeppli & Bulgarelli, 2015), fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, secreção de sideróforos (Bashan et al., 2013) e produção de fitormônios (González et al., 2011). Indiretamente, destacam-se o biocontrole contra pragas e fitopatógenos (Liotti et al., 2018) e a indução de resistência das plantas aos estresses bióticos e abióticos como metais pesados, deficiência hídrica e salinidade (Pietro Souza et al., 2020).

A promoção do crescimento radicular também é um dos efeitos benéficos dos microrganismos multifuncionais, pois o estabelecimento rápido das raízes laterais e adventícias é uma característica vantajosa para as plantas, aumentando a habilidade destas de se fixar ao solo e obter água e nutrientes do ambiente (Moreira & Araújo, 2013).

Algumas espécies de fungos também apresentam potencial em promover crescimento em plantas (Cadore et al., 2018). Os fungos, principalmente, os do gênero *Trichoderma* sp. exibem um papel consolidado na produção agrícola, devido a sua capacidade de colonizar a rizosfera e outros locais na parte aérea das plantas, promovendo efeitos benéficos no desenvolvimento vegetal (Mayo Pietro et al., 2020). Esse mecanismo relaciona-se ao fato de o *Trichoderma* atuar na solubilização e absorção de nutrientes, promovendo o aumento da superfície de absorção; 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, et al, 2019; Moreira et al, 2022).

Várias espécies deste gênero estão associadas à rizosfera das plantas ou podem estar relacionadas endofiticamente, podendo promover o crescimento e desenvolvimento das plantas através da produção de auxinas e giberelinas. Eles também podem produzir ácidos orgânicos (glucônico, fumárico e cítrico) que podem diminuir o pH do solo e promover a solubilização de fosfatos, magnésio, ferro e manganês, que são vitais para o metabolismo das plantas (Torres-de La Cruz et al. , 2015; Sharma et al, 2017).

Além disso, esse gênero fúngico é importante para as plantas, contribuindo no controle de fungos fitopatogênicos, pois possuem propriedades micoparasitárias e antibióticas, razão pela qual algumas espécies têm sido classificadas como excelentes agentes de controle biológico de fungos que causam doenças em diversas plantas. ( Argumedo-Delira et al., 2009 ). Este fungo retira nutrientes dos fungos que parasita e de materiais orgânicos, auxiliando na sua decomposição, para o que a adição de matéria orgânica e composto favorece a sua proliferação (Ramos et al., 2008).

O uso desse microrganismo pode também estimular a síntese de metabólitos especiais nos vegetais. Segundo Sirin et al. (2022) houve um aumento de aproximadamente 60% na produção de óleo essencial e frutos em plantas de coentro quando submetidas ao tratamento com *Trichoderma asperellum* B35. Quando este fora combinado, houve diminuição da biomassa da parte aérea e acúmulo de alguns compostos fenólicos (Ming et al., 2013).

#### **4 USO DE *TRICHODERMA* SPP. NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS**

Diversos microrganismos quando associados à planta podem promover o seu crescimento e uma série de outros benefícios no seu desenvolvimento e são referidos na literatura como microrganismos promotores do crescimento vegetal (Abhilash et al., 2016). Esses microrganismos podem ser considerados insumos tecnológicos no contexto da

economia verde, pois reduzem o uso de insumos sintéticos na produção agrícola (Chagas et al., 2017), representando assim alternativa estratégica para a intensificação sustentável de sistemas agrícolas (Steffen et al., 2018).

Os fungos do gênero *Trichoderma* tem sido bastante estudados, uma vez que estes têm se destacado na promoção de crescimento e no florescimento dos vegetais (Moreira et al., 2022). Esse mecanismo relaciona-se ao fato de o *Trichoderma* atuar na solubilização e absorção de nutrientes, promovendo o aumento da superfície de absorção; causar a diminuição dos níveis de etileno nas plantas, o que resulta em seu crescimento; melhorar a atividade fotossintética e amenizar os efeitos causados pelo estresse ambiental (Silva, 2019; Moreira et al., 2022).

O gênero *Trichoderma* compreende um grande número de espécies de fungos filamentosos de vida livre, encontrados em vários ecossistemas, habitando desde as regiões tropicais até as temperadas (Machado et al., 2012). São comumente encontrados nos solos, associado às raízes das plantas (Harman et al., 2004) e na decomposição de restos vegetais e madeira, sendo raramente associados a doenças de plantas (Srivastava et al., 2014). *Trichoderma* se destaca pela alta capacidade reprodutiva, sobrevivência em condições adversas, eficiência na utilização de nutrientes, capacidade de modificar a rizosfera e ação antagônica a fungos fitopatogênicos (Benítez et al., 2004).

Inicialmente, a promoção de crescimento de plantas pela aplicação de *Trichoderma* foi relacionada ao controle dos microrganismos prejudiciais presentes no solo (Machado et al., 2012). Porém, alguns autores apontam que a associação do *Trichoderma* com as raízes promove o crescimento das mesmas através da produção de fitohormônios e aumento da disponibilidade e maior eficiência no uso de alguns nutrientes pelas plantas (Hill, 2014).

Diferentes isolados de *Trichoderma* têm levado a aumentos significativos na porcentagem e precocidade de germinação, além de ocasionar aumento no crescimento e produtividade de culturas agrícolas inoculadas com esse bioagente, como tem sido observado em milho (*Zea mays*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), ervilha (*Pisum sativum*), grão-de-bico (*Cicer arietinum*), pepino (*Cucumis sativus*), pimentão (*Capsicum annum*), rabanete (*Raphanus sativus*), tomate (*Solanum*

*lycopersicum*), alface (*Lactuca sativa*), cenoura (*Daucus carota*) e algodão (*Gossypium sp.*), entre outras (Jyotsna et al., 2008; Hoyos-Carvajal et al., 2009).

Algumas linhagens de *Trichoderma* aumentam a superfície total do sistema radicular, possibilitando um maior acesso aos elementos minerais nele presentes. Outras são capazes de solubilizar e disponibilizar para a planta o fosfato de rocha, ferro, cobre, manganês e zinco. Também, podem melhorar os mecanismos ativos de absorção de macro e micronutrientes, bem como, aumentar a eficiência da planta para utilizar alguns nutrientes importantes, como o nitrogênio (Das et al., 2017; Woo & Pepe, 2018; Mendoza-Mendoza et al., 2018).

Este fungo pode influenciar positivamente na germinação de sementes, no desenvolvimento e rendimento da cultura devido, também, à produção de substâncias promotoras de crescimento e melhoria na nutrição das plantas, principalmente pela solubilização de fósforo, síntese de ácido in dol acético (Chagas et al., 2017), como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas e indutores de resistência de doenças nas plantas.

As espécies de *Trichoderma* predominam em ecossistemas terrestres (florestas ou solos agrícolas), têm baixas necessidades nutricionais, mas uma faixa de temperatura relativamente ampla (25-30°C) para seu crescimento (Sandle, 2014). Além disso, possuem alta adaptabilidade às condições ecológicas e podem crescer saprofiticamente, interagir com animais e plantas (Zeilinger et al., 2016), e se desenvolver em diversos substratos, o que facilita sua produção em massa para uso na agricultura (Ramos et al., 2016). É por isso que o estudo da diversidade de espécies de *Trichoderma* em vários habitats naturais, permite ampliar o conhecimento sobre a sua contribuição biotecnológica, e a sua importância ecológica e agrícola (Jaklitsch e Voglmayr, 2015; Torres-de La Cruz et al., 2015).

## **5 POLÍMEROS HIDROABSORVENTES**

Os polímeros agrícolas hidroabsorventes, também chamados de hidrogéis, são condicionadores de solo utilizados para melhorar os atributos físicos dos

solos, no que se refere ao aumento de sua capacidade de armazenagem de água e maior disponibilidade da mesma para as plantas (Tittonell et al., 2002). Os hidrogéis podem ser definidos como estruturas tridimensionais formadas a partir de macromoléculas ou polímeros hidrofílicos entrecruzados para manter sua estrutura e permitir absorção de grandes quantidades de água, sem sofrer a dissolução (Pal et al., 2009; Fan et al., 2013).

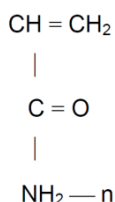
Os primeiros polímeros condicionadores de solos surgiram nos anos 50, dentre os quais o Krilium, polímero orgânico sintético com uso direcionado para a melhoria da estrutura de solos e controle da erosão. Contudo, o uso comercial desses produtos não teve sucesso, visto que os mesmos apresentavam baixa capacidade para absorver água e curta vida útil, por serem bastante atacados por microorganismos do solo (Wallace e Wallace, 1986, citado por Resende, 2000).

Pesquisas foram desenvolvidas em diversas partes do mundo, culminando, no início dos anos 80, com o surgimento de nova geração de polímeros e copolímeros à base de acrilamida, caracterizados por apresentar elevada absorção hídrica e longa vida útil. Devido à sua habilidade de absorver centenas de vezes a sua própria massa em água, esses polímeros agrícolas têm sido utilizados, principalmente, na produção de hortaliças, flores, gramados e essências florestais com ênfase na produção de mudas, visando aumentar a disponibilidade de água no solo para as plantas (Azevedo, 2000). Segundo Azevedo *et al.* (2002), os polímeros hidroabsorventes funcionam como alternativa para situações em que não haja ou seja baixa a disponibilidade de água no solo, circunstâncias de déficit hídrico ou em longos períodos de estiagem, ocasiões em que o baixo conteúdo de água no solo afeta, de forma negativa, o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

Os hidrogéis podem ser de origem natural (derivados do amido) ou sintéticos (derivados do petróleo) (Balena, 1998; Landis ; Haase, 2012). Os mais usados são os polímeros sintéticos propenamidas (originalmente denominados poliacrilamida ou PAM) e os co-polímeros propenamida-propenoato (originalmente conhecidos como poliacrilamida-acrilato ou PAA) (Terracottem, 1998; Landis ; Haase, 2012).

As poliacrilamidas não são degradadas biologicamente e, uma vez aplicadas no solo, sofrem paulatina degradação ou dissociação por ação do cultivo, dos raios ultravioletas do sol e um contínuo fracionamento por meio dos implementos agrícolas (Szmidt e Graham, 1991). O hidrogel agrícola de poliacrilamida é um produto sintético, derivado de petróleo, sendo o dióxido de carbono, a água e o amoníaco os produtos finais da dissociação, não existindo, portanto, nenhum problema relacionado à contaminação ambiental (Azevedo *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2006).

Os polímeros de poliacrilamida (PAM), formados por monômeros de acrilamida, apresentam a seguinte estruturação química (Barvenik, 1994):



A absorção de água no interior da cadeia polimérica do hidrogel refere-se à hidrofiliabilidade das cadeias. Nos primeiros estágios de hidratação do hidrogel a água fica irreversivelmente confinada por uma ligação forte nas moléculas mais polares da estrutura polimérica. Com a hidratação destas primeiras moléculas ocorre aumento da estrutura polimérica, ficando as moléculas mais hidrofóbicas expostas à água (Sabadini, 2015). A expansão e hidratação dos grupos no interior da molécula levam ao aparecimento de interação mais fraca entre as moléculas de água (DAS, 2013). Além destes dois tipos de interação de água no interior do hidrogel, ocorre ainda um terceiro fenômeno da difusão osmótica entre as cadeias.

Como relata Balena (1998), os polímeros agrícolas hidrorretentores, quanto à sua estrutura, se caracterizam pela capacidade de reter água por meio de fraca ligação de hidrogênio (H-H) e forte força de Van Der Waals (intramolecular).

Esses polímeros são um arranjo de moléculas orgânicas que, quando secos, apresentam forma granular e quebradiça; ao serem hidratados transformam-se em gel, cuja forma macia e elástica possibilita absorver cerca de quatrocentas vezes sua massa em água (Fonteno ; Bilderback, 1993). A absorção

de água em cada molécula do polímero é um processo químico, em que a água é absorvida e retida pelo produto devido à repulsão eletrostática que ocorre entre as cargas na estrutura do polímero e o mesmo se torna um gel (Varenes *et al.*, 1997). A água pode ser retirada do gel por diferença de potencial promovida pela absorção de água pelas raízes de plantas ou por evaporação atmosférica, havendo, nesses casos, redução gradual do tamanho do gel (Johnson, 1984). Essas propriedades tornam os polímeros capazes para serem aplicados em diferentes tipos de solo, em diferentes condições ambientais e para diferentes espécies de plantas (Cotthem, 1988).

A necessidade de otimizar a produção tem estimulado pesquisadores a buscar técnicas alternativas para melhoria da produtividade e redução de custos. Nesse contexto, os polímeros hidroabsorventes podem atuar como reguladores da disponibilidade de água para as culturas, aumentando a produtividade local e minimizando os riscos e os custos de produção (Mendonça *et al.*, 2013). Devido a isso, sua utilização na agricultura brasileira tem crescido nos últimos anos, principalmente na silvicultura, fruticultura, agricultura e na composição de substratos para produção de mudas (Azevedo *et al.*, 2000; Azevedo *et al.*, 2006).

Porém, Hafleet *et al.* (2008) afirmaram que um fator limitante ao uso desses polímeros é o seu custo, ainda bastante elevado, o que pode ser minimizado pela obtenção de resultados positivos com doses bastante baixas; essas pequenas doses podem trazer a melhoria das condições de retenção de água e nutrientes no substrato, propiciando alternativa na produção de mudas, com menores custos.

A adição dessa substância ao solo contribui para a germinação de sementes, desenvolvimento do sistema radicular, crescimento e desenvolvimento das plantas, redução das perdas de água de irrigação por percolação, além de redução das perdas de nutrientes por lixiviação (Henderson ; Hensley, 1986).

Nesse sentido, os polímeros sintéticos são recomendados para uso agrícola como condicionador de solo, proporcionando-lhe melhoria em atributos físico-hídricos como porosidade, densidade do solo (Azevedo *et al.*; 2002; Ekebafé *et al.*, 2011) e capacidade de retenção de água (Silva ; Toscani ,2000).



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABHILASH, PC et al. Microrganismos promotores de crescimento de plantas para a sustentabilidade ambiental. **Tendências em Biotecnologia**, v. 34, n. 11, pág. 847-850, 2016.

ACIOLE, S. D. G. (2009). Avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais das plantas amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como alternativa de controle às larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). Dissertação de Mestrado em Biologia Humana e Ambiente. Universidade de Lisboa.

AGUIAR, J S; COSTA, M. C.C; NASCIMENTO, S. C; SENA, K. X.F.R. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* ( Mill) N.E. Brown (verbenaciae). **Revista Brasileira de Farmacognosia** Brazilian Journal of Pharmacognosy 18(13): 436-440, jul./set. 2008.

AZEVEDO, T. L. F. et al. Níveis de polímero superabsorvente, frequências de irrigação e crescimento de mudas de café. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n.5, p. 1239-1243, 2002.

BALENA, S. P. **Efeito do polímero hidrorretentores nas propriedades físicos e hidráulicos de dois meios porosos**. Dissertação. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1998.

AZEVEDO, T. L. F.; BERTONHA, A.; FREITAS, P. S. L.; GONCALVES, A. C. A.; REZENDE, R.; DELIACORT, R.; BERTONHA, L. C. Retenção de soluções de sulfatos por hidrogéis de poli(acrilamida). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, n. 2, p. 287-290, 2006.

BALTZ, T. et al. Cultivation in a semi-defined medium of animal infective forms of *Trypanosoma brucei*, *T. equiperdum*, *T. evansi*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. **EMBO Journal**, v. 4, p. 1273-1277, 1985.

BANDONI, A. L.; CZEPACK, M. P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil**. Vitória: Edufes, 2008. 624p.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Bioncontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, Barcelona, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.

Bhattacharyya, P.N. e Jha, D.K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 28: 1327–1350.

BIASI, Luiz Antônio; COSTA, Giampalolo. Propagação vegetativa de *Lippia alba*. **Ciência rural**, v. 33, p. 455-459, 2003.

CADORE, L. S., Vey, R. T., Fresinghelli, J. C. F., Dotto, L. & Ethur, L. Z. (2018). Evaluation of initial growth of soybean using Trichoderma formulations. **Enciclopédia Biosfera**, 15 (27), 170-179

CHAGAS, Lillian França Borges et al. Trichoderma na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 97-102, 2017.

CUNHA, A. P., Nogueira, M. T., & Roque, O. R. (2012). **Plantas aromáticas e óleos essenciais: composição e aplicações**. Fundação Calouste Gulbenkian.

Cunha, A. P., & Roque, O. R. (2013). **Aromaterapia - Fundamentos e Utilização**, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 10 de Março de 2019

GONÇALVES, M. E. C.; BLEICHER, E. Atividade sistêmica de azadiractina e extratos aquosos de sementes de nim sobre o pulgão-preto em feijão-de-corda. **Revista Ciência Agronômica**, v. 27, p. 177-181, 2015.

GOTTLIEB, O. R., & Borin, M. R. D. M. B. (2012). Químico-biologia quantitativa: um novo paradigma? **Química Nova**, 35, 2105-2114.

HARMAN, G. E. HOWELL, C. R.; VITEBERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 2, p. 43-56, 2004.

JULIÃO, R. P. Tecnologias de Informação Geográfica e Ciência Regional: contributos metodológicos para a definição de modelos de apoio à decisão em desenvolvimento regional. 2001.

LIOTTI, Rhavena Graziela et al. Diversidade de endófitos bacterianos cultiváveis em Paullinia cupana e seu potencial para promoção do crescimento de plantas e controle de fitopatógenos. **Pesquisa microbiológica**, v. 207, p. 8-18, 2018.

LOVATTO, P.B; GOETZE, M.; THOMÉ, G.C. Efeito de extratos de plantas da família Solanaceae sobre o controle de Brevicoryne brassicae em couve (Brassica oleracea var. acephala). **Ciência Rural**, v. 34 n. 4, p. 971-978, 2012.

MACHADO, Daniele Franco Martins et al. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MARCHESE, J.A.; FIGUEIRA, G.M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.7, n.3, p.86-96, 2005.

Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J. M., & Viano, J. (2003). Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species Artemisia molinieri and its biological activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51(24), 7115-7121.

Mayo Pietro, S., Campelo, M. P., Lorenzana, A., Rodríguez González, A., Reinoso, B., Gutiérrez, S. & Casquero, P. A. (2020). Antifungal activity and bean growth promotion of *Trichoderma* strains isolated from seed vs soil. **European Journal of Plant Pathology**, 158, 817-828

MENDONÇA, T. G.; URBANO, V. B.; PERES, J. G.; SOUZA, C. F. Hidrogel como alternativa no aumento da capacidade de armazenamento de água no solo. **Water Resources and Irrigation Management**, v.2, n.2, p.87-92, 2013.

MENEZES, C. P. **Atividade Antifúngica in vitro do óleo essencial de melissa officinalis L. (Erva – Cidreira) sobre cladospodium carrionii**. Dissertação. Universidade federal da Paraíba. João Pessoa – PB. 2012. 124p.

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (Editores Técnicos). *Trichoderma: uso na agricultura*. Embrapa; Brasília, DF. 2019.

MORAIS, L. A. S. (2009). Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, 27(2), S3299-S3302.

MOREIRA, A. L. L. & Araújo, F. F. (2013). Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. Como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Árvore**, 37 (5), 933 -943.

NAVROSKI, Marcio Carlos et al. Redução da adubação e melhoria das características do substrato com o uso do hidrogel na produção de mudas de *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Ciência Florestal**, v. 26, p. 1155-1165, 2016.

PAIVA, H.N.; GOMES, J.M. Propagação vegetativa de espécies florestais. Viçosa: UFV, 2001. 46p.

PASTOR, Clara et al. Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, n. 1, p. 64-70, 2011.

PAVIANI, LOSIANE CRISTINA. Extração com CO<sub>2</sub> a altas pressões e fracionamento do óleo essencial de capim-limão utilizando peneiras moleculares. **Rio Grande do Sul: Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões–URI, Campus de Erechim**, 2004.

PIETRO-SOUZA, William et al. Mercury resistance and bioremediation mediated by endophytic fungi. **Chemosphere**, v. 240, p. 124874, 2020.

REIS, Danielle Aparecida dos; SILVA, Luciano Fernandes; FIGUEIREDO, Newton. As complexidades inerentes ao tema "mudanças climáticas": desafios e perspectivas para o ensino de física. **Ensaio Pesquisa em Educação em Ciências (Belo Horizonte)**, v. 17, p. 535-554, 2015.

RHODEN, S. A. et al. Aspectos Físicos, Químicos e Genéticos na Interação Patógeno Planta Hospedeira. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 14, n. 1, p. 34-41, 2019.

SANTOS, A. G. S. (2019). **Controle de vetores em saúde ambiental: atividade larvicida de óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* encapsulado em nanossistema polimérico frente ao mosquito *Aedes aegypti***. Dissertação de Mestrado em Gestão Ambiental, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco.

SANTOYO, G., et al., (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research. Elsevier GmbH**. 183: 92–99.

SILVA, L. A.; RESENDE, O.; VIRGOLINO, Z. Z.; BESSA, J. F. V.; MORAIS, W. A.; VIDAL, V. M.. Cinética der secagem e difusividade efetiva em folhas de jenipapo. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 17, n. 4. 2015. 10p.

SOUZA, S., MEIRA, M., FIGUEIREDO, L., & MARTINS, E. (2010). Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. **Enciclopédia Biosfera**, 6(10).

SRIVASTAVA, M., et al. **Trichoderma genome to genomics: a review**. Data Mining in Genomics & Proteomics, London, v. 5, n. 3, p. 10162, 2014.

TERRACOTTEM. **Guia técnico1.0**. Pinhais-PR: 1998. 45p.

TITTONELL, P. A.; GRAZIA, J. de; CHIESA, A.. Adición de polímeros superabsorbentes en el medio de crecimiento para la producción de plantines de pimento. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.4, 2002.

UNSICKER, S. B., KUNERT, G., & GERSHENZON, J. (2009). Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(4), 479-485.

VERVLOET FILHO, R.H. **Utilização de hidroretentor em substrato semi-saturado na produção de mudas de eucalipto**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro. 2011

WALLACE, A.; WALLACE, G. A. Effect of polymers soil conditiones on emergence of tomato seedling. **Soil Science**, v.141, n5, p321-323, 1986

ZEILINGER, Susanne et al. O metabolismo secundário na química do *Trichoderma* encontra a genômica. **Revisões de biologia fúngica**, v. 30, n. 2, pág. 74-90, 2016

**ARTIGO 1**

**POTENCIAL DE *Trichoderma spp.* PARA PROMOÇÃO DE  
CRESCIMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS**

## POTENCIAL DE *Trichoderma* spp. PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS

**Resumo:** *Trichoderma* é um dos gêneros mais estudados mundialmente, principalmente quanto ao seu potencial como agentes de biocontrole de doenças e promoção de crescimento. Porém, a grande maioria das pesquisas se restringem a grandes culturas e a fruticultura, o que abre lacunas para os demais grupos de plantas, como as de uso medicinal. Esse grupo de plantas contém em suas raízes, rizomas, caule ou folhas, óleos essenciais com propriedades medicinais utilizadas, majoritariamente, na indústria farmacêutica. Frente a notória importância do fungo *Trichoderma* para cultivos agrícolas e a necessidade de compilação dos conhecimentos atuais sobre seu efeito nas plantas medicinais, este artigo teve como objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre os possíveis mecanismos de ação do *Trichoderma* que podem influenciar no crescimento da planta, bem como a síntese de compostos bioativos, expondo de forma geral, os parâmetros morfofisiológicos e bioquímicos das plantas inoculadas, além da síntese dos constituintes com propriedades medicinais. A presente revisão reúne informações do potencial de promoção de crescimento de espécies de *Trichoderma* em plantas medicinais e seus efeitos sobre os metabólitos secundários, com foco em publicações mais atuais no período compreendido de 2018 à 2023, o que foi possível a confirmação da capacidade endofítica de *Trichoderma* spp. em diversas plantas medicinais. Esse fato aumenta as chances de obtenção de plantas com melhores características morfofisiológicas: altura, número de folhas, tamanho de flores, biomassa e teor de pigmentos fotossintéticos, além da alteração no período de floração. Contudo, o efeito sobre o crescimento da planta depende da espécie e das características bioquímicas do agente promotor. Algumas cepas de *Trichoderma* sp. apresentam habilidades como: solubilização de nutrientes e síntese de fitohormônios que influenciam diretamente no estímulo ao desenvolvimento e crescimento da planta.

**Palavras-chave:** promotor de crescimento de plantas, metabólitos, flavonóides, endofítico, status bioquímico.

## POTENTIAL OF *Trichoderma* spp. FOR PROMOTING THE GROWTH OF MEDICINAL PLANTS

**Abstract:** *Trichoderma* is one of the most studied genera worldwide, mainly regarding its potential as disease biocontrol and growth promotion agents. However, the vast majority of research is restricted to large crops and fruit growing, which leaves gaps for other groups of plants, such as those for medicinal use. This group of plants contains in their roots, rhizomes, stems or leaves, essential oils with medicinal properties used, mainly, in the pharmaceutical industry. Given the notorious importance of the *Trichoderma* fungus for agricultural crops and the need to compile current knowledge about its effect on medicinal plants, this article aimed to carry out a bibliographic survey on the possible mechanisms of action of *Trichoderma* that can influence plant growth, as well as the synthesis of bioactive compounds, exposing in general, the morphophysiological and biochemical parameters of the inoculated plants, in addition to the synthesis of constituents with medicinal properties. This review brings together information on the potential to promote the growth of *Trichoderma* species in medicinal plants and their effects on secondary metabolites, focusing on more current publications in the period from 2018 to 2023, which made it possible to confirm the endophytic capacity of *Trichoderma* spp. in various medicinal plants. This fact increases the chances of obtaining plants with better morphophysiological characteristics: height, number of leaves, flower size, biomass and photosynthetic pigment content, in addition to changes in the flowering period. However, the effect on plant growth depends on the species and biochemical characteristics of the promoting agent. Some strains of *Trichoderma* sp. present abilities such as: solubilization of nutrients and synthesis of phytohormones that directly influence the stimulation of plant development and growth.

**Keywords:** plant growth promoter, metabolites, flavonoids, endophyte, biochemical status.

## INTRODUÇÃO

Está bem estabelecido que microrganismos associados, seja de forma endofítica ou colonizado na rizosfera das raízes podem influenciar o crescimento e desenvolvimento das plantas, e esta capacidade tem sido relatada para espécies de *Trichoderma* há algumas décadas. Por exemplo, Paulitz (1986) relata um aumento significativo do peso seco da parte aérea (149%) de rabanetes cultivados em uma mistura de solo, vermiculita e *Trichoderma harzianum* comparado ao controle, apenas solo. Assim como, Chang et al. (1986), observaram maiores taxas de germinação, floração mais rápida e aumento de altura e peso fresco em diversas espécies de plantas, incluindo pimenta, pervinca e crisântemo após o tratamento do solo com *Trichoderma harzianum*. Porém, curiosamente, Ghisalberti et al. (1990) notaram a variabilidade de respostas no crescimento do trigo entre cepas de *Trichoderma harzianum* indicando que o efeito da inoculação sobre a promoção de crescimento varia entre indivíduos/cepas da mesma espécie. Desde então, numerosos artigos científicos tem comprovado a promoção do crescimento de inúmeras plantas através da inoculação de diferentes espécies e cepas do gênero *Trichoderma*.

*Trichoderma* spp. são habitantes comuns da rizosfera, fungo cosmopolita distribuído no mundo inteiro, principalmente em ambientes de clima tropical e subtropical. Inicialmente, investigados como agentes de controle biológico e, posterior comprovação de múltiplas habilidades que garantem sua diversidade funcional em sistemas agrícolas. Atua na promoção de crescimento, biocontrole de doenças e nematóides, biofertilizante e correção de solo em sistemas agrícolas e hortícolas (Vinayarani e Prakash, 2018; Moreira et al., 2021; Guzmán-Guzmán et al., 2023). Participa de vários processos bioquímicos na natureza, como solubilização de fosfato, ferro e outros nutrientes, decomposição de matéria orgânica e quelação de compostos (Vinale et al., 2014; Vinayarani e Prakash, 2018; Zhai et al., 2019; Moreira et al., 2021).

Quando associados à planta, *Trichoderma* spp. podem se tornar microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) e indutores de resistência sistêmica contra estresses biótico e abiótico (Vinayarani e Prakash, 2018; Zhai et al., 2019; Prisa et al., 2020). Nesse contexto, as plantas



hospedeiras podem se beneficiar de exsudatos intermediários e/ou finais do metabolismo secundário, como fitohormônios (auxina, giberelina, citocinina, ácido salicílico e ácido abscísico), quelantes (complexo ferro-sideróforo), enzimas (ACC-deaminase) e ácidos orgânicos que solubilizam nutrientes (Viterbo et al., 2010; Vinale et al., 2014; Alwhibi et al., 2017; Illescas et al., 2021; Pedrero-Méndez et al., 2021). Além disso, o fungo endofítico pode modular a rede de sinalização da planta, mediada por fitohormônios e alterar o status bioquímico (substâncias antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas) contribuindo com alívio do estresse oxidativo nas plantas gerado por alterações ambientais (ex: baixa fertilidade, pH do solo, salinidade, metais traços) (Zhai et al., 2019; Moreira et al., 2021; Li et al., 2022).

Embora existam diversas pesquisas sobre os efeitos benéficos da inoculação de *Trichoderma* em plantas, estes se restringem a grandes culturas e a fruticultura, em que o foco é a produtividade de frutos e/ou grãos (Moreira et al., 2021; Pedrero-Méndez et al., 2021). Isso abre lacunas para os demais grupos de plantas, como as de uso medicinal. Diferente das grandes culturas, os objetivos dos estudos com plantas medicinais têm sido a produção de óleos essenciais e de metabólitos secundários (Kushwaha et al. 2019; Zhai et al., 2019; Prisa, 2020; Li et al., 2022). A compilação dos conhecimentos sobre a interação *Trichoderma* – planta torna-se relevante para auxiliar o manejo adequado dessas culturas especiais e o sucesso de um sistema mais sustentável.

As plantas medicinais são, geralmente, herbáceas perenes, que contém em suas raízes, rizomas, caule ou folhas, óleos essenciais ou compostos bioativos utilizados principalmente na indústria farmacêutica. Esses materiais medicinais apresentam propriedades curativas devido a complexa mistura de substâncias químicas com alto poder de volatilização produzidos em todos os estágios de desenvolvimento da planta (Lermen et al., 2017; Batista et al., 2016; Lima et al., 2015).

Diante da notória importância do fungo *Trichoderma* para cultivos agrícolas e a necessidade de compilação dos conhecimentos atuais sobre seu efeito nas plantas medicinais, este artigo teve como objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre os possíveis mecanismos de ação do *Trichoderma* que podem influenciar no crescimento da planta, bem como a síntese de compostos bioativos,

expondo de forma geral, os parâmetros morfofisiológicos e bioquímicos das plantas inoculadas, além da síntese dos constituintes com propriedades medicinais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho trata-se de uma sumarização de pesquisas baseadas na comprovação da promoção de crescimento de plantas medicinais estimuladas pelo *Trichoderma* spp. e seus constituintes com propriedades medicinais. Para o levantamento de dados, buscou-se por artigos científicos que atribuíam a promoção de crescimento à inoculação fúngica, focando nos mecanismos de ação do agente promotor, nas respostas da planta, tanto morfofisiológica quanto bioquímica. Tal levantamento ocorreu entre julho e setembro de 2023, compreendendo o período de 2018 a 2023, usando como termo indexador para a pesquisa “Trichoderma plant growth promotion” e “Trichoderma stimulate growth of medicinal plant”. Visando assegurar e ampliar a abrangência desta revisão, foram consultadas as seguintes bases: Academia.edu (<https://www.academia.edu>), Google Scholar (<http://www.scholar.google.com>), Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>) e Scielo (<http://www.scielo.org>). Durante as buscas, foram excluídos diversos tipos de trabalhos, tais como artigos não indexados, teses, dissertações e resenhas, pois os mesmos poderiam não ter passado por um processo de avaliação pelos pares.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ***Trichoderma*: endofítico de plantas medicinais**

Algumas espécies de *Trichoderma* são relatadas como endofíticas de plantas medicinais. *Trichoderma koningiopsis* encontrado em raízes de *Artemisia argyi* (Shi et al., 2020), *Trichoderma citrinoviride* isolado de *Panax ginseng* (Park et al., 2019); *Trichoderma viride* em *Withania somnifera* (Kushwaha et al., 2019); *Trichoderma harzianum* em *Curcuma longa* (Vinayarani e Prakash, 2018);

*Trichoderma* sp. em raízes de *Limonium sinuatum*, *Cupressus sempervirens* e *Camelia sinensis* (Prisa et al., 2013), e em caule de *Laurus* sp. (Kaushik et al., 2020). A colonização endofítica é um indicativo da interação positiva de espécies de *Trichoderma* com diversas plantas medicinais, aumentando as chances de obtenção de plantas vigorosas e saudáveis após inoculações (Andrzejak et al., 2021; Yahya et al., 2021; Andrzejak e Janowska, 2022; Li et al., 2022).

Enzimas secretadas por *Trichoderma* que devem facilitar a colonização radicular incluem glicosídeo hidrolases, glicosiltransferases, polissacarídeo liases, carboidratos esterases e proteínas de ligação a carboidratos. Entre essas proteínas, glicosídeo hidrolases são as enzimas mais abundantes em *Trichoderma atroviride* IMI 206040, *Trichoderma virens* Gv29-8, *Trichoderma reesei* QM6a, *Trichoderma reesei* Rut C-30, *Trichoderma guizhouense* NJAU 4742, *Trichoderma harzianum* T6776, *Trichoderma parareesei* CBS 125925 e *Trichoderma gamsii* T6085 (Mendoza-Mendoza et al., 2018).

O sucesso das cepas de *Trichoderma* como agente promotor de crescimento se deve à sua alta capacidade infectiva e reprodutiva, capacidade de sobreviver em condições desfavoráveis utilizando os nutrientes disponíveis e forte competidor contra demais microrganismos do solo (Vinayarani e Prakash, 2018).

Apesar da sua capacidade infectiva e agressiva, outros microrganismos benéficos colonizam as raízes do hospedeiro juntamente com espécies de *Trichoderma*, ocupando diferentes nichos radiculares. *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma afroharzianum* favoreceu a colonização de outros promotores de crescimento, como *Macrophomina pseudophaseolina* e *Paraphoma radicina*, demonstrando a coexistência de ambos os promotores de crescimento nas raízes da planta medicinal *Astragalus mongholicus* (Li et al., 2022). E como resultado da colonização fúngica nos tecidos internos, o microrganismo exerce influência positiva sobre o status bioquímico e as características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento da planta (He et al., 2020; Tančić-Živanov et al., 2020; Moreira et al., 2021; Li et al., 2022). *Trichoderma viride* e o mix de endofíticos (*Paraboeremia putaminum*, *Scytalidium lignicola* e *Phoma herbarum*) se estabelecem nos ambientes rizosféricos e endofíticos de plantas de *Glycyrrhiza uralensis* e promovem crescimento radicular (He et al., 2020).

### **Melhoria dos parâmetros morfofisiológicos**

Os efeitos da inoculação de espécies do gênero *Trichoderma* são diversos e variam entre as espécies de plantas medicinais (Tabela 1). No geral, os efeitos benéficos são observados em parâmetros morfofisiológicos, tais como: altura do caule ou hastes, número de folhas, tamanho de flores, biomassa aérea e radicular e teor de pigmentos fotossintéticos (clorofilas e carotenóides) (Kushwaha et al., 2019; He et al., 2020; Andrzejak e Janowska, 2022). Em adição, observa-se também alteração no período de floração. Mix de espécies de *Trichoderma* (*T. hamatum*, *T. harzianum* e *T. viride*) estimulou o crescimento de brotos de inflorescência da espécie ornamental e medicinal *Gladiolus hybridus*. Plantas inoculadas apresentaram floração precoce e continham brotos e inflorescências mais longas, o que aumentou o número de flores (Andrzejak e Janowska, 2022).

Tabela 1. Potencial de promoção de crescimento de espécies de *Trichoderma* em plantas medicinais e seus efeitos sobre os metabólitos secundários publicados no período de 2018 à 2023.

Espécies	Planta Medicinal	Modificações	Constituintes bioquímicos	Referências
Mix de <i>Trichoderma</i> spp. ( <i>T. hamatum</i> , <i>T. harzianum</i> e <i>T. viride</i> )	<i>Gladiolus hybridus</i> 'Advances Red'	Floração precoce; inflorescência mais longa; maior número de flores e flores maiores; maior teor de pigmentos fotossintéticos e de nutrientes (P, K, Ca, Zn, Fe e B)	-	Andrzejak e Janowska, 2022
<i>Trichoderma afroharzianum</i> e <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	<i>Astragalus mongholicus</i>	Ganho em biomassa radicular e aérea	Flavonoides: calycosin-7- o- $\beta$ -d-glucoside e formononetina nas raízes	Li et al., 2022
Mix de <i>Trichoderma</i> spp. ( <i>T. hamatum</i> , <i>T. harzianum</i> e <i>T. viride</i> )	<i>Begonia x tuberhybrida</i> 'Picotee Sunburst'	Floração precoce; maior número de folhas, botões e flores; maior teor de clorofila e de micronutrientes (Zn, Fe e B)	-	Andrzejak et al., 2021
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Lantana camara</i>	Ganho em altura, massa seca radicular e aérea; maior teor de clorofila; aumento dos dias de floração.	-	Yahya et al., 2021
<i>Trichoderma viride</i>	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Aumento do diâmetro, área radicular e biomassa radicular e aérea	-	He et al., 2020
<i>Trichoderma viride</i>	<i>Kalanchoe</i> spp. ( <i>Kalanchoe pinnata</i> , <i>Kalanchoe tubiflora</i> and <i>kalanchoe gastonis-bonnieri</i> )	Ganho em altura, número de folhas, massa seca radicular e aérea.	Vitamina C	Prisa et al., 2020
<i>Trichoderma</i>	<i>Tulipa gesneriana</i> 'Golden	<i>T. harzianum</i> : Floração	-	Cig e Aydin, 2019

<i>harzianum</i> , <i>Trichoderma asperellum</i> <i>Trichoderma gamsii</i>	e	Parade'	precoce; <i>T. asperellum</i> : ganho em altura e diâmetro; flores maiores; <i>T. gamsii</i> : folhas maiores		
<i>Trichoderma viride</i>		<i>Withania somnifera</i>	Ganho em biomassa aérea e radicular; pigmentos fotossintéticos: clorofilas e carotenóides	witanolídeo A nos tecidos foliares e radiculares	Kushwaha et al., 2019
<i>Trichoderma citrinoviride</i>		<i>Panax ginseng</i>	Ganho em biomassa fresca aérea e radicular	-	Park et al., 2019
<i>Trichoderma asperellum</i>		<i>Artemisia annua</i>	Ganho em massa seca de folhas	artemisina	Zhai et al., 2019
<i>Trichoderma</i> sp.		<i>Gladiolus</i> 'Yellow Jester', 'Tiger Flame', 'Punjab Morning', 'Punjab Dawn', 'Pusa Kiran', 'Shubhangini', 'IIHR', and 'Dhanvantri'	Floração e inflorescência mais longa	-	Sisodia et al., 2018
<i>Trichoderma</i> sp.		<i>Gladiolus</i> 'Peter's Pear'	Nenhum efeito sobre o crescimento e a qualidade das flores/inflorescência	-	Cruz et al., 2018
<i>Trichoderma harzianum</i>		<i>Curcuma longa</i>	Ganho em altura e biomassa radicular	-	Vinayarani et al., 2018

P:fósforo;K:potássio;Ca:cálcio;Zn:zinco;Fe:ferro;B:boro.

O estudo de Andrzejak et al. (2021) demonstrou que *Trichoderma* spp. estimulam o desenvolvimento de botões e flores de *Begonia x tuberhybrida* 'Picotee Sunburst', o que resultou em florescimento precoce. De forma semelhante foi encontrado em pesquisas de Janowska et al. (2020) sobre a planta ornamental *Freesia refracta* 'Argentea', e Prisa et al. (2019) sobre *Pachyphytum oviferum* e *Crassula falcata*. Por outro lado, Cruz et al. (2018) não observaram efeitos da inoculação com *Trichoderma* spp. sobre a qualidade das inflorescências de *Gladiolus* 'Peter's Pear'. Não houve alterações no comprimento do broto da inflorescência, no comprimento da inflorescência ou no número de flores. A ambiguidade entre resultados de pesquisa representa como a afinidade micróbio/planta é um fator chave para promoção de crescimento (Moreira et al., 2023) e varia entre as cepas de *Trichoderma* (Cig e Aydin, 2019) e entre espécies de plantas (Vinayarni et al., 2018; Andrzejak et al., 2021; Andrzejak e Janowska, 2022).

Além do efeito isolado, a co-inoculação de *Trichoderma* spp. com outros microrganismos de funções ecológicas complementares também promovem o crescimento das plantas (Karuppiyah et al., 2019; Silva et al., 2019; Moreira et al., 2021). O conhecimento das características fisiológicas e bioquímicas de cada cepa amplia as possibilidades de exploração de seus potenciais benefícios, seja utilizando-as isoladamente ou em conjunto. Pesquisas atuais avaliam cada vez mais a associação de recursos biotecnológicos para diversos fins. *Trichoderma viride* e fungos endofíticos nativos do solo (ex: *Aspergillus terreus*, *Penicillium oxalicum* e *Sarocladium kiliense*) resultam em aumento de 150% do peso da parte aérea, 74% do peso da raiz, e 35% da altura de plantas de *Withania somnifera* em comparação a plantas não tratadas (Kushwaha et al., 2019). Co-inoculação de duas espécies, *Trichoderma afroharzianum* e *Trichoderma longibrachiatum*, incrementou a biomassa radicular e aérea de *Astragalus mongholicus* (Li et al., 2022).

O incremento do crescimento das plantas é resultante da ação de fatores diretos e/ou indiretos da inoculação. A secreção de compostos ativos e fitormônios (exemplo: auxinas, giberelinas, citocininas) são habilidades eminentes de algumas cepas de *Trichoderma* e que estimulam o crescimento em altura, biomassa das plantas e taxa de florescimento (Chagas et al., 2016; Jaroszuk-

Ściseł et al., 2019; Zhai et al., 2019; Moreira et al., 2021). Além do efeito sobre os parâmetros morfofisiológicos das plantas, essas substâncias auxiliam na sinalização, ou seja, na síntese de fitormônios e status bioquímico (Contreras-Cornejo et al., 2009; Rubio et al., 2017; 2019).

### **Modulação do status bioquímico de plantas medicinais**

Promotores de crescimento vegetal, como *Trichoderma* spp. podem modificar as redes de sinalização de fitohormônios nas plantas (Rubio et al., 2017; 2019). Algumas cepas produzem auxinas, fitohormônio que tem papel relevante no estímulo ao desenvolvimento e crescimento da raiz lateral (Moreira et al., 2021), bem como a enzima ACC-deaminase, que é capaz de reduzir os níveis de etileno da planta e, como resultado, promover o crescimento e prolongar a floração (Andrzejak et al., 2021). *Trichoderma* spp. também pode produzir, em maior ou menor grau, outros fitohormônios como ácido abscísico, ácido salicílico, ácido giberélico e citocinina.

Nos tecidos vegetais, algumas mudanças consideráveis no conteúdo de fitohormônios são detectadas após a inoculação de *Trichoderma* spp. (Segarra et al., 2007; Viterbo et al., 2010; Contreras-Cornejo et al., 2011). Em plantas de *Cucumis melo* inoculadas com *Trichoderma harzianum* foram observados aumentos significativos nos teores de zeatina, ácido indol-3-acético (auxina), ácido abscísico, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (precursor de etileno), ácido jasmônico e ácido salicílico nas folhas (Martínez-Media et al., 2011). Li et al. (2022) observaram o aumento dos níveis de auxinas e nitrato redutase em plantas de *Astragalus mongholicus* inoculadas. Zhang et al. (2019) demonstrou que a auxina produzida por *Trichoderma longibrachiatum* contribuiu para a concentração desse fitormônio nas raízes de mudas de trigo sob condições de estresse. Em plantas de milho, Pedreiro-Mendez et al (2021) vincula a promoção de crescimento por *Trichoderma simmonsii* a sua capacidade de sintetizar auxina, ácido abscísico e ACC-deaminase.

Nas plantas, o ACC-deaminase tem sido chave para regular a adaptação às condições ambientais desfavoráveis e degrada o precursor de etileno (Zhang et al., 2019), o que pode favorecer um maior período de florescimento em plantas. E



a auxina, além de controlar o crescimento das plantas e o desenvolvimento das raízes, pode aumentar a tolerância das plantas aos estresses abióticos, agindo como um eliminador de radicais livres e, assim, superando o estresse oxidativo (Zhang et al., 2019; Li et al., 2022).

Os fitormônios também desempenham um papel relevante na regulação da colonização da raiz por *Trichoderma*. Isso foi demonstrado em um estudo onde o *Trichoderma harzianum* aumentou a colonização radicular do mutante Sid2 de *Arabidopsis thaliana* que acumula menor quantidade de ácido salicílico em comparação ao tipo selvagem Columbia-0, sugerindo que esse fitormônio é um regulador chave da colonização radicular de *Trichoderma* (Martínez-Media et al., 2017). A colonização radicular de *Arabidopsis thaliana* por *Trichoderma asperelloides* resultou na alteração substancial do transcriptoma da planta com mudanças marcantes na expressão de genes relacionados à resposta de defesa (Martínez-Media et al., 2011).

A mensuração dos fitormônios pode ser realizada via extração e quantificação ou via expressão gênica específica. Existe uma correlação entre a expressão do gene CycB1:GUS, repórter da divisão celular na fase G2/M do ciclo celular e os efeitos induzidos pelo regulador de crescimento vegetal auxina (Martínez-Media et al., 2011).

Outro mecanismo atrelado a promoção de crescimento de plantas após a inoculação com *Trichoderma* é a modificação dos níveis de antioxidantes, incluindo as enzimas antioxidantes, catalase e superóxido dismutase, além dos fenólicos livres (Kumar et al., 2022). Os MPCP podem neutralizar os efeitos prejudiciais do estresse oxidativo, modificando o estado fisiológico e bioquímico das plantas. Aumento da prolina e redução do peróxido de hidrogênio em suas folhas de plantas inoculadas, resultando em maior estabilidade da membrana celular e homeostase celular em condições normais e de estresse (El-Esawi et al. 2020; Li et al., 2022; Moreira et al., 2023). Isso sugere que esses microrganismos auxiliam na prevenção do estresse oxidativo.

### **Síntese de metabólitos secundários de plantas medicinais**

Plantas medicinais contém compostos bioativos, com propriedades curativas utilizadas para o homem, que se trata de metabólitos secundários utilizado estrategicamente pela planta para sua defesa e sobrevivência, protegendo-a de predadores herbívoros, ataques de pragas e patógenos, condições climáticas adversas, e atuando também, como compostos sinalizadores atrativos de polinizadores e antioxidantes (WINK, 2015). Existem vários dispostos na literatura, alguns específicos ao gênero, outros presentes na maioria das plantas. Withanolídeo, por exemplo, é um tipo de lactona esteróide de valor medicinal no gênero *Withania*. São abundantes nos tecidos radicular e foliar. Até o momento, todas as lactonas esteróides junto com seus derivados glicosilados foram relatados, como withanolídeo A, withaferina A, withanolídeo D, withanona, withanosídeo IV, withanosídeo V, e assim por diante (Trivedi et al. 2016). A planta *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. possui diversos efeitos farmacológicos e funções biológicas devido aos seus constituintes como a glicirrizina e o ácido glicirrízico (He et al., 2020).

O acúmulo de compostos bioativos pode ser estimulado por *Trichoderma* spp. Kushwaha et al. (2019) observou o maior teor de withanolídeo em folhas de *Withania somnifera* após a inoculação com *Trichoderma viride*. Maiores teores de calicosina-7- $\alpha$ - $\beta$ -D-glicosídeo e formononetina foram encontradas em raízes de *Astragalus mongholicus* inoculadas. Essas substâncias são indicadores para avaliar a qualidade de raízes nessa espécie. Sob estresse hídrico, algumas espécies de *Trichoderma* melhorou significativamente o teor de calicosina-7- $\alpha$ - $\beta$ -D-glicosídeo nas folhas (Li et al., 2022). Em *Artemisia annua*, Zhai et al. (2019) elucidou a superexpressão dos genes chave relacionados a biossíntese da artemisinina após a inoculação com *Trichoderma asperellum*.

Além do mecanismo inerente a planta, o microrganismo endofítico também produz metabólitos secundários com propriedades antibióticas que podem auxiliar a planta, seja no biocontrole de doenças seja na herbivoria (Park et al., 2018). Em extrato de *Trichoderma* spp. foram identificados quatro compostos: eburicol (4,4,14 $\alpha$ ,24-tetrametil-5 $\alpha$ -colesta-8); 24(24')-dien-3 $\beta$ -ol, estigmast-4-eno-3-ona; ergosterol (ergosta-5, 7, 22-trieno-3 $\beta$ -ol) e peróxido de ergosterol (3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,22E)-5,8-epidioxiergosta-6,22-dien-3-ol) (Kaushik et al., 2020). Curiosamente, em análise GC-MS (cromatografia gasosa) do extrato de *Trichoderma pseudokoningii*

foi encontrado undecano, composto predominante na amostra e previamente isolada de uma planta medicinal *Equisetum arvense* (Altameme et al. 2015).

## CONCLUSÃO

Os dados presentes na literatura e unidos nesta revisão, demonstram que as espécies de *Trichoderma* são endofíticas à maioria das plantas medicinais, indicando a interação positiva de entre espécies, o que aumentam as chances de obtenção de plantas vigorosas e saudáveis após inoculações. O sucesso dessa interação positiva advém da alta capacidade infectiva e reprodutiva do *Trichoderma* e dos benefícios gerados ao hospedeiro. Quanto aos parâmetros de crescimento, a planta apresenta ganho em biomassa aérea e radicular. Quanto aos bioquímicos, ocorre reajuste dos teores de fitormônios, o que resulta nas alterações de floração, teores de substâncias antioxidantes e metabólitos secundários com propriedades medicinais.

Em conclusão, esse levantamento apontou a relevância de espécies de *Trichoderma* como agentes de promoção de crescimento em plantas medicinais e modulação do status bioquímico, principalmente, na rede de fitormônio endógeno. A eficácia do uso desse recurso é comprovada em inúmeros estudos assinalados nessa revisão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTAMEME, H.J.; HAMEED, I.H.; ABU-SERAG, N.A. Analysis of bioactive phytochemical compounds of two medicinal plants, *Equisetum arvense* and *Alchemilla vulgaris* seed using gas chromatography mass spectrometry and fourier-transform infrared spectroscopy. **Malays Appl Biol**, v. 44, p.47–58, 2015.

ALWHIBI, M.S., et al. EGAMBERDIEVA, D. Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. **J. Integr. Agric.**, v. 16, p. 1751–1757, 2017.

ANDRZEJAK, R.; JANOWSKA, B. Flowering, nutritional status, and content of chloroplast pigments in leaves of *Gladiolus hybridus* L. 'Advances Red' after application of *Trichoderma* spp. **Sustainability**, v. 14, n. 4576, 2022. doi: 10.3390/su14084576.

ANDRZEJAK, R.; JANOWSKA, B.; REŃSKA, B.; KOSIADA, T. Effect of *Trichoderma* spp. and fertilization on the flowering of *Begonia x tuberhybrida* Voss. 'Picotee Sunburst'. **Agronomy**, v. 11, n. 1278, 2021. doi: 10.3390/agronomy11071278.

BATISTA, D.S.; CASTRO K. M; et al. Light quality affects in vitro growth and essential oil profile in *Lippia alba* (Verbenaceae). **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 52, p. 276-282, 2016.

CHAGAS, L.F.B., et al. Efficiency of *Trichoderma* sp. as a growth promoter of cowpea (*Vigna unguiculata*) and analysis of phosphate solubilization and indole acetic acid synthesis. **Braz. J. Bot.**, v. 39, n. 2, p. 1–9, 2016.

CHANG, Y.C.; BAKER, R.; KLEIFELD, O.; CHET, I. Increased growth of plants in the presence of the biological-control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Dis**, v. 70, n. 2, p. 145–148, 1986.

CIG, A.; AYDIN, M.H. The effects of *Trichoderma* species on some parameters of the tulip (*Tulipa gesneriana* cv. “Golden Parade”) *Fresen. Environ. Bull.*, v. 28, p. 1522–1530, 2019.

CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiol.**, v. 149, p. 1579–1592, 2009.

CONTRERAS-CORNEJO, H.A. et al. *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal and camalexin dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. **Plant Signal Behav**, v. 6, p. 1554–1563, 2011. <https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17443>

CRUZ, L.; LUDWIG, F.; STEFFEN, G.; MALDANER, J. Development and quality of gladiolus stems with the use of vermicompost and *Trichoderma* sp. in substrate. **Ornam. Hortic.**, v. 24, p. 70–77, 2018. doi: 10.14295/oh.v24i1.1131.

GHISALBERTI, E.L.; NARBAY, M.J.; DEWAN, M.M.; SIVASITHAMPARAM, K. Variability among strains of *Trichoderma harzianum* in their ability to reduce take-all and to produce pyrones. **Plant and Soil**, v. 121, p. 287-291, 1990.

GUZMÁN-GUZMÁN, P. et al. *Trichoderma* Species: Our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases—A Review. **Plants**, v. 12, n. 432, 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12030432>

ILLESCAS, M.; PEDRERO-MÉNDEZ, A.; PITORINI-BOVOLINI, M.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Phytohormone production profiles in *Trichoderma* species and their relationship to wheat plant responses to water stress. **Pathogens**, v. 10, n. 991, 2021.

JANOWSKA, B.; ANDRZEJAK, R.; KOSIADA, T. The influence of fungi of the *Trichoderma* genus on the flowering of *Freesia refracta* Klatt ‘Argentea’ in winter. **Hort. Sci.**, v. 47, p. 203–210, 2020.

JAROSZUK-ŚCISEŁ, J., et al. Phytohormones (auxin, gibberellin) and ACC deaminase in vitro synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this strain conidia. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 20, n 4923, 2019.

KARUPPIAH, V.; SUN, J.; LI, T.; VALLIKANNU, M.; CHEN, J. Co-cultivation of *Trichoderma asperellum* GDFS1009 and *Bacillus amyloliquefaciens* 1841 causes differential gene expression and improvement in the wheat growth and biocontrol activity. **Front. Microbiol.**, v. 10, n. 1068, p. 1–16, 2019.

KAUSHIK, N.; DÍAZ, C.E.; CHHIPA, H.; FERNANDO JULIO, L.; ANDRÉS, M.F.; GONZÁLEZ-COLOMA, A. Chemical composition of an aphid antifeedant extract from an endophytic fungus, *Trichoderma* sp. EFI671. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, p. 420, 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030420>

KUMAR, S. et al. *Trichoderma viride* - Mediated modulation of oxidative stress network in potato challenged with *Alternaria solani*. **J. Plant Growth Regul.** p. 1–18, 2022. doi: 10.1007/s00344-022-10669-3.

KUSHWAHA, R.K. et al. Compatibility of inherent fungal endophytes of *Withania somnifera* with *Trichoderma viride* and its impact on plant growth and withanolide Content. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, p. 1228–1242, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09928-7>

LERMEN, C.; CRUZ, R.M.S; et al. Growth of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi with different levels of humic substances and phosphorus in the soil. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2017.

LIMA, C.B.; BOAVENTURA, A.C.; GOMES, M.M. Cuttings of *Lippia alba* with emphasis on time for seedling formation, substrates and plant growth regulators. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 230-235, 2015.

LI, M.; REN, Y.; HE, C.; YAO, J.; WEI, M.; HE, X. Complementary effects of dark septate endophytes and *Trichoderma* strains on growth and active ingredient accumulation of *Astragalus mongholicus* under drought stress. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 920, 2022. <https://doi.org/10.3390/jof8090920>

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ROLDÁN, A.; ALBACETE, A.; PASCUAL, J.A. The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. **Phytochemistry**, v. 72, p. 223–229, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.11.008>

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; VAN WEES, S.C.M.; PIETERSE, C.M.J. Airborne signals from *Trichoderma fungi* stimulate iron uptake responses in roots resulting in priming of jasmonic acid-dependent defences in shoots of *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum*. **Plant Cell Environ**, v. 40, p. 2691–2705, 2017. <https://doi.org/10.1111/pce.13016>

MENDOZA-MENDOZA, A. et al. Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: role of the fungal secretome. **Fungal Biol Rev**, v. 32, p. 62–85, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.12.001>

PARK, Y.H.; MISHRA, R.C.; YOON, S.; KIM, H.; PARK, C.; SEO, S.T.; BAE, H. Endophytic *Trichoderma citrinoviride* isolated from mountain-cultivated ginseng (*Panax ginseng*) has great potential as a biocontrol agent against ginseng pathogens. **Journal of Ginseng Research**, v. 43, p. 408-420, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.03.002>

PAULITZ, T.; WINDHAM, M.; BAKER, R. Effect of peat: vermiculite mixes containing *Trichoderma harzianum* on increased growth response of radish. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 111, n. 5, p. 810-816, 1986.

PEDRERO-MÉNDEZ, A.; INSUASTI, H.C.; NEAGU, T.; ILLESCAS, M.; RUBIO, M.B.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Why is the correct selection of *Trichoderma* strains important? The case of wheat endophytic strains of *T. Harzianum* and *T. simmonsii*. **J. Fungi**, v. 7, n. 1087, 2021.

PRISA D. *Trichoderma viride* inoculated in the growing medium for the vitamin C increase in the leaves of *Kalanchoe* spp. and defense against *Pithyum* sp. **Adv. Res. Rev.**, v. 5, p. 89–96, 2020. doi: 10.30574/gscarr.2020.5.2.0108.

PRISA, D. *Trichoderma harzianum*: Biocontrol to *Rhizoctonia solani* and biostimulation in *Pachyphytum oviferum* and *Crassula falcata*. **WJARR**, v. 3, p. 11–18, 2019.

PRISA, D.; SARROCCO, S.; FORTI, M.; BURCHI, G.; VANNACCI, G. Endophytic ability of *Trichoderma* spp. as inoculants for ornamental plants innovative substrates. **Biocontrol of plant pathogens in sustainable agriculture**, v. 86, p. 169-174, 2013.

RUBIO, M.B. et al. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptative responses of tomato plants to salt stress. **Front. Plant Sci.**, v. 8, n. 294, 2017.

RUBIO, M.B. et al. Early root transcriptomic changes in wheat seedlings colonized by *Trichoderma harzianum* under different inorganic nitrogen supplies. **Front. Microbiol.**, v. 10, n. 2444, 2019.

## ARTIGO 2

**PRODUÇÃO DE MUDAS E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson EM DIFERENTES SUBSTRATOS COM INOCULAÇÃO DE *Trichoderma asperellum***

**PRODUÇÃO DE MUDAS E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson EM DIFERENTES SUBSTRATOS COM INOCULAÇÃO DE *Trichoderma asperellum***

**Resumo:** A *Lippia alba* é muito utilizada devido às suas propriedades medicinais e por produzir óleo essencial que são utilizados em vários segmentos da indústria e necessita ter sua cadeia produtiva desenvolvida para aumento da produção desse bioativo. Microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) podem melhorar a qualidade morfofisiológica de mudas devido às suas habilidades bioquímicas. Aliado a isso, pode melhorar as propriedades físicas do substrato devido à sua



capacidade de retenção de água, favorecendo o crescimento das mudas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o uso de hidrogel e *Trichoderma asperellum* nos substratos para produção de mudas de *L. alba*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, contendo 4 tratamentos e 10 repetições. As mudas foram cultivadas em substrato contendo solo e humus na proporção dois para um e receberam os seguintes tratamentos: 1. Controle (sem hidrogel e sem *Trichoderma*); 2. Aplicação de hidrogel; 3. Inoculação com *Trichoderma asperellum*; 4. Associação de hidrogel e *Trichoderma*. Aos 15 e 30 dias após o plantio, altura, diâmetro, número de folhas e de hastes, comprimento radicular, massa fresca e seca da parte aérea e radicular, bem como suas relações foram avaliadas. Os resultados nos tratamentos foram significativas em todas as características. A inoculação com *T. asperellum* produziu maior crescimento, aproximadamente, 50,7% em massa fresca e 33,6% em massa seca, em comparação ao controle. A aplicação de hidrogel ao substrato também melhorou as características, resultando em aumento de 37,9% (MFPA), 55,4% (MFR), 44,5% (MFT), 20% (MSPA) e 22,3% (MST), em comparação ao controle. Conclui-se que a inoculação com *T. asperellum* pode ser uma estratégia na produção de mudas de qualidade e redução do tempo de permanência das mudas de *L. alba* em viveiro.

**Palavras-chave:** hidrogel; microrganismo promotor de crescimento de plantas; planta medicinal

**SEEDLING PRODUCTION AND ESSENTIAL OIL CONTENT OF *Lippia alba* (MILL.) N.E.Br ex Britton & P.Wilson IN DIFFERENT SUBSTRATES WITH INOCULATION OF *Trichoderma asperellum***

**Abstract:** *Lippia alba* is widely used due to its medicinal properties and because it produces essential oils that are used in various segments of the industry and needs to have its production chain developed to increase the production of this bioactive. Plant growth promoting microorganisms

(MPCP) can improve the morphophysiological quality of seedlings due to their biochemical abilities. In addition, it can improve the physical properties of the substrate due to its water retention capacity, favoring the growth of seedlings. This work aimed to evaluate the use of hydrogel and *Trichoderma asperellum* in substrates for the production of *L. alba* seedlings. The experimental design was completely randomized, containing 4 treatments and 10 replications. The seedlings were grown in a substrate containing soil and humus in a two-to-one ratio and received the following treatments: 1. Control (without hydrogel and without *Trichoderma*); 2. Application of hydrogel; 3. Inoculation with *Trichoderma asperellum*; 4. Association of hydrogel and *Trichoderma*. At 15 and 30 days after planting, height, diameter, number of leaves and stems, root length, fresh and dry mass of the aerial and root parts, as well as their relationships were evaluated. The results in the treatments were significant in all characteristics. Inoculation with *T. asperellum* produced greater growth, approximately 50.7% in fresh mass and 33.6% in dry mass, compared to the control. Applying hydrogel to the substrate also improved the characteristics, resulting in an increase of 37.9% (MFPA), 55.4% (MFR), 44.5% (MFT), 20% (MSPA) and 22.3% (MST), compared to the control. It is concluded that inoculation with *T. asperellum* can be a strategy for producing quality seedlings and reducing the length of time *L. alba* seedlings spend in the nursery.

**Keywords:** hydrogel; plant growth promoting microorganism; medicinal plant

## INTRODUÇÃO

*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, família Verbenaceae, é um arbusto aromático, normalmente com 1 a 1,5 metros de altura; possui folhas membranáceas, pecioladas, pubescentes de sabor forte e com o cheiro típico de limão (JOSHI et al., 2018). Conhecida popularmente como erva-cidreira, esta espécie, assim como as demais do gênero *Lippia*, produz óleos essenciais com propriedades antifúngicas, inseticidas e repelentes; e tem potencial para aplicações etnobotânicas em diversas indústrias: farmacêutica, aromática e de perfumaria; química agrícola (Costa et al., 2020; Gomes et al., 2018; Yamamoto et al., 2008). O óleo essencial de *Lippia alba* tem sido relatado como fonte potencial de vários compostos, uma mistura de hidrocarbonetos saturados e insaturados, álcoois, aldeídos, ésteres, éteres, cetonas, fenóis e terpenos (ALI et al., 2015), comumente empregado na forma de infusão de folhas.

Os óleos essenciais são produzidos em diferentes estágios de desenvolvimento da planta, no entanto, a qualidade e a quantidade dos seus constituintes dependem, dentre outros fatores, da fase de crescimento da planta, fertilidade do substrato de cultivo e interação com a microbiota do solo (Zhal et al., 2019; Lermen et al., 2017; Batista et al., 2016; Lima et al., 2015), incluindo fungos.

Portanto, ter promotores de crescimento na produção de mudas de *L. Alba* pode influenciar na produção de óleo e no seu crescimento e desenvolvimento no campo (Jesus, 2020).

A inoculação com microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) tem sido gradativamente utilizada como uma estratégia de manejo em sistemas agrícolas para reduzir aplicação de insumos químicos e como agentes de controle biológico. *Trichoderma* é um dos gêneros fúngicos dos MPCP mundialmente estudados. Este gênero contém espécies que promovem crescimento e melhoram a nutrição das plantas, e minimizando os resultados de condições ambientais adversas (Moreira et al., 2021; Silva et al., 2019). Ao se estabelecer no ambiente rizosférico e/ou endofítico da planta hospedeira, o

*Trichoderma* sp. promove qualidade morfofisiológica. Em geral, os benefícios se resumem no incremento em altura, diâmetro, número de folhas, biomassa aérea e radicular e volume de raízes (Moreira et al., 2021; ZHAI et al., 2019). Entretanto, são raros os relatos sobre o uso de MPCP para promover o crescimento de plantas medicinais. Uma melhor compreensão da promoção de crescimento vegetal aliado à produção de óleos essenciais será útil para o manejo sustentável em agroecossistemas.

Em adição, os microrganismos participam de vários processos bioquímicos, como solubilização de fosfato, ferro e outros nutrientes, decomposição de matéria orgânica, quelação de compostos, que podem potencializar os resultados benéficos de fertilizantes orgânicos (Moreira et al., 2021; Zhai et al., 2019; Xiao et al., 2013). Assim, a integração de técnicas complementares no manejo adequado de culturas são fundamentais para o sucesso do sistema.

Os hidrogéis são materiais formados por uma rede de polímeros com características hidrofílicas, e quando secos apresentam-se na forma de pequenos grânulos, que possuem a capacidade de dispersar a água entre suas cadeias, promovendo a formação de um gel (Bartieres et. al., 2016; Ahmed, 2015). A aplicação do hidrogel tem resultados satisfatórios em campo, especialmente na cultura do eucalipto. A associação de fungos micorrízicos arbusculares e hidrogel em plantas sob regime de déficit hídrico promove aumento na biomassa radicular, acúmulo foliar de carboidratos e teor de óleo essenciais em eucalipto (Palhares Neto et al, 2022).

Desse modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o uso de hidrogel e *Trichoderma asperellum* nos substratos para produção de mudas de *L. alba*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Condições experimentais

O experimento foi conduzido na Biofábrica situada na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (12°40'39"S,

39°06'23", 226 m de altitude) em Cruz das Almas – BA, Brasil. O clima local é do tipo Af (floresta tropical chuvosa), segundo a classificação de Köppen e Geiger, com temperatura média anual de 23 °C.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, 4 tratamentos com 10 repetições, totalizando 40 unidades experimentais. Os tratamentos seguem as seguintes descrições: [T1] Controle – ausência de inoculação fúngica e de hidrogel; [T2] aplicação de hidrogel; [T3] inoculação com *Trichoderma*; [T4] associação hidrogel e *Trichoderma*.

Os substratos de cultivo foram preparados a partir da homogeneização de solo e húmus (2:1) O solo foi um Latossolo Amarelo distrófico coletado na camada subsuperficial (> 40 cm de profundidade), onde há baixa incidência de patógenos e sementes de plantas espontâneas, e com baixo nível de nutrientes, constituindo um material inerte. O húmus foi adquirido na fazenda experimental da UFRB. Após a homogeneização, solo e húmus foram acondicionados em sacos de polietileno para mudas com capacidade de 1 kg.

*Trichoderma asperellum* (isolado TCS87) foi obtido da coleção de microrganismos do laboratório de Microbiologia da mesma instituição e reativado em meio batata dextrose ágar (BDA), então incubado em BOD a 25 °C, fotoperíodo de 12 h, durante sete dias. A suspensão fúngica foi preparada através da raspagem do micélio com o auxílio de água destilada e esterilizada, e posteriormente, contagem dos esporos em câmara de Neubauer. A concentração final da suspensão foi ajustada para  $10^7$  esporos mL<sup>-1</sup>.

### **Material vegetal e condições de crescimento**

Estacas de *Lippia alba* com, aproximadamente, 20 cm de comprimento e 1 par de folhas reduzidas foram dispostas nos diferentes substratos de cultivo de acordo aos tratamentos, uma estaca por recipiente. Nos tratamentos contendo hidrogel, aplicou-se 3,5 g kg<sup>-1</sup> em dose única no momento do plantio das estacas. A cada duas semanas, suspensão de *Trichoderma asperellum* foi adicionada ao substrato ao redor da planta, de acordo aos seus respectivos tratamentos. A irrigação foi conduzida diariamente.

### **Características de crescimento**

Após 15 dias do plantio das estacas, as seguintes características foram avaliadas: altura da planta (H), diâmetro do caule (DC), número de hastes (NH) e número de folhas (NF). Aos 30 dias após o plantio das estacas, além das características supracitadas, o comprimento da raiz (CR) também foi avaliado. Então, as mudas foram segmentadas em parte aérea (MFPA) e radicular (MFR) e pesadas para a obtenção das massas frescas (MFT); secas em estufa de ventilação de ar forçado à  $65 \pm 5$  °C até obtenção do peso constante, e posteriormente, mensuração das massas secas em ambas as partes, MSPA, MSR e MST, e suas relações, IQD (Índice de Qualidade de Dickson) (DICKSON et al., 1960). O Incremento de biomassa seca (IC) de mudas tratadas com *Trichoderma* e/ou hidrogel com base no controle foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{IC (\%)} = ((\text{MSTtratadas} - \text{MSTcontrole})/\text{MSTcontrole}) * 100$$

### **2.3 Extração e teor de óleo essencial**

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de hidrodestilação, no equipamento Clevenger, segundo método Santos et al., 2004. Após a secagem a 45°C das folhas em estufa com circulação forçada, as folhas foram colocadas num balão volumétrico com capacidade para 2000 mL, em seguida, foi adicionada água destilada necessária para cobrir todo o material vegetal. O balão foi comportado numa manta térmica, dando início ao processo de hidrodestilação. O processo de extração durou em torno de 120 minutos contando a partir da condensação da primeira gota. Após o processo de extração, o óleo essencial foi retirado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur,

pesado em balança analítica e colocado em um recipiente de vidro com capacidade de 2 ml, etiquetado e armazenado sob refrigeração, ao abrigo da luz até o momento do uso.

Para determinação do teor de óleo essencial foi utilizada a equação descrita por Santos et al. (2004):

$$TO (\%) = Vo/Bm \times 100$$

No qual,

TO = teor de óleo essencial (mL de óleo essencial em 100 g de biomassa úmida);

Vo = volume de óleo essencial lido na escala do tubo separador; Bm = biomassa vegetal;

100 = fator de conversão para porcentagem.

## 2.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância e comparações múltiplas de médias por meio do teste Tukey ( $p < 0,05$ ). Valores foram expressos como média  $\pm$  erro padrão, e as diferenças estatisticamente significativas foram marcadas com letras diferentes. Os dados foram submetidos a heatmap para resumir de forma concisa a relação entre os tratamentos e parâmetros usando o pacote FactoMineR do programa R Development Core Team (2022).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ***Trichoderma asperellum* estimula o crescimento em mudas de *Lippia alba***

Os resultados mostraram mudanças nas características relacionadas ao crescimento das mudas em função dos tratamentos. Os resultados dos tratamentos foram significativos nas características avaliadas de acordo ao

tempo. Em 15 dias, verificou-se resultado significativo ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos sobre MFPA, MFR, MFT, MSPA e MST. Dentre os tratamentos, a inoculação com *Trichoderma asperellum* produziu maior crescimento, aproximadamente, 36,6% (MFPA), 67,5% (MFR), 50,7% (MFT), 27,3% (MSPA), 33,6% (MST) em comparação ao controle (Tabela 1).

**Tabela1.** Características relacionadas ao crescimento de mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 e 30 dias após o plantio em diferentes manejos do substrato de cultivo.

Parâmetros	Tempo	Tratamentos				CV(%)
		[T1] Controle	[T2] Hidrogel	[T3] Tricho	[T4] Hidro+Tricho	
H	15 dias	26,70a	31,36a	31,45a	31,36a	14,57
	30 dias	38,50ab	39,55ab	47,80a	36,32b	22,39
DC	15 dias	20,00a	21,00a	20,50a	21,00a	9,98
	30 dias	24,00a	24,00a	27,00a	22,75a	21,52
NH	15 dias	3,60a	3,90a	3,00a	3,90a	30,07
	30 dias	5,60a	3,90ab	5,80a	3,30b	39,75
NF	15 dias	27,50a	29,30a	25,20a	29,30a	25,75
	30 dias	27,10a	22,70a	30,70a	19,62a	38,89
CR	15 dias	21,15a	21,45a	24,80a	21,45a	26,00
	30 dias	23,35a	20,30ab	23,39a	14,04b	29,02
MFPA	15 dias	2,22b	3,58a	3,50a	2,27b	33,88
	30 dias	3,99b	4,84ab	6,12ab	6,85a	34,98



MFR	15 dias	0,98b	2,20ab	3,02a	1,03b	33,13
	30 dias	1,92b	2,05b	6,37a	3,47b	21,77
MFT	15 dias	3,21b	5,78a	6,51a	3,31b	42,79
	30 dias	5,92c	6,88bc	12,50a	10,36ab	38,51
MSPA	15 dias	0,48ab	0,60a	0,66a	0,36b	35,67
	30 dias	0,74b	0,85ab	1,24a	1,14ab	37,56
MSR	15 dias	0,25a	0,34a	0,44a	0,21a	47,37
	30 dias	0,34b	0,48ab	0,75a	0,53ab	20,79
MST	15 dias	0,73ab	0,94ab	1,10a	0,58b	47,50
	30 dias	1,09b	1,33ab	1,99a	1,69ab	39,07
IQD	15 dias	0,22a	0,28a	0,35a	0,19a	27,07
	30 dias	0,29b	0,39ab	0,58a	0,46ab	49,15

H: altura; DC: diâmetro do caule; NH: número de hastes; NF: número de folhas; CR: comprimento radicular; MFPA: massa fresca da parte aérea; MFR: massa fresca de raízes; MFT: massa fresca total; MSPA: massa seca da parte aérea; MSR: massa seca de raízes; MST: massa seca total; IQD: índice de qualidade de Dickson; CV: Coeficiente de Variação. Mesmas letras na linha não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A aplicação de hidrogel ao substrato também melhorou as características, resultando em aumento de 37,9% (MFPA), 55,4% (MFR), 44,5% (MFT), 20% (MSPA) e 22,3% (MST), em comparação ao controle. Em relação ao tratamento hidrogel + *Trichoderma*, as características avaliadas foram semelhantes ao controle em 15 dias após o plantio (Tabela 1).

Em 30 dias, verificou-se resultado significativo ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos sobre todas as características avaliadas, exceto diâmetro do caule e número de folhas. Dentre os tratamentos, a inoculação com *Trichoderma asperellum*

também produziu maior crescimento, em torno de 19,4% (H), 34,8% (MFPA), 69,8% (MFR), 52,6% (MFT), 40,3% (MSPA), 54,6% (MSR), 45,22% (MST) e 50% (IQD) em comparação ao controle (Tabela 1). Os resultados dos tratamentos [T2] aplicação de hidrogel e [T4] associação hidrogel + *Trichoderma* foram positivos nas características: MFPA (17,6% e 41,7%), MFR (6,3% e 44,6%), MFT (13,9% e 42,8%), MSPA (12,9% e 35,1%), MSR (29,2% e 35,8%), MST (18,0% e 35,5%) e IQD (25,6% e 36,9%) em comparação ao controle (Tabela 1).

Quanto ao Índice de qualidade de Dickson (IQD), que é utilizado para atestar a qualidade de mudas levando em consideração vários parâmetros morfológicos como altura, diâmetro do colo, massa seca de raiz, massa seca de parte aérea, massa seca total e a relação entre eles, quanto maior for o valor do IQD, melhor será a qualidade da muda (Vidal et al., 2006).

Mudas de de *Lippia alba* produzidas em substratos contendo hidrogel e *Trichoderma asperellum* apresentaram incremento de biomassa seca IC de 58% em relação ao controle, e isso foi observado apenas 30 dias após o plantio.

*Trichoderma asperellum* estimulou a expansão do sistema radicular das mudas, alterando assim o volume, comprimento e número de raízes. Este resultado foi melhor observado em mudas crescidas 30 dias após o plantio. No tratamento controle, observou-se menor número e comprimento das raízes (Figura 2, Tabela1).

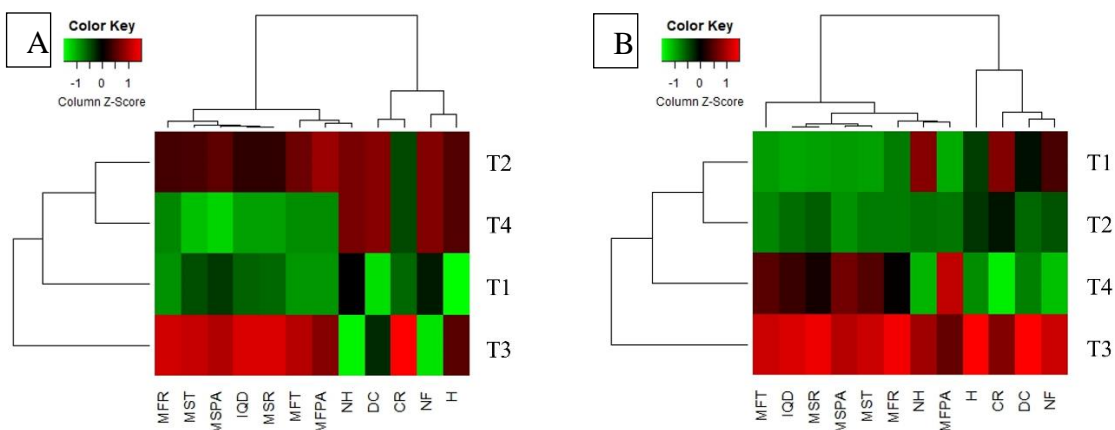


**Figura 1.** Resultado dos tratamentos sobre as mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 e 30 dias após o plantio em função dos manejos do substrato de cultivo.

O Heatmap mostra o resultado dos parâmetros de crescimento de mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 (A) e 30 (B) dias após o plantio, em função dos manejos do substrato de cultivo sendo eles [T1] controle; [T2] aplicação de hidrogel; [T3] inoculação com *Trichoderma asperellum*; [T4] associação hidrogel e *Trichoderma*. As cores do mapa refletem os dados das variáveis convertidas em uma matriz numérica. -1 representado pela coloração verde significa baixa influência do tratamento, o 0 representado pela coloração preta moderadamente influenciado pelo tratamento e o 1 representado pelo vermelho altamente influenciado pelo tratamento .

O heatmap representou os dados de forma sucinta. Os parâmetros de crescimento: comprimento radicular, massa fresca e seca das partes aérea, radicular e total, e o índice de Dickson foram fortemente influenciados pela inoculação com *Trichoderma asperellum* aos 15 dias após o plantio. Em 30 dias

após o plantio, foram observados a melhora de todos os parâmetros avaliados e sob influência deste tratamento (Figura 3).



**Figura 2.** Heatmap dos parâmetros de crescimento de mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 (A) e 30 (B) dias após o plantio, em função dos manejos do substrato de cultivo: [T1] controle; [T2] aplicação de hidrogel; [T3] inoculação com *Trichoderma asperellum*; [T4] associação hidrogel e *Trichoderma*.

Os resultados positivos observados podem ser explicados, tendo em vista que fungos do gênero *Trichoderma* são utilizadas não só no controle biológico de fitopatógenos, mas como promotores de crescimento vegetal, devido a sua versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição, além de atuarem como indutores de resistência a plantas contra doenças e produzirem hormônios de crescimento, solubilização de fósforo, sideróforos e metabólitos secundários (Contreras-Cornejo et al., 2016; Bononi et al., 2020). Estes fungos encontram-se na rizosfera, são promotores do crescimento em espécies vegetais, e produzem uma rica fonte de metabólitos secundários, apresentando um vasto repertório de genes supostamente envolvidos na biossíntese de peptídeos não ribossômicos, policetídeos, terpenóides e pironas (Mukherjee et al., 2012), e a inoculação com uma concentração alta desse microrganismos pode proporcionar resultados positivos quanto ao biocontrole de fitopatógenos e, conseqüentemente, a promoção do crescimento vegetal.

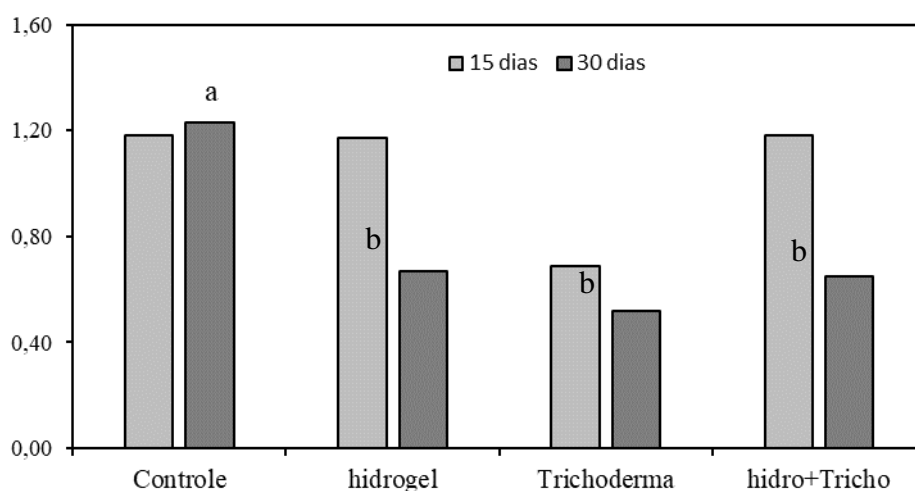
A colonização da raiz, por *Trichoderma*, frequentemente aumenta o desenvolvimento radicular, produtividade da cultura, resistência a estresses abióticos e melhora o uso de nutrientes (Rubio et al., 2014). Estes resultados podem estar relacionados a capacidade que o fungo *Trichoderma* tem em promover o crescimento da parte aérea das plantas e a produção de auxinas ou análogos a auxinas e metabólitos que favorece o desenvolvimento das raízes (Contreras-Cornejos et al., 2020), promovendo raízes mais profundas e vigorosas, proporcionando maior tolerância à seca (Battaglia et al., 2013), incrementa a absorção e a solubilização de nutrientes (Chagas et al., 2017; Bononi et al., 2020) e favorece a aderência hidrofóbica e o desenvolvimento de pelos absorventes nas raízes laterais, com aumento da superfície de absorção (Domínguez et al., 2016; Monte et al., 2019).

### **Teor de óleo**

Quanto ao teor de óleo essencial de *Lippia alba*, verificou-se o resultado ( $p < 0,05$ ) tanto dos tratamentos quanto do tempo de crescimento das mudas. No geral, o maior teor de óleo essencial extraído foi em mudas com 30 dias após o plantio, destacando-se o tratamento controle, sem aplicação de hidrogel e sem inoculação de *Trichoderma*. Mudas referentes ao controle continham 6,5% mais óleo do que aquelas submetidas a esse mesmo tratamento aos 15 dias. De forma semelhante, os tratamentos com apenas hidrogel ou a associação do hidrogel e *Trichoderma asperellum* beneficiaram a produção de óleo nas mudas aos 15 dias após o plantio. Porém, o resultado de ambos os tratamentos não foram observados aos 30 dias após o plantio, havendo um decréscimo no teor de óleo nesse período (Figura 3).

Não há na literatura um consenso em relação à resposta do rendimento de óleo essencial de plantas medicinais. Isso pode estar relacionado com o fato de as plantas medicinais compreenderem um amplo e diversificado grupo de espécies, com grande variabilidade quanto à produção de metabólitos secundários, cuja biossíntese varia em função de fatores extrínsecos e intrínsecos à espécie. As possibilidades de resultados contraditórios são expressivas.

Estudos relatando a eficiência do uso do *Trichoderma* na produção de metabólitos secundários são escassos e diante do estudo é possível observar que os isolados de *Trichoderma* fez com que a planta se adaptasse melhor ao ambiente, evitando que não fosse ativado seu mecanismo de defesa contra fatores adverso, conseqüentemente, menor foi o estímulo para a produção do óleo essencial, entretanto a utilização desses isolados pode ser de grande valia, para garantir a regulação no agroecossistema, pois promove uma melhor interação com o meio x planta (Jesus, 2020).



**Figura 3.** Teor de óleo essencial de mudas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, 15 e 30 dias após o plantio, em função dos manejos do substrato de cultivo.

Mudas de espécies arbustivas aromáticas de boa qualidade podem ser obtidas usando substratos de cultivo inoculados com o promotor de crescimento *T. asperellum* (isolado TCS87). A inoculação com esta cepa resultou em melhora de todos os parâmetros de crescimento avaliados aos 30 dias após o plantio das estacas. Os benefícios da inoculação com *Trichoderma* tem sido relatado em diversas culturas, tomate, banana, arroz; e expressos em diferentes parâmetros de crescimento vegetal, absorção de macro e micronutrientes, eficiência do uso da água, fotossíntese, e acúmulo de polifenóis (MOREIRA et al., 2021; SARANGI et al., 2021; VUKELIC et al., 2021).

Os microrganismos promotores de crescimento de plantas, através de seu metabolismo secundário podem decompor matéria orgânica (ex. ácidos orgânicos) e solubilizar nutrientes, tornando-os disponíveis às plantas (MOREIRA et al., 2021; ZHAI et al., 2019; XIAO et al., 2013). Zhai et al. (2019) relatou que solos inoculados com *Trichoderma asperellum* têm mais disponibilidade dos nutrientes nitrogênio e fósforo, o que afeta positivamente a produção de biomassa e a biossíntese da artemicina (substância utilizada na indústria farmacêutica) produzida pela planta medicinal artemisia. No presente estudo, o substrato de cultivo solo + humus inoculados com *Trichoderma asperellum*, de forma isolada, resultaram em mudas com maior acúmulo de biomassa fresca e seca (Tabela 1, Figura 2).

Chávez et al., 2023, avaliando o crescimento de estragão (*Artemisia dracunculol.*) em resposta ao *Trichoderma harzianum* e *Glomus cubense* observaram que quando os inoculantes foram aplicados separadamente, foram registrados aumentos na produção de biomassa seca em comparação com o controle (para *T. harzianum* foi de 77% e para *G.cubense* de 44%). Este comportamento confirma o efeito positivo destes microrganismos na produção de biomassa seca na copa das plantas (Azcón e Talón, 2008). Vários estudos observaram que o uso de fungos como *T. harzianum* e *G. cubense* contribuíram para promover a produção de biomassa seca em culturas como o feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) (Calero et al., 2017), tomate (*Solanum lycopersicum L.*) (Bader et al., 2019), pimenta (*Capsicum annum L.*) (Bader et al., 2020; Michels et al., 2020), pepino (*Cucumis sativus L.*) (Reyes et al., 2021).

Outra habilidade interessante do gênero *Trichoderma* é a síntese de reguladores vegetais, como a auxina. As auxinas promovem o alongamento das raízes, favorecendo a absorção dos nutrientes do solo (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009), principalmente aqueles sob interceptação radicular. O resultado da inoculação com *Trichoderma asperellum* foi evidenciada pelo estímulo a expansão do sistema radicular das mudas, alterando assim o volume, comprimento e número de raízes (Figura 2). Esses resultados são semelhantes aos de Moreira et al. (2021), que também observaram a formação de pelos radiculares e aumento da massa seca radicular causados pela inoculação de *T.*

*asperellum*. Segundo esses autores, os resultados de crescimento resultaram da síntese de compostos indólicos e da solubilização de nutrientes.

Além da ação isolada da inoculação com *Trichoderma*, a aplicação de hidrogel também beneficiou alguns parâmetros de crescimento das mudas. O hidrogel é um polímero hidrorretentor utilizado em plantios realizados em regiões de clima mais seco e com predominância de solos arenosos, o que tem trazido resultados satisfatórios, especialmente na cultura do eucalipto (BARTIERES et al., 2016). Lopes et al. (2010) relataram os benefícios do hidrogel sobre a redução dos sintomas de estresse hídrico em mudas clonais de *Eucalyptus urograndis*. Felipe et al. (2020) observaram aumento, em aproximadamente, 25% de massa seca radicular, caulinar e foliar, além da área foliar, devido a adição de hidrogel ao substrato. Os autores relacionaram o resultado positivo do polímero ao fornecimento adequado de água. Além de seu papel na retenção de água no solo, tem-se verificado que os hidrogéis têm capacidade de redução da lixiviação de nutrientes, devido à sua elevada capacidade de troca catiônica. Em nossos resultados observou-se acréscimo em biomassa fresca de 34% e 55% em mudas crescidas em contato com o hidrogel, de forma isolada (Tabela 1).

O tratamento controle constituído pelo substrato solo + humus estimulou máximo teor de óleo essencial produzido por *L. alba* (Figura 3). A ação de agentes promotores de crescimento estimulam a produção de fitomassa acelerando o crescimento da planta (MOREIRA et al., 2021; SARANGI et al., 2021; VUKELIC et al., 2021; FELIPPE et al., 2020). Porém, a síntese de óleo essencial de uma planta é proveniente do metabolismo secundário, sendo, assim, bastante influenciado por fatores ambientais. Sua produção é, em geral, resposta ao estresse (MATTOS e INNECCO, 2002; MING, 1998. Palhares Neto (2022; 2023) observaram que a associação de fungos micorrízicos arbusculares em plantas sob regime de déficit hídrico promoveu aumento na biomassa radicular, área foliar específica, teor relativo de água foliar, acúmulo foliar de carboidratos e teor de óleo essenciais. No presente estudo, sob condições ótimas da fertilidade do substrato e ação conjunta de microrganismo promotor de crescimento de plantas, as mudas de *L. alba* apresentaram máximo crescimento, porém, mínima produção de óleo essencial (Tabela 1, Figura 3).



Os resultados sugerem que a inoculação com *T. asperellum* (isolado TCS87) resulta em crescimento ótimo de mudas de *L. alba* e pode ajudar a reduzir o tempo de permanência das mudas em viveiro. No entanto, mais estudos são necessários para examinar os resultados deste isolado durante as fases subsequentes de crescimento em condições de campo para melhor entender as possíveis interações entre o desempenho do MPCP e fatores como fertilidade e umidade do solo, bem como seus resultados nas características morfofisiológicas das plantas e rendimento de óleo essencial (Zhai et al., 2019).

## CONCLUSÃO

Mudas de *L. alba* (Mill.) N.E. Brown pode ser produzida com boa qualidade se inoculada com *T. asperellum* (isolado TCS87), melhorando os parâmetros relacionados ao crescimento. O desempenho dessas mudas excedeu aquelas crescidas em substrato contendo apenas solo e húmus. Contudo, máximo teor de óleo essencial foi extraído de mudas crescidas em apenas solo e húmus.

A inoculação com *T. asperellum* pode ser uma estratégia interessante para a produção de mudas de qualidade e redução do tempo de permanência das mudas em viveiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **Journal of Advanced Research**. v. 6, p. 105–121, 2015.

ALI, B.; NA Al-Wabel; S. Shams; A. Ahmad; SA Khan & F. Anwar. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 8, p. 601-611, 2015.

BARTIERES, E.M.M.B.; CARNEVALI, N.H.S.; et al. Hidrogel, calagem e adubação no desenvolvimento inicial, sobrevivência e composição nutricional de plantas híbridas de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 86, p. 145-151, 2016.

BATTAGLIA D., et al . Tomato Below Ground–Above Ground Interactions: *Trichoderma longibrachiatum* Affects the Performance of *Macrosiphum euphorbiae* and Its Natural Antagonists. **The American Phytopathological Society**. v. 26, n. 10, p. 1.249-1.256, 2013. <https://doi.org/10.1094/MPMI-02-13-0059-R>

BATISTA, D.S.; CASTRO K. M; et al. Light quality affects in vitro growth and essential oil profile in *Lippia alba* (Verbenaceae). **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 52, p. 276-282, 2016.

CHAGAS JR, Aloisio Freitas et al. *Trichoderma* como promotor de crescimento de mudas de eucaliptos. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 9, n. 1, p. 060-072, 2021.

BONONI L, CHIARAMONTE J.B, PANSA C.C, MOITINHO M.A, MELO I.S. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, v. 10, n. 2858, p. 1-13, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59793-8>

CHÁVEZ-GARCÍA., et al. Análisis de crecimiento de estragón (*Artemisia dracunculoides* L.) en respuesta a *Trichoderma harzianum* y *Glomus cubense*. **Bioagro**, v. 35, n. 1, p. 75-80, 2023.

CONTRERAS-CORTEJO, H.A; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; et al. Funções ecológicas de *Trichoderma* spp. e seus metabólitos secundários na rizosfera: interações com plantas. **FEM Microbiology Ecology**, v. 92, n. 5, p. 601– 11, 2016.

COSTA, P. S. et al. 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.

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

DOMÍNGUEZ S. et al. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase *amdS* gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1182, 2016

FELIPPE, D. et al. Crescimento, sobrevivência e trocas gasosas de mudas de *Eucalyptus dunnii* Maiden uso de aplicação de regimes de irrigação de hidrogel. **Revista Forestal Mesoamericana Kurú**, v. 17, n. 40, p. 11, 2020.

GOMES, A. F. et al., Simultaneous determination of iridoids, phenylpropanoids and flavonoids in *Lippia alba* extracts by micellar electrokinetic capillary chromatography. **Microchemical Journal**, v. 138, 2018.

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.

JOSHI, A.; PRAKASH, O.; et al. Chemical Analysis and Antioxidant Activity of Essential Oils of Two Morphotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 21, n. 3, 2018.

LERMEN, C.; CRUZ, R.M.S; et al. Growth of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi with different levels of humic substances and phosphorus in the soil. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2017.

LIMA, C.B.; BOAVENTURA, A.C.; GOMES, M.M. Cuttings of *Lippia alba* with emphasis on time for seedling formation, substrates and plant growth regulators. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 230-235, 2015.

LOPES, J.L.W. et al. Uso de hidrogel na sobrevivência de mudas de *Eucalyptus urograndis* produzidas com diferentes substratos e manejos hídricos. **Ciência Florestal**, v. 20, n. 2, p. 217-224, 2010.

MATTOS, S. H.; INNECCO, R. Idade ideal de corte da *Mentha arvensis* L. como produtora de óleo essencial e mentol para o Estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 5, n. 1, p. 15-18, 2002.

MING, L. C. Adubação orgânica no cultivo de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. - Verbenaceae. In: MING, L. C.; CORREA JÚNIOR, C.; BARROS, I. B. I.; MATTOS, J. K. A. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônoma.** Botucatu: Unesp, 1998. v. 1. p. 165-191.

MONTE BH, BETTIOL E, HERMOSA R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: Meyer MC, Mazaro SM, Silva JC. (Eds.). *Trichoderma: Uso na Agricultura.* Brasília, DF: Embrapa. p. 181-199, 2019.

MUKHERJEE PK, HORWITZ BA, KENERLEY CM. Secondary metabolism in *Trichoderma* –a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012. <https://doi.org/10.1099/mic.0.053629-0>

MOREIRA, F.M.; CAIRO, P.A.R.; BORGES, A.L.; SILVA, L.D.; HADDAD, F. Investigating the ideal mixture of soil and organic compound with *Bacillus* sp. and *Trichoderma asperellum* inoculations for optimal growth and nutrient content of banana seedlings. **South African Journal of Botany**, v. 137, p. 249-256, 2021.

PALHARES NETO, L.; SILVA-SANTOS, L.; et al. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on morphophysiological responses and secondary metabolism in *Lippia alba* (Verbenaceae) Under Different Water Regimes. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 827–841, 2023.

PALHARES NETO, L.; SILVA-SANTOS, L.; et al. Mycorrhization changes the antioxidant response and chemical profile of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oil under salinity conditions. **South African Journal of Botany**, v. 152, p. 264-277, 2023.

R Core Team (2022). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL< <https://www.R-project.org/>>

RIBEIRO, A. P. M. da S. et al. Uso de *Trichoderma* na promoção de crescimento de mudas florestais. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 1, 2023.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. de M.; BAKER, D.; ROCHA NETO, O. **Descrição de sistema e métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 6p. 2004.

SANTOS, V. M. C. S. et al. Alternativas de propagação na produção de óleo essencial de *Mentha canadensis* L. no Litoral Norte Catarinense. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 14, p. 97-102, 2012.

SARANGI, S.; SWAIN, H.; ADAK, T.; et al. *Trichoderma*-mediated rice straw compost promotes plant growth and imparts stress tolerance. **Environmental Science Pollution Research International**, v. 28, n. 32, p. 44014-44027, 2021.

SILVA, L.V., OLIVEIRA, S.B.R., AZEVEDO, L.A., RODRIGUES, A.C., BONIFÁCIO, A. Coinoculation with *Bradyrhizobium* and *Trichoderma* alleviates the effects of salt stress in cowpea. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 336-344, 2019.

SIRIN et al. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 10(2): 166-173, 2022.

STEWART, A., HILL, R. Chapter 31 - Applications of Trichoderma in Plant Growth Promotion. **Biotechnology and Biology of Trichoderma**, Elsevier, 2014.

VUKELIĆ, I.D.; PROKIĆ L.T.; RACIĆ G.M.; et al. Effects of *Trichoderma harzianum* on photosynthetic characteristics and fruit quality of tomato plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 6961, 2021. doi: 10.3390/ijms22136961

YAMAMOTO, P.Y.; COLOMBO, C.A.; AZEVEDO FILHO; J.A. et al. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 5, p. 481-489, 2008.

ZIN, N. A., BADALUDDIN, N. A., Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. **Annals of Agricultural Sciences**, v 65, n. 2, 2020.

XIAO, C., ZHANG, H., FANG, Y., CHI, R. Evaluation for rock phosphate solubilization in fermentation and soil-plant system using a stress-tolerant phosphate-solubilizing *Aspergillus niger* WHAK1. **Appl. Biochem. Biotechnol**, v. 169, p. 123–133, 2013.

ZHAI, T., WANG, Y., LIU, C., LIU, Z., ZHAO, M., CHANG, Y., ZHANG, R. *Trichoderma asperellum* ACCC30536 inoculation improves soil nutrition and leaf artemisinin production in *Artemisia annua*. **Acta Physiol. Plant**, v. 41, n. 46, p. 1–11, 2019.

**ARTIGO 3**

**BIOMASSA, TEOR DE OLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL.)  
N.E.Br ex Britton & P. Wilson ASSOCIADAS AO *Trichoderma  
asperellum***

**BIOMASSA, TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL.)  
N.E.Br ex Britton & P. Wilson ASSOCIADAS AO *Trichoderma  
asperellum***

**Resumo:** Os fungos do gênero *Trichoderma* tem sido utilizados, entre seus diversos potenciais, como promotores de crescimento vegetal, pois, secretam compostos que atuam no sistema radicular. Assim, os mesmos podem ser utilizados na produção de plantas medicinais, como a *L. alba*. Utilizar o *Trichoderma* para a produção de mudas de *L. alba* poderá estimular a produção de biomassa e aumentar a produção de óleos essenciais. Logo, este estudo tem por objetivo avaliar o efeito da inoculação com *T. asperellum* sobre a biomassa e, teor de óleo essencial em plantas de *Lippia alba*, sob diferentes tempos após a inoculação. As mudas cultivadas em casa de vegetação foram transplantadas para o campo experimental. O delineamento experimental foi em blocos causalizados, em esquema de parcelas (ausência e presença de *T. asperellum*) subdivididas no tempo (0, 15, 30 e 45 dias após a inoculação), com três repetições, 10 mL da suspensão fúngica foi adicionada próximos às plantas quinzenalmente. Foram avaliadas as variáveis fitotécnicas: altura, diâmetro, número de folhas, hastes e inflorescência, comprimento radicular, massa fresca e seca da parte aérea e radicular e rendimento de óleos essenciais. Aos 45 dias, todas as variáveis analisadas apresentaram diferenças significativas. As plantas de *L. alba* que foram cultivadas com o microrganismo apresentaram médias superiores as plantas do controle, indicando que três inoculações com *T. asperellum* foram suficientes para aumentar o crescimento e o acúmulo de biomassa dessas plantas. Todas as características de crescimento avaliadas e o teor de óleo essencial foram fortemente afetadas pela inoculação com *T. asperellum* aos 45 dias.

**Palavras-chave:** compostos bioativos, espécie medicinal, promotor de crescimento de planta

**BIOMASS, ESSENTIAL OIL CONTENT OF *Lippia alba* (MILL.)****N.E.Br ex Britton & P. Wilson ASSOCIATED WITH *Trichoderma asperellum***

**Abstract:** Fungi of the genus *Trichoderma* have been used, among their various potentials, as plant growth promoters, as they secrete compounds that act on the root system. Therefore, they can be used in the production of medicinal plants, such as *L. alba*. Using *Trichoderma* to produce *L. alba* seedlings can stimulate biomass production and increase the production of essential oils. Therefore, this study aims to evaluate the effect of inoculation with *T. asperellum* on biomass and essential oil content in *Lippia alba* plants, at different times after inoculation. The seedlings grown in a greenhouse were transplanted to the experimental field. The experimental design was in causal blocks, in a plot scheme (absence and presence of *T. asperellum*) subdivided in time (0, 15, 30 and 45 days after inoculation), with three replications, 10 mL of the fungal suspension was added next to plants every two weeks. Phytotechnical variables were evaluated: height, diameter, number of leaves, stems and inflorescence, root length, fresh and dry mass of the aerial and root parts and yield of essential oils. At 45 days, all analyzed variables showed significant differences. The *L. alba* plants that were cultivated with the microorganism presented higher averages than the control plants, indicating that three inoculations with *T. asperellum* were sufficient to increase the growth and biomass accumulation of these plants. All evaluated growth characteristics and essential oil content were strongly affected by inoculation with *T. asperellum* at 45 days.

**Keywords:** bioactive compounds, medicinal species, plant growth promoter.



## INTRODUÇÃO

O potencial curativo apresentado por diversas espécies medicinais, só é possível devido à presença de compostos bioativos que são resultantes do metabolismo secundário da planta (Cardoso et al., 2019). Esses compostos são chamados de metabólitos e são utilizados estrategicamente pela planta para a defesa e sua sobrevivência em campo contra predadores herbívoros, ataques de pragas e patógenos, condições climáticas adversas e atuando também como compostos sinalizadores atrativos de polinizadores e antioxidantes (Wink, 2015).

Em algumas espécies de plantas medicinais, as suas propriedades curativas são atribuídas aos compostos bioativos encontrados nos óleos essenciais, os quais se tratam de uma mistura complexa de substâncias, com alto poder de volatilização e um odor bastante característico (Zotti-Sperotto et al., 2021). A família Verbenaceae apresenta diversas espécies de interesse comercial devido a sua composição aromática, tendo como destaque aquelas do gênero *Lippia*, que produzem óleos essenciais e são bastante utilizadas na medicina popular, assim como na indústria cosmética e farmacêutica (Oliveira et al., 2014, Castilho et al., 2019). A *L. alba* (Mill.) N. E. Brown se destaca pela produção de óleo essencial, que possui diferentes potenciais comprovados cientificamente, como: antibacteriano, antifúngico e alelopático (Jesus, 2020).

Diversos fatores podem influenciar a produção de biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial e compostos fenólicos de plantas medicinais, dentre eles destacam-se a qualidade das mudas, práticas culturais e o cultivo no campo (Martins, 1998; Menezes, 2006; Lima et al., 2015; Batista et al., 2016; Lermen et al., 2017). Nesse contexto, o uso de bioinsumos à base de *Trichoderma* tem sido uma estratégia interessante ao uso de insumos químicos, sem haver perda de produtividade das culturas.

Os fungos que fazem parte do gênero *Trichoderma* são de grande importância para o aumento do crescimento vegetal, podendo influenciar positivamente na germinação de sementes, desenvolvimento e rendimento das culturas, graças à produção de substâncias que atuam na promoção de crescimento, melhorando a absorção de nutrientes pelas raízes. O uso desses promotores de crescimento tem importância econômica para agricultura, uma vez que pode atuar também como agentes de controle de doenças de plantas e

indutores de resistência (Contreras-Cortejo et al., 2016; Chagas et al., 2017; Moreira et al., 2021).

Desse modo, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com *T. asperellum* sobre a biomassa e teor de óleos essenciais em plantas de *L. alba*, sob diferentes tempos após a inoculação.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1.1 Condições experimentais

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental, localizada na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB (12°40'39"S, 39°06'23", 226 m de altitude) em Cruz das Almas – BA, Brasil. O clima local é do tipo Af (floresta tropical chuvosa), segundo a classificação de Köppen e Geiger, com temperatura média anual de 23 °C.

O delineamento experimental foi em blocos causalizados, em esquema de parcelas subdivididas com três repetições, em que as parcelas foram contempladas com dois níveis de inoculação com *T. asperellum* (ausência e presença) e as subparcelas com quatro tempos de crescimento da planta (0, 15, 30 45 dias após inoculação).

O solo foi classificado como Latossolo Amarelo Distrofíco (SILVA FILHO, 2010). O *T. asperellum* (isolado TCS87) foi obtido da coleção de microrganismos do laboratório de Microbiologia da mesma instituição e reativado em meio batata dextrose ágar (BDA), então incubado em BOD a 25 °C, fotoperíodo de 12 h, durante sete dias. A suspensão fúngica foi preparada através da raspagem do micélio com o auxílio de água destilada e esterilizada, e posteriormente, contagem dos esporos em câmara de Neubauer. A concentração final da suspensão foi ajustada para  $10^7$  esporos mL<sup>-1</sup>.

## 1.2 Material vegetal e condições de crescimento

As mudas cultivadas em casa de vegetação, com 30 dias, foram transplantadas para o campo experimental, sendo realizado o plantio em covas, com espaçamento de 1m entre plantas e 1 m entre as linhas, utilizando uma pequena quantidade de húmus nas covas, no momento do plantio e ao final do dia foi realizada a aplicação de 10 ml da suspensão de *T. asperellum* nas mudas. A irrigação foi realizada diariamente, de forma manual. Após 30 dias, todas as plantas foram podadas, padronizando-as em um tamanho médio de 40 cm.

## 1.3 Características de crescimento

Aos 15, 30 e 45 dias após a inoculação com *T. asperellum*, as plantas foram avaliadas segundo as variáveis: altura da planta, utilizada como padrão a maior haste (H, cm planta<sup>-1</sup>); diâmetro das hastes (DH, mm planta<sup>-1</sup>); comprimento da raiz (CR, cm planta<sup>-1</sup>); número de hastes (NH), de folhas (NF) e de inflorescência (NI), expressos em unidade planta<sup>-1</sup>. Então, as mudas foram segmentadas em parte aérea (MFPA), inflorescência (MFI) e radicular (MFR) e pesadas para a obtenção das massas frescas (MFT); secas em estufa de ventilação de ar forçado à 65 ± 5 °C até obtenção do peso constante, e posteriormente, mensuração das massas secas em ambas as partes, MSPA, MSI, MSR e MST (g planta<sup>-1</sup>).

## 1.4 Extração e teor de óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de hidrodestilação, no equipamento Clevenger. As folhas foram colocadas num balão volumétrico com capacidade para 2L, em seguida foi adicionada água destilada necessária para cobrir todo o material vegetal. O balão foi comportado numa manta térmica, dando início ao processo de hidrodestilação. O processo de extração durou em torno de 120 minutos contando a partir da condensação da primeira gota. Após o processo de extração, o óleo essencial foi retirado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, pesado em balança analítica e colocado em um recipiente de vidro com

capacidade de 2ml, etiquetado e armazenado sob refrigeração, ao abrigo da luz até o momento do uso.

Para determinação do teor de óleo essencial foi utilizada a equação descrita por Santos et al., (2004):

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

onde,

TO = teor de óleo (ml de óleo essencial em 100 g de biomassa seca) ou rendimento de extração (%);

Vo = volume de óleo extraído (ml), lido diretamente na escala do tubo separador;

Bm = Biomassa aérea vegetal, em gramas;

Bm x U/ 100 = quantidade de umidade ou água presente na biomassa;

Bm - Bm x U/100 = quantidade de biomassa seca isenta de água ou livre de umidade; 100 = fator de conversão para porcentagem.

## 1.5 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. Alguns dados foram transformados (número de hastes e massa seca das folhas) para atender aos pressupostos da análise estatística. Os dados das características de crescimento e teores de óleos essenciais foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) para explorar as relações entre variáveis e os tratamentos utilizando o pacote FactoMineR com o auxílio do programa R Development Core Team (2022).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) da interação do *T. asperellum* e do tempo em todas as variáveis analisadas. Observa-se na tabela 1 os tratamentos com e sem *T. asperellum* dentro dos tempos de avaliação. Na primeira avaliação (T0) só houveram diferenças significativas para o diâmetro das hastes e massa seca da parte aérea, sendo que as plantas que foram cultivadas com o *T. asperellum* apresentaram maiores médias para estas variáveis. Na segunda avaliação (T15) as variáveis que se diferenciaram entre si e que apresentaram maiores médias em tratamento contendo o *T. asperellum* foram o diâmetro do caule, o número de hastes, o número de folhas, a massa fresca da parte aérea, a massa fresca da raiz e a massa seca da parte aérea. Já para altura e comprimento da raiz as maiores médias obtidas foram para as plantas não inoculadas (Tabela 1).

No tempo 30 dias, todas as variáveis se diferenciaram entre si, e as plantas inoculadas com o fungo apresentaram as maiores médias, com exceção da variável altura. Já na última avaliação (45 dias), todas as variáveis analisadas apresentaram diferenças significativas. As plantas de *L. alba* que foram cultivadas com o microrganismo apresentaram médias superiores às plantas sem inoculação, indicando o efeito significativo das inoculações sobre o crescimento das plantas. Os incrementos proporcionados pelo *T. asperellum* aos 45 dias foram de 14,3% (H), 12,7% (DH), 42,6% (NH), 45,5% (NF), 63,5% (NI), 25,7% (CR), 45,5% (MFPA), 39% (MFR), 64% (MFI), 38,4% (MSR), 58,3% (MSI) e 44% (MSPA) em comparação a ausência do promotor de crescimento (Tabela 1).

Esses resultados corroboraram com os estudos realizados por López et al. (2019), que utilizando cepas nativas de *Trichoderma* na promoção de crescimento da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) foi possível observar que a inoculação de *Trichoderma atroviride*,

*T. stibohypoxyli* e cepas de *T. koningiopsis* aumentaram significativamente a massa seca da parte aérea e a matéria seca total em relação às plantas não inoculadas.

Estudos realizados por Zhang et al. (2019), utilizando o *T. harzianum* T-soja, comprovaram que houve o aumento do peso fresco e seco de plantas de

pepino, além de melhorar o crescimento da planta, como aumento da altura e tamanho da folha, promovendo o desenvolvimento radicular, evidenciando o aumento do número de raízes e comprimento da raiz.

Isso porque o fungo estimula o crescimento e o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular, principalmente as raízes laterais, as quais fornecem uma maior superfície para colonização, trazendo benefícios para planta, uma vez que aumenta a superfície de absorção da raiz, aumentando também a capacidade de absorção de nutrientes e água (STEWART, HILL, 2014; MOREIRA et al., 2021).

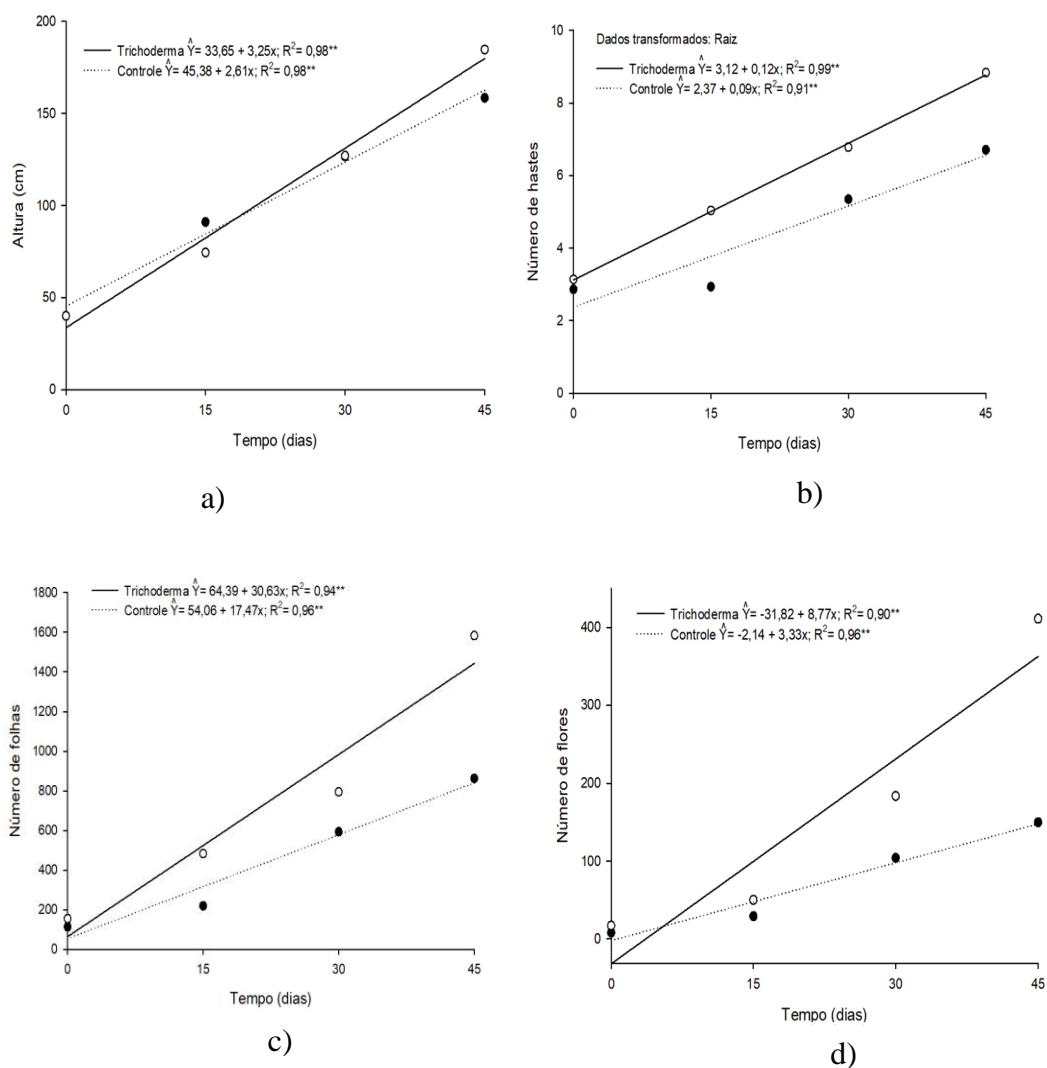
**Tabela 1:** Variáveis Altura (ALT), Diâmetro das hastes (DH), Número de hastes (NH), Número de folhas (NF), Número de inflorescência (NI), Comprimento da raiz (CR), Massa fresca da parte aérea (MFPA), Massa fresca da raiz (MFR), Massa fresca da inflorescência (MFI), Massa seca da raiz (MSR), Massa seca da inflorescência (MSI), Massa seca da parte aérea (MSPA) e Teor de óleo essencial de *Lippia alba* analisadas em diferentes tempos de cultivo, com (CT) ou sem (ST) inoculação de *Trichoderma asperellum*.

variáveis	0		1 5		30		45		CV1	CV2
	ST	CT	ST	CT	ST	CT	ST	CT		
<b>H (cm)</b>	40 a	40 a	91 a	74,5 b	126,6 a	127,8 a	158,4 b	184,7 a	<b>2,34%</b>	<b>2,14%</b>
<b>DH (mm)</b>	2,74 b	3,47 a	3,24 b	4,35 a	3,8 b	5,19 a	4,3 b	4,92 a	<b>4,16%</b>	<b>3,78%</b>
<b>NH</b>	8,2 a	10,17 a	8,6 b	25,4 a	28,6 b	46,27 a	45 b	78,4 a	<b>8,67%</b>	<b>8,10%</b>
<b>NF</b>	113,6 a	154,83 a	219,4 b	482,8 a	593 b	794,2 a	862,6 b	1582,7 a	<b>12,47%</b>	<b>6,47%</b>
<b>NI</b>	8,2 a	17,08 a	29,2 a	50,2 a	104 b	183,4 a	149,8 b	411 a	<b>24,16%</b>	<b>16,08%</b>
<b>CR (cm)</b>	24,8 a	21,2 a	28,4 a	19,23 b	27 b	34,7 a	30 b	40,4 a	<b>19,07%</b>	<b>10,28%</b>
<b>MFPA (g)</b>	12,78 a	19,09 a	25,34 b	76,58 a	78,85 b	147,14 a	110,46 b	202,73 a	<b>11,07%</b>	<b>7,06%</b>
<b>MFR (g)</b>	5,95 a	4,45 a	7,33 b	14,73 a	21,43 b	31,09 a	25,26 b	41,43 a	<b>18,57%</b>	<b>14,83%</b>
<b>MFI (g)</b>	0,30 a	0,44 a	1,41 a	1,50 a	4,11 b	7,36 a	7,10 b	19,82 a	<b>30,50%</b>	<b>20,29%</b>
<b>MSR (g)</b>	2,30 a	1,47 a	3,01 a	5,12 a	8,87 b	13,47 a	14,46 b	23,5 a	<b>18,41%</b>	<b>13,27%</b>
<b>MSI (g)</b>	0,16 a	0,15 a	0,49 a	0,52 a	1,56 b	3,28 a	4,17 b	10,0 a	<b>12,23%</b>	<b>9,24%</b>
<b>MSPA (g)</b>	4,11 b	5,61 a	8,12 b	20,54 a	24,41 b	48 a	47,15 b	84,08 a	<b>2,30%</b>	<b>2,82%</b>
<b>TEOR (%)</b>	0,63 a	0,43 a	0,69 a	0,55 a	1,00 a	1,07 a	0,18 b	1,29 a	<b>28,3%</b>	<b>15,19%</b>

Analisando as figuras (1, 2 e 3), o efeito do tempo de avaliação nas plantas que foram cultivadas com e sem *Trichoderma*, observa-se que o modelo linear foi o que melhor ajustou a variação das variáveis de crescimento analisadas em função do tempo, sendo que ao decorrer dos dias houve um aumento em todas as variáveis de crescimento analisadas, com exceção do diâmetro das hastes, que quando as plantas foram cultivadas com o *T. asperellum*, o modelo que melhor se ajustou foi o quadrático, onde as plantas atingiram o seu diâmetro máximo estimado (5,34 mm) os 35 dias e, a partir daí, há diminuição desta variável.

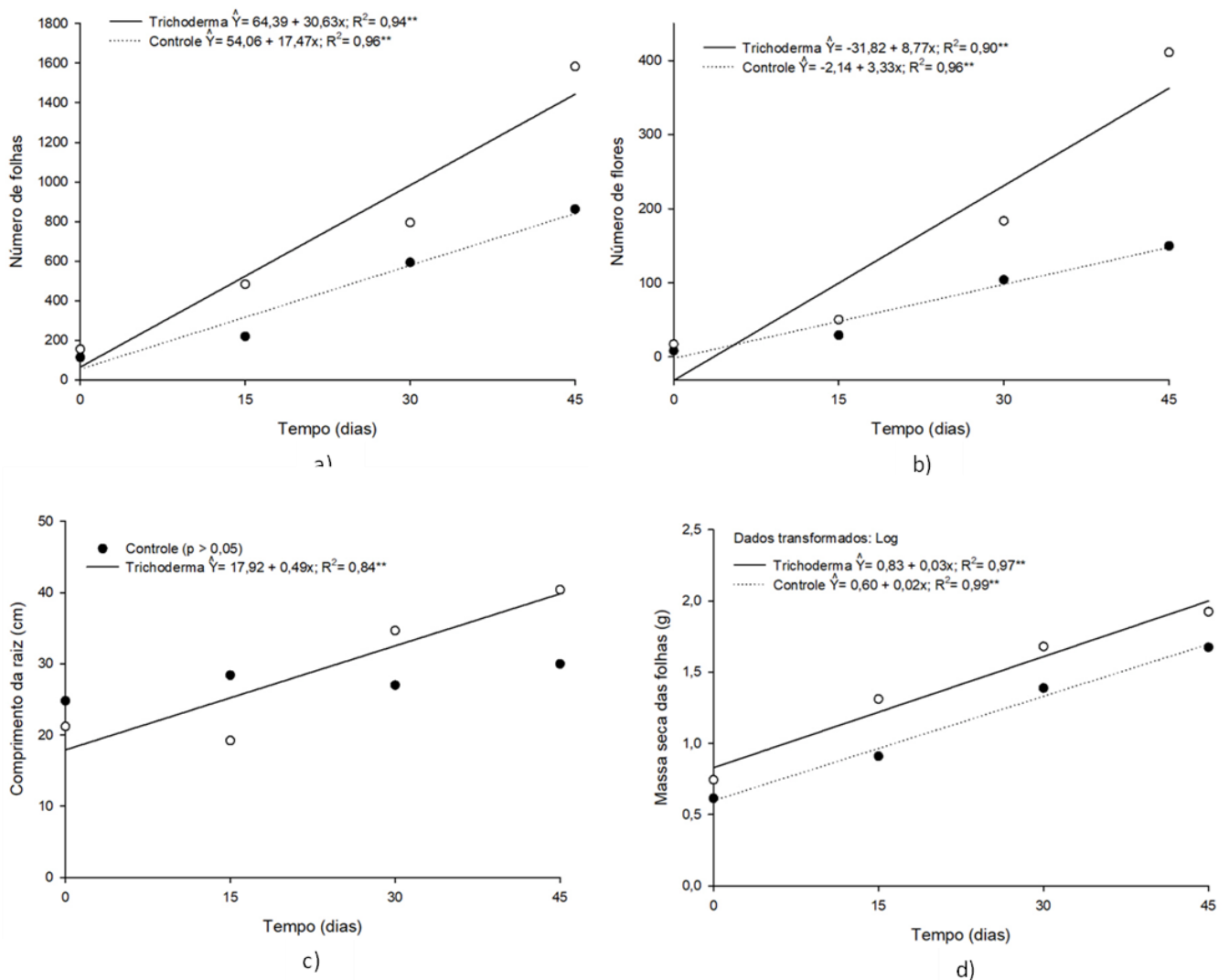
O comprimento da raiz das plantas que não foram cultivadas com *T. asperellum* não apresentaram diferenças significativas em função do tempo de análise (Figura 3). Na altura das plantas cultivadas com *T. asperellum*, o incremento proporcionado aos 45 dias, em relação ao tempo 0, foi de 14,23%. Para NH, NF, NI, MFPA, MFR, MFI, MSR, MSPA e MSI o incremento do dia 0 para o dia 45 foi de 42,6%, 45,6%, 63,5%, 45,6%, 39%, 64%, 38,4%, 44% e 58,3%, respectivamente.





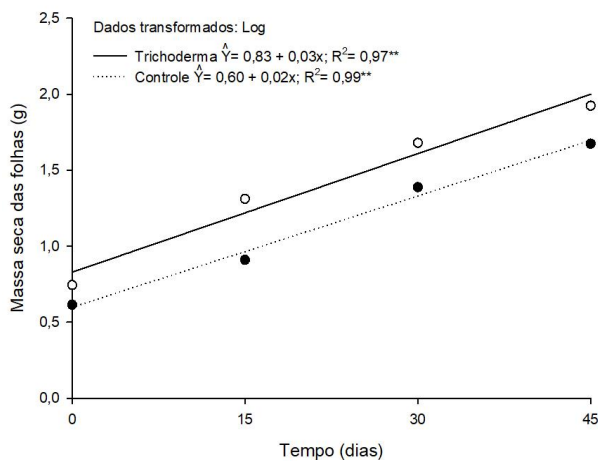
**Figura 1:** Altura (a), número de hastes (b), número de folhas (c), número de inflorescências (d) de *Lippia alba*, cultivadas na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.

Segundo Meyer, Mazaro; Silva (2019), o *T. asperellum* causa a diminuição dos níveis de etileno nas plantas, o que resulta em maior crescimento, além de aumentar a massa seca, o vigor das folhas e ainda melhora a fotossíntese, que está diretamente relacionada com a assimilação de nitrogênio pelas plantas. No presente estudo, o fungo estimulou a massa seca de todas as partes avaliadas de *L. alba* (Figura 2 e 3).

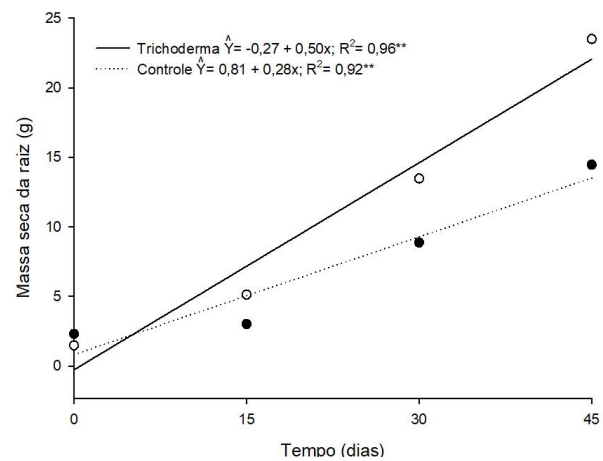


**Figura 2:** Massa fresca das folhas (a), Massa fresca das inflorescências (b), Massa fresca da raiz (c), Massa seca das folhas (d) de *Lippia alba*, cultivadas na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.

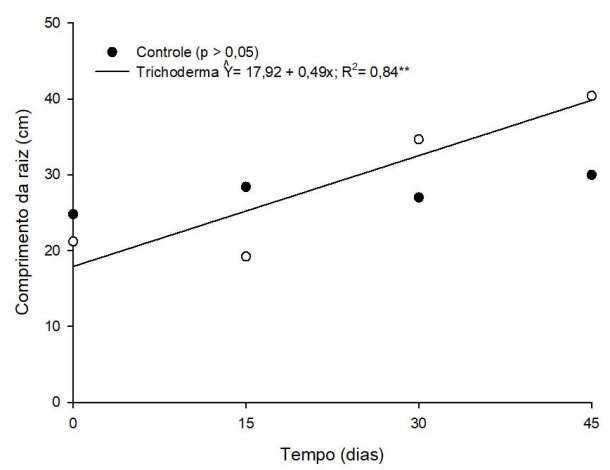
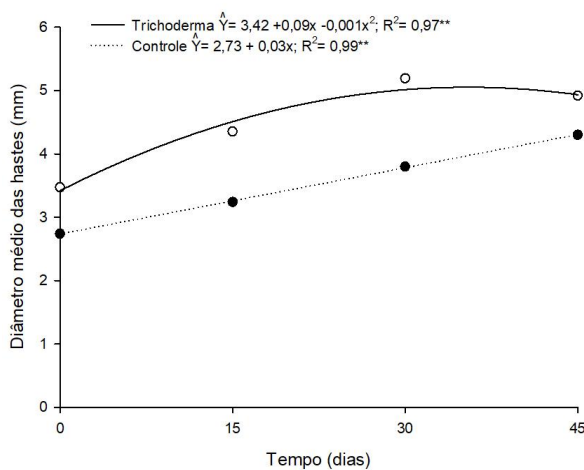
Os resultados mostraram que o *T. asperellum* foi eficiente como um elicitor biótico na biossíntese de metabólitos especiais. Segundo Zapata-Sarmiento et al. (2020), o *Trichoderma* pode induzir as defesas dos vegetais de duas maneiras, direta, que incluem a competição por nutrientes, micoparasitismo e antibiose, e a indireta, induzindo a resistência da planta. A interação que o *T. asperellum* estabelece com as plantas induz diversas alterações nas rotas metabólicas relacionadas à sua defesa, incluindo a biossíntese de metabólitos especiais (PASCALE et al., 2017).



a)



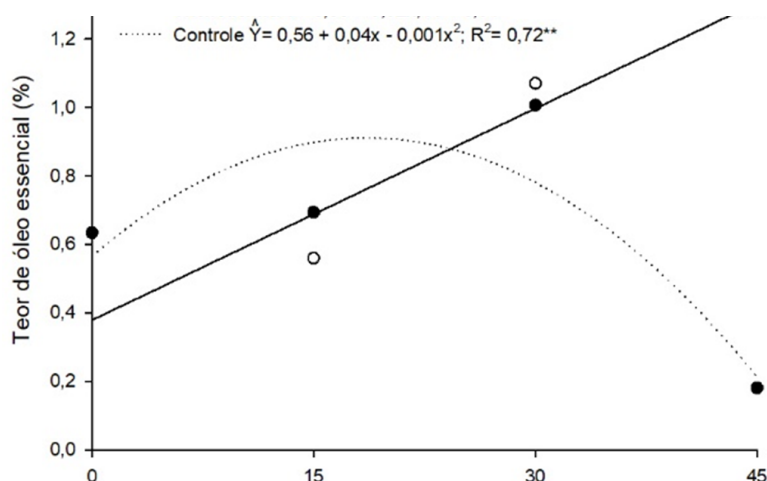
b)



d)

**Figura 3:** Massa seca das folhas (a), Massa seca da raiz (b), Diâmetro médio das hastes (c), Comprimento de raiz (d) de *Lippia alba*, cultivadas na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.

Com relação a produção de metabólitos especiais em função do tempo de análise (Figura 4), o modelo que melhor se ajustou para o teor de óleo essencial das plantas cultivadas com *T. asperellum* foi o linear crescente, onde é possível observar que com o passar dos dias há um aumento do teor de óleo essencial. Já para as plantas controle, o melhor modelo foi o linear quadrático, onde aos 15 dias houve um aumento da produção estimada de óleo essencial.

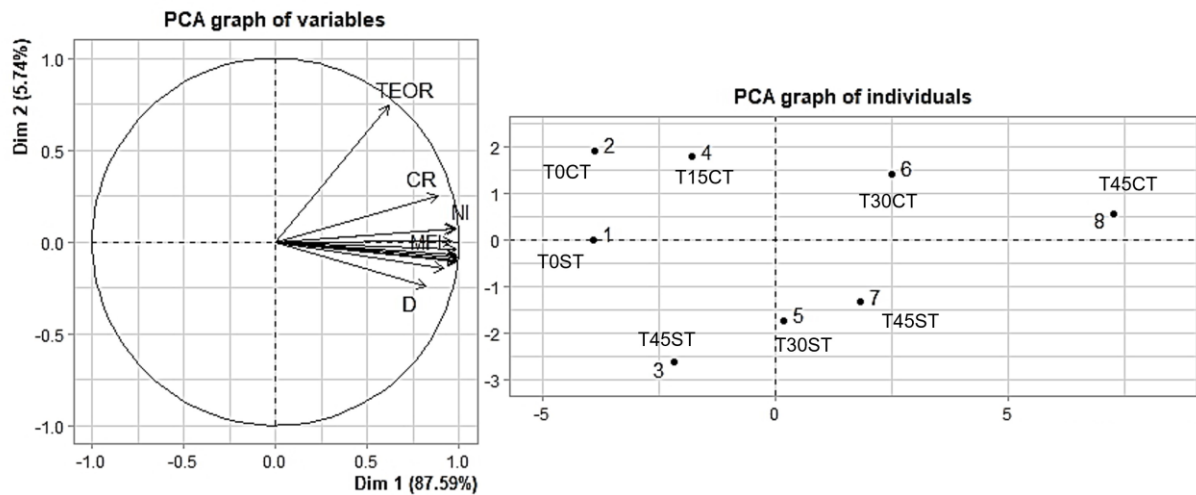


**Figura 4:** Teor de óleo essencial (c) de *Lippia alba*, cultivadas na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.

Em relação de óleo essencial das plantas cultivadas com *T. asperellum*, aos 45 dias, houve um incremento de 86,4 % quando comparadas aquelas sem o uso do *T. asperellum*. Os resultados obtidos são semelhantes aos reportados na literatura, em que o alcance do rendimento do extrato, óleo essencial, varia entre 2 – 12% para esta espécie e na metodologia de extração empregada (SOUZA, 2018; JESUS, 2022).

O PCA mostrou que as variáveis estavam positivamente correlacionadas em dois componentes principais que representaram 78,17% e 12,41% da

variação global. Todas as características de crescimento avaliadas e o teor de óleo essencial foram fortemente afetados pela inoculação com *T. asperellum* aos 45 dias (Figura 5), demonstrando em um resumo global dos dados o efeito do promotor de crescimento sobre a *L. alba* (Figuras 4 e 5).



**Figura 5:** Gráfico de análises de componentes principais (PCA) para as variáveis de crescimento e os teores de óleos essenciais de plantas de *Lippia alba*, na ausência ou presença de *Trichoderma asperellum* nos diferentes tempos: 0, 15, 30 e 45 dias.

Com base nesses resultados, o momento propício para colheita, visando um maior teor de óleo essencial, foi aos 45 dias, realizando três inoculações da suspensão de *T. asperellum*.

## CONCLUSÃO

Utilizar o *T. asperellum* na produção de plantas de *L. alba* favoreceu o acúmulo de biomassa e aumentou a produção, principalmente do teor de óleo essencial, obtendo o seu maior rendimento aos 45 dias, sendo esse, o melhor período de colheita das plantas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, D.S.; CASTRO K. M; et al. Light quality affects in vitro growth and essential oil profile in *Lippia alba* (Verbenaceae). **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 52, p. 276-282, 2016.
- CARDOSO, J.C., OLIVEIRA DE, M.E.B., CARDOSO, F., DE, C. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. **Hortic. Bras.** 37, 2019.
- CASTILHO, V.V.C, LEITAO G. S., SILVA, D.V., MIRANDA, O.C, SANTOS. C.S.M., BIZZO, R. H., SILVA, C.B. N., In vitro propagation of a carvacrol-producing type of *Lippia origanoides* Kunth: A promising oregano-like herb, **Industrial Crops and Products**, 2019.
- CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 4, n. 3, p. 97-102, 2017.
- CONTRERAS-CORTEJO, H.A; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; et al. Funções ecológicas de *Trichoderma spp.* e seus metabólitos secundários na rizosfera: interações com plantas. **FEM Microbiology Ecology**, v. 92, n. 5, p. 601– 11, 2016.
- GLOBBO-NETO, L., LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores De Influência No Conteúdo De Metabólitos Secundários. **Quim. Nova**, Vol. 30, No. 2, p.374-381, 2007.
- JESUS, R. A. Otimização de extração por ultrassom e micro-ondas de compostos fenólicos das folhas de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown e *Lantana camara* Linn. **Tese** (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Sergipe. 212 f., 2022.
- 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.
- LÓPEZ, A. C. et al. *Trichoderma spp.* from Misiones, Argentina: effective fungi to promote plant growth of the regional crop *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Mycology**, v. 10, n. 4, p. 210-221, 2019.
- LERMEN, C.; CRUZ, R.M.S; et al. Growth of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi with different levels of humic substances and phosphorus in the soil. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2017.

LIMA, C.B.; BOAVENTURA, A.C.; GOMES, M.M. Cuttings of *Lippia alba* with emphasis on time for seedling formation, substrates and plant growth regulators. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 230-235, 2015.

MARTINS, E.R. **Plantas medicinais**. 2. ed. Viçosa: UFV – Imprensa Universitária, 220p. 1998.

MENEZES E.L.A. Controle biológico: na busca pela sustentabilidade da agricultura brasileira. **Campo e negócios**. Uberlândia. 2006

MARQUES, G. S. et al. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* Link. **Química Nova**, p. 517–522, 2012.

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

MOREIRA, F.M.; CAIRO, P.A.R; BORGES, A.L.; SILVA, L.D.; HADDAD, F. Investigating the ideal mixture of soil and organic compound with *Bacillus* sp. and *Trichoderma asperellum* inoculations for optimal growth and nutrient content of banana seedlings. **South African Journal of Botany**, v. 137, p. 249-256, 2021.

MOREIRA, G. C. et al. 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**, 2022.

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

PASCALE, A. et al. *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. **Crop protection**, v. 92, p. 176-181, 2017.

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <<https://www.R-project.org/>>

SANTOS, A. S.; ALVES, S. de M.; BAKER, D.; ROCHA NETO, O. **Descrição de sistema e métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 6p. 2004.

SILVA FILHO, N. V. Variabilidade espacial de atributos de qualidade do solo em uma toposeqüência sob pastagem no semiárido baiano. **Dissertação** (Mestrado) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 64 f; 2010.



SOUZA, V. B. R. Efeito antimicrobiano e fenólicos totais de extratos aquosos de erva cidreira (*Lippia alba*), capim limão (*Cymbopogon citratus*) e eucalipto (*Eucalyptus globus*). **Monografia** (Graduação em Química Industrial) - Universidade Federal do Maranhão. 28 f., 2018.

STEWART, A., HILL, R. Chapter 31 - Applications of *Trichoderma* in Plant Growth Promotion. Biotechnology and Biology of *Trichoderma*, **Elsevier**, 2014.

ZAPATA-SARMIENTO, D. H. et al. *Trichoderma asperellum*, a potential biological control agent of *Stemphylium vesicarium*, on onion (*Allium cepa* L.). **Biological Control**, v. 140, p. 104105, 2020.

ZOTTI-SPEROTTO, C. N. et al. Intermittent drying of *Lippia organoides* H.B.K. leaves and *Schinus terebinthifolius* Raddi fruits, **Industrial Crops and Products**, Volume 161, 2021.

WINK, M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. **Medicines** 2, 2015.