



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Fitopatologia
Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia

**AÇÃO DE *Trichoderma spp.* CONTRA *Rhizoctonia solani* Kühn E PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.)**

LUANA FLOZINA DOS SANTOS

Brasília-DF
2025

LUANA FLOZINA DOS SANTOS

**AÇÃO DE *Trichoderma* spp. CONTRA *Rhizoctonia solani* Kühn E PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade de
Brasília como requisito parcial para obtenção
do título de Mestre em Fitopatologia pelo
Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia

Orientadora

Prof^ª. Dr^ª. Sueli Corrêa Marques de Mello

BRASÍLIA
DISTRITO FEDERAL-BRASIL

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

Santos, Luana Flozina dos

Ação de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* Kühn e promoção de crescimento em alface (*Lactuca sativa* L.)

Brasília, 2026. Número de páginas: 86

Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília - DF.

I. Fitopatologia – Controle Biológico de Doenças

II. Universidade de Brasília. PPG/FIT

III. Ação de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* Kühn e promoção de crescimento em alface (*Lactuca sativa* L.)

.

AGRADECIMENTOS

A Deus que, em sua infinita bondade, guiou meus passos e iluminou meus caminhos com sua graça.

Aos meus pais, Laurita e Francisco (*in memoriam*), que me criaram com todo amor, carinho e me ensinaram o valor da perseverança.

Aos meus familiares, por todo apoio e incentivo, em especial à minha irmã Artemiza e aos meus sobrinhos, que nunca deixaram de me incentivar e ajudar em tudo o que precisei.

Ao meu companheiro Jorge, por todo amor, apoio e compreensão.

As amigas que fiz em Brasília, durante esse período, foram um dos maiores presentes dessa jornada. Em especial, Lísia, Bruna, Jéssica e Sara, minha sincera gratidão pela leveza, pelas conversas sinceras e pela presença constante.

À minha orientadora, Dra. Sueli Corrêa Marques de Mello, por todo suporte, solicitude, ensinamentos transmitidos e orientação ao longo deste trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Fitopatologia, pela ajuda, risadas e conselhos, em especial à Amanda Botelho, por todo suporte e conhecimento compartilhado.

Ao Luis Alberto Martins Palhares, pelo suporte com as análises estatísticas dos experimentos.

À Universidade de Brasília (UnB) e ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia pela oportunidade de aprendizado e crescimento pessoal e profissional.

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pela infraestrutura e materiais necessários para esta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) pelo auxílio financeiro concedido ao Projeto.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação da Dr^a Sueli Corrêa Marques de Mello, com apoio institucional e financeiro da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, da Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

ACÇÃO DE *Trichoderma* spp. CONTRA *Rhizoctonia solani* Kühn E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.)

LUANA FLOZINA DOS SANTOS

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 20 / 01 / 2026 por:

Professor, Doutor Lincon Rafael da Silva (Universidade Estadual de Goiás)

Examinador Externo

Doutor Ângelo Aparecido Barbosa (Embrapa Cerrados)

Examinador Externo

Professora, Doutora Sueli Corrêa Marques de Mello (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia)

(Presidente)

Professor, Doutor Daniel Diego Costa Carvalho (Universidade Estadual de Goiás)

Suplente

BRASÍLIA
DISTRITO FEDERAL-BRASIL

2026

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO GERAL	xi
GENERAL ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO GERAL	15
REVISÃO DE LITERATURA	18
A cultura da alface	18
Controle biológico de fitopatógenos	22
<i>Trichoderma</i> como agente de biocontrole e na promoção do crescimento de plantas	23
Potencial de <i>Trichoderma</i> spp. na cultura da alface: biocontrole, promoção de crescimento e outros efeitos benéficos	28
JUSTIFICATIVA	30
OBJETIVOS	32
Objetivo geral	32
Objetivos específicos	32
MATERIAL E MÉTODOS	33
Local de execução e delineamento experimental adotado	33
Origem dos isolados.....	33
Avaliação do efeito de compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por isolados de <i>Trichoderma</i> sobre o crescimento micelial de <i>R. solani</i>	35
Avaliação do efeito de compostos orgânicos não voláteis (CONVs) produzidos por isolados de <i>Trichoderma</i> sobre o crescimento micelial de <i>R. solani</i>	35
Avaliação do efeito de tratamento térmico dos filtrados de cultura de <i>Trichoderma</i> sobre a inibição do crescimento de <i>R. solani</i>	36
Promoção de crescimento de plantas de alface, cultivadas em meio Murashige e Skoog, mediado por COVs produzidos por <i>Trichoderma</i>	37
Promoção de crescimento em casa de vegetação.....	37
RESULTADOS	40

Avaliação do antagonismo de isolados de <i>Trichoderma</i> contra <i>R. solani</i> em culturas pareadas.	40
Avaliação do efeito de compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por <i>Trichoderma</i> spp. sobre o crescimento micelial de <i>R. solani</i>	42
Avaliação do efeito de compostos orgânicos não voláteis (CONVs) de <i>Trichoderma</i> spp. sobre o crescimento micelial de <i>R. solani</i>	44
Avaliação do efeito de tratamento térmico dos filtrados de cultura de <i>Trichoderma</i> sobre a inibição do crescimento de <i>R. solani</i>	46
Promoção de crescimento de plantas de alface, cultivadas em meio Murashige e Skoog, mediada por COVs produzidos por <i>Trichoderma</i>	48
Promoção de crescimento de plantas de alface por isolados de <i>Trichoderma</i> , em casa de vegetação.....	49
Supressão da <i>R. solani</i> da alface com o uso de <i>Trichoderma</i> spp. em casa de vegetação.....	51
DISCUSSÃO	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS	69

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Plantas de alface acometidas por *Rhizoctonia solani*. **A:** muda de alface aos sete dias, **B:** Planta de alface aos 23 dias. 21
- Figura 2:** Culturas pareadas de isolados de *Trichoderma* spp. e *Rhizoctonia solani* aos quatro dias de cultivo. **A:** CEN1685, **B:** CEN1242, **C:** CEN1070, **D:** CEN1080, **E:** CEN1339, **F:** CEN1656, **G:** CEN1241, **H:** CEN1653, **I:** CEN287, **J:** CEN1700, **K:** CEN1651, **L:** CEN1513, **M:** CEN281, **N:** CEN1075, **O:** CEN1416, **P:** ESALQ-1306, **Q:** CEN1650, **R:** CEN1659, **S:** CEN1277, **T:** CEN288, **U:** Testemunha (*R. solani*). 42
- Figura 3:** Culturas pareadas de isolados de *Trichoderma* spp. e *Rhizoctonia solani* aos 12 dias de idade. **A:** CEN1685, **B:** CEN1242, **C:** CEN1070, **D:** CEN1080, **E:** CEN1339, **F:** CEN1656, **G:** CEN1241, **H:** CEN1653, **I:** CEN287, **J:** CEN1700, **K:** CEN1651, **L:** CEN1513, **M:** CEN281, **N:** CEN1075, **O:** CEN1416, **P:** ESALQ-1306, **Q:** CEN1650, **R:** CEN1659, **S:** CEN1277, **T:** CEN288, **U:** Testemunha (*R. solani*)..... 42
- Figura 4:** Colônias de *Rhizoctonia solani* aos três dias de idade, mantidas sob exposição de compostos orgânicos voláteis de *Trichoderma* spp. **A:** CEN1653, **B:** CEN1080, **C:** CEN1075, **D:** CEN1277, **E:** ESALQ-1306, **F:** CEN287, **G:** CEN1416, **H:** CEN288, **I:** CEN1242, **J:** CEN1659, **K:** 1650, **L:** CEN1700, **M:** CEN281, **N:** CEN1339, **O:** CEN1513, **P:** CEN1685, **Q:** CEN1656, **R:** CEN1651, **S:** CEN1241, **T:** Testemunha (*R. solani*). 43
- Figura 5:** Culturas de *Rhizoctonia solani* crescidas por quatro dias em meio suplementado com filtrados de cultura de *Trichoderma* spp. **A:** CEN1685, **B:** CEN1080, **C:** CEN1277, **D:** CEN1339, **E:** CEN1653, **F:** CEN1513, **G:** CEN1659, **H:** CEN1075, **I:** CEN1242, **J:** CEN1416, **K:** CEN1656, **L:** CEN1650, **M:** CEN288, **N:** CEN287, **O:** CEN1651, **P:** CEN1700, **Q:** ESALQ - 1306, **R:** CEN281, **S:** CEN1241, **T:** Testemunha (*R. solani*).. 46
- Figura 6:** Colônias de *Rhizoctonia solani* aos quatro dias de idade, cultivadas em meio suplementado com filtrados autoclavados de culturas de *Trichoderma* spp. **A:** CEN1080, **B:** CEN1277, **C:** CEN1513, **D:** CEN1685, **E:** CEN1700, **F:** ESALQ-1306 e **G:** Testemunha (*R. solani*). 47

Figura 7: Colônias de *Rhizoctonia solani* aos sete dias de idade, cultivadas em meio suplementado com filtrados de cultura autoclavados de *Trichoderma* spp. A: CEN1080, B: CEN1277, C: CEN1513, D: CEN1685, E: CEN1700, F: ESALQ-1306, G: Testemunha (*R. solani*). 48

Figura 8: Plantas de alface aos 12 dias de idade cultivadas em atmosfera compartilhada com isolados de *Trichoderma* spp. A: sistema com o isolado CEN1277; B: sistema com o tratamento controle, C: sistema com o isolado CEN1685, D: a esquerda, plantas de alface submetidas a atmosfera compartilhada com o isolado CEN1685 e a direita, plantas de alface do tratamento Testemunha; E: a esquerda, plantas de alface submetidas a atmosfera compartilhada com o isolado CEN1277 e a direita, plantas de alface do tratamento Testemunha..... 49

Figura 9: Plântulas de alface tratadas com *Trichoderma* aos 21 dias. A: à esquerda, plântulas do tratamento ESALQ-1306; à direita, plantas Testemunha. B: à esquerda, plântulas tratadas com o isolado CEN288; à direita, plantas Testemunha. C: à esquerda, plântulas tratadas com o isolado CEN1277; à direita, plantas Testemunha. D: à esquerda, plântulas tratadas com o isolado CEN1651; à direita, plantas Testemunha..... 51

Figura 10: Percentual de ocorrência das notas de severidade da doença em plantas inoculadas com *R. solani* e tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp., analisado pelo teste U de Mann-Whitney. O controle não inoculado corresponde a plantas cultivadas em solo isento do patógeno e sem aplicação de *Trichoderma*. O controle inoculado corresponde a plantas cultivadas em solo contendo o patógeno e sem aplicação de *Trichoderma* 52

Figura 11: Mudanças de alface sete dias após inoculação. A: planta sadia, nota 0, B: lesão leve, nota 1, C: lesão avançada, nota 2, D: Planta com murcha generalizada, nota 3, E: Planta morta, nota 4. 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Código de acesso, local de coleta, substrato de origem e identificação dos isolados de <i>Trichoderma</i> utilizados.	33
Tabela 2: Valores médios de índice de inibição do crescimento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> por isolados de <i>Trichoderma</i> , em culturas pareadas, aos quatro dias de cultivo.	40
Tabela 3: Valores médios dos índices de inibição do crescimento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> mantidos sob exposição aos compostos orgânicos voláteis produzidos por <i>Trichoderma</i> spp., no terceiro dia de cultivo.....	43
Tabela 4: Valores médios de índices de Inibição do crescimento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> em meio suplementado com filtrados de cultura de isolados de <i>Trichoderma</i> , aos três dias de cultivo.	45
Tabela 5: Efeito de filtrado autoclavado de culturas de <i>Trichoderma</i> spp. sobre o crescimento micelial de <i>R. solani</i> , aos quatro dias de cultivo.	47
Tabela 6: Efeito de compostos orgânicos voláteis (COVs) de <i>Trichoderma</i> em alface, aos 12 dias de cultivo em meio Murashige e Skoog	48
Tabela 7: Promoção de crescimento de plantas de alface tratadas com <i>Trichoderma</i> , em casa de vegetação, aos 21 dias	50

RESUMO GERAL

SANTOS, Luana Flozina dos. **Ação de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* Kühn e promoção de crescimento em alface (*Lactuca sativa* L.).** 2026. 86 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

O fungo *Rhizoctonia solani* é um patógeno habitante do solo amplamente distribuído em ambientes agrícolas, causando a queima da saia, doença que se expressa em forma de tombamento de plantas, podridão das raízes e podridão da parte basal da alface (*Lactuca sativa* L.). Esse fungo ataca várias outras culturas e, além de possuir uma ampla gama de hospedeiros, é capaz de persistir no solo, assim dificultando o manejo da doença por métodos convencionais, o que reforça a necessidade de alternativas de controle sustentáveis. Já o *Trichoderma* trata-se de um gênero de fungos composto de inúmeras espécies, muitas das quais com destacada importância como agentes de controle biológico, visto que atuam por diferentes mecanismos de ação (micoparasitismo, antibiose, competição, indução de resistência e promoção de crescimento). O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* mantidos em coleção de culturas, no controle de *R. solani* e na promoção de crescimento de alface. Para tanto, utilizaram-se métodos de pareamento de culturas e de produção de compostos orgânicos com propriedades antifúngicas nos ensaios *in vitro*, além de ensaios *in vivo*. Em culturas pareadas, os isolados CEN1513, CEN1653, CEN1700 e CEN1339 apresentaram os maiores índices de inibição do crescimento micelial do patógeno, com valores médios acima de 56%. Nos ensaios de produção de compostos orgânicos voláteis (COVs), além do isolado CEN1513, destacaram-se, ainda, os isolados CEN281, CEN1656 e CEN1242, com índices de inibição entre 79,00% e 82,00%. Estes, portanto, demonstraram atuar contra o patógeno por meio da produção de COVs. Já nos testes realizados com filtrados de cultura, o isolado CEN1080 apresentou 100% de inibição do crescimento micelial de *R. solani*, seguido por CEN1339 (81,40%) e CEN1700 (80,36%), indicando a presença, em nível elevado, de compostos orgânicos não voláteis (CONVs). Mesmo após autoclavagem, os filtrados do isolado CEN1080 apresentaram 78,33% de inibição, demonstrando a termoestabilidade de CONVs liberados nos filtrados de cultura. Em experimentos de promoção de crescimento em meio de Murashige e Skoog, os isolados *T. asperelloides* CEN1277 e *Trichoderma* sp. CEN1685 promoveram aumento significativo no comprimento radicular, parte aérea e biomassa fresca das plântulas. Em casa de vegetação, os isolados ESALQ-1306, CEN1277, CEN1685, CEN1659, CEN1242, CEN2141, CEN1700, CEN1416 e CEN287 apresentaram os melhores resultados em termos de comprimento de raiz e peso seco; os dois primeiros se destacaram também quanto

à altura das plantas. No ensaio de supressão da doença, todos os isolados mostraram, em diferentes níveis, capacidade para suprimir a doença, com destaque para ESALQ-1306, CEN288 e CEN1651, na redução dos sintomas. De forma geral, os resultados obtidos neste trabalho revelaram a aplicabilidade de isolados de *Trichoderma*, como ferramenta sustentável, no manejo de doenças de solo.

Palavras-chave: controle biológico, *Rhizoctonia solani*, alface.

GENERAL ABSTRACT

SANTOS, Luana Flozina dos. **Action of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani* Kühn and growth promotion in lettuce (*Lactuca sativa* L.).** 2026. 86 p. Dissertation (master's degree in plant pathology) – University of Brasilia, Brasilia, DF, Brazil.

The fungus *Rhizoctonia solani* is a soil-dwelling pathogen widely distributed in agricultural environments, causing bottom rot, a disease that manifests as damping-off, root rot, and basal rot in lettuce (*Lactuca sativa* L.). This fungus attacks several other crops and, in addition to having a wide range of hosts, can persist in the soil, thus hindering disease management by conventional methods, which reinforces the need for sustainable control alternatives. *Trichoderma*, on the other hand, is a genus composed of a number of species, many of which with a significant role as biological control agents, since they act through different mechanisms of action (mycoparasitism, antibiosis, competition, resistance induction, and growth promotion). This study aimed to evaluate the potential of *Trichoderma* spp. isolates maintained in a culture collection for the control of *R. solani* and the promotion of lettuce growth. To this end, culture pairing methods and the production of organic compounds with antifungal properties were employed in both *in vitro* and *in vivo* assays. In paired cultures, isolates CEN1513, CEN1653, CEN1700, and CEN1339 showed the highest inhibition rates of mycelial growth of the pathogen, with average values above 56%. In volatile organic compound (VOC) production assays, in addition to isolating CEN1513, isolates CEN281, CEN1656, and CEN1242 also stood out, with inhibition rates ranging from 79.00% to 82.00%. These, therefore, demonstrated action against the pathogen through the production of VOCs. In tests performed with culture filtrates, the CEN1080 isolate showed 100% inhibition of *R. solani* mycelial growth, followed by CEN1339 (81.40%) and CEN1700 (80.36%), indicating the presence of high levels of non-volatile organic compounds (NVCs). Even after autoclaving, the filtrates of the CEN1080 isolate showed 78.33% inhibition, demonstrating the thermostability of VCCs released in the culture filtrates. In growth promotion experiments in Murashige and Skoog media, the *T. asperelloides* CEN1277 and *Trichoderma* sp. CEN1685 isolates promoted a significant increase in root length, shoot length, and fresh biomass of seedlings. In the greenhouse, the isolates ESALQ-1306, CEN1277, CEN1685, CEN1659, CEN1242, CEN2141, CEN1700, CEN1416, and CEN287 showed the best results in terms of root length and dry weight; the first two also stood out in terms of plant height. In the disease suppression assay, all isolates demonstrated, to varying degrees, the ability to suppress the disease, with ESALQ-1306, CEN288, and CEN1651 standing out in their ability to reduce symptoms. Overall, the results obtained in this work demonstrate the applicability of

Trichoderma isolates as a sustainable tool for managing soil diseases.

Keywords: Biological control, *Rhizoctonia solani*, lettuce.

INTRODUÇÃO GERAL

A alface é uma das hortaliças mais consumidas do mundo, desempenhando um importante papel econômico e social na geração de empregos. Essa cultura apresenta folhas de diferentes cores, variando desde o verde-claro até tons arroxeados, além de possuir diferentes graus de crocância e coloração determinadas pela variedade cultivada (Rossetti et al., 2020). Por se tratar de uma cultura de ciclo curto, ela possibilita múltiplos ciclos durante o ano e é muito suscetível ao ataque de patógenos em determinadas épocas, em que o clima favorece o patógeno, como condições de alta umidade e temperatura (Bergamin Filho; Amorim; Rezende, 2018; Filgueira, 2007).

O manejo fitossanitário da cultura é um dos principais desafios enfrentados pelos produtores, uma vez que a alface é hospedeira de diversos patógenos capazes de causar danos significativos, desde o estabelecimento do estande até o período pós-colheita. Entre os principais gêneros de fungos fitopatogênicos associados à cultura, destacam-se: *Bremia*, *Septoria*, *Rhizoctonia*, *Pythium* e *Botrytis* (Qiu et al., 2018). As doenças causadas por esses patógenos podem comprometer o desenvolvimento vegetativo, reduzir a produtividade e afetar a qualidade comercial das folhas, tornando o cultivo economicamente inviável em situações de alta incidência (Lopes, Quezado-Duval e Reis, 2010).

Uma das doenças de maior ocorrência é a queima da saia causada por *Rhizoctonia solani* Kühn, assim denominada pelo fato de se apresentar como lesões na região basal da planta de alface. Tais lesões características comprometem o desenvolvimento e a qualidade comercial das folhas. Esse basidiomiceto possui hábito polífago, afetando diversas culturas de interesse econômico, além de produzir estruturas de resistência que podem permanecer viáveis no solo por anos, dificultando a aplicação de medidas de controle (Vegette Pinto et al., 2014; Pavan, Krause-Sakate e Kurosawa, 2005).

O controle químico ainda é a medida de controle mais utilizada, mas o uso de tais moléculas na agricultura vem sendo progressivamente desestimulado, devido aos impactos negativos causados ao meio ambiente e à saúde humana (Sharma et al., 2019). Diversos estudos relatam que o uso indiscriminado de agrotóxicos pode resultar em contaminação de águas superficiais e subterrâneas, acúmulo de resíduos tóxicos em alimentos e desequilíbrios da microbiota, comprometendo a fertilidade do solo e a biodiversidade (Lopes e Albuquerque, 2018; Pedro et al., 2025).

Face a isso, o controle biológico surge como uma alternativa sustentável e segura, capaz de reduzir o uso de agroquímicos, minimizar danos ambientais e promover a segurança alimentar, além de, em muitos casos, apresentar custo mais acessível em relação ao controle

químico (Ayilara et al., 2023). Vale ressaltar que são muitos os casos de sucesso no emprego de biocontroladores contra diversos patógenos, como *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *R. solani* entre outros (Khalili et al., 2016; Alfiky et al., 2024; Silva et al., 2025). De forma semelhante aos fungicidas químicos, os biológicos apresentam variadas formulações e modos de uso, sendo alguns deles até mesmo compatíveis com moléculas químicas.

No Brasil, o controle biológico destaca-se como um dos segmentos do agronegócio que mais cresce nos últimos anos. Esse avanço decorre da crescente conscientização do setor agrícola acerca dos impactos negativos decorrentes do uso indiscriminado de produtos químicos, tanto sob o aspecto econômico quanto ambiental. Outrossim, muitas pragas agrícolas têm desenvolvido resistência a diversas moléculas químicas, reduzindo a eficácia dos produtos convencionais, o que torna necessário combinar as duas ferramentas de manejo (Lamichhane et al., 2016).

Portanto, o uso de microrganismos no controle biológico constitui uma alternativa eficiente, por atuar diretamente sobre os agentes patogênicos, evitando a seleção de organismos resistentes e proporcionando um manejo mais sustentável e duradouro das principais espécies nocivas (Woo et al., 2023). Como reflexo desse movimento, observa-se um aumento significativo no número de produtos biológicos registrados no país. Esse crescimento está relacionado a mudanças no arcabouço legal que rege o registro, produção e comercialização desses produtos, cujas leis, decretos e normas sofreram uma atualização significativa recentemente (Andreatta et al., 2025).

Fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os organismos mais utilizados na agricultura. O sucesso desses fungos no controle das doenças de plantas deve-se à facilidade de cultivo em escala industrial e à eficiência dos mesmos como antagonistas, haja vista atuarem contra os fitopatógenos por diferentes mecanismos, simultaneamente, quais sejam: competição por espaço, nutrientes, luz, oxigênio, etc.; hiperparasitismo, relacionado a produção de enzimas líticas; antibiose, por meio da produção de compostos orgânicos voláteis (COVs) e não voláteis (CONVs); indução de resistência e promoção de crescimento (Zin e Badaluddin, 2020).

A produção de compostos orgânicos biologicamente ativos produzidos por *Trichoderma*, assim como a capacidade para inibir o desenvolvimento de patógenos por qualquer um dos mecanismos de ação anteriormente mencionados, varia com o isolado e/ou espécie do fungo. Disso resulta, em grande parte, o seu maior ou menor potencial como agente de biocontrole (Monte, Bettioli e Hermosa, 2019; Mello et al., 2020). As interações com os alvos biológicos ocorrem por diferentes maneiras e graus de eficiência e, portanto, na busca de

isolados que possam ser desenvolvidas comercialmente, é necessário que um número razoável de isolados sejam testados (Silva et al., 2020; Amin et al., 2010). Além disso, para a obtenção de organismos de fato eficazes em condições de campo, o fungo selecionado sob condições controladas deve ser capaz de se estabelecer e dispersar no ambiente, diferentemente do controle químico, cujo efeito é efêmero e pode requerer inúmeras pulverizações para se atingir a eficiência desejada (Andreatta et al., 2025).

Além do potencial como agente de biocontrole, espécies do gênero *Trichoderma* também podem atuar como promotoras de crescimento vegetal por meio de diferentes mecanismos. Em culturas hortícolas, incluindo a alface (*Lactuca sativa* L.), a inoculação com isolados eficientes tem sido associada ao aumento de biomassa, vigor das plantas e melhor estabelecimento inicial, efeitos que podem contribuir para maior tolerância a estresses bióticos e abióticos (Pereira et al., 2019). Assim, selecionar isolados que suprimem patógenos e promovem o crescimento vegetal é estratégico para desenvolver bioinsumos mais eficientes e adaptados ao cultivo (Woo et al., 2014).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antagonista de *Trichoderma* spp. contra o patógeno *R. solani* e na promoção de crescimento de plantas de alface em condições controladas, de forma a conhecer o potencial de uso agrícola desse material biológico mantido na Coleção de Agentes de Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

REVISÃO DE LITERATURA

A cultura da alface

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma dicotiledônea pertencente à família Asteraceae, originária na região mediterrânea do Sul da Europa e Ásia ocidental. Além de ser uma importante fonte de fibras e nutrientes como ferro, magnésio e vitamina B6, trata-se de um vegetal de fácil acesso, baixo custo e que apresenta boa palatabilidade (Kim et al., 2016), características que colocam a alface entre as folhosas mais consumidas mundialmente. Ainda, alguns aspectos que distinguem essa hortaliça são: a diversidade de cores, variando entre tons de verde claro até tons de roxo, graus variáveis de crocância, tipo de folha (lisa ou crespa) e formação ou não de “cabeça”. No Brasil, a cultura da alface concentra-se na região sudeste, com destaque para o estado de São Paulo (Marjotta-Maistro et al., 2021).

O gênero *Lactuca* possui cerca de 100 espécies, entre domesticadas e selvagens, sendo as espécies selvagens importantes fontes de genes para o melhoramento genético, principalmente com relação aos caracteres produtivos e resistência a patógenos (Wei et al., 2021). A espécie *L. sativa* é uma olerícola herbácea, autógama, com inflorescência do tipo capítulo, cuja obtenção de sementes por meio de cruzamento exige muita mão de obra qualificada, dificultando a obtenção de híbridos e favorecendo a utilização de outros métodos de melhoramento (Azevedo et al., 2013).

A alficultura desempenha um papel socioeconômico importante na agricultura brasileira, principalmente em razão das características inerentes à sua produção, destacando-se a facilidade de manejo, a possibilidade de vários ciclos da cultura ao longo do ano e o baixo custo de produção. Desta forma, o cultivo da alface é especialmente atrativo para pequenos produtores e para a agricultura familiar, que geralmente dispõem de menor capital inicial e buscam minimizar riscos, mantendo produtividade com menor investimento financeiro (Sala e Costa, 2012).

A alface pode ser cultivada tanto em campo aberto quanto em ambiente protegido, sendo comumente produzida em canteiros ou em sistemas hidropônicos. No caso do cultivo protegido, há vantagens como a proteção contra eventos climáticos adversos, tais como excesso de chuvas e geadas, além do aumento da produtividade e da obtenção de folhas de melhor qualidade. Quanto ao cultivo em sistema hidropônico, destacam-se benefícios como o uso eficiente da água e nutrientes, a necessidade de menor espaço físico e o maior valor agregado ao produto final (Aquino et al., 2017).

No que diz respeito às condições climáticas ideais para a produção de alface, a maioria das variedades apresentam desenvolvimento ótimo em temperaturas amenas, entre 18^o a 25^oC. No entanto, hoje há no mercado variedades indicadas para cultivo em diferentes condições de temperatura, avanço adquirido através do melhoramento genético, que possibilitou a produção em várias regiões do Brasil. Quanto às condições edáficas, solos bem drenados, com pH entre 6 e 7 são recomendados. A irrigação é outro aspecto importante, haja vista a constituição da alface com cerca de 95% do peso constituído de água, portanto a cultura tem alta demanda hídrica, exigindo boa frequência e distribuição das regas (Maldonade, Mattos e Moretti, 2014).

Entre as folhosas, a alface destaca-se como a hortaliça mais consumida no Brasil. De outra parte, a produção foi estimada em 671,5 mil toneladas em 2021 em uma área de 86,9 mil hectares, atendendo à demanda. O Estado de São Paulo destacou-se como maior produtor nacional (Anuário Brasileiro de Horti & Fruti, 2023). É notório que essa hortaliça possui preferência por temperaturas amenas para seu pleno desenvolvimento, de forma que temperaturas elevadas podem ocasionar a redução do ciclo e antecipação do florescimento, características não desejáveis para a produção. Considera-se também que altas temperaturas podem causar maior ocorrência e ataques severos de determinados patógenos como *Pythium* e *R. solani* (Kobori, Brunelli e Gioria, 2011). Por conseguinte, a alface é altamente sensível às mudanças climáticas, o que pode tornar algumas regiões produtoras inaptas para cultivo dessa hortaliça.

Apesar de apresentar um ciclo produtivo relativamente curto, com período médio de colheita variando entre 45 e 60 dias, dependendo da variedade cultivada, a alface demanda atenção especial quanto aos aspectos fitossanitários. Essa cultura é suscetível a uma ampla gama de doenças que podem comprometer tanto o desenvolvimento vegetativo quanto a qualidade comercial das folhas. Entre os principais agentes fitopatogênicos relatados, encontram-se o oomiceto *Bremia lactucae*, causador do míldio; o fungo *Cercospora longissima*, associado à cercosporiose, além de patógenos de solo como *Pythium spp.*, *R. solani* e *Fusarium spp.*, entre outros, responsáveis por doenças radiculares e podridões que podem provocar perdas significativas na produção (Suinaga et al., 2014)

O fungo *Bremia lactucae* é um oomiceto do reino Straminipila que causa o míldio, doença foliar caracterizada por manchas brancas e pulverulentas na face inferior das folhas e manchas pardas na face superior. Esse patógeno é favorecido por condições de alta umidade relativa do ar e temperaturas amenas, podendo causar danos em qualquer época do ciclo e perdas de até 80% (Souza et al., 2011). Outra doença foliar que acomete a alfacultura é a

cercosporiose, causada pelo fungo *Cercospora longissima* (Sacc.), responsável por danos em cultivos protegidos, hidropônicos ou em campo aberto. Os danos são causados inicialmente nas folhas mais velhas e são caracterizados por manchas foliares circulares ou irregulares de cor marrom, podendo evoluir para necrose. Para a germinação dos esporos e estabelecimento da infecção, que pode ocorrer em uma faixa ampla de temperatura, é necessário que haja molhamento foliar por pelo menos 24 h. Além de reduzir a área fotossintética ativa, as lesões foliares também tornam as folhosas menos atrativas ao consumidor (Noronha e Assunção, 2015).

Entre os patógenos de solo, *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* causa como principal sintoma a murcha; as plantas infectadas inicialmente mostram-se raquíticas e cloróticas e as folhas mais velhas apresentam sintomas de murcha, podendo evoluir para morte da planta. Por se tratar de um patógeno colonizador de sistema vascular, a colonização do xilema leva ao escurecimento do mesmo, o que facilita a identificação do patógeno através de corte longitudinal no caule de plantas sintomáticas (Cabral e Reis, 2013; Cabral et al., 2015).

Pythium é um oomiceto que causa podridões e “*Damping-off*” (tombamento em plântulas). Trata-se de um organismo que apresenta zoósporos flagelados, o que facilita a disseminação através da água do solo, enquanto no sistema hidropônico a disseminação se dá por meio da solução nutritiva e é favorecida por temperaturas elevadas (Stouvenakers et al., 2020). Os sintomas induzidos por esse patógeno em alface manifestam-se como podridões do sistema radicular e da base do caule, podendo ocasionar murcha, tombamento e até morte de plantas.

***Rhizoctonia solani* Kühn em alface**

Embora outras doenças possam afetar severamente a cultura da alface, destaca-se aqui a queima da saia. A fase anamórfica ou assexual do fungo *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk corresponde a *Rhizoctonia solani*, organismo pertencente ao Filo Basidiomycota, Classe Agaricomycetes, Ordem Cantharellales e Família Ceratobasidiaceae (Kirk, 2012). Trata-se de um patógeno habitante do solo, amplamente disseminado em áreas agricultáveis, responsável por danos severos em diversas culturas de interesse agrônomo, social e econômico, incluindo alface. Este fungo pode causar podridões e tombamento de pré e pós-emergência, causando problemas no estabelecimento do estande, redução na produtividade e qualidade do produto final (Pavan, Krause-Sakate e Kurosawa, 2005).

Conhecida vulgarmente como queima da saia, a doença causada por *R. solani* em alface pode ocorrer em qualquer idade da planta; caracteriza-se por lesões de coloração

amarronzada inicialmente nas nervuras e que podem evoluir e causar necrose e amolecimento em folhas mais velhas. As condições favoráveis à queima da saia são alta umidade do ar, solos com excesso de umidade e temperaturas em torno de 15 e 25 °C (Lopes, Quezado- Duval e Reis, 2010; Garcia et al, 2006). Um detalhe que dificulta o manejo dessa doença é a capacidade que este fungo possui de produzir escleródios, estruturas de resistência que podem persistir no solo durante vários anos e afetar próximos ciclos da cultura. Além disso, o fungo possui habilidade para permanecer no solo na forma saprofítica em matéria orgânica na ausência de hospedeiro (Freire e Cardoso, 2009; Lakshman et al., 2016).



Figura 1: Plantas de alface acometidas por *Rhizoctonia solani*. **A:** muda de alface aos sete dias, **B:** Planta de alface aos 21 dias.

Uma particularidade de *R. solani* é a reprodução por meio da fusão de hifas, processo também conhecido como anastomose, pelo qual ocorrem a mistura dos citoplasmas e a dispersão dos núcleos. Esse processo possibilita a formação de grupos de anastomose (AG – *Anastomoses Group*) e está relacionado à compatibilidade entre os isolados. Esse agrupamento está associado a características dos isolados, como ecologia, gama de hospedeiros, morfologia e virulência (Anderson, 1982; Ogoshi, 1987). Até o momento, foram identificados 14 grupos de anastomose (AG 1 a 13 e AG-BI), sendo que, mais recentemente, alguns deles foram divididos em subgrupos (Abbas et al., 2022). No Brasil, encontra-se associado à alface pelo menos os grupos AG-1 IB, AG-1 IA, AG-4 (HGI e HGIII), AG-2-1 e AG-2-2 IIIB, sendo o primeiro indicado como mais agressivo (Benitez-Andrade et al., 2025; Andrade).

O controle químico é o método mais adotado no manejo da *R. solani*, seja por tratamento de sementes ou aplicações foliares. Atualmente, existem dois fungicidas

comerciais registrados no Ministério da agricultura e pecuária (MAPA) para o manejo da queima da saia em alface: um deles, combina ingredientes ativos de dois grupos químicos (estrobilurina e morfolina), e o outro, composto por feniluréia (Agrofit, 2025). Porém, a procura por métodos de controle alternativo é algo crescente devido ao apelo por diminuição do uso de agrotóxicos e, também, pela necessidade de atender a demandas dos cultivos orgânicos, entre outros fatores (Collinge et al., 2022). Assim, o controle biológico apresenta-se como uma alternativa que busca suprimir o patógeno por meio de antagonistas e seus metabólitos, reduzindo a dependência de fungicidas químicos (Guzman-Guzman et al., 2023).

Controle biológico de fitopatógenos

As oscilações climáticas representam ameaças à agricultura, em razão da sensibilidade das plantas a variações ambientais, como temperatura e precipitação, e da possibilidade de mudanças das interações nos diferentes patossistemas. Modificações nos padrões de precipitação e temperatura, aliadas à ocorrência de eventos climáticos extremos, podem favorecer a disseminação de agentes patogênicos para novos locais, por exemplo, o efeito de furacões na disseminação de ferrugem (Isard et al., 2005). Esses fenômenos climáticos podem ainda promover a evolução de agentes fitopatogênicos, levando-os a infectar outras espécies de plantas ou se tornarem mais virulentos e, por conseguinte, a ultrapassarem o controle químico e quebrarem a resistência de cultivares (Singh et al., 2023; Yin et al., 2023). De outra parte, existe atualmente um crescente apelo à adoção de práticas agrícolas sustentáveis, como forma de mitigar os impactos ambientais causados pelos métodos convencionais de cultivo. Tais impactos podem resultar em perdas no rendimento das culturas, acarretando prejuízos aos produtores e comprometendo a segurança alimentar, sobretudo em países emergentes, que apresentam maior vulnerabilidade socioeconômica (Toromade et al., 2024). Nesse contexto, o controle biológico vem se consolidando como uma ferramenta essencial no manejo integrado de doenças e é reconhecido como um dos pilares da agricultura sustentável.

O controle biológico de doenças de plantas pode ser definido, de forma simples, como a redução da quantidade de inóculo ou da capacidade de um patógeno causar doença, mediada por organismos vivos distintos do ser humano (Cook e Baker, 1983). Esse processo ocorre naturalmente nos ecossistemas e, em geral, envolve microrganismos com ação antagônica ou competitiva. A partir da década de 1960, o controle biológico passou a ser incentivado, por meio de aplicações inundativas dos agentes de biocontrole, à moda dos fungicidas químicos (Mello

et al., 2020). Nessa perspectiva, diversas espécies microbianas, principalmente de fungos e bactérias vêm sendo utilizadas como fungicidas no controle de diferentes doenças de plantas. Entre os fungos, destaca-se o gênero *Trichoderma* e bactérias do gênero *Bacillus*.

O desempenho desses microrganismos em determinadas condições ambientais depende da capacidade adaptativa da espécie e/ou isolado frente aos fatores abióticos como temperatura, umidade, pH e disponibilidade de nutrientes e às comunidades microbianas do ecossistema em que será introduzido (Mello et al., 2020). Apesar de existirem ainda lacunas quanto ao entendimento das condições requeridas para uma maior tolerância dos agentes de biocontrole aos diferentes ambientes, pode-se pensar em formulações baseadas em estudos fisiológicos para aumentar a eficácia no campo. Uma tática para superar as múltiplas adversidades, tanto bióticas como abióticas, pode basear-se no desenvolvimento de formulações consorciadas de agentes de controle biológico com diferentes atributos, de forma a aumentar as chances de sucesso do produto biológico (Di Lelio et al., 2021).

No Brasil, verificou-se um crescimento expressivo neste segmento, principalmente nas duas últimas décadas, devido às mudanças que ocorreram em regulamentações, normas e registro de produtos (Andreatta et al., 2025). Considerando os anos mais recentes, o aumento de áreas que utilizam o controle biológico foi de 9% na safra 2017/18, para 28% na safra 2021/22, evidenciando o avanço desse segmento no agronegócio brasileiro (Valente, 2024). Este cenário, alinhado à crise climática enfrentada atualmente, reafirma a necessidade de estudos nessa temática, a fim de promover desenvolvimento tecnológico e inovação, contribuindo para a produção sustentável.

Um fator crucial para a eficácia do controle biológico é a formulação do agente, que deve ser adequada ao método de aplicação, em consonância com as condições do ambiente para o qual é direcionado. Portanto, a escolha correta da formulação está relacionada ao sucesso do biocontrole, por influenciar a capacidade de sobrevivência do agente de controle biológico às condições adversas de temperatura e umidade (Diaz-Rodriguez et al., 2025). Entre os principais métodos de utilização do agente de biocontrole destacam-se o tratamento de sementes, a aplicação em sulco de plantio e, em menor escala, pulverizações. Além do método de aplicação, as características biológicas do microrganismo determinam o tipo de formulação mais apropriada (Spadaro e Droby, 2016).

***Trichoderma* como agente de biocontrole e na promoção do crescimento de plantas**

Os fungos do gênero *Trichoderma* são amplamente utilizados como agentes de biocontrole de doenças de plantas devido ao rápido crescimento em variados substratos, à alta

especificidade e à capacidade de se manterem no ambiente em modo de vida saprofítico na ausência do patógeno (Thambugala et al., 2020).

Embora *Trichoderma* seja amplamente utilizado no manejo de doenças de plantas, algumas particularidades devem ser consideradas. Por ser um fungo tipicamente associado ao solo e à rizosfera, seu estabelecimento eficiente depende da interação com os componentes edáficos, o que direciona as formulações comerciais, em grande parte, para aplicação no tratamento de sementes e no sulco de plantio (Woo et al., 2014). Tais estratégias favorecem a colonização radicular e aumentam a persistência do microrganismo no microambiente, otimizando a proteção contra fitopatógenos habitantes do solo, como *R. solani*, *S. rolfsii* e *Fusarium* spp. (Harman et al., 2021). Por outro lado, o avanço tecnológico tem permitido o desenvolvimento de novas formulações, como grânulos e suspensões concentradas voltadas para aplicação foliar, ampliando o espectro de ação e a aplicabilidade do *Trichoderma* em diferentes sistemas de cultivo (Cumagun, 2014). No entanto, ainda se observa uma predominância de estudos voltados ao controle de patógenos de solo, reflexo da limitação das formulações e da maior afinidade ecológica do fungo com o ambiente radicular.

Trichoderma é um gênero de fungos filamentosos pertencente à divisão Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Hypocreaceae (Kirk, 2012). Trata-se de um grupo de fungos habitantes do solo, com ampla distribuição geográfica, ocorrendo naturalmente em diferentes ecossistemas. Essa característica do gênero está associada, entre outros fatores, à elevada capacidade de colonizar diversos substratos, como matéria orgânica em decomposição, rizosfera e tecidos vegetais. Nesses ambientes, espécies de *Trichoderma* podem atuar como endófitos, competidores de outros microrganismos e agentes de biocontrole, desempenhando papel ecológico fundamental na dinâmica microbiana do solo (Ghorbanpour et al., 2018).

Um ponto importante no avanço dos estudos sobre *Trichoderma* spp. diz respeito a sua taxonomia. Em 1865 os irmãos Tuzlani sugeriram que *Trichoderma* e *Hipocrea* seriam conexões morfológicas de um mesmo fungo e que *Hipocrea* representava a forma sexuada ou teleomórfica de *Trichoderma*, já amplamente conhecido na natureza em sua fase assexual ou anamórfica (Bissett et al., 2015). Essa nomenclatura ocorreu em um período em que a taxonomia dos fungos era baseada predominantemente em características fenotípicas, como a forma e o tamanho dos esporos, a coloração e o formato das colônias. Com o avanço das técnicas de biologia molecular, tornou-se possível o sequenciamento genético, que fornece dados precisos para análises de filogenia e, com base nestes estudos, constatou-se que *Hipocrea* e *Trichoderma* correspondem ao mesmo grupo filogenético, tratando-se, portanto,

de um único gênero. A partir dessa constatação, ocorreu a unificação da nomenclatura, consolidando a designação do gênero como *Trichoderma*, por ser esta a mais antiga. Atualmente, a identificação das espécies baseia-se principalmente em análises de sequências de genes como ITS, *tef1-α* e *rpb2*, que fornecem maior robustez e precisão taxonômica (Cai e Druzhinina, 2021)

Algumas características como rápido crescimento e a capacidade de utilizar diferentes fontes de nutrientes, fazem com que o gênero *Trichoderma* seja um dos mais estudados, entre os agente de biocontrole (Kumar et al., 2023). Além dessas características desejáveis, algumas espécies apresentam vantagens operacionais importantes, como facilidade de cultivo em meios artificiais, estabilidade durante o armazenamento e praticidade na formulação e aplicação em campo. Esses atributos tornam *Trichoderma* um dos microrganismos mais amplamente estudados e explorados comercialmente (Martínez et al. 2023).

Entretanto, a principal vantagem desse gênero como agente de controle biológico está relacionada à variedade de mecanismos de ação que ele apresenta, possibilitando o controle de fitopatógenos por mecanismos diretos e indiretos. Essa adaptabilidade permite que o fungo se estabeleça com eficiência em distintos ambientes e tipos de cultivo, promovendo uma interação benéfica tanto com as plantas quanto com o solo (Sood et al., 2020). Dessa forma, o fungo *Trichoderma* se sobressai como um microrganismo versátil e eficiente, com potencial para integrar estratégias de manejo sustentável de doenças, diminuindo o uso de defensivos químicos e auxiliando na preservação do equilíbrio microbiano nos sistemas agrícolas (Chen et al., 2025).

A antibiose é um mecanismo caracterizado pela capacidade de um microrganismo em dificultar o crescimento e desenvolvimento de outro por meio da produção de metabólitos secundários. A natureza química desses metabólitos é variada, portanto, diferentes gêneros ou espécies podem apresentar a capacidade para produzir diversos compostos químicos diferentes e em proporções distintas (Khan et al., 2020). Nesse contexto, dentro do gênero *Trichoderma*, há vasta literatura demonstrando que existem diferenças entre os compostos produzidos por espécies desse fungo, sendo alguns deles pertencentes aos grupos dos terpenóides, quinonas, pironas e peptídeos antibióticos (Silva, et al., 2021; Ramada et al., 2019). Além do baixo peso molecular, estes compostos possuem a capacidade de evaporar em condições atmosféricas normais, possibilitando a difusão entre macro e microporos, consolidando a antibiose um mecanismo consistente frente a diversos fitopatógenos (Meena et al., 2017; Raut et al., 2014; Stracquadiano et al., 2020; Schulz-Bohm, Martín-Sánchez, Garbeva, 2017). Assim, resultados reportados por Wonglom, Ito e Sunpapao (2020) e por Kong et al. (2022) demonstram que

compostos voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma* foram capazes de inibir o crescimento de fungos fitopatogênicos e promover crescimento vegetal, corroborando a atuação da antibiose mediada por metabólitos secundários.

O hiperparasitismo ou micoparasitismo é uma relação estabelecida entre dois fungos na qual um deles exerce papel de antagonista sobre o outro. Essa interação ocorre de maneira sequencial: o fungo antagonista cresce em direção ao fungo hospedeiro após o reconhecimento de estímulos químicos liberados pelo hospedeiro. Em seguida, ocorre o enrolamento em torno das hifas ao redor das hifas do hospedeiro e a penetração por meio de pressão mecânica ou desenvolvimento do apressório e liberação de enzimas degradadoras de parede celular, como quitinases e glucanases, levando à morte do fungo parasitado e digestão do conteúdo do hospedeiro (Mello et al., 2020; Dutta et al., 2023; Atanasova et al., 2013). Para ilustrar este processo é comumente realizado trabalhos com microscopia eletrônica de varredura, como realizado por Louzada et al. (2009) e Montalvão et al. (2023), nos quais foi possível verificar *Trichoderma* spp. parasitando fitopatógenos.

Outro mecanismo apresentado por *Trichoderma* é a competição, que pode ocorrer por exemplo por espaço, nutrientes e oxigênio. Essa habilidade está relacionada a diversos fatores, como o rápido crescimento do fungo e sua capacidade de utilizar diferentes fontes de carbono para a nutrição (Benitez et al., 2004). Um exemplo clássico de competição é relatado em estudos que mostram que algumas espécies de *Trichoderma* são capazes de produzir sideróforos, compostos que solubilizam e captam íons de ferro, tornando-as competitivamente superior aos patógenos que não apresentam essa característica (Vinale et al., 2013). Em culturas pareadas, Liu et al. (2022) demonstraram que isolados de *Trichoderma* spp. apresentam crescimento micelial superior, promovendo ocupação precoce do substrato e confirmando a competição por espaço e nutrientes como um importante mecanismo desse gênero fúngico.

A indução de resistência é um sistema de defesa induzido nas plantas por espécies de *Trichoderma* colonizadoras de raízes, considerado mecanismo de controle biológico indireto. Carboidratos exsudados pelas raízes das plantas são atrativos para esse fungo, que após o reconhecimento - comunicação planta versus agente de controle biológico mediada por peptídeos sinais - desencadeia um processo complexo, mediado por padrões moleculares associados a microrganismos (microbe associated molecular patterns - MAMPs). Em outras palavras, os MAMPs emitidos pelos microrganismos, ao serem reconhecidos pela planta, faz com que a mesma ative respostas de defesa (Monte, Bettiol e Hermosa, 2019; Omann et al., 2012). Entretanto, no caso de agentes de biocontrole, como *Trichoderma*, essa ativação não

desencadeia uma resposta de ataque, mas sim uma preparação do sistema imunológico da planta. Tal estratégia é responsável pelo êxito do *Trichoderma* em colonizar as raízes (rizocompetência) e por conferir a reação da planta aos fungos agressores. Essa interação pode ativar duas rotas principais: a Resistência Sistêmica Adquirida (SAR), associada ao acúmulo de ácido salicílico, e a Resistência Sistêmica Induzida (ISR), mediada pelas vias do ácido jasmônico e etileno. Ambos os mecanismos desencadeiam respostas de defesa sistêmicas que conferem à planta proteção contra uma ampla gama de agentes patogênicos (Hermosa et al., 2012).

Promoção de crescimento também é apontada como um mecanismo de controle biológico indireto. Ao ser atraído quimicamente pelos exsudatos radiculares, o fungo direciona o crescimento micelial para as raízes para iniciar o processo de colonização. Uma vez que o fungo consegue superar o sistema de defesa da planta e estabelecer a colonização, ele pode induzir modificações fisiológicas na hospedeira, principalmente em condições de estresses bióticos e abióticos (Contreras-Cornejo et al., 2024). Sabe-se que espécies de *Trichoderma* são capazes de alterar concentrações de carboidratos, aminoácidos e hormônios vegetais como ácido abscísico (ABA), ácido indol-3-acético (IAA) e ácido jasmônico. Essas alterações podem resultar em benefícios para as plantas, como acúmulo de biomassa, aumento na eficiência fotossintética, crescimento radicular e em muitos casos culminando em aumento de produtividade (Kabir et al., 2022; Oljira et al., 2020; Harman et al., 2021).

Além dos mecanismos supracitados, esse gênero fúngico também é estudado como atenuante de estresses abióticos. Nessa perspectiva, Scudeletti et al. (2021) investigaram a ação *T. asperellum* em cana-de-açúcar submetidas a déficit hídrico. Ao final do estudo, esses pesquisadores constataram que mesmo sob déficit hídrico as plantas apresentaram maior taxa de crescimento, perfilhamento e produtividade de colmos. De maneira semelhante, Oljira et al. (2020) comprovaram a associação de isolados de *Trichoderma* spp. com a melhor eficiência do uso da água em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidos a estresse salino.

Trichoderma spp. apresentam, ainda, potencial para serem aplicadas na proteção de vegetais contra patógenos de pós-colheita, embora poucos estudos tenham sido conduzidos nesse campo de pesquisa. É importante destacar, contudo, que a utilização de microrganismos diretamente em alimentos requer atenção quanto à inocuidade, a fim de evitar possíveis riscos ao consumidor (Li et al., 2025). Em trabalhos conduzidos por Costa et al. (2021) constatou-se que a aplicação direta de esporos de *T. piluliferum* sobre os frutos de bananeira cv. Prata foi capaz de diminuir em 57% as lesões causadas por *Colletotrichum musae*. Frente a esse resultado, os autores testaram a aplicação em três momentos diferentes, 24h antes da

inoculação de *C. musae*, no mesmo momento da inoculação e 24 h após a inoculação de *C. musae*. Constatou-se que a eficiência do microrganismo diminuiu conforme o atraso da aplicação, com índices de 37% e 27% para aplicação em concomitância e a aplicação 24h após a inoculação com o patógeno, respectivamente, e 57% para a aplicação 24h antes da inoculação. Zhan et al. (2023) verificaram que a aplicação de extratos não voláteis de *T. pinnatum* (LS029-3), em frutos de manga inoculados com *Lasiodiplodia theobromae*, reduziu a severidade dos sintomas. No entanto, são necessários estudos mais aprofundados para respaldar o uso desse fungo na pós-colheita, que garantam a segurança dos consumidores. Assim, torna-se imprescindível que estudos abordem não apenas a viabilidade técnica da produção em larga escala, mas também aspectos relacionados à estabilidade, eficiência e segurança de uso.

Potencial de *Trichoderma* spp. na cultura da alface: biocontrole, promoção de crescimento e outros efeitos benéficos

A alface é uma das hortaliças mais cultivadas em escala mundial, destacando-se pela importância econômica e social no setor hortícola. Entretanto, o ataque de fitopatógenos constitui um dos principais fatores limitantes à produção, podendo comprometer significativamente o rendimento e a qualidade das plantas. O manejo desses patógenos deve ser realizado de forma eficiente para evitar perdas econômicas aos produtores. Para isso, o uso de defensivos químicos é amplamente utilizado, no entanto, essa prática vem sendo desmotivada devido aos efeitos negativos ocasionados pela mesma sobre o ambiente, a saúde humana e o equilíbrio microbiológico do solo (Jacquet et al., 2022; Harman et al., 2021).

Diante desse panorama, o uso de agentes de controle biológicos representa uma estratégia promissora, podendo ser aplicado de forma isolada ou em associação com outras práticas de manejo (Aggeli et al., 2020; Ferreira e Musumeci, 2021). Entre as principais vantagens desse método estão sua seletividade no modo de ação, a baixa toxicidade e o custo reduzido em comparação a diversos defensivos químicos (Andreatta et al., 2025). Além disso, os bioinsumos são importantes em nichos específicos, como nos sistemas de agricultura orgânica e agroecológica, em que o uso de produtos químicos é restrito (Silva et al., 2025).

Muitos estudos vêm sendo conduzidos para identificar microrganismos com potencial para controle biológico na cultura da alface. A utilização de fungos do gênero *Trichoderma*, nesse caso, está associada principalmente ao uso do microrganismo para controle de doenças causadas por patógenos de solo e à promoção de crescimento, mas não se limitando a essas linhas. Silva et al. (2021) constataram a eficácia de compostos orgânicos voláteis produzidos

por *T. azevedoi* na redução da severidade de *S. sclerotiorum*. Ainda se tratando de *S. sclerotiorum*, Topolovec-Pintarić et al. (2025) observaram que *T. koningiopsis* foi capaz de inibir o desenvolvimento da doença, além de incrementar o rendimento da cultura. Já Baiyee, Ito e Sunpapao (2019) avaliaram o efeito da aplicação de *T. asperellum* no controle de manchas foliares causadas por *Corynespora asiicola* e *Curvularia aerea*, tendo constatado redução significativa na severidade de ambas as doenças.

Com respeito à promoção de crescimento, Gutiérrez-Chávez et al. (2025) apontam incremento para as variáveis altura de parte aérea, comprimento radicular e número de folhas, em plantas de alface. Os autores observaram também um aumento de até 82,63% na biomassa seca, em cultivo hidropônico, tratadas com *T. asperellum* e *T. harzianum*. Do mesmo modo, Pereira et al. (2019) constataram incremento na produtividade em campo de alface americana ‘Mauren’ e promoção de desenvolvimento inicial de alface ‘Astra’ tratadas com *T. harzianum*.

A utilização de *Trichoderma* vem sendo estudada também sob outros aspectos, a exemplo do aumento na absorção de nutrientes nas raízes das plantas. Assim, o tratamento do solo com a suspensão de *T. virens*, sem adubação com nitrogênio, mostrou aumento de 51% na absorção desse nutriente, em relação à testemunha (Fiorentino et al., 2018). Ainda se tratando de linhas de pesquisa pouco exploradas, Caporale et al. (2014) averiguaram a ação de *T. harzianum* e *T. atroviride* na mitigação de fitotoxicidade em plantas de alface irrigadas com água contaminada com arsênio: constataram que as plantas tratadas com *Trichoderma* apresentaram melhor desenvolvimento vegetativo, menor quantidade de arsênio nos tecidos vegetais e um aumento significativo na concentração de fósforo disponível no solo.

Pesquisas relacionadas à eficiência desse microrganismo na diminuição de danos causados por déficit hídrico e salinidade do solo também são relatadas na literatura. Kalleli, Aissa e Hamdi (2021) verificaram maior tolerância à irrigação com água salina (alta quantidade de NaCl) em plantas de alface, cujas sementes haviam sido tratadas com *T. atroviride*. Os autores também observaram melhores índices de crescimento das plantas. Portanto, existem relatos de promoção de crescimento de plantas. Junte-se a isso a possibilidade de se atenuar estresses abióticos. Dessa forma, a aplicação de *Trichoderma* spp. pode contribuir de diversas formas para a produção da alface, pois além de suprimir um número de patógenos que atacam a cultura, alguns isolados também são relatados como benéficas à cultura, sob outras perspectivas.

JUSTIFICATIVA

A avaliação de diferentes isolados de *Trichoderma* na supressão de *R. solani* e na promoção do crescimento da alface (*Lactuca sativa*) mostra-se essencial para o desenvolvimento de biofungicidas biológicos, especialmente diante da crescente demanda por sistemas agrícolas mais limpos e sustentáveis. Esse patógeno caracteriza-se como um organismo necrotrófico de ampla distribuição, responsável por causar tombamento de mudas, podridões radiculares e impactos expressivos na produtividade e na qualidade dos produtos destinados ao consumo. O controle químico, embora amplamente empregado, apresenta baixa eficiência no solo e implica riscos à saúde humana, à biota edáfica e ao meio ambiente. Nesse contexto, o uso de agentes de controle biológico, como espécies do gênero *Trichoderma*, tem ganhado destaque como alternativa viável aos fungicidas químicos.

Os fungos do gênero *Trichoderma* apresentam ampla diversidade funcional, pois reúne grande número de espécies e variabilidade infraespecífica, considerando suas características metabólicas e interações no ambiente. Diante dessa diversidade dentro do gênero e das espécies, a prospecção de isolados para cada finalidade específica é uma atividade fundamental. É importante salientar que os atributos do fungo dependem tanto de fatores genéticos como de fatores ecológicos. Os estudos comparativos de diferentes isolados permite identificar aqueles com maior atividade competitiva nos diferentes habitats, especialmente no que se refere à superação de obstáculos para obtenção de nutrientes e colonização dos espaços dentro do solo e nas raízes das plantas. A partir desses estudos, isolados de *Trichoderma* podem ser explorados para promover a saúde das plantas e o controle de biológico de doenças em sistemas agrícolas, entre outras aplicações.

Além de serem capazes de suprimir doenças, muitos isolados de *Trichoderma* também promovem o crescimento vegetal por diferentes mecanismos, a exemplo da síntese de fitormônios, como ácido indolacético (AIA), solubilização de fosfatos e outros nutrientes, bem como produção de sideróforos, resultando em maior produção de biomassa vegetal e melhor nutrição das plantas. Assim, a descoberta de novos isolados com características antagonistas e bioestimulantes impulsiona o avanço estratégico na formulação de bioinsumos.

Face ao que foi dito, este trabalho visa contribuir na avaliação e disponibilização de *Trichoderma* spp., mantidas na Coleção de Agentes de Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil, para futuras pesquisas no desenvolvimento de novos biofungicidas para manejo de doenças e aumento de produtividade, em consonância com as demandas da agricultura moderna

e a redução do uso de agroquímicos.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Prospectar isolados de *Trichoderma* mantidos na Coleção de Agentes de Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil, quanto ao potencial como agentes de controle biológico da queima da saia (*Rhizoctonia solani*), em alface.

Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de *Trichoderma* spp. no crescimento do patógeno *R. solani* em pareamento de culturas.
- Avaliar a ação inibitória de *R. solani* por *Trichoderma* spp. por meio da produção de compostos orgânicos voláteis.
- Avaliar a ação inibitória de *R. solani* por *Trichoderma* spp. por meio da produção de compostos orgânicos não voláteis.
- Avaliar a capacidade de isolados de *Trichoderma* spp. para suprimir a queima da saia da alface.
- Avaliar o efeito da aplicação de *Trichoderma* spp. sobre o desenvolvimento de plantas de alface.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de execução e delineamento experimental adotado

Os ensaios foram conduzidos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN), em Brasília, Distrito Federal, no período compreendido entre os meses de agosto de 2024 a julho de 2025. Todos os experimentos foram conduzidos pelo menos duas vezes, utilizando o delineamento experimental em blocos casualizados (DBC).

Origem dos isolados

Foram escolhidos, para os ensaios iniciais, 19 isolados de *Trichoderma*, pertencentes à Coleção de Agentes de Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil e um isolado comercial, portanto, totalizando 20 isolados. Esses materiais biológicos são apresentados na Tabela 1. O isolado de *R. solani* utilizado nos testes é procedente da Embrapa Hortaliças e originário de alface com sintomas de queima da saia e, anteriormente, foi caracterizado como pertencente ao grupo de anastomose G1, por outros membros da equipe do laboratório e também mantido na referida Coleção. Todos os fungos foram reativados em meio de Batata - Dextrose - Ágar (BDA) e guardados sob refrigeração, formando-se assim, a Coleção de Trabalho.

Tabela 1. Código de acesso, local de coleta, substrato de origem e espécie de *Trichoderma* utilizada.

Código	Local de coleta	Substrato	Espécie
CEN1513	Manaus-AM	Solo nativo de cerrado	<i>T. koningiopsis</i>
CEN1653	Ipameri-GO	Solo nativo de cerrado	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN1700	Dona Euzébia-MG	Rizosfera de Teca	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN1339	Brasília-DF	Rizosfera de micônia	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN1651	Ipameri-GO	Rizosfera de cana-de-açúcar	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN288	Planaltina-DF	entrelinha algodão	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN1659	Ipameri-GO	Rizosfera de milho	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN287	Planaltina-DF	Campo de algodão	<i>T. afroharzianum</i>
CEN1075	CNPH	Rizosfera de tomate	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN1070	CNPH	Rizosfera de tomate	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN1650	Ipameri-GO	Solo de cerrado nativo	<i>Trichoderma</i> sp.

CEN1080	CNPH	Rizosfera de tomate	<i>Trichoderma</i> sp.
CEN1242	Rajadinha-DF	Rizosfera de milho	<i>T. azevedoi</i>
CEN281	Planaltina DF	Entrelinha de algodoeiro	<i>T. afroharzianum</i>
CEN1241	Rajadinha-DF	Rizosfera de milho	<i>T. azevedoi</i>
CEN1685	Piraúba-MG	Rizosfera de bambu	<i>Trichoderma</i> sp.
ESALQ-1306*	Trichodermil®	–	<i>T. harzianum</i>
CEN1416	São José do Rio Pardo-SP	Plantação de cebola	<i>T. lentiforme</i>
CEN1277	Rajadinha-DF	Rizosfera de salsa	<i>T. asperelloides</i>
CEN 1656	Ipameri-GO	Rizosfera de bananeira	<i>Trichoderma</i> sp.

*Isolado comercial

Avaliação do antagonismo de isolados de *Trichoderma* contra *R. solani* em culturas pareadas

O experimento foi instalado como descrito por Mello et al. (2007). Em placas de Petri (90 mm Ø), contendo 20 mL do meio Batata Dextrose Ágar (BDA) Merck®, foram dispostos discos de ágar (5 mm Ø) contendo micélio de *Trichoderma* e de *R. solani*, em extremidades opostas das placas. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento (isolado de *Trichoderma* + Testemunha). O tratamento Testemunha foi constituído de placas de Petri contendo unicamente o patógeno. As culturas foram mantidas em câmara de crescimento à 25 °C (± 2 °C), com fotoperíodo de 12 horas.

A inibição do crescimento micelial do patógeno pelos isolados de *Trichoderma* foi determinada quando as colônias nas placas testemunhas atingiram toda a superfície do meio, no terceiro dia de cultivo. Para tal, foram tomadas as medidas do diâmetro das colônias do patógeno com o auxílio de um paquímetro digital. Os valores obtidos foram utilizados para cálculo dos percentuais de inibição, de acordo com a fórmula: $I = (C-T/C) \times 100$, onde I = índice de inibição (%); C = diâmetro das colônias do patógeno na placa controle e T = diâmetro das colônias do patógeno nos pareamentos. Posteriormente, as placas foram mantidas na câmara de crescimento para observar o crescimento do antagonista sobre as colônias do patógeno. Este experimento foi conduzido três vezes. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade, utilizando o software Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011).

Avaliação do efeito de compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por isolados de *Trichoderma* sobre o crescimento micelial de *R. solani*

A metodologia utilizada para avaliar o crescimento do patógeno mediante produção de COVs pelos isolados de *Trichoderma* foi descrita por Silva et al. (2021) e consiste na união de bases de placas com o antagonista e o patógeno, formando uma atmosfera compartilhada. Foram utilizados 19 isolados, pois o isolado CEN1070 foi excluído deste e dos experimentos subsequentes, por demandar tempo adicional para restabelecimento da colônia, o que inviabilizou sua inclusão dentro do cronograma experimental. As bases de placa de Petri (90 mm Ø) contendo o *Trichoderma* previamente cultivado por três dias, a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, foram sobrepostas às bases contendo o meio BDA inoculado com um disco (5 mm Ø) de cultura de *R. solani*. Os conjuntos formados foram selados com filme de parafina plástica, envolvido com plástico transparente e, então, distribuídos em câmara incubadora regulada para as mesmas condições de temperatura e fotoperíodo anteriores. As bases com o *Trichoderma* foram mantidas na parte inferior do sistema para garantir que nenhum esporo atingisse, por efeito gravitacional, o meio cultivado com *R. solani*. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento (*Trichoderma* + Testemunha), totalizando 95 parcelas. O tratamento Testemunha consistiu de conjuntos, cujas partes de baixo continham meio BDA sem o antagonista.

A avaliação ocorreu três dias após a montagem do sistema, quando a placa controle foi completamente colonizada. A inibição do crescimento micelial do patógeno por COVs produzidos pelo antagonista e o cálculo dos índices de inibição foram realizados como no experimento anterior. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade, utilizando o software Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011).

Avaliação do efeito de compostos orgânicos não voláteis (CONVs) produzidos por isolados de *Trichoderma* sobre o crescimento micelial de *R. solani*

Este experimento foi conduzido com os mesmos 19 isolados, utilizados no experimento anterior. O método adotado foi adaptado de Dennis e Webster (1971). Três discos (5 mm Ø) de BDA previamente colonizados com o antagonista foram transferidos para frascos Erlenmeyer contendo 100 mL de meio batata-dextrose (BD) esterilizado. As culturas em meio BD foram incubadas em agitador orbital (Lab-line incubator-shaker, modelo NT 711) a 150 rpm e a 25 °C (± 2 °C), em ausência de luz por sete dias. Separou-se a parte líquida por filtração com papel filtro, seguindo-se uma centrifugação a 6.081 $\times g$ para remoção de esporos. Adicionalmente, a fase líquida foi filtrada com membrana de celulose com 0,45 μ m de diâmetro.

Os filtrados obtidos foram adicionados ao meio BDA já preparado, na proporção de 25% (v/v) e o meio assim suplementado foi distribuído 20 mL por placa. Cada placa recebeu um disco (5 mm Ø) de BDA colonizado com *R. solani*. O tratamento Testemunha consistiu em discos colonizados com o patógeno depositados em placas com meio BDA não adicionado de filtrado de cultura. As placas foram incubadas em câmara de crescimento a 25 °C (\pm 2 °C) e fotoperíodo de 12 horas.

Aos três dias de cultivo, tomaram-se as medidas de diâmetro das colônias e aplicou-se a fórmula descrita anteriormente, para a obtenção dos percentuais de inibição. O experimento foi conduzido três vezes, com cinco placas por tratamento, cada uma constituindo uma unidade amostral. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade, utilizando o software Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011).

Avaliação do efeito de tratamento térmico dos filtrados de cultura de *Trichoderma* sobre a inibição do crescimento de *R. solani*

Neste experimento, foram utilizados isolados que apresentaram bons resultados de inibição do crescimento micelial do patógeno, no experimento anterior. Os isolados escolhidos foram: CEN1080, CEN1513, CEN1685, CEN1700, CEN1277 e ESALQ-1306. A metodologia adotada foi adaptada de Dennis e Webster (1971). A fase líquida foi obtida como descrito no item anterior, incorporada ao meio BDA (acrescido de 5 g de ágar) na proporção de 25% (v/v), e, então, o meio suplementado foi autoclavagem a 121 °C por 20 minutos. Posteriormente, foram vertidos 20 mL do meio suplementado e autoclavado em placas de 85 mm Ø de diâmetro. Por fim, discos (5 mm Ø) de BDA colonizados com *R. solani* foram depositados ao centro das placas. O tratamento Testemunha consistiu em discos colonizados com o patógeno depositados em placas com meio BDA autoclavado, sem adição de filtrado de cultura. As culturas assim preparadas foram incubadas em câmara de crescimento por 25 °C (\pm 2 °C) durante quatro dias. As medidas do diâmetro das colônias foram tomadas aos quatro dias de cultivo, quando as placas no tratamento Testemunha foram totalmente preenchidas. Para calcular os índices de inibição do crescimento do patógeno pelos filtrados submetidos à autoclavagem, utilizou-se da mesma fórmula utilizada nos itens anteriores. O experimento foi conduzido com 20 tratamentos (19 isolados de *Trichoderma* e uma Testemunha apenas com o patógeno) e cinco repetições, sendo cada placa de Petri considerada uma unidade amostral. O experimento foi repetido duas vezes. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando o software Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011).

Promoção de crescimento de plantas de alface, cultivadas em meio Murashige e Skoog, mediado por COVs produzidos por *Trichoderma*

Os procedimentos aqui adotados foram descritos por Silva et al. (2022), adaptado do protocolo utilizado por Lee et al. (2016) e consiste no uso de placas dentro de placas. Os isolados escolhidos foram selecionados a partir dos isolados com melhores resultados no experimento de compostos voláteis e obedecendo a preferência por isolados com menor produção de micélio aéreo (para evitar contaminações no meio). Assim, dois isolados de *Trichoderma*, CEN1277 e CEN1685 foram testados. Placas Petri de 60 x 15 mm preenchidas com 6 mL de meio BDA foram colocadas na extremidade de outras placas de Petri maiores (150 x 25 mm), sendo esta preenchida com 50mL de meio MS basal (Murashige e Skoog, 1962). Um disco de micélio de (5 mm Ø) colonizado por *Trichoderma* foi depositado no centro da placa menor. Em cada uma das placas maiores, foram distribuídas cinco sementes de alface, com espaçamento de 26 mm. Outra placa de 150 x 25 mm foi sobreposta e, o conjunto, envolvido com parafina plástica e filme plástico transparente para formar a atmosfera compartilhada. O tratamento Testemunha constou de conjunto semelhante, sendo que o meio BDA não recebeu o disco de meio colonizado. As sementes passaram por tratamento prévio, sendo imersas em etanol a 70% por 1 minuto, seguido de desinfecção com hipoclorito de sódio a 25% por 5 minutos, e enxaguadas três vezes com água destilada autoclavada por 30 segundos. O sistema experimental foi mantido a 25 °C, sob fotoperíodo de 12 horas, por 12 dias. Ao final, foram avaliados peso da massa fresca total, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz. O experimento foi executado duas vezes, com 10 repetições por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância como nos ensaios anteriores, porém utilizou-se o teste de Tukey a 5 % de probabilidade, para comparação das médias.

Promoção de crescimento em casa de vegetação

O experimento foi realizado em casa de vegetação com sementes de alface ‘Vanda’, utilizando todos os isolados de *Trichoderma*, exceto o CEN1070 que, como mencionado anteriormente, foi excluído dos ensaios. Utilizaram-se vasos plásticos com capacidade de 300 mL, preenchidos com a mistura de solo preparado autoclavado (padrão da Embrapa) e substrato Bioplant®, na proporção de 2:1. As sementes passaram por tratamento prévio, sendo imersas em etanol a 70% por 1 minuto, seguido de desinfecção com hipoclorito de sódio a 25% por 5 minutos, e enxaguadas três vezes com água destilada autoclavada por 30 segundos.

Para a obtenção das suspensões de *Trichoderma* spp., os isolados foram cultivados em

meio BDA por sete dias à temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas e, então, três discos (5 mm Ø) de meio colonizados foram transferidos para frascos com arroz parboilizado (40 g) previamente umedecido (60% v/v) e autoclavado (121 °C; 20 min). Em seguida, os frascos foram mantidos em câmara de crescimento a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias, com agitação manual diária para favorecer a colonização do substrato. As suspensões de esporos foram obtidas mediante adição de 100mL de água destilada estéril a cada frasco e agitação. A parte líquida foi coletada e filtrada em gaze estéril, os conídios foram contados com o auxílio de uma câmara de Neubauer e, as suspensões, ajustadas para a concentração de 10^7 conídios/mL. Aplicaram-se 10 mL da suspensão contendo 10^7 conídios/mL, diretamente na cova de plantio no momento da semeadura. O experimento foi conduzido com 19 tratamentos (*Trichoderma* spp. + Testemunha sem *Trichoderma*) e seis repetições. A unidade experimental foi constituída de um vaso, contendo uma planta. As avaliações foram realizadas 21 dias após a instalação do experimento, determinando-se o comprimento de raiz e altura das plantas com o auxílio de régua milimetrada. As plantas colhidas foram mantidas em estufa a 65 °C por 48 horas para determinação de massa seca, em balança de precisão. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística da mesma forma que nos experimentos anteriores.

Supressão da *R. solani* da alface com o uso de *Trichoderma* spp. em casa de vegetação

Inicialmente, foi realizado um ensaio de pré-seleção com todos os isolados listados na Tabela 1, cujos resultados não foram considerados para a análise e o estudo prosseguiu com duas execuções com 10 isolados, a saber: CEN281, CEN287, CEN288, CEN1080, CEN1416, CEN1651, CEN1656, CEN1659, CEN1685 e ESALQ-1306. Utilizaram-se sacos plásticos com capacidade de 3.000 mL, preenchidos com mistura de solo preparado autoclavado (padrão da Embrapa) e substrato Bioplant na proporção de 1:1. Foram plantadas duas mudas de alface do tipo americana com 14 dias de idade. O pré-inóculo foi obtido a partir do cultivo de *R. solani* em substrato sólido (arroz parboilizado). Para tanto, 200g de arroz foram depositados em frascos Erlenmeyer, umedecidos com água à razão de 60% (v/v) e autoclavados (121 °C por 20 min). Ao arroz, foram adicionados três discos (5 mm Ø) de BDA colonizado com o patógeno, retirados de cultura com sete dias de idade. Os frascos foram mantidos à temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. O arroz colonizado foi triturado e misturado ao solo de plantio (2,5 g de inóculo para 1 L de solo). Os sacos de plantio foram preenchidos com a mistura de solo já inoculado e irrigados 24 h antes do transplantio das mudas.

A obtenção das suspensões de *Trichoderma* spp. foi realizada conforme o item anterior,

adotando a mesma concentração de 10^7 conídios/mL. O tratamento procedeu-se com a aplicação de 10 mL da suspensão de conídios. Esse experimento contou com duas Testemunhas, uma inoculada (cultivada em solo com patógeno e sem aplicação de suspensão de *Trichoderma*) e outra não inoculada (cultivada em solo sem patógeno e sem aplicação de *Trichoderma*). A aplicação da suspensão foi realizada rente ao colo das mudas no momento do transplante e as Testemunhas contaram com a aplicação de água. O experimento contou com 12 tratamentos, sendo 10 isolados e duas Testemunhas.

A severidade da doença foi avaliada com o auxílio de escala de notas, adaptada de Dias et al. (2013), como a seguir: 0 - planta sadia; 1- lesão leve (lesão em até 50% do colo); 2- lesão avançada (lesão acima de 50% colo ou pelo 2 a 3 folhas murchas); 3- murcha generalizada e 4- morte da planta. O experimento foi conduzido com 12 tratamentos e 10 repetições, e executado duas vezes. Os dados obtidos foram comparados, utilizando modelo não paramétrico, pelo teste U de Mann-Whitney (2010).

RESULTADOS

Avaliação do antagonismo de isolados de *Trichoderma* contra *R. solani* em culturas pareadas

No experimento de cultivo pareado (Tabela 2), os isolados de *Trichoderma* alvos deste estudo apresentaram valores médios de inibição do crescimento micelial de *R. solani* entre 40,84 % (isolado CEN1656) e 58,08% (isolado CEN1513). De acordo com a análise de variância dos dados obtidos e aplicação do teste de comparação de médias (Scott-Knott ($P \leq 0,05$), os isolados CEN1653, CEN1700 e CEN1339, que apresentaram índices de inibição, respectivamente, de 57,33%; 57,02%; e 56,40% e, juntamente com o CEN1513, formaram o grupo com os maiores índices médios de inibição. Outros sete isolados, embora diferindo significativamente destes, apresentaram bons índices de inibição, superiores a 50%. São eles: CEN1651(54,57%), CEN288 (54,53%), CEN1659 (53,37%), CEN287 (53,02%), CEN1075 (52,77%), CEN1070 (50,86%) e CEN1650 (50,17%), sendo que os dois últimos (CEN1070 e CEN1650), também diferiram significativamente dos cinco primeiros citados. O maior agrupamento de isolados foi composto de 10 isolados, com índices de inibição entre 46,46% e 50,86 % (CEN1277 e CEN1070, reespectivamente); neste grupo incluiu-se o isolado comercial ESALQ-1306, que apresentou valor médio de inibição de 47,48%. Finalmente, o isolado CEN1656 foi o que apresentou o mais baixo índice de inibição, com valor médio de 40,84%.

Aos 12 dias pós-inoculação foi verificado o crescimento das colônias de *Trichoderma* sobre o patógeno (Figura 3), informação esta que sugere a ação micoparasítica de todos os isolados, em maior ou menor grau. Os isolados CEN1242, CEN1656 e CEN1416 colonizaram cerca de 70% da superfície do meio, enquanto CEN1080 e CEN1070 exibiram tímido crescimento sobre o patógeno; os demais isolados, colonizaram completamente o meio de cultura, sobrepondo inteiramente as colônias do patógeno.

Tabela 2. Valores médios de índice de inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* por isolados de *Trichoderma*, em culturas pareadas, aos quatro dias de cultivo.

Isolado	Inibição micelial (%)
CEN1513 (<i>T. koningiopsis</i>)	58,08 ± 1,94 a*
CEN1653 (<i>Trichoderma</i> sp.)	57,33 ± 2,23 a
CEN1700 (<i>Trichoderma</i> sp.)	57,02 ± 2,87 a
CEN1339 (<i>Trichoderma</i> sp.)	56,46 ± 2,71a

CEN1651(<i>Trichoderma</i> sp.)	54,57 ± 2,44b
CEN288 (<i>Trichoderma</i> sp.)	54,53 ± 4,03b
CEN1659 (<i>Trichoderma</i> sp.)	53,37 ± 1,98b
CEN287 (<i>T. afroharzianum</i>)	53,02 ± 2,08b
CEN1075 (<i>Trichoderma</i> sp.)	52,77 ± 3,78b
CEN1070 (<i>Trichoderma</i> sp.)	50,86 ± 1,94c
CEN1650 (<i>Trichoderma</i> sp.)	50,17 ± 1,52c
CEN1080 (<i>Trichoderma</i> sp.)	49,80 ± 3,44c
CEN1242 (<i>T. azevedoi</i>)	49,68 ± 1,17c
CEN281 (<i>Trichoderma</i> sp.)	48,24 ± 1,55c
CEN1241 (<i>T. azevedoi</i>)	47,89 ± 1,73c
CEN1685 (<i>Trichoderma</i> sp.)	47,53 ± 2,40c
ESALQ-1306 (<i>T. harzianum</i>)	47,48 ± 2,87c
CEN1416 (<i>T. lentiforme</i>)	47,2 ± 4,45c
CEN1277 (<i>T. asperelloides</i>)	46,46 ± 2,17c
CEN 1656 (<i>Trichoderma</i> sp.)	40,84 ± 2,20d
CV (%) **	4,96

*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si, segundo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). **Coeficiente de Variação (%).

A formação de zonas/halos de inibição proeminentes foi observada para alguns isolados, como CEN1653, CEN1685, CEN288 e CEN1656. No entanto, para a maioria dos isolados não se observou esse fenômeno, devido à rápida colonização sobre o micélio do patógeno.

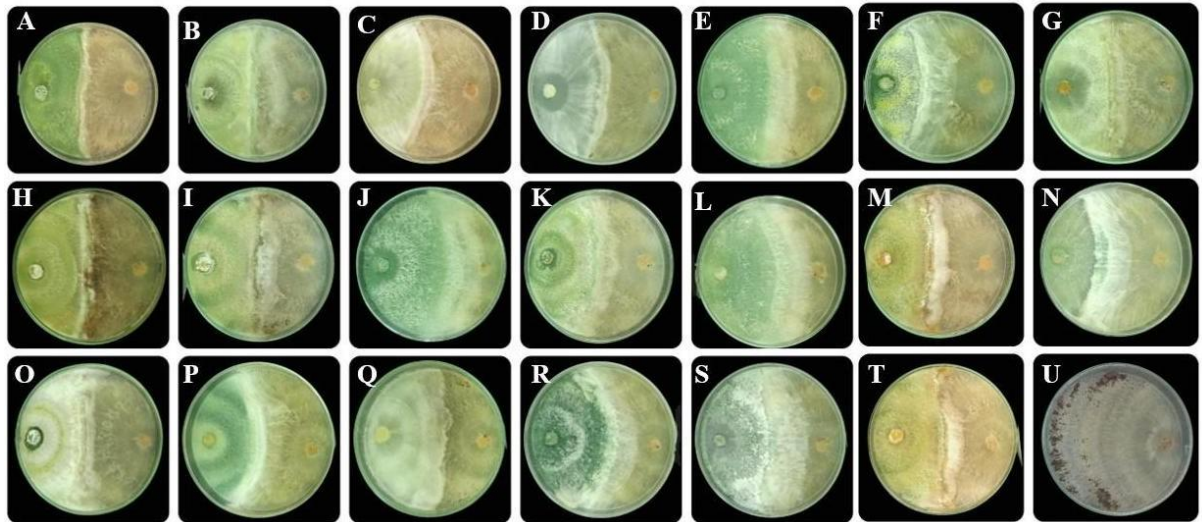


Figura 2: Culturas pareadas de isolados de *Trichoderma* spp. e *Rhizoctonia solani* aos quatro dias de cultivo. A: CEN1685, B: CEN1242, C: CEN1070, D: CEN1080, E: CEN1339, F: CEN1656, G: CEN1241, H: CEN1653, I: CEN287, J: CEN1700, K: CEN1651, L: CEN1513, M: CEN281, N: CEN1075, O: CEN1416, P: ESALQ-1306, Q: CEN1650, R: CEN1659, S: CEN1277, T: CEN288, U: Testemunha (*R. solani*).

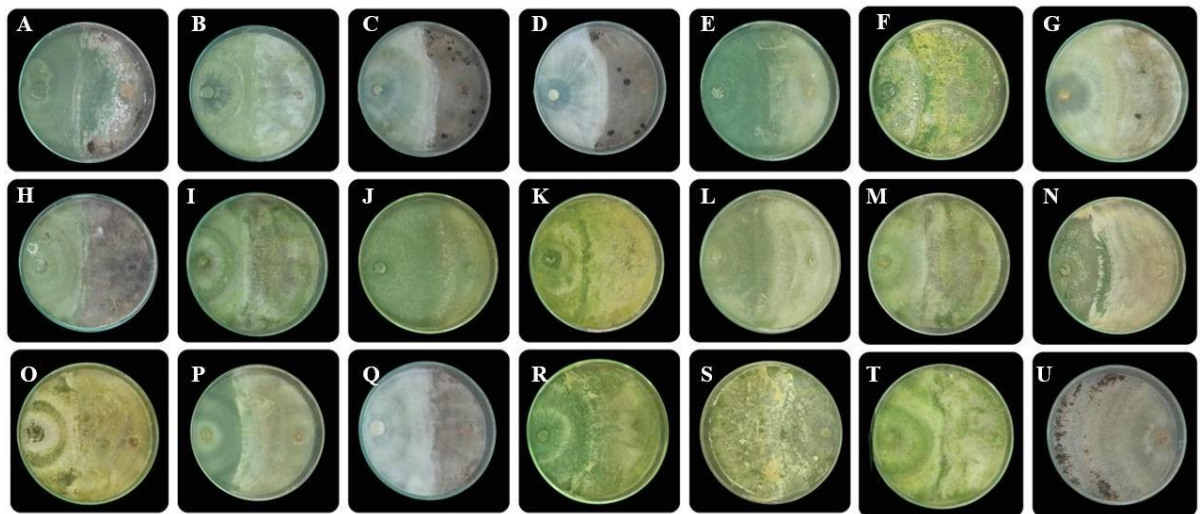


Figura 3: Culturas pareadas de isolados de *Trichoderma* spp. e *Rhizoctonia solani* aos 12 dias de idade. A: CEN1685, B: CEN1242, C: CEN1070, D: CEN1080, E: CEN1339, F: CEN1656, G: CEN1241, H: CEN1653, I: CEN287, J: CEN1700, K: CEN1651, L: CEN1513, M: CEN281, N: CEN1075, O: CEN1416, P: ESALQ-1306, Q: CEN1650, R: CEN1659, S: CEN1277, T: CEN288, U: Testemunha (*R. solani*).

Avaliação do efeito de compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *R. solani*

Todos os isolados testados demonstraram ser produtores de COVs biologicamente ativos

contra o patógeno, conforme mostra a Tabela 3. Os índices de inibição do crescimento micelial de *R. solani* foram elevados, variando entre 72,89% e 86,01%. Os isolados formaram três agrupamentos distintos. O grupo de maior índice de inibição foi constituído por 15 dos 19 isolados, com valores médios de inibição acima de 79%. Entretanto, os valores de inibição obtidos aqui são excepcionalmente elevados, acima de 72%, na avaliação realizada aos três dias de cultivo.

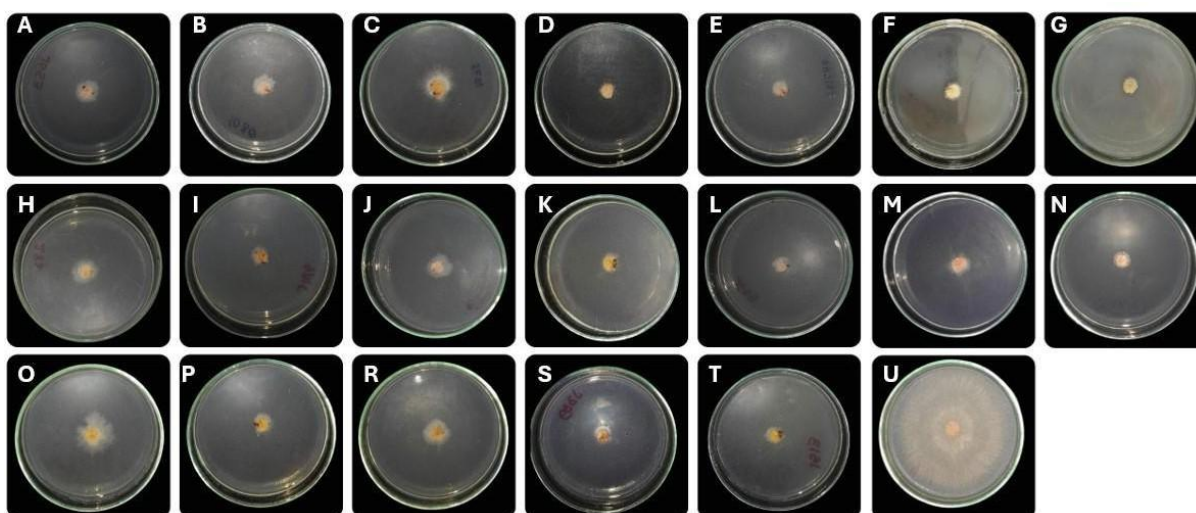


Figura 4: Colônias de *Rhizoctonia solani* aos três dias de idade, mantidas sob exposição de compostos orgânicos voláteis de *Trichoderma* spp. **A:** CEN1653, **B:** CEN1080, **C:** CEN1075, **D:** CEN1277, **E:** ESALQ-1306, **F:** CEN287, **G:** CEN1416, **H:** CEN288, **I:** CEN1242, **J:** CEN1659, **K:** 1650, **L:** CEN1700, **M:** CEN281, **N:** CEN1339, **O:** CEN1513, **P:** CEN1685, **Q:** CEN1656, **R:** CEN1651, **S:** CEN1241, **T:** Testemunha (*R. solani*).

Tabela 3. Valores médios dos índices de inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* mantidos sob exposição aos compostos orgânicos voláteis produzidos por *Trichoderma* spp., no terceiro dia de cultivo.

Isolado	Inibição micelial (%)
ESALQ-1306 (<i>T. harzianum</i>)	86,01 ± 2,27 a*
CEN1277 (<i>T. asperelloides</i>)	85,86 ± 1,06 a
CEN1080 (<i>Trichoderma</i> sp.)	85,33 ± 2,69 a
CEN1241 (<i>T. azevedoi</i>)	84,03 ± 1,50 a
CEN287 (<i>T. afroharzianum</i>)	83,95 ± 5,37 a
CEN1651 (<i>Trichoderma</i> sp.)	83,90 ± 1,93 a

CEN288 (<i>Trichoderma</i> sp.)	83,85 ± 2,10 a
CEN1070 (<i>Trichoderma</i> sp.)	82,96 ± 2,34 a
CEN1685 (<i>Trichoderma</i> sp.)	82,67 ± 0,72 a
CEN1659 (<i>Trichoderma</i> sp.)	82,47 ± 1,20 a
CEN1653 (<i>Trichoderma</i> sp.)	82,36 ± 1,91 a
CEN281 (<i>Trichoderma</i> sp.)	81,72 ± 7,0 a
CEN1513 (<i>T. koningiopsis</i>)	80,89 ± 2,79 a
CEN1656 (<i>Trichoderma</i> sp.)	80,73 ± 1,68 a
CEN1242 (<i>T. azevedoi</i>)	79,36 ± 4,11 a
CEN1075 (<i>Trichoderma</i> sp.)	78,65 ± 3,06b
CEN1339 (<i>Trichoderma</i> sp.)	78,43 ± 3,99b
CEN1416 (<i>T. lentiforme</i>)	76,56 ± 2,76c
CEN1650 (<i>Trichoderma</i> sp.)	75,74 ± 2,75c
CEN1700 (<i>Trichoderma</i> sp.)	72,89 ± 2,76c
CV (%) **	3,54

*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si, segundo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). **Coeficiente de Variação (%).

Avaliação do efeito de compostos orgânicos não voláteis (CONVs) de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *R. solani*

De acordo com a análise estatística realizada, os isolados distinguiram-se em 12 classes, considerando-se os valores médios de índices de inibição, fato que evidencia a grande variação em termos dessa atividade biológica, entre os diferentes isolados (Figura 5). A inibição do patógeno foi total com o isolado CEN1080. Dois isolados, CEN1339 e CEN1700, com índices de inibição de 81,40% e 80,36%, respectivamente, foram classificados no segundo grupo, seguidos dos isolados CEN1513 com 69,08% e CEN1075 com 67,18%, que constituíram o terceiro grupo. Vale mencionar também os isolados do grupo 4: ESALQ-1306, CEN1685, CEN1277, CEN1656, CEN1650 e CEN1659, cujos valores médios de inibição, em ordem decrescente, ficaram entre 64,42% e 51,24%. Os oito isolados restantes apresentaram valores médios inferiores a 50%). Os índices de inibição mais baixos foram os observados com os isolados CEN1242 (31,56%), CEN287 (25,28%), CEN288 (12,46%) e CEN281 (11,04%).

Tabela 4. Valores médios de índices de Inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* em meio suplementado com filtrados de cultura de isolados de *Trichoderma*, aos três dias de cultivo.

Isolado	Inibição micelial (%)
CEN1080 (<i>Trichoderma</i> sp.)	100,00 ± 0 a*
CEN1339 (<i>Trichoderma</i> sp.)	81,4 ± 2,97 b
CEN1700 (<i>Trichoderma</i> sp.)	80,36 ± 0,94 b
CEN1513 (<i>T. koningiopsis</i>)	69,08 ± 1,68 c
CEN1075 (<i>Trichoderma</i> sp.)	67,18 ± 2,89 c
ESALQ-1306 (<i>T. harzianum</i>)	64,42 ± 5,63 d
CEN1685 (<i>Trichoderma</i> sp.)	64,24 ± 2,11 d
CEN1277 (<i>T. asperelloides</i>)	57,52 ± 4,03 e
CEN1656 (<i>Trichoderma</i> sp.)	56,32 ± 5,08 e
CEN1650 (<i>Trichoderma</i> sp.)	51,88 ± 4,00 f
CEN1659 (<i>Trichoderma</i> sp.)	51,24 ± 1,96 f
CEN1416 (<i>T. lentiforme</i>)	45,36 ± 2,21 g
CEN1653 (<i>Trichoderma</i> sp.)	40,92 ± 3,67 h
CEN1651 (<i>Trichoderma</i> sp.)	38,58 ± 3,90 h
CEN1241 (<i>T. azevedoi</i>)	37,72 ± 1,92 h
CEN1242 (<i>T. azevedoi</i>)	31,56 ± 1,07 j
CEN287 (<i>T. afroharzianum</i>)	25,28 ± 6,63 j
CEN288 (<i>Trichoderma</i> sp.)	12,46 ± 4,46 k
CEN281 (<i>Trichoderma</i> sp.)	11,04 ± 6,91 l
CV (%) **	6,70

*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si, segundo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$) **Coeficiente de Variação (%).

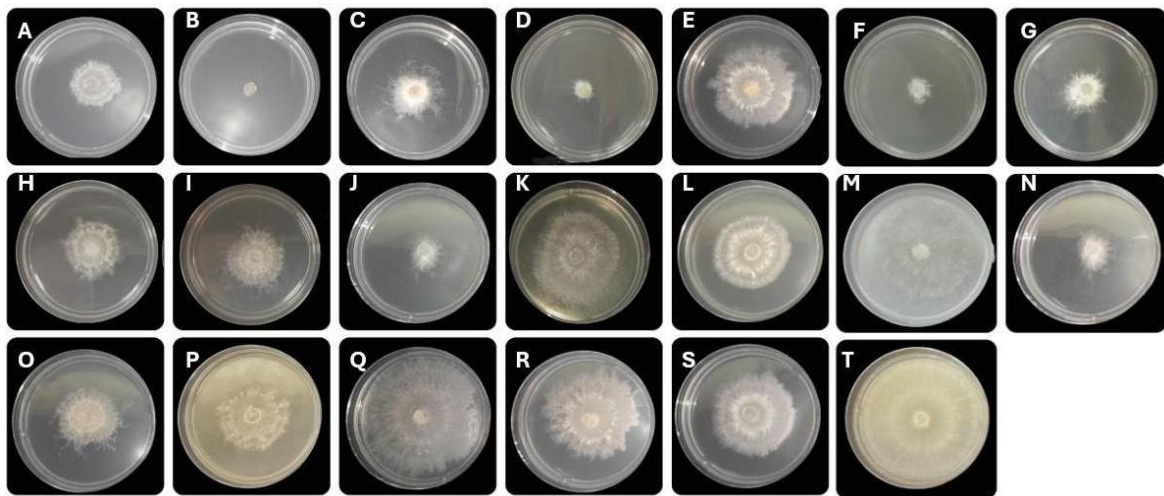


Figura 5: Culturas de *Rhizoctonia solani* crescidas por quatro dias em meio suplementado com filtrados de cultura de *Trichoderma* spp. **A:** CEN1685, **B:** CEN1080, **C:** CEN1277, **D:** CEN1339, **E:** CEN1653, **F:** CEN1513, **G:** CEN1659, **H:** CEN1075, **I:** CEN1242, **J:** CEN1416, **K:** CEN1656, **L:** CEN1650, **M:** CEN288, **N:** CEN287, **O:** CEN1651, **P:** CEN1700, **Q:** ESALQ - 1306, **R:** CEN281, **S:** CEN1241, **T:** Testemunha (*R. solani*).

Avaliação do efeito de tratamento térmico dos filtrados de cultura de *Trichoderma* sobre a inibição do crescimento de *R. solani*

Para a realização deste experimento, foram selecionados sete isolados que apresentaram as maiores taxas de inibição no ensaio com extratos brutos. Todos os isolados utilizados (CEN1080, CEN1513, CEN1685, CEN1700, CEN1277 e ESALQ-1306) apresentaram algum grau de inibição, conforme demonstrado na Tabela 5. Esses resultados indicam que a elevação da temperatura interfere no efeito dos filtrados. A análise estatística evidenciou a separação entre os isolados, de acordo com os valores médios do índice de inibição obtidos. O valor mais elevado do índice de inibição foi alcançado com o isolado CEN1080 (78,33%). A este, seguiram-se os isolados CEN1513 e CEN1685 com valores médios de 43,47% e 39,58%, respectivamente. Os isolados CEN1700 e CEN1277 apresentaram valores de 23,47% e 22,78%, respectivamente e, por fim, o isolado comercial ESALQ-1306 apresentou a menor índice de inibição (3,05%).

Tabela 5. Efeito de filtrado autoclavado de culturas de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *R. solani*, aos quatro dias de cultivo.

Isolado	Inibição micelial (%)
CEN1080 (<i>Trichoderma</i> sp.)	78,33 ± 1,70 a*
CEN1513 (<i>T. koningiopsis</i>)	43,47 ± 5,58 b
CEN1685 (<i>Trichoderma</i> sp.)	39,58 ± 1,23 b
CEN1700 (<i>Trichoderma</i> sp.)	23,47 ± 2,50 c
CEN1277 (<i>T. asperelloides</i>)	22,78 ± 3,71 c
ESALQ-1306 (<i>T. harzianum</i>)	3,05 ± 3,55 d
CV(%)**	17,15

*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si, segundo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). **Coeficiente de Variação (%).

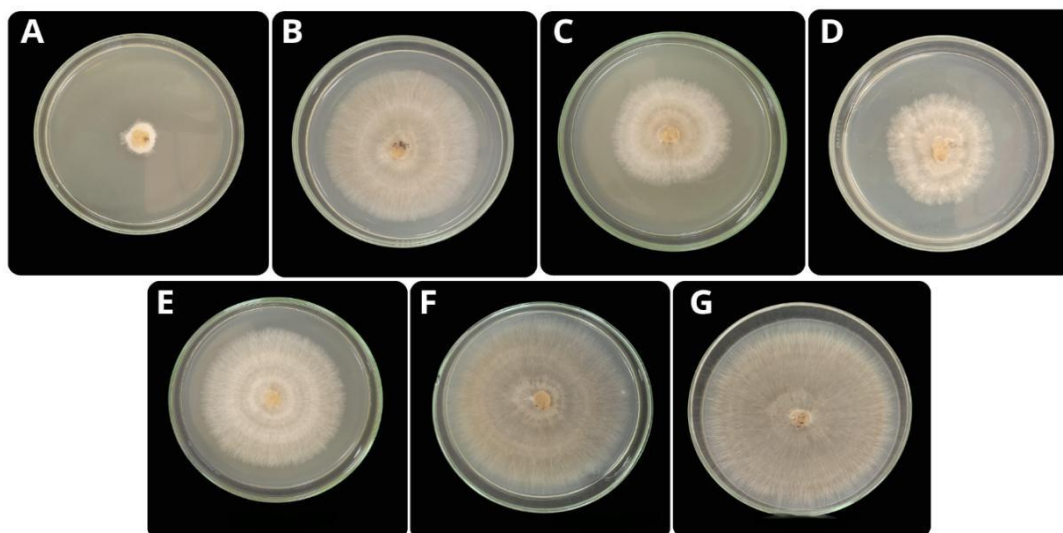


Figura 6: Colônias de *Rhizoctonia solani* aos quatro dias de idade, cultivadas em meio suplementado com filtrados autoclavados de culturas de *Trichoderma* spp. A: CEN1080, B: CEN1277, C: CEN1513, D: CEN1685, E: CEN1700, F: ESALQ-1306 e G: Testemunha (*R. solani*).

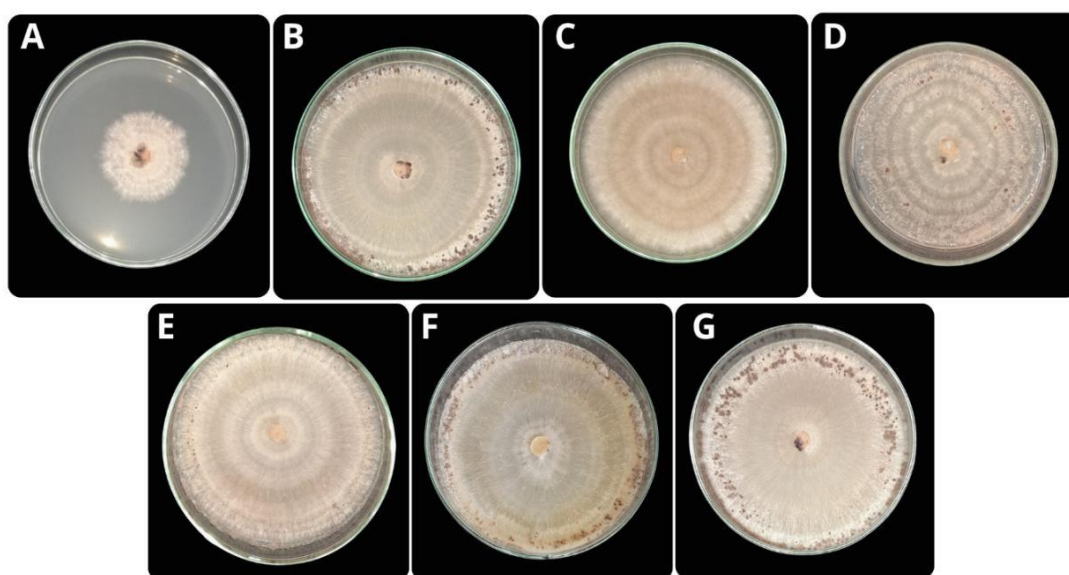


Figura 7: Colônias de *Rhizoctonia solani* aos sete dias de idade, cultivadas em meio suplementado com filtrados de cultura autoclavados de *Trichoderma* spp. A: CEN1080, B: CEN1277, C: CEN1513, D: CEN1685, E: CEN1700, F: ESALQ-1306, G: Testemunha (*R. solani*).

Promoção de crescimento de plantas de alface, cultivadas em meio Murashige e Skoog, mediada por COVs produzidos por *Trichoderma*

Os dois isolados de *Trichoderma* testados, CEN1277 (*T. asperelloides*) e CEN1685 (*Trichoderma* sp.), não diferiram entre si e apresentaram diferenças significativas em relação à Testemunha, quanto ao comprimento de raiz e peso fresco, conforme a Tabela 6. Quanto ao comprimento de parte aérea, o isolado CEN1277 não diferiu da Testemunha.

Além disso, visualmente as raízes das plantas de alface submetidas à exposição de compostos voláteis apresentaram vigor, demonstrado pela maior quantidade de raízes secundárias.

Tabela 6. Efeito de compostos orgânicos voláteis (COVs) de *Trichoderma* em alface, aos 12 dias de cultivo em meio Murashige e Skoog.

Tratamento	Raiz	Parte aérea	Peso fresco
	cm		G
CEN1685 (<i>Trichoderma</i> sp.)	5,86 ± 1,42 a*	5,38 ± 0,60 a	0,278 ± 0,09 a
CEN1277 (<i>T. asperelloides</i>)	5,42 ± 1,44 a	4,64 ± 1,23 b	0,260 ± 0,01 a
Testemunha	4,36 ± 1,41 b	4,43 ± 0,64 b	0,204 ± 0,01 b
CV (%)**	19,93	18,71	20,6

*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si, segundo teste de Tukey (P≤0,05). **Coeficiente de Variação (%).

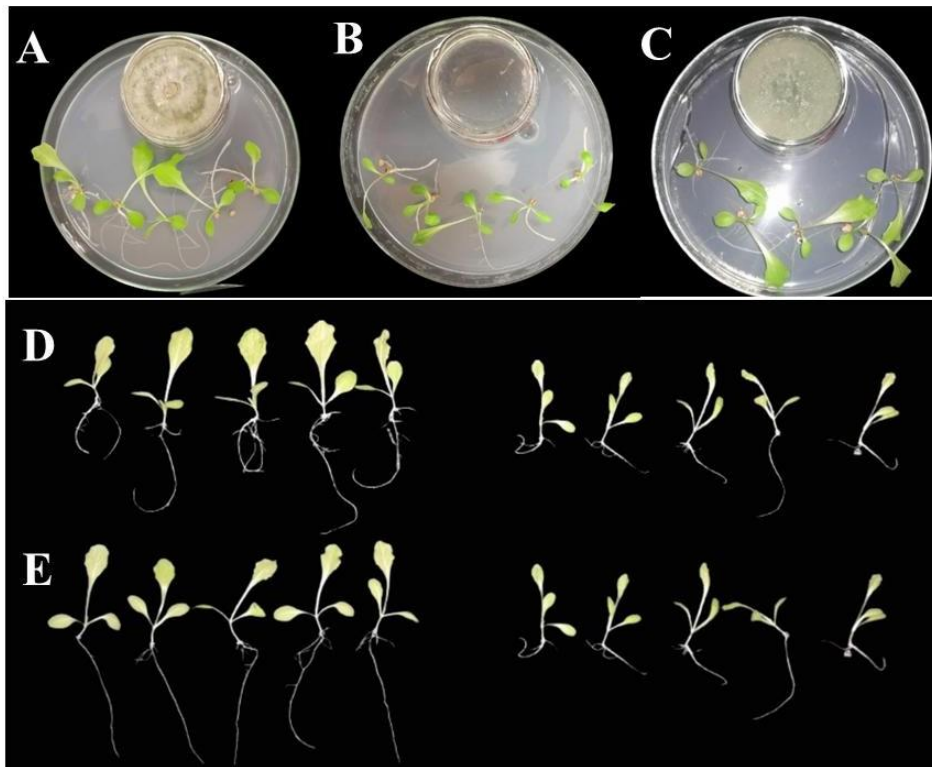


Figura 8: Plantas de alface aos 12 dias de idade cultivadas em atmosfera compartilhada com isolados de *Trichoderma* spp. A: sistema com o isolado CEN1277; B: sistema com o tratamento controle, C: sistema com o isolado CEN1685, D: a esquerda, plantas de alface submetidas a atmosfera compartilhada com o isolado CEN1685 e a direita, plantas de alface do tratamento Testemunha; E: a esquerda, plantas de alface submetidas a atmosfera compartilhada com o isolado CEN1277 e a direita, plantas de alface do tratamento Testemunha.

Promoção de crescimento de plantas de alface por isolados de *Trichoderma*, em casa de vegetação

De acordo com as análises estatísticas dos dados obtidos no experimento conduzido em casa de vegetação (Tabela 7), houve a formação de agrupamentos dos isolados com relação às três características avaliadas: comprimento de raiz (cm), comprimento de parte aérea (cm) e peso seco (g).

Quanto ao comprimento de raiz, nove isolados alocaram-se no grupo de isolados que atingiram os valores médios mais elevados, a saber: ESALQ-1306, CEN1659, CEN1685, CEN1242, CEN287, CEN1277, CEN1241, CEN1700 e CEN1416. Os demais isolados se agruparam com o tratamento Testemunha. Para altura de plantas, os isolados ESALQ-1306 juntamente com o isolado CEN1277 foram os representantes do grupo de maiores médias,

enquanto oito isolados agruparam-se de médias intermediário (CEN1659, CEN1685, CEN1242, CEN287, CEN1241, CEN1700 e CEN1416) e nove isolados alocaram-se no grupo de valores médios mais baixos, juntamente com o tratamento Testemunha (CEN1339, CEN1651, CEN1075, CEN1656, CEN1513, CEN1653, CEN288, CEN1650 e CEN1080).

Já com relação à massa seca, 11 isolados apresentaram valores médios superiores ao tratamento Testemunha, são eles: ESALQ-1306, CEN1659, CEN1685, CEN1242, CEN287, CEN1277, CEN1241, CEN1700, CEN1416, CEN1339 e CEN 1651). Os demais (oito isolados) agrupam-se juntamente à Testemunha.

Tabela 7. Promoção de crescimento de plantas de alface tratadas com *Trichoderma*, em casa de vegetação, aos 21 dias.

Tratamento	Comprimento de raiz	Comprimento de parte aérea	Massa seca
	Cm		(g)
ESALQ-1306	8,70 ± 2,41 a*	10,10 ± 2,44 a	0,125 ± 0,018 a
CEN1659	8,60 ± 2,38 a	8,70 ± 2,41 b	0,214 ± 0,013 a
CEN1685	8,50 ± 2,41 a	8,60 ± 2,53 b	0,112 ± 0,019 a
CEN1242	8,10 ± 2,23 a	7,90 ± 2,47 b	0,103 ± 0,032 a
CEN287	7,80 ± 1,09 a	7,90 ± 1,97 b	0,099 ± 0,025 a
CEN1277	7,70 ± 1,58 a	11,66 ± 1,78 a	0,153 ± 0,030 a
CEN1241	7,40 ± 3,47 a	6,80 ± 2,29 b	0,098 ± 0,020 a
CEN1700	7,10 ± 2,06 a	7,90 ± 2,12 b	0,103 ± 0,019 a
CEN1416	7,00 ± 2,19 a	7,40 ± 2,16 b	0,086 ± 0,20 a
CEN1339	6,02 ± 2,72 b	6,30 ± 2,86 c	0,082 ± 0,015 a
CEN1651	6,00 ± 2,12 b	5,10 ± 2,93 c	0,092 ± 0,033 a
CEN281	5,50 ± 1,41 b	7,10 ± 1,78 b	0,044 ± 0,020 b
CEN1075	5,00 ± 1,35 b	4,60 ± 1,87 c	0,049 ± 0,021 b
Testemunha	4,90 ± 2,21 b	6,00 ± 3,38 c	0,067 ± 0,013 b
CEN1656	4,10 ± 1,06 b	4,30 ± 2,12 c	0,043 ± 0,028 b
CEN1513	4,00 ± 2,01 b	3,60 ± 1,67 c	0,047 ± 0,023 b
CEN1653	3,70 ± 1,96 b	4,29 ± 2,01 c	0,038 ± 0,021 b

CEN288	3,30 ± 2,17 b	4,0 ± 1,82 c	0,035 ± 0,02 b
CEN1650	3,20 ± 2,21 b	3,50 ± 2,03 c	0,016 ± 0,026 b
CEN1080	3,20 ± 1,27 b	4,07 ± 1,09 c	0,036 ± 0,007 b
CV (%) **	33,73	36,31	28,19

*Valores seguidos pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si, segundo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$) **Coeficiente de Variação (%).

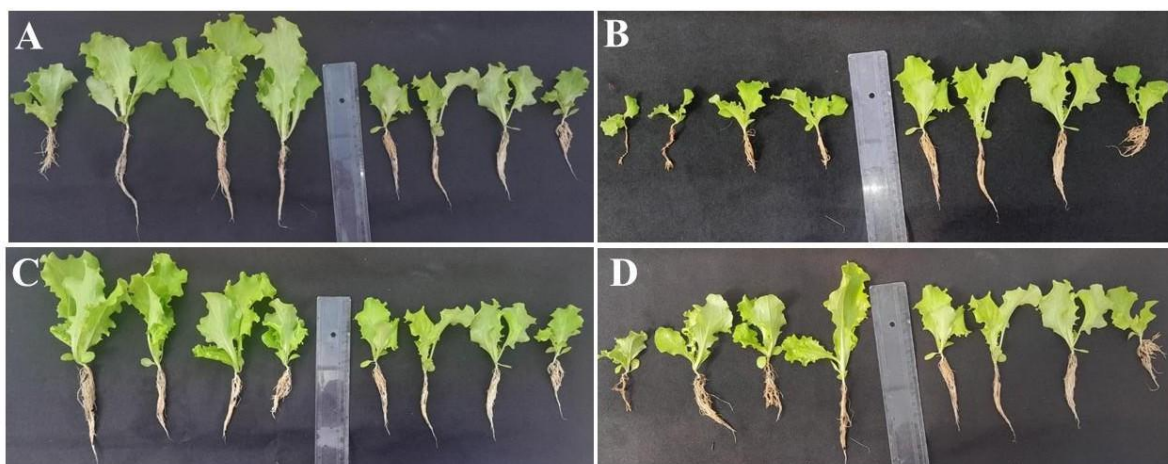


Figura 9: Plântulas de alface tratadas com *Trichoderma* aos 21 dias. **A:** à esquerda, plântulas do tratamento ESALQ-1306; à direita, plantas Testemunha. **B:** à esquerda, plântulas tratadas com o isolado CEN288; à direita, plantas Testemunha. **C:** à esquerda, plântulas tratadas com o isolado CEN1277; à direita, plantas Testemunha. **D:** à esquerda, plântulas tratadas com o isolado CEN1651; à direita, plantas Testemunha.

Supressão da *R. solani* da alface com o uso de *Trichoderma* spp. em casa de vegetação

Os resultados obtidos neste experimento apontaram para uma menor severidade da doença nas plantas inoculadas com o patógeno, quando tratadas com *Trichoderma*, em comparação com aquelas não tratadas com *Trichoderma* (Testemunha inoculada). Assim, em um dos agrupamentos (grupo 1) alocou-se apenas o tratamento Testemunha não inoculado, ou seja, plantas cultivadas sem patógeno e sem aplicação de *Trichoderma*; às plantas, sem a presença de sintomas ou plantas mortas, foi atribuída a notas 0 da escala. Em outro agrupamento, Grupo 2, alocaram-se os isolados ESALQ-1306, CEN288, CEN1651, CEN1080, CEN1685 e CEN1659. O Grupo 3 foi composto pelos isolados CEN281, CEN287 e CEN1656. Por fim, formou-se outro grupo (grupo 4), com o controle inoculado (plantas cultivadas em solo com presença do patógeno e sem aplicação de *Trichoderma*), no qual todas as plantas apresentando sintomas ou morte.

Ao observar a Figura 10, verifica-se que não ocorreram plantas mortas ou com sintomas na Testemunha não inoculada com o patógeno e o maior percentual (50%) de plantas mortas foi verificado com a Testemunha inoculada. Infere-se que os tratamentos ESALQ-1306, CEN288, CEN281, CEN1651 foram os tratamentos que apresentaram maior percentual de plantas sem sintomas (20%) sendo que, com o primeiro (ESALQ-1306) não se observou mortalidade de plantas. Também não se verificou mortalidade de plantas com o isolado CEN1080; este apresentou 10% das plantas sem sintomas e 70% com a nota 1. Com o isolado CEN281, entretanto, apesar dessa percentagem de plantas sem sintomas relativamente elevada, verificou-se esse mesmo índice em termos de plantas mortas. Já o isolado CEN1416, com o qual não se verificaram plantas assintomáticas, 60% das plantas receberam a nota 1 da escala utilizada e não foi observada a ocorrência de plantas mortas.

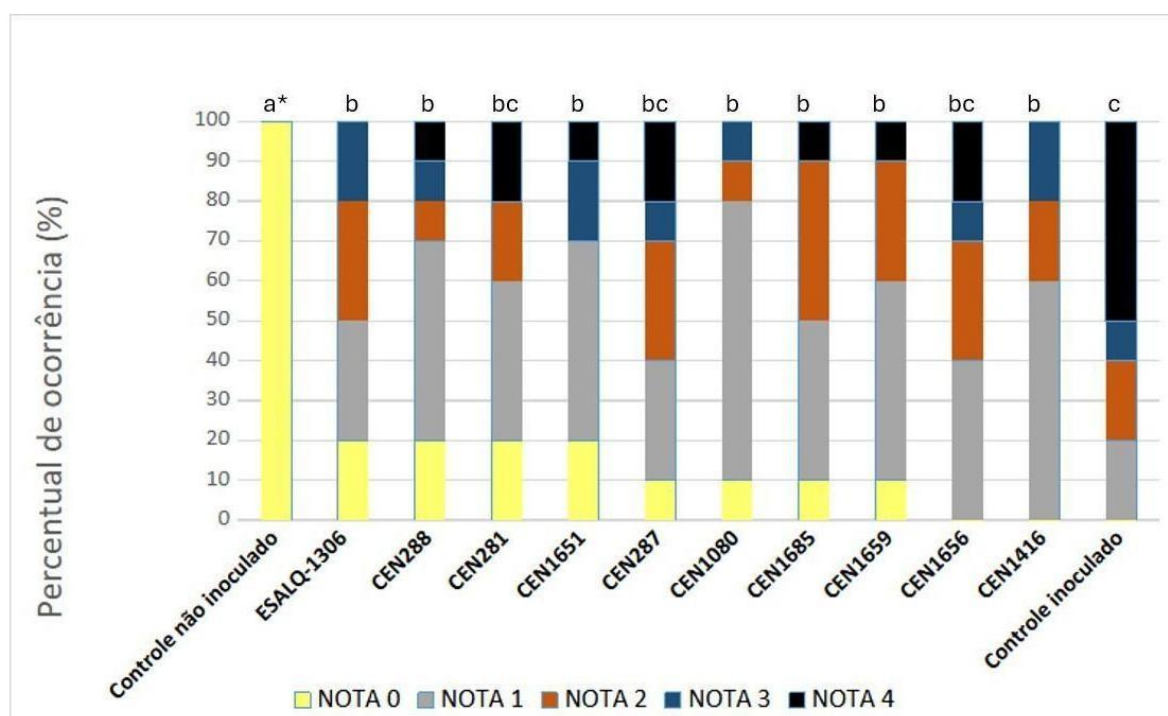


Figura 10: Percentual de ocorrência das notas de severidade da doença em plantas inoculadas com *R. solani* e tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp., analisado pelo teste U de Mann-Whitney. O controle não inoculado corresponde a plantas cultivadas em solo isento do patógeno e sem aplicação de *Trichoderma*. O controle inoculado corresponde a plantas cultivadas em solo contendo o patógeno e sem aplicação de *Trichoderma*.

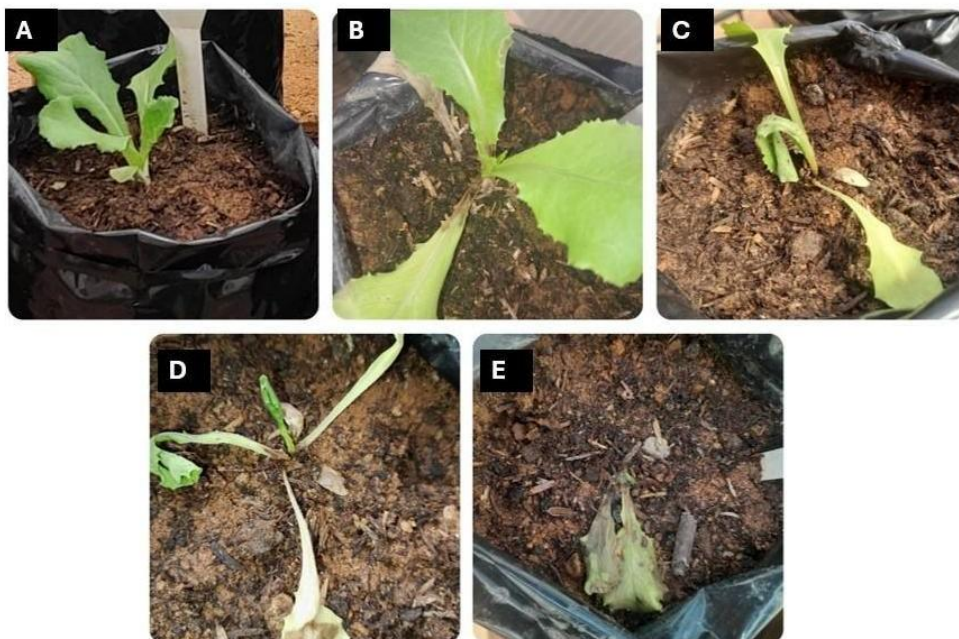


Figura 11: Plantas de alface sete dias após inoculação. A: planta sadia, nota 0, B: lesão leve, nota 1, C: lesão avançada, nota 2, D: Planta com murcha generalizada, nota 3, E: Planta morta, nota 4.

DISCUSSÃO

No presente estudo avaliou-se a eficiência de 20 isolados de *Trichoderma* quanto ao potencial para suprimir o patógeno *R. solani* e promover o crescimento de plantas de alface. Para avaliar o potencial de inibição do crescimento micelial dos isolados testados, utilizaram-se quatro metodologias diferentes: pareamento de culturas, produção de COVs, produção de CONVs e termoestabilidade dos CONVs presentes nos filtrados de cultura de *Trichoderma* spp. Nos estudos *in vivo*, as metodologias utilizadas em casa de vegetação foram: ensaio de supressão da doença e promoção de crescimento da alface. Também se verificou a promoção de crescimento de alface cultivadas em meio Murashige e Skoog, mediada por COVs produzidos por *Trichoderma*.

No pareamento de culturas todos os isolados testados foram capazes de inibir o crescimento micelial do patógeno em pelo menos 40,84%. Postula-se que a eficiência observada nos resultados obtidos neste estudo deve-se à ação de diferentes mecanismos utilizados pelo fungo antagonista como antibiose, micoparasitismo e competição por espaço e nutrientes. O crescimento das colônias do patógeno foi paralisado a partir do encontro com a colônia do antagonista e a maioria dos isolados de *Trichoderma* testados continuaram crescendo e esporulando sobre a colônia do patógeno. Esse comportamento de crescimento sobre o patógeno pode estar associado ao mecanismo de micoparasitismo, ou seja, capacidade do antagonista de parasitar o patógeno (Mukherjee et al., 2022). Já a interrupção do crescimento micelial do patógeno pode estar relacionada ainda a outro mecanismo, a antibiose, exercida por compostos orgânicos antimicrobianos liberados pelo antagonista (Sood et al., 2020). Neste quesito, vale destacar a produção de CONVs termoestáveis, apresentada pelo isolado CEN1080.

O micoparasitismo observado, caracterizado pelo crescimento e esporulação de *Trichoderma* sobre *R. solani*, reflete um processo sequencial de reconhecimento molecular e atividade enzimática (Alfiky; Weisskopf, 2021). A detecção de componentes da parede celular do patógeno, como quitina e β -glucanos, desencadeia o crescimento direcionado do antagonista e a secreção de enzimas degradadoras, culminando na penetração celular (Monte, Bettiol e Hermosa, 2019; Dutta et al., 2023). Esses eventos podem ser acompanhados com o uso da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Essa técnica já foi utilizada por outros membros da equipe do laboratório, a exemplo, dos estudos com 34 isolados da Coleção em questão, entre os quais, CEN281 e CEN287, conduzidos por Montalvão et al. (2023). Nesse estudo, os autores confirmaram os três modos de ação hiperparasítica utilizados por *Trichoderma*: enrolamento, deformação e penetração do antagonista nas hifas do patógeno. Entretanto, a interação *Trichoderma* x patógenos habitantes de solo é variável com a espécie/isolado do

agente de controle biológico e também com o fungo fitopatogênico, fato constatado no presente trabalho.

Já o processo de antibiose está relacionado à ação de compostos que possuem atividade tóxica contra outros microrganismos. Esses compostos são comumente caracterizados pelo baixo peso molecular e sua influência pode ser observada quando há paralisação do crescimento do patógeno e a formação do halo de inibição, conforme observado, neste trabalho, com os isolados CEN1653, CEN1685, CEN288 e CEN1656, como também, relatado por outros autores (Harman et al. 2004; Sood et al., 2020), em estudos realizados com diferentes espécies/isolados de *Trichoderma*. Portanto, para a efetivação desse mecanismo, não é necessário o contato direto com o patógeno, pois tais metabólitos atuam à distância, agindo em sinergismo ou não com outros mecanismos utilizados pelo agente de biocontrole (Barakat et al., 2014).

Com relação ao antagonismo contra *R. solani*, Chao e Zhuang (2019) avaliaram 25 isolados de *Trichoderma* e obtiveram, em pareamento de culturas, índices de inibição de 60% a 82%, portanto, superiores aos encontrados no presente trabalho. Experimento semelhante foi conduzido por Natsiopoulos et al. (2022) no pareamento de *Trichoderma* com *R. solani* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Os autores tomaram as medidas do diâmetro das colônias nos períodos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas de crescimento simultâneo. O crescimento De acordo com esses autores, *Rhizoctonia solani* mostrou diferença de crescimento micelial estatisticamente significativa, em relação à testemunha, desde a primeira avaliação (24h), enquanto para *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, a diferença no crescimento micelial se mostrou significativa após 96 h, evidenciando, mais uma vez, que diferentes patógenos reagem diferentemente à presença do antagonista. Os resultados obtidos neste trabalho corroboram dados de Montalvão et al. (2023) obtidos com os isolados CEN281, CEN287, CEN288, CEN1070, CEN1075 e CEN1080 frente aos patógenos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*.

Outro importante mecanismo envolvido na ação de *Trichoderma* spp. que pode explicar os resultados obtidos é a competição, ocorrendo principalmente pela disputa por espaço e nutrientes. Esse fungo apresenta rápido crescimento micelial e elevada eficiência na absorção de compostos essenciais, o que lhe permite colonizar o ambiente antes do estabelecimento do patógeno (Sood et al., 2020). Dessa forma, o antagonista limita a disponibilidade de recursos necessários ao desenvolvimento do patógeno, reduzindo o crescimento e capacidade de infecção mesmo antes do contato direto entre as colônias. A colonização antecipada do substrato e a utilização preferencial de nutrientes como carbono e nitrogênio conferem ao *Trichoderma* uma vantagem competitiva significativa, reforçando sua eficiência como agente de biocontrole (Rajput et al., 2014). Esse mecanismo atua de forma complementar à antibiose e ao micoparasitismo, contribuindo para o efeito inibitório observado no confronto entre os

microrganismos (Benítez et al., 2004).

Estudos conduzidos por outros autores (Hewedy Abdel-Lateif e Bakr, 2020; Rai et al., 2016), avaliando o potencial de isolados de *Trichoderma* contra diferentes fungos de solo evidenciaram que o desempenho dos isolados pode variar significativamente, refletindo diferenças em mecanismos como micoparasitismo, antibiose e competição por nutrientes e espaço. Isso demonstra que a variação genética existente dentro do gênero *Trichoderma* está intimamente relacionada à resposta antagonista observada contra os diferentes fitopatógenos, reforçando a importância da seleção de isolados mais adaptados e eficientes para programas de controle biológico (Hewedy, Abdel-Lateif e Bakr, 2020). Frente a essas constatações e considerando os resultados aqui obtidos, a variação de resposta entre isolados pode ser esperada, provavelmente refletindo a influência conjunta de múltiplos fatores intrínsecos a cada isolado, incluindo características genéticas e diferenças nos mecanismos de biocontrole.

A eficiência dos isolados testados corrobora os achados de Silva et al. (2025), ao avaliarem parte desta coleção (como CEN1513, CEN1339 e CEN288) contra *S. sclerotiorum*, *S. rolfsii* e *Fusarium* spp. O isolado CEN1513 confirmou-se como o de maior potencial e de mais amplo espectro, mantendo altas taxas de inibição nesses estudos. Já o isolado CEN1339 apresentou comportamento variável, sendo altamente eficiente contra *R. solani* e *S. sclerotiorum*, mas pouco responsivo frente a *Fusarium* spp. Essa oscilação de desempenho entre os isolados reforça a premissa de que a atividade antagônica de *Trichoderma* é influenciada pela especificidade da interação com o fitopatógeno alvo.

Já no experimento com compostos orgânicos voláteis, todos os isolados avaliados demonstraram bom índice de inibição micelial do patógeno. As porcentagens de inibição variaram entre 72,89% e 86,01% e os resultados foram consistentes nas duas execuções do experimento. Esses dados reforçam a ideia de que antibiose é um mecanismo com importante papel no controle biológico, principalmente pela ação à distância, não requerendo o contato físico entre microrganismos. A composição química desses compostos produzidos por espécies de *Trichoderma* é um tema que deve ser cada vez mais explorado não só para embasar o uso desses agentes de biocontrole, mas também para possibilitar a descoberta de novos produtos que possam ser desenvolvidos em formulações a partir desses metabólitos. Estudos conduzidos por diferentes autores mostram grande variação nos perfis químicos de compostos orgânicos liberados por *Trichoderma* (Lee et al., 2016; Silva et al., 2021). Essas variações estão relacionadas a espécie, isolado, substrato de cultivo e até mesmo à presença de outros microrganismos no mesmo ambiente (Guo et al., 2019). Entretanto, alguns compostos são comumente relatados, como hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, aromáticos, terpenos e pironas.

No presente estudo, o isolado CEN1241 (*T. azevedoi*) apresentou uma das maiores médias de inibição do crescimento micelial de *R. solani in vitro*. Em estudo anteriormente conduzido por Silva et al. (2021), a partir de cultivo desse mesmo isolado de *Trichoderma* em atmosfera compartilhada com *Sclerotinia sclerotiorum*, revelaram a emissão de 33 COVs distribuídos em cinco grupos químicos, sendo eles álcoois, ésteres, cetonas, compostos aromáticos, aldeídos e sesquiterpenos. Plantas de alface inoculadas com *S. sclerotiorum* após a exposição a esses voláteis foram menos afetadas pelo patógeno do que aquelas plantas inoculadas com o patógeno não exposto aos COVs. Dessa forma, os elevados índices de inibição observados no presente estudo podem estar relacionados à produção e à ação sinérgica desses COVs, reforçando o potencial antagonista do isolado CEN1241 no controle do patógeno.

Joo e Hussein (2022) também avaliaram a capacidade de inibição de crescimento micelial de fungos fitopatogênicos (*Alternaria panax*, *Botrytis cinerea*, *Cylindrocarpon destructans*, *F. oxysporum*, *S. nivalis* e *S. sclerotiorum*) mediada por COVs de *Trichoderma* sob atmosfera compartilhada. Diferentemente da metodologia aqui utilizada, os autores estabeleceram o sistema de atmosfera compartilhada 24h depois da colocação do antagonista sobre o meio de cultura, enquanto os patógenos foram incorporados ao sistema três dias após. Apesar da diferença na execução, os resultados dos autores corroboram os do presente estudo, pois em ambos os casos, houve significativa capacidade de inibição micelial dos patógenos.

Em estudo similar, You et al. (2022) avaliaram a ação de compostos voláteis de *T. koningiopsis* contra *B. cinerea* e *F. oxysporum*, utilizando colônias de *Trichoderma* com dois dias de idade, e observaram 73,78% e 43,68% de inibição, respectivamente, para *B. cinerea* e *F. oxysporum*. Estudos complementares realizados pelos autores mostraram que compostos voláteis emitidos pelo antagonista podem retardar a germinação de conídios dos patógenos e suprimiram o alongamento do tubo germinativo. De forma comparativa, os resultados obtidos pelos autores são consistentes com os observados no presente estudo, no qual o isolado CEN1513, pertencente à mesma espécie, apresentou elevada taxa de inibição (80,89%), sugerindo que compostos voláteis produzidos por *T. koningiopsis* desempenham papel relevante na atividade antagonista.

Quanto ao experimento com filtrados de culturas, observou-se que todos os isolados de *Trichoderma* testados demonstraram ser produtores de CONVs. Destacaram-se os isolados CEN1080 com 100% de inibição, seguido dos isolados CEN1339 e CEN1700 com taxas de inibição superiores a 80%, indicando forte atividade antagônica. Em contrapartida, os isolados CEN288 e CEN281 apresentaram os menores índices de inibição, com valores abaixo de 13%, sugerindo pouca atividade biológica dos CONVs destes isolados sob as condições testadas.

Os CONVs produzidos por fungos do gênero *Trichoderma* podem apresentar ação

inibitória específica para determinado patógeno, ou ter amplo espectro de ação, inibindo o crescimento micelial de diferentes fungos fitopatogênicos. Um exemplo de isolado com amplo espectro de ação é o CEN1242 (*T. azevedoi*). Este isolado inibiu fortemente o desenvolvimento de colônias de *R. solani* no presente estudo; também, em trabalho realizado por Marques et al. (2018) esse isolado mostrou capacidade de inibir *S. sclerotiorum* e *Cylindrocladium* sp.

Neste trabalho, onze entre os 19 isolados testados quando à produção de CONVs exibiram inibição de crescimento micelial de *R. solani* superior a 50%, e também mostraram bons resultados nos experimentos de pareamento de cultura e inibição por COVs. Outros isolados apresentaram baixo desempenho neste experimento, mas apresentaram bons resultados de inibição nos experimentos de pareamento de culturas e de compostos voláteis, como é o caso dos isolados CEN281 (*T. afroharzianum*), CEN287 (*T. rifaii*) e CEN288 (*Trichoderma* sp.).

Em experimentos similares, Isaias et al. (2014) verificaram a eficiência de isolados de *Trichoderma* quanto ao potencial de inibição de crescimento de *S. rolfsii* e *Verticillium dahliae*, em pareamento de culturas. Os autores também relataram a inibição do desenvolvimento de colônias desses patógenos por alguns dos isolados testados, em experimento com COVs. Entretanto, não se alcançou bom resultado em experimentos com filtrados, concordando com os dados obtidos neste trabalho. Ben M'Henni et al. (2022) observaram inibição diferencial do crescimento micelial de espécies de *Pythium* e de *Phytophthora* por isolados de *Trichoderma*, utilizando as mesmas metodologias aqui adotadas. Esses resultados obtidos por diferentes autores indicam que os isolados do agente de biocontrole respondem de maneira distinta aos mecanismos de ação, reforçando a necessidade do emprego de uma combinação de métodos para a seleção de fungos antagonistas.

Os dados aqui obtidos corroboram achados de Imran et al. (2023) que, também utilizando *R. solani*, relataram inibição do crescimento micelial do patógeno por *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* e *T. atroviride* em condições controladas. Ruangwong et al. (2021) avaliaram sob microscopia eletrônica de varredura a influência de filtrados de *T. koningiopsis* sobre micélio de *C. gloeosporioides*. Segundo os autores, a exposição causou alterações morfológicas nas hifas, que apresentaram formas anormais e distorcidas, e atribuíram esses efeitos às enzimas degradadoras da parede celular encontradas nos filtrados de cultura. À luz desses resultados, a inibição de 69,08% observada para os filtrados do isolado CEN1513, pertencente à mesma espécie, indica que esse isolado pode compartilhar mecanismos de ação semelhantes, possivelmente relacionados à produção de enzimas hidrolíticas. Todavia, a confirmação da presença e do papel dessas enzimas requer análises bioquímicas específicas.

Sabe-se que os estudos acerca do emprego de filtrados de culturas como bioinsumos é um tema emergente, desse modo, os estudos realizados *in vitro* caracteriza-se como uma etapa

fundamental. No entanto, bioensaios utilizando plantas de alface são necessários para facilitar o entendimento e avaliar a aplicabilidade prática desse tipo de tecnologia. Nesse sentido, buscando compreender a influência da aplicação de filtrados de cultura em plantas, Imran et al. (2023) constataram que a aplicação do filtrado de cultura proporcionou supressão de *A. solani*, resultado que reforça o potencial de uso dos filtrados de cultura de *Trichoderma* como bioinsumos. Outro aspecto importante sobre a aplicabilidade dos filtrados de culturas às formulações está relacionado à instabilidade dos metabólitos. Neste experimento alguns isolados apresentaram resultados discrepantes nas três execuções. Essa discrepância pode ser ocasionada por se tratar de organismos vivos e sensíveis, logo, quaisquer mudanças externas durante o processo utilizado na produção poderá afetar a estabilidade dos compostos produzidos (Jayalakshmi et al., 2021).

Em relação ao experimento com filtrados autoclavados, os diferentes isolados de *Trichoderma* exerceram efeito inibitório mesmo submetidos a altas temperaturas, embora com variações expressivas entre os tratamentos. O isolado CEN1080 apresentou inibição acima de 78%, demonstrando alta estabilidade térmica de seus compostos ativos. Os isolados CEN1513, CEN1685 e CEN1339 também apresentaram inibição, com índices de 43,47%, 39,58% e 35,27%, respectivamente, o que reforça a possibilidade de que os metabólitos responsáveis pela atividade antagônica sejam termoestáveis. Em contraste, os filtrados dos isolados CEN1700 e CEN1277, resultaram em inibição próxima a 20% e, no caso do ESALQ-1306 foi de apenas 3,05%, indicando menor produção ou menor resistência térmica dos compostos bioativos gerados. Esses dados são reflexos de variações no perfil metabólico dos isolados e reforçam o potencial de uso de filtrados termoestáveis no controle biológico de patógenos de solo.

O estudo acerca da termoestabilidade dos compostos bioativos produzidos por *Trichoderma*, podem contribuir para a compreensão da dinâmica dos mesmos em agroecossistemas, uma vez que estão sujeitos a altas temperaturas no solo e insolação (Vinale et al., 2008). A verificação da termoestabilidade de compostos bioativos com potencial antifúngico é uma importante ferramenta que pode contribuir para o desenvolvimento industrial de bioinsumos. A estabilidade dessas moléculas bioativas, quando submetidas a altas temperaturas torna-as atrativas, pois o processo de industrialização pode envolver etapas diretamente associadas a altas temperaturas (Lyubenova et al., 2023; Martínez et al., 2023). Além disso, a identificação de isolados capazes de produzir metabólitos termoestáveis é particularmente relevante para o desenvolvimento de bioinsumos adaptados a regiões tropicais, onde as temperaturas elevadas do solo podem comprometer a viabilidade e a eficiência dos bioativos, o que reforça a contribuição dos resultados encontrados neste trabalho (Guimarães et al., 2016).

Outro ponto positivo relacionado a termoestabilidade desses metabólitos secundários de *Trichoderma* está na possibilidade de prolongamento da vida de prateleira, transporte e armazenamento dos produtos biológicos, pois diz respeito à variações de temperaturas a que são submetidos. Ademais, além de apresentar um bom desempenho contra patógenos ou promotor de crescimento vegetal o microrganismo utilizado como bioinsumo deve ainda apresentar características que viabilizem a produção e aplicação em larga escala (Kumar, Thakur e Rani, 2014). Nesse quesito, o isolado CEN1080 apresenta-se como um bom candidato para formulação de biofungicida, por manter índice de inibição de crescimento micelial elevado (78,33%), mesmo após autoclavagem.

Resultados como os encontrados sugerem que a manutenção da atividade biológica após exposição a altas temperaturas pode estar relacionada a características intrínsecas dos isolados, no que se refere aos mecanismos associados à tolerância térmica e à composição dos metabólitos produzidos. Relatos de Poosapati et al. (2014) reforçam esse pressuposto ao constatarem que a capacidade germinativa de conídios de alguns isolados mantiveram a germinabilidade e a morfologia característica da colônia após submissão a altas temperaturas. Com base em estudos complementares, os autores atribuíram essa capacidade à maior produção de protetores de estresse, como trealose, manose e rafinose, detectados nas amostras de fungos sob condições de estresse térmico, hipótese posteriormente reforçada por Poosapati et al. (2021).

Embora a composição química dos CONVs não tenha sido objeto de estudo do presente trabalho, o conhecimento desses metabólitos é fundamental para a melhor compreensão das interações observadas. Nesse sentido, Stracquadanio et al. (2020) avaliaram a composição química de compostos não voláteis produzidos por *T. asperellum* e *T. atroviride* com 10 e 30 dias de cultivo em meio líquido. Os autores relataram a presença de 12 moléculas já descritas na literatura e observaram que a maioria dos compostos reconhecidos por atividade antimicrobiana foi detectada nos extratos obtidos aos 30 dias. Esses resultados reforçam a hipótese de que o tempo de fermentação pode influenciar a diversidade de compostos produzidos e, consequentemente, o potencial de biocontrole observado.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que alguns isolados de *Trichoderma* produzem compostos bioativos capazes de manter sua ação antagônica mesmo após a autoclavagem, evidenciando a termoestabilidade desses compostos. Essa característica amplia as possibilidades de aplicação desses microrganismos no controle de *R. solani*, especialmente por favorecer o desenvolvimento de bioinsumos mais estáveis e adequados a condições de campo.

Quanto ao experimento promoção de crescimento de plantas de alface cultivadas em meio Murashige e Skoog, os resultados demonstraram que a exposição de plântulas de alface

aos compostos orgânicos voláteis emitidos pelos isolados *T. asperelloides* CEN1277 e *T. sp.* CEN1685 apresentaram resultados positivos quanto ao desenvolvimento de plântulas. O cultivo em atmosfera compartilhada proporcionou aumento significativo no comprimento da parte aérea, massa fresca e comprimento radicular, bem como em maior vigor, quando comparado ao controle.

Os mecanismos envolvidos na promoção de crescimento mediada por COVs de *Trichoderma* não são totalmente elucidados. Para facilitar o entendimento, os perfis desses compostos devem ser estudados para descobrir a contribuição de cada componente químico no processo. Trabalhos conduzidos por Silva et al. (2021) com o isolado CEN1242 (*T. azevedoi*) também com alface são aqui corroborados; os autores observaram incremento para as mesmas variáveis avaliadas neste estudo. Da mesma maneira, Wonglom, Ito e Sunpapao (2020) constataram que um isolado de *T. asperellum* foi capaz de promover o crescimento de alface, sob exposição aos COVs emitidos pelo fungo. Ao se compararem o perfil dos compostos das duas espécies trabalhadas nos estudos supracitados (*T. azevedoi* e *T. asperellum*), com base nas informações da literatura, verificam-se diferenças marcantes com relação à presença e a quantidade de compostos produzidos pelas duas espécies. Uma das diferenças está na ausência do composto 6-pentil- α -pirona (6-PP) no perfil do *T. azevedoi*, sendo este um dos principais compostos relatados na literatura e associados à promoção de crescimento.

Esses efeitos fisiológicos podem ser compreendidos à luz de respostas moleculares já descritas para a interação entre plantas e *Trichoderma*. Em nível molecular, a promoção de crescimento mediada por esse fungo tem sido associada à modulação da expressão de genes relacionados à biossíntese e à sinalização de fitohormônios (Martínez-Medina et al., 2014). Estudos têm demonstrado que esses microrganismos são capazes de alterar o balanço hormonal das plantas hospedeiras, estimulando vias associadas a fitormônios como auxinas, giberelinas e citocininas, os quais atuam diretamente na expansão celular, desenvolvimento radicular e formação de novos tecidos (Nieto-Jacobo et al., 2017; Tyśkiewicz et al., 2022).

A exposição aos COVs de *Trichoderma* pode, por exemplo, estimular a síntese de ácido indol-3-acético (AIA), o principal tipo de auxina, promovendo o alongamento de raízes e parte aérea, fenômenos constatados no presente estudo (Contreras-Cornejo et al., 2009). A biossíntese de (AIA), é relatada como sendo responsável pelo desenvolvimento da raiz principal e raízes secundárias, a depender das concentrações, ocasionando maior vigor do sistema radicular, como observado neste experimento (Contreras-Cornejo et al., 2024). Além disso, há evidências de que esses compostos também modulam a produção de etileno e ácido abscísico, hormônios relacionados a respostas ao estresse, o que contribui para o maior vigor e estabilidade fisiológica das plântulas (Illescas et al., 2021). Singh et al. (2018) apontam em sua revisão que fungos deste

gênero possuem ainda a capacidade de sintetizar substâncias que mimetizam a giberelina, importante fitohormônio relacionado ao processo de germinação de sementes. Dessa forma, o efeito promotor observado não decorre apenas da disponibilidade de compostos orgânicos, mas também da ativação de rotas hormonais que favorecem o crescimento e o desenvolvimento vegetal de maneira integrada (Tyagi et al., 2018).

Um dos efeitos positivos exercidos por *Trichoderma* neste estudo foi o crescimento radicular. Esse efeito também foi constatado no experimento de Rao et al. (2022), no qual *T. atroviride* LZ42 foi capaz de promover o crescimento radicular de mudas de tomate. Além disso, os autores constataram que os COVs podem modular a direção do crescimento radicular das mudas. Os autores realizaram a identificação dos compostos, e detectaram a presença do composto 6-pentil- α -pirona, que em ensaios posteriores foi o único composto que isoladamente aumentou significativamente o peso seco das raízes de tomate, fortalecendo a relação desse composto com a promoção de crescimento (Rao et al., 2022).

Um trabalho conduzido por You et al. (2022) apontou a influência positiva da exposição de compostos voláteis de *T. koningiopsis* em *Arabidopsis thaliana*, que resultou em aumento do peso fresco e tamanho de raízes. Dentre os compostos produzidos pelo isolado testada estão alcenos, alcanos e ésteres, relacionados por outros autores como compostos presentes em isolados promotores de crescimento. Ainda, sobre efeitos de COVs em *A. thaliana*, destaca-se o trabalho conduzido por Phoka et al. (2020), com um isolado de *T. asperelloides* em plantas de *A. thaliana*. Esses autores relataram aumento estatisticamente significativo no peso fresco, comprimento da raiz e conteúdo total de clorofila. Essas observações estão de acordo com os dados obtidos no presente trabalho com o isolado CEN1277, da mesma espécie (*T. asperelloides*), à exceção do teor de clorofila que não foi avaliado no presente estudo. Entretanto, os autores sugerem que o crescimento dos fungos pode influenciar na umidade relativa e na concentração de CO₂ durante os experimentos, fato que pode alterar o metabolismo foliar da planta.

Ainda nessa linha de pesquisa, Lee et al. (2016) registraram a promoção de crescimento em plantas de tomate por isolados das espécies *T. viride* e *T. pseudokoningii*, evidenciado pelo incremento de biomassa, tamanho de plântula e raízes laterais. Porém, outros isolados testados no mesmo ensaio não apresentaram o mesmo efeito. Os autores concluíram que a quantidade de CO₂ produzida pelos fungos em seus experimentos não foi responsável pelos resultados obtidos. Isso porque os teores de CO₂ não diferiram entre as placas inoculadas e as placas controle, contrariando a hipótese levantada por Phoka et al. (2020) e fortalecendo o papel dos COVs como promotores de crescimento de plantas.

No experimento em casa de vegetação, a aplicação de *Trichoderma* spp. promoveu

aumento significativo em altura, massa seca total e comprimento de raiz em plantas tratadas com alguns dos isolados aqui testados, indicando efeito positivo no desenvolvimento da alface. Já outros isolados não apresentaram o mesmo impacto e, em alguns casos, prejudicaram o crescimento das plantas. De acordo com Lee et al. (2016), os efeitos de *Trichoderma* variam entre isolados e dependem do perfil metabólico e da interação com a planta, já que diferentes linhagens produzem compostos voláteis que podem estimular ou inibir o crescimento conforme sua composição e concentração. Corroborando essa perspectiva, Tucci et al., 2011; Yao et al., 2023 ressaltam que o efeito nas plantas é dependente do isolado e influenciada pelas condições experimentais.

Dentre os fitohormônios produzidos por esses fungos, estão os auxínicos, responsáveis por regular o crescimento e desenvolvimento das plantas, especialmente o alongamento da raiz e o desenvolvimento de raízes secundárias (Egamberdieva et al., 2017; Jaroszkuk-Ścisel et al., 2019) o que está de acordo com a promoção de crescimento radicular observada com alguns isolados avaliados neste ensaio. Nessa linha de pensamento, cabe ressaltar que Contreras-Cornejo et al. (2009) avaliaram a resposta de plantas de *A. thaliana* mutantes com defeito na rota de transporte de auxinas e constataram que o fungo é pouco responsivo a essas plantas no que se refere à promoção de crescimento, quando comparado às plantas sem essa mutação. Esse achado reforça a hipótese de que a produção e o transporte de auxinas estão diretamente associados aos efeitos promotores de crescimento atribuídos a *Trichoderma*. Os dados apresentados no presente estudo mostram resposta positiva para determinados isolados, embora outros fatores também possam contribuir. Essa hipótese também foi apontada por Lima et al. (2022), que obtiveram bons resultados de promoção de crescimento para três cultivares de alface testadas.

À luz dos resultados de Silva et al. (2021), postula-se que os COVs produzidos pelos isolados avaliados neste trabalho possam ter contribuído, ainda que parcialmente, para a promoção do crescimento observado nas plantas de alface. Em seus bioensaios, esses autores adotaram uma metodologia pioneira (sacos de tecido preenchidos com solo), pois sabe-se que os COVs produzidos por fungos benéficos são capazes de se difundir através do solo, fato que possibilita o contato das plantas com os mesmos (Werner e Brinkmann, 2016). Cabe ainda ressaltar que o isolado CEN1241 (*T. azevedoi*) avaliado por Silva et al. (2021) também foi objeto de estudo no presente trabalho e promoveu aumento no crescimento de raiz, embora apresentando resultado semelhante à testemunha quanto à altura de plantas. Esse resultado pode estar associado à atuação de COVs, conferindo suporte à hipótese proposta neste estudo.

Outra linha de estudos que busca explicar o mecanismo de promoção de crescimento apresentado por esse fungo é a melhoria na absorção de nutrientes. Sabe-se que *Trichoderma*

possui capacidade de aumentar a disponibilidade de nutrientes, bem como maximizar a absorção dos nutrientes disponíveis no solo (Zhao, Wang e Kong, 2020). Esse mecanismo pode estar relacionado, ao menos em parte, aos efeitos positivos observados neste estudo para alguns isolados, sugerindo a atuação de processos indiretos de estímulo ao crescimento vegetal. Nesse contexto, a mineralização de nitrogênio por *Trichoderma* é um dos eventos associados à ação do fungo no solo, como relatado por Asghar e Kataoka et al. (2021). Solos com alto teor de matéria orgânica promovem tanto a mineralização de N como a atividade enzimática. Embora a mineralização de nutrientes não tenha sido avaliada no presente trabalho, é válido assumir que esse mecanismo pode ter contribuído para a resposta de crescimento observada.

Por fim, o experimento de supressão de *R. solani* em condições de casa de vegetação também apresentou bons resultados, reforçando o potencial de biocontrole dos isolados. A capacidade de supressão de patógenos de solo é algo bastante explorado nos estudos dentro do gênero *Trichoderma*, impulsionado principalmente pela demanda de práticas mais sustentáveis (Dutta et al., 2023; Bastakoti et al., 2017). Apesar da interação entre planta, patógeno e antagonista ser considerada complexa e não totalmente compreendida, sabe-se que é de fundamental importância a realização de estudos prévios *in vitro* (Peyraud et al., 2017). Essa importância decorre, principalmente, do grande número de isolados de antagonistas que são catalogados, da elevada demanda por recursos financeiros e humanos necessária para a realização de estudos *in vivo* e, ainda, do fato de que, em geral, os isolados com melhor desempenho em experimentos *in vitro* tendem a reproduzir bons resultados nos ensaios *in vivo* (Harman et al., 2021 Woo et al., 2014). Ainda que o desempenho de alguns antagonistas seja reduzido diante das condições ambientais adversas, a literatura mostra que os resultados obtidos em laboratório constituem um bom indicativo do potencial de uso em escala agrícola (Contreras-cornejo et al., 2024). Além de contribuir para a seleção mais criteriosa de microrganismos, essa abordagem também otimiza recursos financeiros e humanos, permitindo que os esforços de pesquisa se concentrem naqueles isolados com maior probabilidade de aplicação prática no manejo integrado de doenças. Desse modo, os resultados do presente estudo são consistentes com essa ideia, uma vez que os isolados que reduziram os sintomas da doença em casa de vegetação também apresentaram bons resultados de inibição em experimentos laboratoriais.

Estudos anteriores demonstraram o potencial de *Trichoderma* spp. para controle de doenças causadas por *R. solani*. Almaghasla et al. (2023) constataram, na cultura do pepino, diminuição de até 79% no tombamento de plantas tratadas com *T. asperellum*. Esse resultado demonstrou não haver diferença significativa dos tratamentos com fungicida químico. Em outro trabalho, conduzido por Intana et al. (2024) em casa de vegetação, constatou-se diminuição na

incidência de *R. solani* na cultura do arroz cultivado em solo com alto teor de matéria orgânica.

Os efeitos benéficos observados na supressão de *R. solani* sugerem que a atuação dos isolados de *Trichoderma* é multifatorial, integrando ações diretas contra o patógeno e respostas fisiológicas na planta (Sood et al., 2020). A redução da severidade da doença indica uma provável ativação de rotas de resistência sistêmica, incluindo a Resistência Sistêmica Adquirida (SAR) e a Resistência Sistêmica Induzida (ISR). A colonização da rizosfera pelos isolados testados pode ter funcionado como estímulo inicial para a transdução de sinais hormonais mediados pelo ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno, conferindo proteção sistêmica à alface (Hermosa et al., 2012). Frente aos diversos mecanismos de ação de *Trichoderma* indicados, a redução da severidade da doença provavelmente estaria relacionada à atuação simultânea desses diferentes mecanismos e a contribuição específica de cada via não pode ser individualmente determinada nas condições experimentais em que os ensaios foram conduzidos.

Mayo et al. (2015) demonstraram que a aplicação de *Trichoderma* em plantas de feijoeiro inoculadas com *R. solani* promoveu aumento da resistência vegetal por meio da indução de genes associados à defesa. Os autores deduziram que a inoculação por *R. solani* isoladamente regula a expressão desses genes negativamente, enquanto o tratamento com *Trichoderma* reverte esse efeito. A redução dos sintomas da queima da saia observada em plantas de alface tratadas com *Trichoderma* é compatível com os mecanismos de indução de resistência descritos na literatura, constituindo isso uma hipótese plausível a ser investigada em estudos futuros.

Outros mecanismos também podem estar envolvidos na atividade supressiva de *Trichoderma*, conforme sugerido por Pinto et al. (2014), que propõem a correlação entre a produção de compostos antibióticos e a atividade de biocontrole. Essa hipótese encontra respaldo nos resultados do presente trabalho, uma vez que os isolados com melhores índices de inibição do crescimento micelial *in vitro* também apresentaram bons desempenhos nos ensaios *in vivo*. Tal fato sugere uma possível relação entre esses resultados. Ademais, estudos sobre a composição química dos compostos voláteis produzidos por isolados de *Trichoderma* vêm demonstrando a atividade antimicrobiana desses metabólitos na supressão de patógenos (Silva et al., 2021). Portanto, estudos voltados à identificação dos compostos antimicrobianos produzidos pelos isolados avaliados neste trabalho serão necessários para elucidar sua possível relação com a redução dos sintomas observada.

Outra vertente relacionada à eficácia do biocontrole é a alta dependência das variáveis ambientais, como temperatura e umidade. É necessário reconhecer que os ensaios experimentais apresentam limitações, pois não reproduzem de maneira exata as interações do ambiente natural como variações de temperatura, umidade, composição da microbiota do solo e competição com outros organismos (Vinale et al., 2008; Benítez et al., 2004). Dessa forma, tais ensaios devem

ser compreendidos como uma das etapas de triagem, cujo objetivo é selecionar os isolados mais promissores para que possam ser posteriormente avaliados sob diferentes condições de ambiente, por meio de ensaios de casa de vegetação e condições de campo (Schuster e Schmoll, 2010).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstram o potencial de isolados de *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrole para uso contra *R. solani*, patógeno de significativa importância econômica para a cultura da alface. Através de ensaios *in vitro* e *in vivo*, constatou-se que determinados isolados foram capazes de inibir o crescimento micelial do fitopatógeno, reduzir a incidência da doença e, em alguns casos, promover o crescimento das plantas. Essas descobertas corroboram dados da literatura especializada, que apontam o gênero *Trichoderma* como um microrganismo multifuncional, atuando tanto na supressão de fitopatógenos quanto na promoção do desenvolvimento vegetal.

É válido destacar que, embora todos os isolados tenham apresentado algum grau de antagonismo frente ao patógeno, houve variações na eficiência entre eles, o que reforça a necessidade de seleção criteriosa e testes preliminares para a recomendação de isolados específicos a campo. Outrossim, os mecanismos de ação envolvidos, como micoparasitismo, competição e produção de metabólitos antimicrobianos, contribuem de forma sinérgica para a efetividade do biocontrole observado.

A utilização de agentes de controle biológico como *Trichoderma* spp. representa uma alternativa promissora frente aos desafios impostos pelo manejo de doenças em sistemas agrícolas sustentáveis. Além de reduzir a dependência de fungicidas químicos, essa abordagem está alinhada às exigências atuais por práticas agrícolas ambientalmente responsáveis e seguras para a saúde humana.

Por fim, esta pesquisa contribui para o conhecimento técnico-científico sobre o uso de *Trichoderma* no controle de doenças radiculares da alface e abre perspectivas para futuros estudos voltados à formulação de bioinsumos, avaliação de desempenho em condições de campo, identificação dos COVs e CONVs e outros aspectos envolvidos nas interações entre *Trichoderma*, patógeno e planta.

CONCLUSÕES

1. A redução do crescimento micelial de *R. solani* pode ser atribuída ao mecanismo de controle biológico direto, a competição por espaço e nutrientes disponíveis no meio.
2. De acordo com a análise dos resultados obtidos, os isolados CEN288, CEN1080, CEN1416, CEN1651, CEN1659 e CEN1685 são os mais promissores agentes de controle biológico para *R. solani*.
3. Esses isolados citados acima igualaram-se ou foram melhores em desempenho, em relação ao isolado comercial ESALQ-1306, registrado comercialmente e indicado para uso contra *R. solani*.
4. Com relação à promoção de crescimento da alface, podem ser destacados os isolados CEN287, CEN 1241, CEN1242, CEN1277, CEN1416, CEN1659, CEN1685 e CEN1700.
5. O isolado CEN1080, cujos filtrados de cultura permaneceram ativos contra o patógeno mesmo após serem submetidos a autoclavagem, deve ser considerado para testes futuros no isolamento e identificação química de seus metabólitos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS A, FANG X, IQBAL S, NAQVI SAH, MEHMOOD Y, RAO MJ, HASSAN Z, ORTIZ RM, BAAZEEM A, MOUSTAFA M, ALRUMMAN S, NEGM S, (2022). Population Genetics and Anastomosis Group's Geographical Distribution of *Rhizoctonia solani* Associated with Soybean. *Genes*, v. 13, n. 12, p. 2417.
- ANDREATA MFL, MIAN S, ANDRADE G, BUENO AF, VENTURA MU, ALMEIDA JEM, IVAN EAF, MOSELA M, SIMIONATO AS, ROBAINA RR, GONÇALVES LSA (2025). The current increase and future perspectives of the microbial pesticides market in agriculture: the Brazilian example. *Frontiers in microbiology*, v. 16.
- AGGELI F, ZIOGAS I, GKIZI D, FRANGKOGEROGI GA, TJAMOS SE (2020). Novel biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum* in lettuce. *BioControl*, v. 65, p. 763–773.
- ALFIKY A, ABOU-MANSOUR E, VRIEZE B, L'HARIDON F, WEISSKOPF L (2024) Newly Isolated *Trichoderma* spp, Show Multifaceted Biocontrol Strategies to Inhibit Potato Late Blight Causal Agent *Phytophthora infestans* both *in vitro* and In Planta. *Revista Phytobiomes*, v. 8, p. 70-84.
- ALFIKY A, WEISSKOPF L (2021). Deciphering *Trichoderma*–Plant–Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications. *Journal of Fungi*, v. 7, n.1, p. 61.
- ALMAGHASLA MI, EL-GANAINY SM, ISMAIL AM (2023). Biological Activity of Four *Trichoderma* Species Confers Protection against *Rhizoctonia solani*, the Causal Agent of Cucumber Damping-Off and Root Rot Diseases. *Sustainability*, v. 15, p. 725.
- AMIN F, RAZDAN VK, MOHIDDIN FA, BHAT KA, SHEIKH A (2010). Effect of volatile metabolites of *Trichoderma* species against seven fungal plant pathogens in-vitro. *Journal of Phytology*, v. 2, n. 10, p. 34–3.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI. 2023. Associação Brasileira de Horticultura. São Paulo: Horti & Fruti Editora.
- ATANASOVA L, CROM SL, GRUBER S, COULPIER F, SEIDL-SEIBOTH V, KUBICEK CP, DRUZHININA IS (2013). Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. *BMC genomics*, v. 14, n. 1, p. 121.

- ANDERSON NA (1982). The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. Annual Review of Phytopathology, v. 20, n. 1, p. 329-347.
- AQUINO CF, SILVA HP, NEVES JMG, COSTA CA, AQUINO FF, COSTA CPM (2017). Desempenho de cultivares de alface sob cultivo hidropônico nas condições do norte de Minas Gerais. Revista Brasileira de Agricultura Irrigada. v. 11, n. 3, p. 1382 – 1388.
- ASGHAR W, KATAOKA R, (2021). Effect of co-application of *Trichoderma* spp, with organic composts on plant growth enhancement, soil enzymes and fungal community in soil. Archives of Microbiology, v. 203, p. 4281–4291.
- AYILARA MS, ADELEKE BS, AKINOLA SA, FAYOSE CA, ADEYEMI UT, GBADEGESIN LA, OMOLE RK, JOHNSON RM, UTHMAN QO, BABALOLA OO (2023). Biopesticides as a promising alternative to synthetic pesticides: A case for microbial pesticides, phytopesticides, and nanobiopesticides. Frontiers in microbiology, v. 14, p. 1040901.
- AZEVEDO AM, ANDRADE JÚNIOR VC, OLIVEIRA CM, FERNANDES JSC, PEDROSA CE, DORNAS MFS, CASTRO BMDC (2013). Seleção de genótipos de alface para cultivo protegido: divergência genética e importância de caracteres. Horticultura Brasileira, v. 31, p. 260-265.
- BARAKAT FM, ABADA KA, ABOU-ZEID NM, EL-GAMMAL YHE (2014). Effect of volatile and non-volatile compounds of *Trichoderma* spp. on *Botrytis fabae* the causative agent of faba bean chocolate spot. American Journal of Life Sciences, v. 2, n. 6-2, p. 11-18.
- BASTAKOTI S, BELBASE S, MANANDHAR S, ARJYAL C (2017). *Trichoderma* species as biocontrol agent against soil borne fungal pathogens. Nepal Journal of Biotechnology, v. 5, n. 1, p. 39-45.
- BEN M'HENNI Y, SALEM IB, SOULI M, TOUNSI S, DEBIEU D, FILLINGER S, BOUGHALLEB-M'HAMDI N (2022). Biocontrol and growth promotion potential of combined application of *Trichoderma simmonsii* and *Aspergillus westerdijikiae* against apple tree dieback disease. PhytoFrontiers, v. 2, n. 3, p. 268-279.
- BENITEZ-ANDRADE DL, AGUIRRE-CASTRO D, RÊGO TJS, CORREIA KC, REIS A, LEYVA-MIR SG, TOVAR-PEDRAZA JM, MICHEREFF SJ (2025). Diversity and pathogenicity of anastomosis groups of *Rhizoctonia* associated with bottom rot of field-grown lettuce in Brazil.

European Journal of Plant Pathology, v. 172, p. 793–804.

BENÍTEZ T, RINCÓN AM, LIMÓN MC, CODON AC (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International microbiology*, v. 7, n. 4, p. 249-260.

BERGAMIN FILHO A, AMORIM L, REZENDE JAM (2018). *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres.

BISSETT J, GAMS W, JAKLITSCH W, SAMUELS GJ (2015). Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA FUNGUS*, v. 6, p. 263–295.

CABRAL CS, REIS A (2013). Screening of lettuce accessions for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* race 1, *Tropical Plant Pathology*, v. 38, n. 4, p. 275-281.

CABRAL CS, REIS A, BOITEUX LS, FONSECA MEN (2015). Identificação e Manejo da Murcha de Fusário da Alface, Comunicado Técnico 112, Brasília, DF.

CAI F, DRUZHININA IS (2021). In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. *Fungal Diversity* v. 107, p. 1–69.

CAPORALE AG, SOMMELLA A, LORITO M, LOMBARDI N, AZAM SMGG, PIGNA M, RUOCCO M (2014). *Trichoderma* spp. alleviate phytotoxicity in lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) irrigated with arsenic-contaminated water. *Journal of Plant Physiology*, v. 171, p. 1378-1384.

CHEN X, LU Y, LIU X, GU Y, LI F (2025). *Trichoderma*: Dual Roles in Biocontrol and Plant Growth Promotion. *Microorganisms*, v.13, n. 8.

CHAO WANG, ZHUANG WY (2019). Evaluating effective *Trichoderma* isolates for biocontrol of *Rhizoctonia solani* causing root rot of *Vigna unguiculata*. *Journal of Integrative Agriculture*, v. 18, n. 9, p. 2072-2079.

SCHULZ-BOHM K, MARTÍN-SÁNCHEZ L, GARBEVA P (2017). Microbial volatiles: small molecules with an important role in intra-and inter-kingdom interactions. *Frontiers in microbiology*, v. 8, p. 2484.

COLLINGE DB, JENSEN DF, RABIEY M, SARROCCO S, SHAW MW, SHAW RH (2022). Biological control of plant diseases - What has been achieved and what is the direction?. *Plant Pathology*, v. 71, n. 5, p. 1024-1047.

COOK RJ, BAKER KF (1983). The nature and practice of biological control of plant pathogen.

American Phytopathological Society. St. Paul, MN. 539p. 1983.

CONTRERAS-CORNEJO HA, MÁRCIAS-RODRÍGUEZ L, CORTÉS-PENAGOS C, LÓPEZ-BUCIO J, (2009). *Trichoderma virens*, a Plant Beneficial Fungus, Enhances Biomass Production and Promotes Lateral Root Growth through an Auxin-Dependent Mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, v. 149, p. 1579–1592.

CONTRERAS-CORNEJO HA, MACÍAS-RODRÍGUEZ L, BELTRÁN-PEÑA E, HERRERA-ESTRELLA A, LÓPEZ-BUCIO J (2011). *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal-and camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. *Plant signaling & behavior*, v. 6, n. 10, p. 1554-1563.

CONTRERAS-CORNEJO HA, SCHMOLL M, ESQUIVEL-AYALA BA, GONZÁLEZ-ESQUIVEL CE, ROCHA-RAMÍREZ V, LARSEN J (2024). Mechanisms for plant growth promotion activated by *Trichoderma* in natural and managed terrestrial ecosystems. *Microbiological research*, v. 281, p. 127621.

COSTA AC, MIRANDA RF, COSTA FA, ULHOA CJ (2021). Potential of *Trichoderma piluliferum* as a biocontrol agent of *Colletotrichum musae* in banana fruits. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 34.

CUMAGUN, C. J. R. (2014). Advances in formulation of *Trichoderma* for biocontrol. In *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Elsevier, p. 527-531.

DENNIS C, WEBSTER J (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*, II, Production of volatile antibiotics. *Transactions British Mycological Society*, v. 57, p. 41-48.

DI LELIO I, COPPOLA M, COMITE E, MOLISSOL D, LORITO M, WOO SL, PENNACCHIO F, RAOL R, DIGILIO MC (2021). Temperature Differentially Influences the Capacity of *Trichoderma* Species to Induce Plant Defense Responses in Tomato Against Insect Pests. *Frontiers in Plant Science*, v. 12.

DIAS PP, BERBARA RLL, FERNANDES MDCDA (2013). Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* por biopreparados de isolados de *Trichoderma* spp. *Summa Phytopathologica*, v. 39, p. 258-262.

DÍAZ-GUTIÉRREZ C, ARROYAVE A, LLUGANY M, POSCHENRIEDER C, MARTOS S,

- PELAEZ C (2021). *Trichoderma asperellum* as a preventive and curative agent to control *Fusarium* wilt in *Stevia rebaudiana*. *Biological Control*, v. 155.
- DÍAZ-RODRÍGUEZ AM, PARRA COTA FI, CIRA CHÁVEZ LA, GARCÍA ORTEGA LF, ESTRADA ALVARADO MI, SANTOYO G, DE LOS SANTOS-VILLALOBOS S (2025). Microbial inoculants in sustainable agriculture: advancements, challenges, and future directions. *Plants*, v.14, n. 2, p. 191.
- DUTTA P, MAHANTA M, SINGH SB, THAKURIA D, DEB L, KUMARI A, UPAMANYA GK, BORUAH S, DEY U, MISHRA AK, VANLALTANI L, VIJAYREDDY D, HEISMAM P, PANDEY AK (2023). Molecular interaction between plants and *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogens. *Frontiers in Plant Science*, v. 14.
- EGAMBERDIEVA D, WIRTH SJ, ALQARAWI AA, ABD_ALLAH EF, HASSHEN A, (2017). Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. *Frontiers in Microbiology*, v. 8.
- FERREIRA DF (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*,35:1039-1042.
- FERREIRA FV. MUSUMECI MA (2021). *Trichoderma* as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 37, p. 90.
- FILGUEIRA FAR (2007). Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças, 3 ed,Viçosa: UFV. 412p.
- FIorentino N, VENTORINO V. WOO SL, OLIMPIA P, ROSA A, GIOIA L, ROMANO I, LOMBARDI N, NAPOLITANO M, COLLA G, ROUPHAEL (2018). *Trichoderma*-Based Biostimulants Modulate Rhizosphere Microbial Populations and Improve N Uptake Efficiency, Yield, and Nutritional Quality of Leafy Vegetables. *Frontiers in Plant Science*, v. 9.
- GARCÍA VG, ONCO MP, SUSAN VR (2006). Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, v. 4, p. 55-79.
- GHORBANPOUR M,OMIDVARI M, ABBASZADEH-DAHaji P, OMIDVAR R, KARIMAN K (2018). Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biological Control*, v. 117, p. 147-157.
- GUIMARÃES GR, SILVA DF, SANTOS CG, MELLO SCM, CARVALHO DDC (2016). Ação de

metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*. Pesquisa Agropecuária Pernambucana, v. 21, n. 1, p. 7-11.

GUO Y, GHIRARDO A, WEBER B, SCHNITZLER J-P, BENZ JP, ROSENKRANZ, M (2019). *Trichoderma* Species Differ in Their Volatile Profiles and in Antagonism Toward Ectomycorrhiza *Laccaria bicolor*. Frontiers in Microbiology, v. 10.

GUZMAN-GUZMAN P, KUMAR A, DE LOS SANTOS-VILLALOBOS S, PARRA-COTA FI, OROZCO-MOSQUEDA MDC, FADIJI AE, HYDER S, BABALOLA OO, SANTOYO G (2023). *Trichoderma* species: Our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases — a review. Plants, v.12, n. 3, p. 432.

GUTIÉRREZ-CHÁVEZ A, ROBLES-HERNÁNDEZ L, GUERRERO BI, GONZÁLEZ-FRANCO AC, MEDINA-PÉREZ G, ACEVEDO-BARRERA AA, HERNÁNDEZ-HUERTA J (2025). Potential of *Trichoderma asperellum* as a Growth Promoter in Hydroponic Lettuce Cultivated in a Floating-Root System. Plants, v. 14, n. 3, p. 382.

HARMAN GE, HOWELL CR, VITERBO A, CHET I, LORITO M (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature reviews microbiology, v. 2, n. 1, p. 43-56.

HARMAN G, KHADKA R, DONI F, UPHOFF, N, (2021). Benefits to Plant Health and Productivity From Enhancing Plant Microbial Symbionts. Frontiers in plant science, v. 11.

HERMOSA R, VITERBO A, CHET I, MONTE, E (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. Microbiology, v. 158, p. 17–25.

HEWEDY, OA, ABDEL-LATEIF KS, BAKR RA (2020). Genetic diversity and biocontrol efficacy of indigenous *Trichoderma* isolates against *Fusarium* wilt of pepper. Journal of basic microbiology, v. 60, n. 2, p. 126-135.

ILLESCAS M, PEDRERO-MÉNDEZ A, PITORINI-BOVOLINI M, HERMOSA R, MONTE E (2021). Phytohormone production profiles in *Trichoderma* species and their relationship to wheat plant responses to water stress. Pathogens, v. 10, n. 8, p. 991.

IMRAN M, ABO-ELYOURS KAM, MOUSA MAA, SAAD MM (2023). Use of *Trichoderma* culture filtrates as a sustainable approach to mitigate early blight disease of tomato and their influence on plant biomarkers and antioxidants production. Frontiers in plant Science, v. 14, p. 1192818.

INTANA W, SUWANNARACH W, KUMLA J, WONGLOM P, SUNPAPAO A (2024). Plant Growth

Promotion and Biological Control against *Rhizoctonia solani* in Thai Local Rice Variety “Chor Khing” Using *Trichoderma breve* Z2-03. *Journal of fungi* v. 10.

ISAIAS CO, MARTINS I, SILVA JBT, SILVA JP, MELLO SCM (2014). Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. *Summa Phytopathologica*, v. 40, n.1, p. 34-41.

ISARD SA, GAGE SH, COMTOIS P, RUSSO JM (2005). Principles of the atmospheric pathway for invasive species applied to soybean rust. *Bioscience*, v. 55, n. 10, p. 851-861.

JACQUET F, JEUFFROY MH, JOUAN J, LE CADRE E, LITRICO I, MALAUSA T, REBOUD X, HUYGHE C (2022). Pesticide-free agriculture as a new paradigm for research: Pesticide-free agriculture as a new paradigm for research. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 42, n. 1, p.8.

JAROSZUK-SCISEŁ J, TYSKIEWICZ R, NOWAK A, OZIMEK E, MAJEWSKA M, HANAKA A, TYSZKIEWICZ K, PAWLIK A, JANUSZ G, (2019). 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. *International Journal of Molecular Science*, v. 20.

JAYALAKSHMI R, OVIYA R, PREMALATHA K, MEHETRE ST, PARAMASIVAM M, KANNAN R, THERADIMANI M, PALLAVI MS, MUKHERJEE PK, RAMAMOORTHY, V. (2021). Production, stability and degradation of *Trichoderma* gliotoxin in growth medium, irrigation water and agricultural soil. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 16536.

JOO JH, HUSSEIN KA (2022). Biological Control and Plant Growth Promotion Properties of Volatile Organic Compound-Producing Antagonistic *Trichoderma* spp. *Frontiers in Plant Science*, v. 13.

KABIR AH, RAHMAN MA, RAHMAN MM, BRAILEY-JONES P, LEE K, BENNETZEN JL (2022). Mechanistic assessment of tolerance to iron deficiency mediated by *Trichoderma harzianum* in soybean roots. *Journal of Applied Microbiology*, v. 133, p. 2760–2778.

KALLELI F, AISSA E, HAMDY M (2021). Alleviation of the Adverse Effects of Salinity Stress in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) by Seed Coating with *Trichoderma atroviride*. *Journal of Research in Agriculture and Animal Science*, v. 8, n. 11, p. 33-53.

KHALILI E, JAVED MA, HUYOP F, RAYATPANAH S, JAMSHIDI S, WAHAB RA (2016). Evaluation of *Trichoderma* isolates as potential biological control agent against soybean

charcoal rot disease caused by *Macrophomina phaseolina*. *Biotechnology e Biotechnological Equipment*, v. 30, n. 3, p. 479-488.

KHAN RAA, NAJEEB S, HUSSAIN S, XIE B, LI Y (2020). Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi. *Microorganisms* 2020, v. 8, n. 6, p. 817.

KIM MJ, MOON Y, TOU JC, MOU B, WATERLAND NL (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 49, p. 19-34.

KIRK P (2012). *Index Fungorum*. CABI Bioscience, CBS and Landcare Resarch. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp?strGenus=Trichoderma>. Acesso em: 01 de novembro de 2025.

KIRK P (2012). *Index Fungorum*. CABI Bioscience, CBS and Landcare Resarch. Disponível em: <https://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=229666>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2026.

KOBORI RF, BRUNELLI KR, GIORIA R (2011). Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da alface no Brasil, In: GHINI R, HAMADA E, BETTIOL W, (Eds.). *Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil*, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 356 p.

KONG WL, NI H, WANG WY, WU XQ (2022). Antifungal effects of volatile organic compounds produced by *Trichoderma koningiopsis* T2 against *Verticillium dahliae*. *Frontiers in Microbiology*, v. 13.

KUMAR V, KOUL B, TAAK P, YADAV D, SONG M. (2023). Journey of *Trichoderma* from pilot scale to mass production: A review. *Agriculture*, v. 13, n. 10.

KUMAR S, THAKUR M, RANI A, (2014). *Trichoderma*: Mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. *African Journal of Agricultural Research*, v. 9, n. 53, p. 3838-3852.

LAKSHMAN DK, JAMBHULKAR PP, SINGH V, SHARMA P, MITRA A. (2016). Molecular identification, genetic diversity, population genetics and genomics of *Rhizoctonia solani*. *Perspectives of Plant Pathology in genomic era*, p. 55-89.

LAMICHHANE JR, DACHBRODT-SAAAYDEH S, KUDSK P, MESSEAN A (2016). Toward a

Reduced Reliance on Conventional Pesticides in European Agriculture. *Plant Disease*, v. 100, n. 1, p. 10-24.

LEE S, YAP M, BEHRINGER G, HUNG R, BENNETT W (2016). Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. *Fungal Biology and Biotechnology*, v. 3, p. 1-16.

LIMA RB, CABRAL CS, SILVA LR, MELO LAMP, MUNIZ PHPC, MELLO SCM. (2022). Response of Lettuce Cultivars to Inoculation with *Trichoderma* spp. *Journal of Scientific Research and Reports*, v. 28, p. 7-14.

LIU Y, HE P, HE P, SHAHZAD MUNIR SM, AHMED A, WU Y, YANG Y, LU J, WANG J, YANG J, PAN X, TIAN Y, HE Y (2022). Potential biocontrol efficiency of *Trichoderma* species against oomycete pathogens. *Frontiers in Microbiology*, v. 13.

LI X, LIAO O, ZENG S, WANG Y, LIU J (2025). The use of *Trichoderma* species for the biocontrol of postharvest fungal decay in fruits and vegetables: Challenges and opportunities. *Postharvest Biology and Technology*, v. 219.

LOPES CA, QUEZADO-DUVAL AM, REIS A (2010). *Doenças da alface*, Brasília, DF: Embrapa hortaliças.

LOPES CVA, ALBUQUERQUE GSC (2018). Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde em debate*, v. 42, n. 117, p. 518 – 534.

LOUZADA GADS, CARVALHO DDC, MELLO SCM, LOBO JÚNIOR M, MARTINS I, BRAÚNA LM (2009). Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. *Biota neotropica*, v. 9, n. 3, p.145-149.

LYUBENOVA A, RUSANOVA M, NIKOLOVA M, SLAVOV SB (2023). Extratos vegetais e *Trichoderma* spp.: possibilidades de implementação em agricultura como biopesticid. *Biotechnologia e Biotechnologia e equipamento*, v. 37, p. 159–166.

MALDONADE IR, MATTOS LM, MORETTI CL (2014). Documentos 142: Manual de boas práticas agrícolas na produção de alface, Brasília, DF: Embrapa,

MARJOTTA-MAISTRO MC, MONTEBELLO AES, SANTOS JA, PEDROSO MTM (2021). Fluxo de abastecimento de alface e suas variedades: principais regiões de origem e destino, 59º

Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural – SOBER, 6º Encontro Brasileiro de Pesquisadores em Cooperativismo - EBPC.

- MARQUES E, MARTINS I, MELLO SCM (2018). Antifungal potential of crude extracts of *Trichoderma* spp. *Biota Neotropica*, v. 18, n. 1.
- MARTÍNEZ-MEDINA A, DEL MAR ALGUACIL M, PASCUAL JA, VAN WEES SC (2014). Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. *Journal of chemical ecology*, v. 40, n. 7, p. 804-815.
- MARQUES E, MARTINS I, MELLO SCM (2018). Antifungal potential of crude extracts of *Trichoderma* spp. *Biota Neotropica*, v. 18, n.1, p. e20170418.
- MARTINEZ Y, RIBERA J, SCHWARZE FW, FRANCE K (2023). Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 107, p. 5595–5612.
- MAYO S, GUTIÉRREZ S, MALMIERCA MG, LORENZANA A, CAMPELO MP, HERMOSA R, CASQUERO PA (2015). Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp, in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. *Frontiers in Plant Science*, v. 6.
- MEENA M, SWAPNIL P, ZEHRA A, DUBEY MK, UPADHYAY, RS (2017). Antagonistic assessment of *Trichoderma* spp. by producing volatile and non-volatile compounds against different fungal pathogens. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, v. 50, n. 13-14, p. 629-648.
- MELLO SCM, ECKSTEIN B, MARQUES E, CARVALHO DDC (2020). Controle de Doenças de Planta, In: FONTES EMG, VALDARES-INGLIS MC. Controle Biológico de Pragas da Agricultura, Brasília, DF, Embrapa.
- MELLO SCM (2005). Seleção de isolados de *Trichoderma* spp, antagônicos a *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Embrapa Recursos Genéticos, Brasília, 30p. (Boletim Técnico de Desenvolvimento e Pesquisa 177).
- MELLO SCM, ÁVILA ZR, BRAUNA LM, PÁDUA RR (2007). Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitosanidad*, v. 11, p. 3-9, 2007.

- MONTALVÃO SCL, MARQUES E, MARTINS I, DA SILVA JP, MELLO, SCM (2023). Suppression of the phytopathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. *Biologia*, v. 78, n. 10, p. 2941-2952.
- MONTE E, BETTIOL W, HERMOSA R (2019). *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER MC, MAZARO SM, SILVA JC, *Trichoderma: uso na agricultura*, Brasília, DF, Embrapa.
- MONTE E, LLOBELL A (2003). *Trichoderma* in organic agriculture, In: ELAD, Y, et al. (eds.). *Biocontrol in Protected Culture*, Dordrecht: Springer, p. 311–320.
- MUKHERJEE PK, MENDOZA-MENDOZA A, ZEILINGER S, HORWITZ BA (2022). Mycoparasitism as a mechanism of *Trichoderma*-mediated suppression of plant diseases. *Fungal Biology Reviews*, v. 39, p. 15-33.
- MURASHIGE T, SKOOG F (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, v. 15, n. 3.
- NATSIPOULOS D, TZIOLIAS A, LAGOIANNIS I, SPYRIDON MANTZOUKAS, ELIOPOULOS PA (2022). Growth-Promoting and Protective Effect of *Trichoderma atrobrunneum* and *T. simmonsii* on Tomato against Soil-Borne Fungal Pathogens. *Crops*, v. 2, n. 3, p. 202-217.
- NAWROCKA J, MAŁOLEPSZA U (2013). Diversity in plant systemic resistance induced by *Trichoderma*. *Biological Control*, v. 67, p. 149-156.
- NEWCOMBE, RG (2013). *Confidence Intervals for Proportions and Related Measures of Effect Size* (1st ed., 432p., Boca Raton, FL: Chapman & Hall/CRC. ISBN9781439812785.
- NEWCOMBE, RG. (2006a). Confidence intervals for an effect size measure based on the mann–whitney statistic. Part 1: General issues and tail-area-based methods. *Statistics in Medicine*, v. 25, n. 4, p. 543–557.
- NEWCOMBE, RG (2006b). Confidence intervals for an effect size measure based on the mann–whitney statistic. Part 2: Asymptotic methods and evaluation. *Statistics in Medicine*, v. 25, n. 4, p. 559–573.
- NIETO-JACOBO MF, STEYAERT JM, SALAZAR-BADILLO FB, NGUYEN DV, ROSTÁS M, BRAITHWAITE M, SOUZA JT, JIMENEZ-BREMONT JF, OHKURA M, STEWART A,

- MENDOZA-MENDOZA A (2017). Environmental Growth Conditions of *Trichoderma* spp. Affects Indole Acetic Acid Derivatives, Volatile Organic Compounds, and Plant Growth Promotion. *Frontiers in Plant Science*, v. 8. ,
- NORONHA MA, ASSUNÇÃO MC (2015). Identificação e Manejo das Principais Doenças do Coentro e Alface no Estado de Alagoas. Comunicado técnico 172, Embrapa.
- OGOSHI A (1987). Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn.
- OLJIRA AM, HUSSAIN T, WAGHMODE TR, ZHAO H, HONGYONG S, XIAOJING L, WANG X, LIU BB (2020). *Trichoderma* Enhances Net Photosynthesis, Water Use Efficiency, and Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Salt Stress. *Microorganisms*, v. 8, n.10, p.1565.
- OMANN MR, LEHNER S, RODRÍGUEZ CE, BRUNNER K, ZEILINGER S (2012). The seven-transmembrane receptor Gpr1 governs processes relevant for the antagonistic interaction of *Trichoderma atroviride* with its host. *Microbiology*, v. 158 n. 1, p. 107-118.
- OGOSHI, A, UI T (1979). Specificity in vitamin requirement among anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, v. 45 p. 47-53.
- PAVAN MA, KRAUSE-SAKATE R, KUROSAWA C (2005). Doenças da alface, In: Kimati, H., Amorim L, Bergamin Filho A, Camargo, LEA, Rezende, JAM (Eds.). *Manual de fitopatologia:doenças das plantas cultivadas*, Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005, v.2, p. 27-33.
- PEDRO AM, MOURA SMS, SANTOS JF, PASSOS CRS, NASCIMENTO GG, VIEIRA AJ, JEMUSSE JEJ, OLIVEIRA LJDG, SILVA DM, OLIVEIRA MIS, BITELLO FF, PASSARINHO FILHO WA, CARNEIRO CR, DORNELAS CSM, RIO JAM (2025). Impactos dos agrotóxicos na saúde humana e no meio ambiente: uma revisão de literatura. *Revista Derecho y Cambio Social*, v. 22, n. 81, p. 01-14.
- PEREIRA FT, OLIVEIRA JB DE, MUNIZ PHP, PEIXOTO GHS, GUIMARÃES RR, CARVALHO DDC (2019). Growth promotion and productivity of lettuce using *Trichoderma* spp, commercial strains. *Horticultura Brasileira*, v. 37, n.1 p. 69 –74.
- PEYRAUD R, DUBIELLA U, BARBACCI A, GENIN S, RAFFAELE S, ROBY D (2017). Advances on plant–pathogen interactions from molecular toward systems biology perspectives. *The Plant Journal*, v. 90, n. 4, p. 720-737.

- PHOKA N, SUWANNARACH N, LUMYONG S, ITO S, MATSUI K, ARIKIT S, SUNPAPAO A, (2020). Role of Volatiles from the Endophytic Fungus *Trichoderma asperelloides* PSU-P1 in Biocontrol Potential and in Promoting the Plant Growth of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Fungi*, v. 6, p. 341.
- PINTO ZV, CIPRIANO MAP, SANTOS AS, PFENNING LH, PATRICIO FRA (2014). Control of lettuce bottom rot by isolates of *Trichoderma* spp. *Summa Phytopathologica*, v. 40, n. 2, p. 141-146.
- POOSAPATI S, RAVULAPALLI PD, TIPPIRISHETTY N, VISHWANATHASWAMY DK, CHUNDURI S (2014). Selection of high temperature and salinity tolerant *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Sclerotium rolfsii*. *SpringerPlus*, v. 3, p. 641.
- POOSAPATI S, RAVULAPALLI PD, VISWANATHASWAMY DK, KANNAN M (2021). Proteomics of Two Thermotolerant Isolates of *Trichoderma* under High-Temperature Stress. *Journal of Fungi*, v. 7, p. 1002.
- QIU P, NGUYEN V, GUANG G, LI Y, TAKAMATSU S, LIU S (2018). Occurrence of powdery mildew caused by *Golovinomyces orontii* on *Lactuca sativa* var. *ramose* (lettuce) in China. *Crop Protection*, v. 110, p. 108-111.
- RAI S, KASHYAP PL, KUMAR S, SRIVASTAVA AK, RAMTEKE PW (2016). Identification, characterization and phylogenetic analysis of antifungal *Trichoderma* from tomato rhizosphere. *Springerplus*, v. 5.
- RAJPUT AQ, KHANZADA MA, SHAHZAD S (2014). Effect of Different Organic Substrates and Carbon and Nitrogen Sources on Growth and Shelf Life of *Trichoderma harzianum*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, v. 16, n. 4, p. 731-745.
- RAUT I, BADEA-DONI M, CALIN M, OANCEA F, VASILESCU G, SESAN TE, JECU L (2014). Effect of volatile and non-volatile metabolites from *Trichoderma* spp. against important phytopathogens. *Revista de Chimie*, v. 65, n. 11, p. 1285-1288.
- RAMADA MH, LOPES FAC, UHOA CJ (2019). *Trichoderma*: metabólitos secundários, In: MEYER, M,C,; MAZARO, S,M,; SILVA, J,C, *Trichoderma*: uso na agricultura, 1ed, Brasília, DF: Embrapa.
- RAO Y, ZENG L, JIANG H, MEI L, WANG Y (2022). *Trichoderma atroviride* LZ42 releases volatile organic compounds promoting plant growth and suppressing Fusarium wilt disease in tomato

seedlings. BMC microbiology, v. 22, n. 1, p. 88.

ROSSETTI C, MADRUGA NB, ÁVILA NC, PIRES A, ALMEIDA AS, SILVA JB, KERCHNER AC, TUNES LVM (2020). Morphological characterization of lettuce seeds (*Lactuca Sativa* L.). Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 6, p. 40119-40126.

RUANGWONG OU, PORNSURIYA C, PITIJA K, SUNPAPAO A (2021). Biocontrol Mechanisms of *Trichoderma koningiopsis* PSU3-2 against Postharvest Anthracnose of Chili Pepper. Journal of Fungi, v. 7, n. 4, p. 276.

SALA FC, COSTA CP (2012). Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. Horticultura brasileira, v. 30, n. 2.

SCHUSTER A, SCHMOLL M (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. Applied microbiology and biotechnology, v. 87, n.3, p. 787-799.

SCUDELETTI D, CRUSCIOL CAC, BOSSOLANI JW, MORETTI LG, MOMESSO L, TUBAÑA BS, CASTRO SGQ, OLIVEIRA EF, HUNGRIA M (2021). *Trichoderma asperellum* Inoculation as a Tool for Attenuating Drought Stress in Sugarcane. Frontiers in Plant Science, v. 12.

SILVA JM, DALBON VA, ALVES AC, ATAÍDE CB, SANTOS TMC, COSTA MEL, MONTALDO YC (2025). Bioinputs in Sustainable Agriculture: Benefits, Challenges, and Pathways for Resilient Farming Systems. Asian Journal of Research in Crop Science, v. 10, n. 2, p. 85–97.

SILVA LR, VALADARES-INGLIS, PEIXOTO GHS, LUCCAS BEG, MUNIZ PHPC, MAGALHÃES DM, MORAES MCB, MELLO SCM (2021). Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma azevedoi* promote the growth of lettuce plants and delay the symptoms of white mold, Biological Control, v. 152.

SILVA LR, VALADARES-INGLIS MC, MORAES MCB, MAGALHÃES DM, SIFUENTES DN, MARTINS I, MELLO SCM (2020). Morphological and protein alterations in *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary after exposure to volatile organic compounds of *Trichoderma* spp. Biological Control, v. 147.

SILVA LR, ZACARONI AB, CARDOSO ALB, SUSSEL AAB, DIANESE AC, PEREIRA AF MELLO SCM (2025). Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* spp., and the agronomic performance of soybean by *Trichoderma* spp. Revista Ciência Agrônômica, v. 56, Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza,

CE.

- SILVA LD, ZACARONI AB, MUNIZ P, BOTELHO A, MELLO SD (2022). *Trichoderma*: suas interações e uma abordagem metodológica aplicada ao estudo de compostos orgânicos voláteis para o mofo-branco e promoção de crescimento de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 28, p. 163-183.
- SINGH A, SHUKLA N, KABADWAL BC, TEWARI AK, KUMAR J (2018). Review on Plant-*Trichoderma*-Pathogen Interaction. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 7, n. 2.
- SINGH K, DELGADO-BAQUERIZO M, EGIDI E, DELGADO-BAQUERIZO E, LEACH JE, LIU H, TRIVEDI P (2023). Climate change impacts on plant pathogens, food security and paths forward. v. 21, n. 10, p. 640-656.
- SHARMA A, KUMAR V, SHAHZAD B, TANVEER M, SIDHU GPS, HANDA N, KOHLI SK, YADAV P, BALI AS, PARIHAR RD, DAR OI, SINGH K, JASROTIA S, BAKSHI P, RAMAKRISHNAN M, KUMAR S, BHARDWAJ R, THUKRAL, A. K. (2019). Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*, v. 1, n. 11, p. 1446.
- SOOD M, KAPOOR D, KUMAR V, SHETEIWY MS, RAMAKRISHNAN M, LANDI M, ARANITI F, SHARMA A (2020). *Trichoderma*: The “secrets” of a multitalented biocontrol agent. *Plants*, v. 9, n. 6, p.762.
- SOUZA JO, DALPIAN T, BRAZ LT, CAMARGO M (2011). Novas raças de *Bremia lactucae*, agente causador do míldio da alface, identificadas no estado de São Paulo. *Horticultura Brasileira*, v. 29, p. 282-286.
- SPADARO D, DROBY S (2016). Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science e Technology*, v. 47, p. 39-49.
- STOUVENAKERS G, MASSART S, DEPIREUX P, JIJAKLI MH (2020). Microbial Origin of Aquaponic Water Suppressiveness against *Pythium aphanidermatum* Lettuce Root Rot Disease. *Microorganisms*, v. 8, p. 1683.
- SUINAGA FA, SOUZA NOS, BOITEUX LS, PINHEIRO JD (2014) Potencial produtivo de isolados de alface crespa: I – Vargem Bonita, *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 116, Brasília, DF: Embrapa hortaliças.

- STRACQUADANIO C, QUILES JM, MECA G, CACCIOLA SO (2020). Antifungal Activity of Bioactive Metabolites Produced by *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma atroviride* in Liquid Medium. *Journal of Fungi*, v. 6, n. 4, p. 263.
- THAMBUGALA KM, DARANAGAMA DA, PHILLIPS AJ, KANNANGARA SD, PROMPUTTHA I (2020). Fungi vs. fungi in biocontrol: An overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, v. 10, p. 604923.
- TYAGI S, MULLA SI, LEE KJ, CHAE JC, SHUKLA P (2018). VOCs-mediated hormonal signaling and crosstalk with plant growth promoting microbes. *Critical reviews in biotechnology*, v. 38, n. 8, p. 1277-1296.
- TYŚKIEWICZ R, NOWAK A, OZIMEK E, JAROSZUK-ŚCISEŁ J (2022). *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International journal of molecular sciences*, v. 23, n. 4, p. 2329.
- TOPOLOVEC-PINTARIĆ S, KOVAČEK AM, MALEV O, KUŠAN I, MATOČEC N, POŠTA A, POLE L, MEŠIĆ A (2025). Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* on Greenhouse Lettuce Using *Trichoderma koningiopsis* Agg. *Microbiology Research*, v. 16, p. 35.
- TOROMADE AS, SOYOMBO DA, KUPA E, IJOMAH TI (2024). Reviewing the impact of climate change on global food security: Challenges and solutions. *International journal of applied research in social sciences*, v. 6, p. 1403-1416.
- TUCCI M, RUOCCO M, DE MASI L, DE PALMA M, LORITO M (2011). The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular plant pathology*, v. 12, n. 4, p. 341-354.
- VALENTE, F (2024). Insumos biológicos no Brasil. *AgroANALYSIS*, v. 44, n. 3, p. 33-37.
- VEGETTE PINTO Z, CIPRIANO MAP, SANTOS AS, PFENNING LH, PATRÍCIO FRA (2014). Control of lettuce bottom rot by isolates of *Trichoderma* spp. *Summa Phytopathologica*, v. 40, n. 2, p. 141-146.
- VINALE F, MARCO NIGRO, SIVASITHAMPARAM K, FLEMATTI G, GHISALBERTI EL, RUOCCO M, VARLESE R, MARRA R, LANZUISE S, EID A, WOO SL, LORITO M (2013). Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 347, p. 123–129.

- VINALE F, SIVASITHAMPARAM K, GHISALBERTI EL, MARRA R, WOO SL, LORITO M (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil biology and Biochemistry*, v. 40, n. 1, p. 1-10.
- WERNER S, POLLE A, BRINKMANN N (2016). Belowground communication: impacts of volatile organic compounds (VOCs) from soil fungi on other soil-inhabiting organisms. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 100, n. 20, p. 8651-8665.
- WEI T, TREUREN RV, XINJIANG L, ZHANG Z, CHEN JJ, LIU Y, DONG S, PEINAN S, YANG T, TIANMING L, WANG X, XIONG Z, LIU Y, WEI J, LU H, HAN S, CHEN JC, NI X, WANG J, HUANMING Y, XU X, HANHUI C, HINTUM TV, LIU X, LIU H (2021). Whole-genome resequencing of 445 *Lactuca* accessions reveals the domestication history of cultivated lettuce. *Nature Genetics*, v. 53, p. 752–760.
- WONGLOM P, ITO S, SUNPAPAO A (2020). Volatile organic compounds emitted from endophytic fungus *Trichoderma asperellum* T1 mediate antifungal activity, defense response and promote plant growth in lettuce (*Lactuca sativa*). *Fungal Ecology*, v. 43.
- WOO SL, HERMOSA R, LORITO M, MONTE E (2023). *Trichoderma*: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*, v. 21, n. 5, p. 312-326.
- WOO SL, RUOCCO M, VINALE F, NIGRO M, MARRA R, LOMBARDI N, PASCALE A, LANZUISE S, MANGANIELLO G, LORITO M (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycology Journal*, v. 8, p. 71–126.
- YIN Y, MIAO J, SHAO W, LIU X, ZHAO Y, MA Z (2023). Fungicide resistance: progress in understanding mechanism, monitoring and management. *Phytopathology*, v. 113, p. 707-718.
- YAO X, GUO H, ZHANG K, ZHAO M, RUAN J, CHEN J (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in microbiology*, v. 14.
- YOU J, LI G, LI C, ZHU L, YANG H, SONG R, GU W, Biological Control and Plant Growth Promotion by Volatile Organic Compounds of *Trichoderma koningiopsis* T-51 (2022). *Journal of Fungi*, v. 8, p. 131.
- ZHAN X, KHAN RAA, ZHANG J, CHEN J, YIN Y, TANG Z, WANG R, LU B, LIU T (2023). Control of postharvest stem-end rot on mango by antifungal metabolites of *Trichoderma*

pinnatum LS029-3. *Scientia Horticulturae*, v. 310.

ZHAO L, WANG Y, KONG S (2020). Effects of *Trichoderma asperellum* and its siderophores on endogenous auxin in *Arabidopsis thaliana* under iron-deficiency stress. *International Microbiology*, v. 23, n. 4, p. 501-509.

ZIN NA, BADALUDDIN NA (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences* v. 65, p. 168–178.