

This file has been cleaned of potential threats.

If you confirm that the file is coming from a trusted source, you can send the following SHA-256 hash value to your admin for the original file.

577875820abf4dd07c84af8d085ac97e0fedac407a19149861d83c2812f92420

To view the reconstructed contents, please SCROLL DOWN to next page.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZONIA-INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA NO TRÓPICO ÚMIDO
PPG-ATU

ANTONIA DI PAOLA ROSAS BATISTA

ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. NO CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-
ESCLERÓCIO EM TOMATEIROS

Manaus-Amazonas
Maio de 2025

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZONIA-INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA NO TRÓPICO ÚMIDO
PPG-ATU

ANTONIA DI PAOLA ROSAS BATISTA

ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. NO CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-
ESCLERÓCIO EM TOMATEIROS

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como parte da exigência para obtenção do título de Mestre em Agricultura No Trópico Úmido.

Orientador: Prof.^o Dr. Rogério Eiji Hanada

Coorientadora: Prof.^a Dra. Rosalee Albuquerque Coelho Netto

Manaus-Amazonas
Maio de 2025

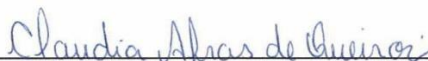
Folha de Aprovação

A Banca Julgadora, abaixo assinada, **aprova** a Dissertação de Mestrado:

Título: "Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. no controle da podridão-de-esclerócio em tomateiros"

Autor: Antônia Di Paola Rosas Batista

Banca Julgadora:



Dra. Claudia Afras de Queiroz (EMBRAPA)
(Membro titular)



Dra. Kamila Tomoko Yuyama (EMBRAPA)
(Membro titular)



Dr. Thiago Fernandes Souza (INPA)
(Membro titular)

Manaus (AM), 16 de abril de 2025.

B333p Batista, Antonia Di Paola Rosas
Isolados de *Trichoderma* spp. no controle da podridão-de-esclerócio em tomateiros. /
Antonia Di Paola Rosas Batista;
orientador Rogério Eiji Hanada; coorientadora Rosalee Albuquerque Coelho Netto. - Manaus :
[s.l.], 2025.

2.144 KB

81 p. : il. color.

DOI: <https://doi.org/10.61818/ted26098>

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Agricultura em Trópico Úmido) -
Coordenação do Programa de Pós-Graduação, INPA, 2025.

1. *Solanum lycopersicum*. 2. *Agroathelia rolfsii*. 3. Controle biológico. I. Hanada, Rogério
Eiji. II. Coelho Netto, Rosalee Albuquerque. III. Título.

CDD 583.952

Catálogo na Publicação (CIP-Brasil)

Sinopse: Os resultados demonstraram a eficácia dos isolados de *Trichoderma* na redução da incidência da doença podridão-de-esclerócio e no aumento do vigor de tomateiros.

Este estudo contribui para o avanço no uso de agentes de biocontrole adaptados às condições do bioma amazônico, promovendo práticas agrícolas mais sustentáveis e seguras para o cultivo do tomate na região.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*, *Agroathelia rolfsii*, controle biológico, metabólitos voláteis, promotores de crescimento.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, por ser minha fortaleza nos dias difíceis e a luz que sempre guiou meus passos.

À minha família, com gratidão especial ao meu marido, Elias Batista, pelo apoio constante e parceria em todos os momentos e ao meu bebê, Joaquim Rosas Batista, que é minha ternura e o significado do meu esforço e persistência.

Aos meus pais, Robert Rosas e Ray Rosas, pelo exemplo de dedicação, coragem e valorização do conhecimento, que sempre me inspiraram a seguir em frente.

Aos meus irmãos, Sissy Sampaio, Firmino Neto e Robert Filho, por estarem ao meu lado com apoio, incentivo e afeto ao longo da vida.

E a todos que acreditam na educação como caminho para transformar realidades.

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta dissertação representa muito mais do que o encerramento de uma etapa acadêmica: é o reflexo de uma jornada marcada por intensos aprendizados, desafios e superações. Por isso, registro aqui minha mais sincera gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para que este momento se tornasse possível.

Ao meu orientador, Dr. Rogério Eiji Hanada, e à minha coorientadora, Dra. Rosalee Albuquerque, pela dedicação, paciência, orientação firme e generosa. Agradeço por compartilharem seu conhecimento com tanto entusiasmo e comprometimento. Seus exemplos profissionais foram essenciais para o meu crescimento acadêmico.

Ao técnico do Laboratório de Fitopatologia, Luiz Alberto Guimarães (Tirico), pela ajuda constante, atenção cuidadosa e apoio durante os experimentos.

Ao colega André, pelo incentivo, colaboração e trocas valiosas ao longo do curso. Agradeço também a todos os funcionários da Estação Experimental do INPA, cujo apoio foi indispensável para a execução dos experimentos.

À pesquisadora Dra. Cláudia Afras, por compartilhar seus conhecimentos e tornar possível a aplicação prática desta pesquisa. Ao Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa, pela parceria e disponibilidade sempre que solicitados.

Aos amigos do ATU — em especial Lucas Almeida, Jackeline Menezes e Jheniffer Salgado — por cada palavra de incentivo, os cafés compartilhados e os ombros amigos nos momentos mais desafiadores. Minha eterna gratidão.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pelo apoio financeiro imprescindível para a realização deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos que, de forma direta ou indireta, fizeram parte desta caminhada e deixaram sua contribuição neste percurso tão significativo.

RESUMO

Os fungos do gênero *Trichoderma* possuem capacidade de estimular o crescimento vegetal e suprimir fitopatógenos, podendo ser uma alternativa promissora aos fungicidas químicos de doenças em plantas. Este estudo avaliou o potencial de quatro isolados de *Trichoderma* spp., oriundos do estado do Amazonas, no controle da podridão-de-esclerócio (*Agroathelia rolfsii*) e de seis isolados na promoção do crescimento de tomateiros, em condições de campo. Os experimentos foram conduzidos em campo e em ensaios *in vitro*, foi avaliada a atividade enzimática, de sideróforos, de ácido indolacético (AIA), antagonismo e compostos voláteis por esses isolados. O isolado Inpa 2957 se destacou ao reduzir a incidência da doença para 1,75%, reduziu em 89% o crescimento micelial de *A. rolfsii* em ensaios de cultura pareada e aumentou significativamente a produção de tomateiros, alcançando um rendimento de 359.29 g/m², com um aumento de 73,5% de rendimento em relação ao controle. O isolado Inpa 2473 destacou-se pela produção de AIA (60,72 µg·mL⁻¹) e pela capacidade de inibir em 91% o crescimento micelial de *Agroathelia rolfsii* por meio da emissão de metabólitos voláteis, em comparação ao controle sem tratamento, indicando seu potencial como promotor de crescimento vegetal e controlador biológico. Com base nos resultados deste estudo, o isolado Inpa 2957 demonstrou coerência entre o desempenho em laboratório e em condições de campo, onde poderá ser utilizado como uma alternativa eficaz para o controle biológico da podridão-de-esclerócio e para o aumento da produtividade dos tomateiros em campo. Reforçando a viabilidade do controle biológico como uma alternativa sustentável ao manejo químico da doença, contribuindo para a redução dos impactos ambientais e para o fortalecimento da agricultura sustentável na região amazônica.

ABSTARCT

Fungi of the genus *Trichoderma* have the ability to stimulate plant growth and suppress phytopathogens, and may be a promising alternative to chemical fungicides of plant diseases. This study evaluated the potential of four isolates of *Trichoderma* spp., from the state of Amazonas, Brazil, in the control of sclerotium rot (*Agroathelia rolfsii*) and of six isolates in the promotion of tomato growth, under field conditions. The experiments were conducted in the field and in *vitro* assays, the enzymatic activity of siderophores, indoleacetic acid (IAA), antagonism and volatile compounds were evaluated by these isolates. The isolate Inpa 2957 stood out by reducing the incidence of the disease to 1.75%, reduced the mycelial growth of *A. rolfsii* by 89% in paired culture trials and significantly increased tomato yield, reaching a yield of 359.29 g/m², with a 73.5% increase in yield compared to the control. The isolate Inpa 2473 stood out for its IAA production (60.72 µg·mL⁻¹) and for its ability to inhibit the mycelial growth of *Agroathelia rolfsii* by 91% through the emission of volatile metabolites, compared to the control without treatment, indicating its potential as a plant growth promoter and biological controller. Based on the results of this study, the isolate Inpa 2957 demonstrated coherence between the performance in the laboratory and in field conditions, where it can be used as an effective alternative for the biological control of sclerotium rot and to increase the productivity of tomato plants in the field. Reinforcing the viability of biological control as a sustainable alternative to the chemical management of the disease, contributing to the reduction of environmental impacts and the strengthening of sustainable agriculture in the Amazon region.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	14
--------------------	----

2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 O cultivo do tomateiro.....	16
2.2 Podridão-de-esclerócio	18
2.3 Controle biológico por <i>Trichoderma</i> spp.....	20
2.4. Indução de crescimento e de defesa das plantas	23
3. OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral	24
3.2 Objetivos específicos	25
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1. Reativação dos isolados.....	25
4.2 Avaliação dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. no controle da podridão-de-esclerócio.....	26
4.3 Avaliação dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. na promoção de crescimento em tomateiros.....	30
4.3.1 Tratamento das sementes	30
4.3.2 Semeadura e Transplante	30
4.3.3 Isolamento de <i>Trichoderma</i> spp. do solo.....	32
4.4 Ação antagônica de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Agroathelia rolfsii</i>	33
4.4.1 Cultura pareada	33
4.4.2 Produção de compostos voláteis por <i>Trichoderma</i> spp	33
4.4. Obtenção de extrato bruto de <i>Trichoderma</i> spp. e ensaios antifúngicos frente a <i>Agroathelia rolfsii</i>	34
4.4.4 Termoestabilidade do extrato bruto contendo filtrados de culturas de <i>Trichoderma</i> spp	34
4.4.5 Análises estatísticas	35
4.5 Avaliação da produção de enzimas hidrolíticas por <i>Trichoderma</i> spp. relacionados a indução de resistência vegetal	36
4.5.1 Proteínas totais.....	36
4.5.2 Atividade de quitinases	36
4.5.3 Atividade de glucanases	37
4.5.4 Atividade de peroxidase	37
4.6 Análise de traços fisiológicos ligados a mecanismos de promoção do crescimento vegetal.....	38
4.6.1 Avaliação quantitativa de sideróforos	38
4.6.2 Quantificação de ácido indolacético (AIA)	38
5. Resultados e discussão	39
5.1 Avaliação de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. no controle da podridão-de-esclerócio.....	39
5.2. Avaliação de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. na promoção de crescimento em tomateiros.....	45
5.3 Isolamento de <i>Trichoderma</i> spp. do solo.....	50
5.4 Avaliação da inibição do crescimento micelial de <i>Agroathelia. rolfsii</i> por <i>Trichoderma</i> spp.....	51
5.5 Ensaio de atividade quantitativa de enzimas hidrolíticas.....	57
5.6 Análise de traços fisiológicos ligados a mecanismos de promoção do crescimento vegetal	61
5.6.1 Quantificação de AIA (ácido indol-acético).....	61

5.6.2 Quantificação de sideróforos	65
6. Conclusões	68
7. Referências Bibliográficas	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sinais e sintomas de podridão-de-esclerócio causada por <i>Agroathelia rolfsii</i> em tomateiro. Aspecto do micélio branco característico e esclerócios marrons na base do caule de tomateiro	19
Figura 2: Distribuição da incidência de podridão-de-esclerócio (<i>Agroathelia rolfsii</i>) em tomateiros sob diferentes tratamentos com isolados de <i>Trichoderma</i> spp	40
Figura 3: Distribuição da produção média de frutos de tomates produzidos por plantas cultivadas em área infestada com <i>Agroathelia rolfsii</i> tratadas com isolados de <i>Trichoderma</i> spp	44
Figura 4: Produção de tomates em plantas cultivadas em solo infestado com <i>Agroathelia rolfsii</i> e tratadas com isolados de <i>Trichoderma</i> spp	44
Figura 6: Aspecto de colônias de <i>Agroathelia rolfsii</i> cultivadas em meio BDA, sob a ação de metabólitos voláteis de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. identificados acima da imagem de cada placa de Petri. Testemunha = colônia de <i>Agroathelia rolfsii</i> (6A); Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Agroathelia rolfsii</i> por metabólitos voláteis produzidos por isolados de <i>Trichoderma</i> spp. (6B).	55
Figura 8: Aspecto das colônias de <i>Agroathelia rolfsii</i> cultivadas em meio BDA acrescido de extrato bruto de <i>Trichoderma</i> spp. submetidos a aquecimento térmico (8A); Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Agroathelia rolfsii</i> após tratamento térmico do extrato bruto de isolados de <i>Trichoderma</i> spp., indicando a termoestabilidade dos compostos antimicrobianos (8B).	56
Figura 9: Correlação entre a produção de enzimas peroxidase (A), quitinase (B) e glucanase (C) em tomateiro tratados com <i>Trichoderma</i> spp. e o tempo após a inoculação	60
Figura 10: Correlação entre concentração de proteínas totais, em folhas de tomateiros tratados com <i>Trichoderma</i> spp., e o tempo após a inoculação	60
Figura 11: Relação entre os valores analisadas, ajustada por uma equação linear ($y = 1,8075x - 0,0225$), com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9857$. A linha pontilhada representa a tendência linear dos dados.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Isolados de <i>Trichoderma</i> spp. avaliados para promoção do crescimento de tomateiros e controle biológico de podridão-de-escleródio e isolado de <i>Agroathelia rolfsii</i> , selecionados da coleção de Microrganismos de Interesse Silvicultural do Inpa, provenientes de Manaus.	26
Tabela 2: Caracterização química e granulométrica do solo da área experimental na profundidade de 0-20 cm, antes da instalação do experimento em Manaus-AM, 2023	29
Tabela 3: Incidência de podridão-de-escleródio e produção de tomate em plantas cv. Yoshimatsu tratadas com isolados de <i>Trichoderma</i> spp., em Manaus-AM.	39
Tabela 4: Variáveis de desenvolvimento de tomateiros tratados com isolados de <i>Trichoderma</i> spp.	49
Tabela 5: Percentual de inibição do crescimento micelial de <i>Agroathelia rolfsii</i> spp. por isolados de <i>Trichoderma</i> spp. por ação de competição, metabólitos voláteis, metabólitos não voláteis e por extratos submetidos a tratamento térmico	52
Tabela 6: Produção de proteínas totais e enzimas hidrolíticas por amostras foliares de tomateiros tratados com suspensões de <i>Trichoderma</i> spp. e fungicida	59
Tabela 7: Produção <i>in vitro</i> de ácido indolacético e de sideróforos por isolados de <i>Trichoderma</i> spp.	67

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma cultura economicamente importante e mundialmente difundida (Barbosa *et al.*, 2021; Furquim *et al.*, 2021). O tomate é uma das hortaliças mais consumidas pela população mundial, depois da batata (*Solanum tuberosum* L.) e da cebola (*Allium cepa* L.) (Salvador e Pereira, 2021).

É um fruto versátil e saboroso, muito consumido devido às suas propriedades nutricionais, rico em vitaminas A, C e E, licopeno e minerais como o potássio. Sua inclusão na dieta é benéfica para a saúde humana, auxiliando na prevenção de diversas doenças e promovendo o bem-estar geral (Collins, 2022). Entre os vários benefícios à saúde do ser humano, promovidos pelo consumo do tomate, estão as propriedades desta hortaliça de reduzir o colesterol, controlar a pressão arterial, a glicemia, evitar danos celulares, aumentar a resposta do sistema imunológico e prevenir o câncer e doenças cardiovasculares (Bissacotti *et al.*, 2021).

O cultivo do tomate enfrenta desafios significativos relacionados à incidência de doenças, principalmente aquelas causadas por patógenos habitantes do solo. Em regiões tropicais, quente e úmidas, a podridão-de-esclerócio, causada pelo fungo *Agroathelia rolfsii* (Sacc.) Ruivo e ST Mullimeux, pode causar sérios danos às plantas, resultando em redução da produtividade e perdas econômicas para o agricultor (Abd-Elghany *et al.*, 2021). Segundo Coelho Netto *et al.* (2013), no Amazonas, a doença é comum em plantas da família Solanaceae. O controle dessa doença é extremamente difícil devido à capacidade de sobrevivência do patógeno no solo e à ampla gama de hospedeiras (Sá *et al.*, 2019).

Vários estudos enfatizam a ineficácia de fungicidas no combate à podridão-de-esclerócio (Nascimento *et al.*, 2022). Um estudo realizado por Roza (2019) investigou a eficácia de fungicidas no controle de esclerócios de fungos fitopatogênicos no solo. O autor observou que, apesar do tratamento com os fungicidas, a viabilidade dos esclerócios não foi significativamente reduzida, evidenciando a resistência dessas estruturas aos fungicidas testados.

Estudos realizados por Moreira *et al.* (2022) e por Ponce e Zambrano (2021) identificaram a ocorrência de resistência adquirida a fungicidas em populações de *A.*

rolfsii. Os autores mencionam que essa resistência pode estar relacionada à exposição contínua aos fungicidas analisados. Os fungicidas com modos de ação específicos a um processo metabólico específico e aplicados de forma repetida, aumentam a pressão de seleção sobre populações dos microrganismos, selecionando isolados resistentes. (Garrido, 2022).

Agrotóxicos são amplamente utilizados no controle de doenças agrícolas. No entanto, seu uso indiscriminado pode causar impactos ambientais significativos, como o aumento da resistência de patógenos, a poluição do solo e da água, além de riscos à saúde humana. Esses problemas têm impulsionado a busca por alternativas mais seguras e eficazes, com menor toxicidade e alta eficiência no controle de doenças (Ramos *et al.*, 2020).

O controle biológico tem sido cada vez mais utilizado não apenas para reduzir a dependência de agrotóxicos, mas também como uma estratégia tecnológica para promover o desenvolvimento sustentável da agricultura (Morandi e Bettiol, 2009). Diversas espécies de fungos apresentam potencial tanto para o controle biológico quanto para a promoção do crescimento vegetal, sendo o gênero *Trichoderma* um dos mais estudados nesse contexto (Isaias *et al.*, 2014).

Os fungos do gênero *Trichoderma* possuem a capacidade de estimular o crescimento das plantas e suprimir fitopatógenos. Esse efeito ocorre por meio de diferentes mecanismos, como a competição por espaço e nutrientes, o micoparasitismo e a antibiose (Nascimento *et al.*, 2022). Além disso, sua habilidade de colonizar as raízes das plantas desempenha um papel essencial na melhoria da nutrição, no desenvolvimento e no rendimento das culturas, aumentando sua resistência a doenças e sua tolerância a estresses bióticos e abióticos (Contreras-Cornejo *et al.*, 2024).

A promoção do crescimento vegetal e o impacto na capacidade produtiva estão associados à produção de fitormônios, como giberelinas e auxinas, incluindo o ácido indolacético, que estimulam o crescimento das raízes e da área foliar, resultando em maior produtividade das plantas (Raju e Punamalai, 2025). Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de isolados do gênero *Trichoderma*, oriundos do Amazonas, no controle de podridão-de-esclerócio e na promoção de crescimento de tomateiros.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O cultivo do tomateiro

A espécie tem como centro de origem a América do Sul, especificamente na região andina (Peru, Bolívia e Chile). Sua domesticação se deu principalmente na América do Norte, precisamente na região do México (Brandão Filho *et al.*, 2018). O tomate, fruto desta espécie, foi introduzido no Brasil por volta do século XIX, por imigrantes europeus, sendo hoje um dos alimentos de maior importância socioeconômica para o país (Bissacotti, *et al.*, 2021).

Trata-se de planta herbácea, perene, que se conduz como anual, possuindo caule flexível, podendo ser ereto, semiereto ou rasteiro, com porte arbustivo e possui diversas ramificações laterais que são controladas pela poda (Krohling *et al.*, 2018). O fruto é carnoso, do tipo baga e formato variado de acordo com a cultivar, contendo até 95% de água (Furquim *et al.*, 2021). Possui nutrientes com propriedades antioxidantes, entre estes licopeno, β -caroteno, vitaminas A, C e E, compostos fenólicos, sais minerais, aminoácidos e fibras, que permitem a redução do colesterol, a diminuição da pressão arterial, evitando danos celulares, entre outros (Bissacotti *et al.*, 2021).

Segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), a produção mundial de tomate, no ano de 2019 foi de 180,7 milhões de toneladas. A China ocupou o 1º lugar na produção mundial, com 62,8 milhões de toneladas. O Brasil é o décimo produtor mundial, com produção de 3,9 milhões de toneladas. O principal estado produtor no Brasil é Goiás, com 1,24 milhão de toneladas, no ano de 2023, enquanto o Amazonas produziu 26 toneladas no mesmo ano.

No estado do Amazonas, fatores ambientais, genéticos e de manejo afetam o cultivo do tomate e contribuem para sua baixa produtividade. O ambiente amazônico, caracterizado por altas temperaturas e elevada umidade, influencia diretamente a qualidade dos frutos, uma vez que a faixa ideal de temperatura para o tomateiro varia entre 18°C e 27°C. Quando exposto a temperaturas superiores a 35°C, há uma redução na frutificação e na síntese de licopeno, pigmento responsável pela coloração

vermelha dos frutos, resultando em tomates amarelados (Zayat *et al.*, 2022). Além disso, extremos térmicos (10°C e 35°C, podem causar abortamento de frutos e anomalias fisiológicas, como rachaduras e escaldaduras, estas últimas provocadas pelo excesso de radiação luminosa (Lopes, 2021).

Para um bom desenvolvimento, o tomateiro requer níveis adequados de radiação solar. A baixa luminosidade prolonga a fase vegetativa e retarda a produção, enquanto a alta intensidade luminosa pode antecipar a frutificação. Outros fatores que impactam a tomaticultura na Amazônia incluem o excesso de chuvas e a elevada umidade do ar, condições que favorecem a incidência de doenças (Filgueira, 2003).

Em solos amazônicos, o cultivo do tomate é, ainda, dificultado pela acidez do solo e pela baixa fertilidade natural predominante. O tomateiro é uma planta altamente exigente em nutrientes minerais, por isso requer altas doses de calcário e fertilizantes químicos, aumentando significativamente os custos de produção (Caniato *et al.*, 2020; Gonçalves *et al.*, 2018).

Além disso, o tomateiro foi muito manipulado geneticamente, principalmente devido a desafios fitossanitários, necessidade de maior produtividade, tolerância a estresses ambientais e melhoria da qualidade dos frutos, o que o tornou pouco resistente ao cultivo em ambientes naturais e, conseqüentemente, dependente de manejo (Carvalho *et al.*, 2014). As pesquisas voltadas ao melhoramento genético de tomateiros na Amazônia visam desenvolver cultivares adaptadas à realidade local, levando em consideração a necessidade de contribuir para a segurança alimentar e para a diversificação da oferta de espécies alimentares às populações amazônicas (Martins *et al.*, 2013).

A cultivar Yoshimatsu foi desenvolvida por pesquisadores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa) como uma variedade de tomateiro com resistência à murcha-bacteriana e adaptada aos ambientes amazônicos de terra firme e várzea (Souza e Gentil, 2019; Marques *et al.*, 2019).

Por fim, a produção de tomate no Amazonas é afetada pela incidência de pragas e doenças. As doenças que afetam o tomateiro podem ser causadas por bactérias, fungos, vírus e nematoides. As principais doenças bacterianas são mancha-bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye), murcha-bacteriana (*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi) e podridão mole do fruto (*Pectobacterium carotovorum carotovorum* (Jones) Hauben *et al.*). As viroses são mosaico-dourado (Bean golden mosaic virus - BGMV), amarelão do tomateiro (Tomato chlorosis vírus -ToCV)) e vira-cabeça do tomateiro (Tomato spotted wilt vírus - TSWV; Tomato chlorotic spot vírus -TCSV, Groundnut ringspot vírus -GRSV, Chrysanthemum stem necrosis vírus -CSNV.).

Ocorrem também nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) (Lopes, 2021). As principais doenças fúngicas são: tombamento das mudas (*Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* (J. G. Kühn), *Phytophthora* spp.), murcha-de-fusário (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen), pinta-preta grande (*Alternaria* spp.), mancha de estenfílio (*Stemphylium solani* Weber e *S. lycopersici* (Enjoji) W. Yamam), requeima (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary), mancha alvo (*Corynespora cassicola* (E. Kawan)), cercosporiose (*Pseudocercospora* sp.), antracnose (*Colletotrichum* spp.) e podridão-de-esclerócio (*A. rolfsii*).

2.2 Podridão-de-esclerócio

A podridão-de-esclerócio é causada por *A. rolfsii*, fungo pertencente ao filo Basidiomycota, classe Dothideomycetes, ordem Atheliales, família Atheliaceae e gênero *Agrothealia* Pers (Global Biodiversity Information Facility, 2023). O patógeno predomina em zonas tropicais e subtropicais, com temperaturas entre 25 e 35 °C e elevada umidade do solo, favorecendo a sua sobrevivência (Gentil *et al.*, 2023). A fase reprodutiva teleomórfica corresponde ao basidiomiceto *Agroathelia rolfsii* (Curzi) C.C. Tu & Kimbr, raramente observado (Paiva *et al.*, 2021).

O fungo possui uma grande gama de hospedeiras, aproximadamente 500 espécies de plantas (Paiva *et al.*, 2021). Entre as Solanaceas hospedeiras do fungo destacam-se tomate, pimentão, pimentas (*Capsicum* spp.), jiló (*Solanum gilo* Raddi), berinjela (*Solanum melongena* L.). Outras hospedeiras de interesse são melão (*Cucumis melo* L.), pepino (*Cucumis sativum* L.), melancia (*Citrullus lanatus* Thunb),

abóboras (*Cucurbita* spp.) soja (*Glycine max* L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (Tofoli e Domingues, 2018).

A podridão-de-esclerócio pode causar perdas significativas em cultivo de tomate e de outras espécies de Solanaceas como pimentão (*Capsicum annuum* L.) e cubiu (*Solanum sessiliflorum* D.) e não há método de controle eficiente (Lima *et al.*, 2021; Gentil *et al.*, 2023).

Os sintomas da podridão-de-esclerócio ocorrem, geralmente, em reboleiras, em todos os estágios de crescimento da hospedeira e se iniciam com necrose na região das raízes e do colo das plantas, que leva à murcha da parte aérea. Os tecidos vegetais mortos servem como substrato para o desenvolvimento de micélio e esclerócios, sendo esses os responsáveis por sua sobrevivência, tornando a longevidade do patógeno no solo acima de cinco anos (Moreira *et al.*, 2022). O fungo ataca o tecido vegetal diretamente, entretanto, o micélio produz ácido oxálico e enzimas pectinolíticas, que matam e desintegram o tecido vegetal, antes que o patógeno colonize a planta (Paiva *et al.*, 2021).

Figura 1: Sinais e sintomas de podridão-de-esclerócio causada por *Agroathelia rolfsii* em tomateiro. Aspecto do micélio branco característico e esclerócios marrons na base do caule de tomateiro.



Fonte: Batista, 2023.

No Brasil, o fungicida Orkestra (fluxapiroxade + piraclostrobina), Basf S.A, é registrado para o controle da podridão-de-esclerócio no cultivo do tomate. Este fungicida está classificado na categoria 4 em toxicidade (produto pouco tóxico) e na classe II, em periculosidade ambiental (produto muito perigoso ao meio ambiente) (Agrofit, 2025).

Uma alternativa ao controle químico é o controle biológico, método que utiliza microrganismos antagonistas para controlar doenças e pragas. As espécies do gênero

Trichoderma spp. se destacam no controle de doenças de plantas por possuírem características desejáveis (Costa *et al.*, 2022).

2.3 Controle biológico por *Trichoderma* spp.

Controle biológico, segundo o conceito mais aceito, é a redução da densidade de inóculo em seu estado dormente ou ativo, ou das atividades determinantes da doença, por meio de um ou mais organismos, realizadas naturalmente ou pela manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou pela introdução massal de um ou mais antagonista (Cook e Baker, 1983).

Neste sentido, o controle biológico é uma abordagem promissora para aumentar o rendimento das culturas e minimizar perdas de produtividade, devido às doenças das plantas, com menos efeitos colaterais, boa eficácia contra patógenos resistentes a fungicidas e não prejudicial ao meio ambiente (Pradhan *et al.*, 2023). No mundo, *Trichoderma* spp. são os principais agentes de controle biológico utilizado no controle de doenças de plantas, devido a sua boa adaptabilidade às condições ambientais, pela grande variabilidade e especificidade de controle em diversos patossistemas (Farias *et al.*, 2019).

Organismos do gênero *Trichoderma* podem tolerar agrotóxicos aplicados no solo, modificar a rizosfera para benefício da planta, utilizar nutrientes disponíveis no solo de forma eficiente, além de sobreviverem em condições desfavoráveis e poderem promover o crescimento de plantas (Olowe *et al.*, 2022).

O gênero *Trichoderma* pertence ao reino fungi, filo *Ascomycota*, Subfilo *Pezizomycotina*, Classe *Sordariomycetes*, Subclasse *Hypocreomycetidae*, Ordem *Hypocreales*, Família *Hypocreaceae* (GBIF, 2023), apresentando uma natureza filamentosa de crescimento rápido (Grimes *et al.*, 2023). As espécies do gênero *Trichoderma* são típicos fungos filamentosos, ou seja, são constituídas por elementos multicelulares em forma de tubos denominados hifas, cujo conjunto forma o micélio. As hifas são septadas, uma característica comum às espécies do Filo *Ascomycota*, ao qual esse gênero pertence (Sales *et al.*, 2020).

A partir das hifas são formados os conidióforos e clamidósporos, estruturas envolvidas na reprodução assexuada e resistência a condições adversas,

respectivamente. Os clamidósporos têm a função de resistência, toleram condições ambientais adversas, são estruturas de sobrevivência (Silva, 2015; Sales *et al.*, 2020). A coloração deles pode variar de branco a verde escuro ou laranja, dependendo da espécie e das condições ambientais em que o fungo está presente. Já os conídios são estruturas de reprodução assexuada produzidas em abundância por fungos deste gênero (Sales *et al.*, 2020).

Embora sejam considerados mesófilos, ou seja, prosperam em condições de temperatura moderada, o que explica sua ampla distribuição em regiões de clima temperado e tropical, muitas espécies desse gênero demonstram uma notável capacidade de adaptação a variações ambientais, permitindo que colonizem diversos tipos de substratos e atuem em diferentes ecossistemas (Rush *et al.*, 2021).

Em 1987 foi disponibilizado no mercado o primeiro produto à base de *Trichoderma* no Brasil, a partir de Embrapa Clima Temperado, sendo formulado a partir de cepa de *T. viride* veiculado em grãos de sorgo colonizados para o controle da podridão de colo por *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt. Em 2006, foi registrado o primeiro produto comercial e a adoção deste biopesticida para o controle de mofo branco passou a ser utilizado em maior escala em 2008. Tendo crescimento constante até que em 2015 o uso de *Trichoderma* já ultrapassava 5 milhões de ha (Meyer *et al.*, 2019; Bettiol *et al.*, 2019).

Atualmente, no mercado brasileiro, é possível encontrar formulações de fungicidas à base de *Trichoderma* spp., como pós- molháveis, grânulos, suspensões concentradas, óleos emulsionáveis e esporos secos, o que facilita sua aplicação em diferentes culturas e condições do solo (Fantinel, 2018). Nove espécies são utilizadas em fungicidas biológicos comercializados no Brasil, *T. hazianum* Rifai, *T. viride* Pers., *T. koningiopsis* Samuels, Carm.Suárez & H.C.Evans, *T. stromaticum* Samuels & Pardo-Schultheiss, *T. reesei* Simmons, *T. afroharzianum* P. Chaverri, F.B.Rocha, Degenkolb & Druzhin, *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg, *T. atroviride* P. Karst e *T. endophyticum* F. B. Rocha, Samuel & P. Chaverri (Agrofit, 2025). Vários estudos de campo têm demonstrado a eficácia de *Trichoderma asperellum* contra fitopatógenos fúngicos.

De acordo com Sehim *et al.* (2023), tomateiros tratados com *Trichoderma asperellum* apresentaram a maior taxa de germinação de sementes, atingindo 100%, enquanto o grupo controle registrou 81,25%. O comprimento médio dos brotos das

plantas inoculadas com *T. asperellum* foi 14,5% superior ao das plantas do controle, enquanto o comprimento médio das raízes apresentou um aumento de 17,6% em relação ao tratamento controle. O número de folhas em plantas inoculadas com *Trichoderma* foi 45% maior do que naquelas tratadas exclusivamente com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol). Após 11 dias de armazenamento, os frutos de tomate previamente inoculados com *Fusarium oxysporum* e tratados com extrato de *T. asperellum* demonstraram um aumento na vida útil em comparação com o controle não tratado (somente *Fusarium*).

Além disso, os frutos de tomate expostos aos metabólitos de *Trichoderma* apresentaram uma redução significativa no diâmetro da lesão, em comparação com aqueles tratados apenas com patógenos. O extrato de *Trichoderma* também se mostrou eficaz na proteção dos frutos contra infecções pós-colheita causadas por *Fusarium*, reforçando seu potencial como agente biocontrolador.

Os mecanismos de biocontrole induzidas por *Trichoderma* spp. incluem a produção de enzimas, que degradam a parede celular; de antibióticos; competição por nutriente e espaço; e antibiose. E espécies desse gênero também atuam na indução de crescimento das plantas tratadas (Monte *et al.*, 2019). A competição por espaço e nutriente no ambiente ocorre porque esses fungos conseguem colonizar rapidamente o solo e as raízes das plantas, tornam o contato hospedeira-parasita mais difícil. Além disso, *Trichoderma* pode atuar como hiperparasita, crescendo sobre hifas de fungos suscetíveis, formando estruturas semelhantes a apressórios e se enrolando fortemente em toda extensão da hifa para, então, penetrá-la e digeri-la (Machado *et al.*, 2012).

Outro mecanismo de ação é a antibiose, caracterizado pela produção de metabólitos secundários com atividade antimicrobiana que inibem o crescimento de outros microrganismos nocivos às plantas. Dentre esses compostos, destacam-se os peptaibóis, gliotoxinas, viridol, trichodermina, harzianinas e harzianonas. Esses metabólitos são capazes de inibir o crescimento de fungos fitopatogênicos, mesmo à distância, o que os torna atraentes no controle biológico de doenças de plantas (Silva *et al.*, 2022). Da mesma forma, estimulam a resposta imunológica das plantas tratadas, induzindo a produção de proteases que conseguem degradar as enzimas

sintetizadas pelo patógeno, as quais são responsáveis por destruir a parede celular das plantas, diminuindo a capacidade do patógeno de infectá-las (Sehim *et al*, 2023).

2.4. Indução de crescimento e de defesa das plantas

Espécies de *Trichoderma spp.* estimulam o sistema de defesa das plantas, induzindo resistência sistêmica às doenças, sendo capazes de ativar vias de sinalização das plantas, induzindo a produção de hormônios e enzimas, como quitinases, glucanases e peroxidases. Essas enzimas estão envolvidas na percepção da presença do patógeno e efetivamente contribuem para a defesa contra o patógeno, por meio da modulação de processos como a degradação da parede celular do patógeno, a produção de compostos antimicrobianos e a ativação de respostas imunes nas plantas (Olowe *et al.*, 2022; Kupper *et al.*, 2023).

Por meio da produção de hormônios, a síntese de auxinas, particularmente o ácido indol-acético (AIA), também promove o crescimento de raízes e a proliferação de pelos radiculares, o que pode melhorar a absorção de nutrientes e água do solo e, consequentemente, o crescimento da planta (Oliveira *et al.*, 2012). Outro fator importante para a estimulação do crescimento das plantas é a contribuição na solubilização e absorção de nutrientes como o fosfato (Ribas *et al.*, 2016). O fósforo (P) desempenha um papel fundamental para o crescimento e o desenvolvimento das plantas, apesar de ser um dos elementos mais escassos nos solos (Batista *et al.*, 2018). A capacidade de solubilização de fosfatos é correlacionada com a habilidade de produção de ácidos orgânicos e polissacarídeos extracelulares, bem como pela produção de enzimas fosfatases, que promovem a hidrólise do fosfato, transformando o fosfato orgânico em sua forma solúvel, o fosfato inorgânico (Ribas *et al.*, 2016).

O fósforo é um macronutriente essencial para as plantas, desempenhando um papel fundamental em diversas vias metabólicas e bioquímicas, além de integrar moléculas estruturais. No entanto, as plantas só conseguem absorver essa nutriente nas formas solúveis monobásica (H_2PO_4^-) e dibásica (HPO_4^{2-}) (Lopez *et al.*, 2021). No solo, porém, a maior parte do fósforo encontra-se na forma insolúvel, limitando sua biodisponibilidade e, consequentemente, restringindo o crescimento vegetal. Microrganismos promotores do crescimento de plantas com capacidade de solubilizar fosfatos produzem e liberam compostos, como ácidos orgânicos, que convertem fosfatos inorgânicos insolúveis em formas solúveis, tornando-os acessíveis às plantas.

Em solos ácidos, os fosfatos mais comuns são aqueles associados a Fe e Al (Chagas Júnior *et al.*, 2010).

O ferro (Fe) é um micronutriente essencial tanto para plantas quanto para microrganismos, sendo indispensável para processos como fotossíntese, respiração e fixação biológica de nitrogênio (FBN). No entanto, assim como o fósforo, o ferro presente no solo possui baixa solubilidade, o que limita sua disponibilidade para os organismos e intensifica a competição por esse nutriente. Em condições de escassez, *Trichoderma* sintetiza sideróforos, compostos de baixo peso molecular que atuam como agentes quelantes, capturando o íon férrico (Fe^{3+}), convertendo-o na forma solúvel (Fe^{2+}), com alta afinidade e facilitando sua absorção de receptores específicos na membrana celular (Lopez *et al.*, 2021).

Além de aumentar a disponibilidade de ferro para as plantas, os sideróforos também reduzem a quantidade de ferro acessível a microrganismos patogênicos, dificultando sua sobrevivência e crescimento (Sood *et al.*, 2020). Dessa forma, *Trichoderma* contribui tanto para a nutrição vegetal quanto para o controle biológico, promovendo um ambiente mais favorável ao desenvolvimento das plantas.

Trichoderma spp. pode promover modificações nas raízes das plantas, como o aumento da área de superfície, do número de raízes e de pelos absorventes, aumentando a defesas contra patógenos (Silva *et al.*, 2019). O ácido indol-3-acético (AIA) é um fitormônio que pertence à classe das auxinas. Ele atua como um regulador de crescimento em plantas, promovendo o crescimento por meio da estimulação da mitose, alongando células existentes ou mesmo aumentando o número de células vegetais (França *et al.*, 2017).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial de isolados do gênero *Trichoderma*, oriundos do Amazonas, no controle de podridão-de-esclerócio e na promoção de crescimento de tomateiros.

3.2 Objetivos específicos

1. Selecionar isolados de *Trichoderma* spp. promissores no controle de podridão-de-esclerócio em tomateiros em campo;
2. Selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com capacidade de promover crescimento e aumentar a produção de tomateiros em campo;
3. Quantificar as enzimas produzidas por isolados de *Trichoderma* spp. no controle biológico e na promoção de crescimento de tomateiros.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em três etapas. A primeira foi conduzida na Estação Experimental Alejo von der Pahlen, do Inpa, em Manaus-Amazonas, para avaliação da capacidade de seis isolados de *Trichoderma* spp. de promover crescimento em tomateiros e quatro isolados foram avaliados no biocontrole da podridão-de-esclerócio.

Na segunda etapa do estudo, foi avaliado o antagonismo *in vitro* de seis isolados de *Trichoderma* spp. a *A. rolfsii*.

Por fim, a terceira etapa envolveu a caracterização enzimática dos isolados, que foi realizada no Laboratório Multiusuário de Biologia Molecular da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa.

4.1. Reativação dos isolados

Seis isolados de *Trichoderma* spp. (Tabela 1), selecionados em trabalhos anteriores no Laboratório de Fitopatologia do Inpa, foram utilizados neste estudo, sendo seis avaliados para promoção de crescimento de tomateiros (1 ao 6) e quatro, avaliados quanto à eficácia no controle biológico (1 ao 4). Além disso, foi utilizado um isolado de *A. rolfsii* (isolado 7), proveniente da Coleção de Microrganismos de Interesse Agrossilvicultural do Inpa. Todos os isolados estavam armazenados em sílica-gel (Perkins, 1962). Os isolados foram transferidos para meio batata-dextrose-água (BDA), em placas de Petri e mantidos a 28 °C, até a esporulação das colônias.

Após esse processo, estes foram utilizados para os ensaios experimentais e para o preparo dos inóculos.

Tabela 1: Isolados de *Trichoderma* spp. avaliados para promoção do crescimento de tomateiros e controle biológico de podridão-de-escleródio e isolado de *Agroathelia rolfsii*, selecionados da coleção de Microrganismos de Interesse Silvicultural do Inpa, provenientes de Manaus.

Número Isolado	Espécies	Substrato de origem
1	Inpa 2957 <i>Trichoderma rugulosum</i> M.S.Park, S.Y.Oh & Y.W.Lim	Solo de capoeira
2	Inpa2959 <i>Trichoderma asperellum</i> Samuels, Lieckf. & Nirenberg	Solo de capoeira
3	Inpa 2951 <i>Trichoderma asperelloides</i> Samuels	Solo de capoeira
4	Inpa 2475 <i>Trichoderma agriamazonicum</i> Sousa & Silva	Cardeiro (<i>Scleronema micranthum</i> Ducke)
5	Inpa 2473 <i>Trichoderma endophyticum</i> Rocha, <u>Samuels & Chaverri</u>	Cardeiro (<i>S. micranthum</i>)
6	Inpa 2961 <i>Trichoderma asperellum</i> Samuels, Lieckf. & Nirenberg	solo
7	Inpa 3032 <i>Agrothelia rolfsii</i> (Sacc.) Ruivo e ST Mullineux	Tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>)

4.2 Avaliação dos isolados de *Trichoderma* spp. no controle da podridão-de-escleródio

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Alejo von der Pahlen, do Inpa, em Manaus-Amazonas, no período de maio a agosto de 2023. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e sete tratamentos: quatro isolados de *Trichoderma* spp. (T1 - Inpa 2951; T2 - Inpa 2957; T3 - Inpa 2959; T4 - Inpa 2475), e três testemunhas: T5 - Tricho-turbo® (Vittia, São Joaquim da Barra, SP), nematicida e fungicida microbiológico com esporos vivos de *Trichoderma asperellum* BV-10, recomendado para o controle de doenças causadas por *Pratylenchus brachyurus*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum* e *Macrophomina phaseolina*; T6 - Orkestra® SC (BASF, São Bernardo do Campo, SP) à base de Fluxapiroxade e piraclostrobina e T7 sem tratamento de controle. Cada parcela foi constituída por uma área de 15 m² com três fileiras com cinco tomateiros, totalizando quinze plantas por parcela. O espaçamento foi 0,5 m entre plantas e 1,0 m entre linhas.

Para a produção do inóculo infestação do solo, porções de 30 g de arroz hidratado, por imersão de água destilada, foram autoclavadas duas vezes, em dias consecutivos, por 30 minutos, em sacos de polipropileno. Após o resfriamento do arroz, foram adicionados, em cada porção, dois discos (0,5 cm de diâmetro) retirados de colônias de *A. rolfsii*, com dez dias de idade, desenvolvidas em meio batata-

dextrose-água (BDA). O arroz infestado foi incubado, por 20 dias, a 26° C, com revolvimento periódico, para homogeneizar o crescimento do fungo e promover a troca gasosa. Para infestação do solo, o arroz dos vários sacos foi uniformizado, distribuído (35 g.m⁻¹ linear) e incorporado ao solo da área experimental, de acordo com metodologia descrita por Nogueira *et al.* (2019). A infestação do solo ocorreu dez dias antes do transplante das mudas para o local definitivo.

Para a produção do inóculo de *Trichoderma* spp., cada isolado foi cultivado em meio BDA, em placas de Petri, durante dez dias. Após esse período, foram preparadas suspensões de conídios de *Trichoderma* spp. com água destilada esterilizada ajustada para 2,6 x 10⁷ conídios mL⁻¹ com o auxílio de câmara de Neubauer em microscópio óptico, conforme a metodologia descrita por Wetzel e Soave (1987). A preparação das suspensões foi repetida a cada aplicação.

Foram produzidas mudas da variedade de tomate Yoshimatsu, que apresenta resistência à murcha bacteriana, uma doença que também afeta severamente a cultura e que já foi registrada anteriormente na área experimental, em casa de vegetação. As mudas foram preparadas em bandejas de poliestireno contendo substrato Hortaliças Plus (Vida Verde®, Provaso, Mogi Mirim, SP) e distribuídas duas sementes por célula. A irrigação foi realizada diariamente por aspersão automática. Aos 25 dias da semeadura, as mudas receberam 10 mL planta⁻¹ de suspensão de conídios dos isolados *Trichoderma* spp. (2,6 x 10⁷ conídios⁻¹ mL), a inoculação foi realizada no solo, próxima ao colo da planta, contemplando a região radicular, exceto nas mudas dos tratamentos testemunha. Aos 30 dias da semeadura, as mudas foram transplantadas para o local definitivo.

A área foi previamente preparada com adubação química baseada em dados de análise de solo realizada no Laboratório Temático de Solo e Planta do Inpa. A amostra de solo foi coletada antes da instalação do experimento, na profundidade de 0-20 cm. As características químicas e físicas originais do solo, na área experimental, estão apresentadas na Tabela 2. No campo, as plantas foram irrigadas por gotejamento, diariamente, e receberam fertirrigação uma vez por semana, de acordo com a recomendação baseada na análise de solo. A condução das plantas foi realizada conforme as exigências da cultura.

Foram realizadas quatro aplicações de 10 mL planta⁻¹ das suspensões de conídios dos isolados de *Trichoderma* spp. nas concentrações de 2,6 x 10⁷ conídios⁻¹

mL, em intervalos de dez dias, sendo a primeira aplicação seis dias após o transplante. Para o tratamento 5 (biofungicida à base de *Trichoderma*), foram realizadas quatro aplicações de 10 mL planta⁻¹ da calda preparada conforme orientações do fabricante. No tratamento testemunha 6 (fungicida Orkestra) foram realizadas quatro aplicações de 300 mL por parcela, pulverizadas no solo e preparados conforme orientação do fabricante, no mesmo momento da aplicação das suspensões de conídios de *Trichoderma*. No tratamento testemunha 7, foram utilizadas plantas sem controle químico ou biológico. A avaliação da incidência da podridão-de-esclerócio foi realizada duas vezes por semana, a partir do transplante, pela contagem de plantas que apresentaram sintomas característicos da doença, por meio de análise visual. Os dados de incidência da doença foram integrados em curvas de progresso da doença (Campbell e Madden, 1990). A produção de frutos por parcela foi registrada e apresentada em gramas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias significativas avaliadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o software R.

Tabela 2: Caracterização química e granulométrica do solo da área experimental na profundidade de 0-20 cm, antes da instalação do experimento em Manaus-AM, 2023.

pH água	pH KCl	C -----g Kg ⁻¹	MOS -----g Kg ⁻¹	N	P -----mg Kg ⁻¹	K	K	Ca	Mg -----Cmolc Kg ⁻¹	Al	H+Al	Areia -----g Kg ⁻¹	Argila -----g Kg ⁻¹	Silte
6,66	6,17	10,88	17,75	1,03	338,97	49,20	0,13	3,13	1,24	0,06	1,82	812	76	113

pH- pH em água; C- carbono orgânico; MOS- matéria orgânica do solo; N- nitrogênio total; Ca- cálcio trocável (Ca²⁺); Mg- magnésio trocável (Mg ²⁺); Al- alumínio trocável (Al ³⁺); H+Al- acidez potencial a pH 7; K- potássio trocável (K⁺); P- fósforo disponível.

4.3 Avaliação dos isolados de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento em tomateiros

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Alejo von der Pahlen, do Inpa, em Manaus-Amazonas, no período de março a junho de 2024. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com oito tratamentos, seis isolados de *Trichoderma* spp. (T1- Inpa 2959; T2- Inpa 2951; T3- Inpa 2961; T4- Inpa 2475; T5- Inpa 2957; T6- Inpa 2473), *Trichoderma asperellum* BV10 (T7- Tricho-turbo) e uma testemunha sem tratamento (T8- ausência de isolados fúngicos ou fungicida), com quatro repetições para cada tratamento.

4.3.1 Tratamento das sementes

Sementes de tomate Yoshimatsu obtidas do banco de sementes do Inpa, foram previamente desinfestadas com álcool 70% (1 min), solução de hipoclorito de sódio 1% (1 min) seguidas de três lavagens com água destilada estéril (1 min cada). Após a assepsia, as sementes foram submersas em 10 mL de suspensões de conídios de *Trichoderma* spp. (em concentração de $2,6 \times 10^7$ conídios⁻¹ mL) por 24 horas. Nos tratamentos testemunha, as sementes foram submersas em água destilada estéril. Para comparar a eficiência dos isolados, foi utilizado a linhagem comercial Tricho-turbo na concentração indicada pelo fabricante ($2,6 \times 10^7$ conídios⁻¹ mL). As suspensões de conídios foram preparadas com adição água destilada esterilizadas, a partir de culturas dos fungos com dez dias, e ajustadas com o auxílio de câmara de Neubauer em microscópio óptico, para $2,6 \times 10^7$ conídios⁻¹ mL, conforme a metodologia descrita por Wetzel e Soave (1987).

4.3.2 Semeadura e Transplante

As sementes de tomate tratadas foram semeadas em substrato Hortaliças Plus (Vida Verde®, Provaso, Mogi Mirim, SP) em bandeja de semeadura de poliestireno, com duas sementes por célula. A irrigação foi realizada diariamente por aspersão automática. Aos 25 dias da semeadura, as mudas receberam 10 mL planta⁻¹ de suspensão de conídios dos isolados de *Trichoderma* spp. no solo, em concentração de $2,6 \times 10^7$ conídios⁻¹ mL, exceto nas mudas dos tratamentos

testemunhas. Aos 35 dias da semeadura, as mudas foram transplantadas para o local definitivo.

A área experimental recebeu calagem e adubação conforme recomendações, seguida de incorporação de fertilizantes químicos e orgânico. No campo, as plantas foram irrigadas por gotejamento diariamente e receberam fertirrigação com Dripsol 24-10-10 (250g), 30-15-20 (500g) e Nitrato de cálcio (250g) diluídos em 10 L de água, uma vez por semana, de acordo com a recomendação baseada na análise de solo.

A condução das plantas foi realizada conforme as exigências da cultura, O tutoramento foi realizado com varetas de madeira para proporcionar suporte às plantas, evitando o acamamento e auxiliou na exposição uniforme à luz e na circulação de ar. A capina foi realizada periodicamente para controle de plantas espontâneas, minimizando a competição por água, luz e nutrientes, além de diminuir o risco de pragas e doenças associadas a essas plantas. O desbaste foi empregado nos estágios iniciais para selecionar as mudas mais vigorosas e eliminar plantas mal desenvolvidas, garantindo um estande uniforme. A amontoa, deposição de solo no colo da planta foi feita para melhorar a fixação radicular, evitar o tombamento e criar barreiras naturais contra pragas do solo. Também foi realizada a desbrota com a remoção de brotações laterais indesejadas, promovendo um crescimento equilibrado e melhor direcionamento da energia da planta para os frutos. Além disso, foi realizada a supressão das folhas baixas, mais velhas e próximas ao solo, reduzindo a umidade e a propagação de patógenos que poderiam comprometer a sanidade da cultura.

Seis dias após o transplante, foi realizada uma aplicação de 10 mL planta⁻¹ das suspensões de conídios na concentração de $2,6 \times 10^7$ conídios⁻¹ mL. Para o tratamento 7 (Tricho-turbo), foram aplicados 10 mL planta⁻¹ da calda previamente preparada conforme orientações do fabricante. No tratamento testemunha 8, as plantas não receberam tratamento para o controle da doença.

Semanalmente foram avaliadas as variáveis biométricas das plantas tratadas desde o transplante até os 90 dias de condução do experimento. A altura das mudas (cm) foi medida com uma régua graduada, medindo do nível do substrato à emissão do folíolo da folha mais alta. O diâmetro do caule (mm) foi medido ao nível do solo com um paquímetro digital. Além disso, foi contado o número de frutos e a massa dos frutos. Ao término do período do experimento

foi realizada a análise destrutiva das mudas, em que foi determinado o comprimento das raízes (cm), massa fresca da parte aérea e das raízes (g), que consistiu na separação da parte aérea do sistema radicular, feita a lavagem em água corrente das raízes, e massa seca da parte aérea e das raízes (g), após obter peso constante na estufa de circulação forçada de ar a 60 °C. Além disso, foi feita a análise de volume da raiz (m^3), onde foram submersas em uma proveta graduado com um volume conhecido de água. A produção foi estimada pela contagem total dos frutos produzidos e massa (g) dos frutos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativas, as médias foram comparadas utilizando o teste de Scott-Knott a 5% de significância, utilizando o software R.

4.3.3 Isolamento de *Trichoderma* spp. do solo

Para o isolamento de *Trichoderma* spp. a partir do solo infestado, foi utilizada a técnica de diluição seriada, seguindo a metodologia descrita por Colla *et al.* (2008). Para isso, foram coletadas amostras compostas do solo rizosférico de cada planta da área experimental, provenientes da camada de 0-20 cm de profundidade, foram homogeneizadas e levadas ao laboratório para o processamento. Cada amostra composta foi formada pela mistura de subamostras coletadas em diferentes pontos da rizosfera, garantindo representatividade da área experimental. Em seguida, 25g da amostra composta foram transferidos para 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10^{-1}). A segunda diluição (10^{-2}) foi realizada transferindo-se 1 mL da diluição 10^{-1} para um tubo de ensaio com 9 mL de água peptonada (0,1%), repetindo o processo até a diluição 10^{-4} . Das diluições 10^{-3} e 10^{-4} alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para a superfície de meio BDA em placas de Petri e espalhado o conteúdo com alça de Drigalsky. As placas foram incubadas a 30 °C por 5 dias. Após esse período, foram obtidas culturas monospóricas de cada colônia.

4.4 Ação antagônica de *Trichoderma* spp. contra *Agroathelia rolfsii*

4.4.1 Cultura pareada

O potencial antagonista de isolados de *Trichoderma* spp. frente a *A. rolfsii* foi avaliado utilizando cultura pareada, de acordo com Dennis e Webster (1971). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos, em triplicata: Isolados de *Trichoderma* spp. (T1- Inpa 2959; T2- Inpa 2951; T3- Inpa 2961; T4- Inpa 2475; T5- Inpa 2957; T6- Inpa 2473) e T7 (controle). Um disco de micélio de 5 mm de diâmetro dos isolados de *Trichoderma* spp. e um disco de colônia de *A. rolfsii* foram depositados em meio de cultura BDA, em placas de Petri (90 mm de diâmetro) em direções opostas a 50 mm da borda. Os tratamentos foram distribuídos ao acaso e incubados a 28 °C em estufa, sem iluminação por três dias. O tratamento testemunha consistiu no cultivo de dois discos de *A. rolfsii* sob a mesma distribuição na placa de Petri. Após 5 dias de incubação, foram mensurados, em duas direções perpendicularmente opostas, o diâmetro da colônia de *A. rolfsii*, com o auxílio de régua milimetrada e calculada a média do diâmetro.

4.4.2 Produção de compostos voláteis por *Trichoderma* spp.

Para o teste de produção de metabólitos voláteis pelos isolados de *Trichoderma*, foi utilizada a técnica de placa sanduíche, conforme descrito por Isaias *et al.* (2014). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos, em triplicata: Isolados de *Trichoderma* spp. (T1- Inpa 2959; T2- Inpa 2951; T3- Inpa 2961; T4- Inpa 2475; T5- Inpa 2957; T6- Inpa 2473) e T7 (testemunha). Duas bases de placas de Petri de 90 mm contendo meio BDA receberam, um disco de colônia de *A. rolfsii* (4 mm), no centro da placa superior e um disco de colônia de *Trichoderma* spp., no centro da placa inferior. Um disco de papel celofane de 100 mm de diâmetro foi colocado como barreira entre as placas que foram seladas e unidas com filme de PVC. Nos tratamentos testemunha, foram sobrepostas a base superior contendo um disco de colônia de *A. rolfsii* e a base inferior somente com meio BDA. Os conjuntos foram incubados em estufa a 25 °C por cinco dias. Após esse

período foram feitas duas medidas dos diâmetros das colônias, em direções diametralmente opostas, com o auxílio de uma régua milimétrica e calculado o diâmetro médio das colônias.

4.4. Obtenção de extrato bruto de *Trichoderma* spp. e ensaios antifúngicos frente a *Agroathelia rolfsii*

O efeito de metabólitos não voláteis de *Trichoderma* spp. sobre *A. rolfsii* foi testado pelo método de filtrado estéril segundo a metodologia descrita por Guimarães *et al.* (2016). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos, em triplicata: Isolados de *Trichoderma* spp. (T1- Inpa 2959; T2- Inpa 2951; T3- Inpa 2961; T4- Inpa 2475; T5- Inpa 2957; T6- Inpa 2473) e T7 (controle). Para obtenção dos extratos, cada isolados de *Trichoderma* spp. foi cultivado em 100 mL de meio batata-dextrose (BD) em frascos de Erlenmeyer (250 mL). Em cada frasco foram depositados cinco discos de micélio (5mm de diâmetro), retirados de culturas puras com sete dias de cultivo. As culturas foram incubadas por sete dias, com agitação de 150 rpm, a 25 °C, em ausência de luz. Após esse período, a parte líquida foi coletada, utilizando um sistema de filtração a vácuo Membrana Pes 0.22 µm Kasvi (Kasvi, JProLab, São José dos Pinhás-PR) com papel de filtro Whatman nº 1 ((Whatman, Cytiva, EUA). O filtrado obtido foi incorporado ao meio BDA autoclavado na proporção de 25% (v/v). Foram preparadas três placas com o filtrado de cada antagonista. No centro da placa de Petri, contendo o meio suplementado com o filtrado fúngico, após solidificação, foram transferidos discos da cultura de *A. rolfsii*. As culturas foram incubadas a 25°C. A testemunha consistiu de placas contendo meio BDA, sem o filtrado de *Trichoderma* spp. O diâmetro das colônias do fitopatógeno foi medido após três dias de incubação, utilizando uma régua milimétrica.

4.4.4 Termoestabilidade do extrato bruto contendo filtrados de culturas de *Trichoderma* spp.

Seguindo a metodologia descrita por Isaias *et al.* (2014), os extratos foram obtidos a partir do cultivo de isolados de *Trichoderma* spp. em meio líquido

batata-dextrose (BD). Para isso, cada isolado foi cultivado em 100 mL de BD em frascos de Erlenmeyer com capacidade de 250 mL. Em cada frasco, foram adicionados cinco discos de micélio de 5 mm de diâmetro, retirados de culturas puras com sete dias de crescimento. As culturas foram incubadas por sete dias sob agitação constante de 150 rpm, a 25 °C, e na ausência de luz, permitindo a liberação de metabólitos no meio de cultivo.

Após esse período, foi preparado meio BDA suplementado com 25% do extrato bruto do filtrado de *Trichoderma spp.* para cada tratamento. O meio foi autoclavado a 121 °C por 20 minutos e posteriormente vertido em placas de Petri com 90 mm de diâmetro. Após a solidificação do meio, foi depositado no centro de cada placa um disco de micélio de 5 mm de diâmetro, retirado de uma colônia de *A. rolfsii* com sete dias de crescimento. As culturas foram incubadas a 25 °C, no escuro, por três dias.

A testemunha consistiu em placas contendo apenas meio BDA, onde o patógeno foi cultivado sem a presença do filtrado de *Trichoderma spp.* Após o período de incubação, o diâmetro das colônias do patógeno foi mensurado com o auxílio de uma régua milimetrada, permitindo a avaliação do efeito dos metabólitos de *Trichoderma spp.* sobre o crescimento de *A. rolfsii*.

4.4.5 Análises estatísticas

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos (seis isolados de *Trichoderma spp.* + tratamento testemunha) e três repetições por tratamento. As medições do crescimento das colônias do fitopatógeno foram utilizadas para determinar a porcentagem de crescimento micelial (PIC) por meio da fórmula de Menten *et al.*, (1976):

$$PIC (\%) = \frac{Cc - Ct}{Cc} \times 100,$$

onde Cc é cresc. do controle e Ct é cresc. do tratamento.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias significativas foram avaliadas pelo Teste Skott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o software R.

4.5 Avaliação da produção de enzimas hidrolíticas por *Trichoderma* spp. relacionados a indução de resistência vegetal

Para realizar a dosagem das proteínas totais e atividade enzimática das proteínas, três folíolos de tomateiros por tratamento, de cada repetição, foram coletados, ao acaso, em sacos de papel, armazenados imediatamente em caixa térmica contendo gelo seco, nos tempos 0, 48, 72 e 96 horas após a última aplicação das suspensões de conídios no experimento de campo. As amostras coletadas foram armazenadas em freezer a -80 °C até a utilização para preparação dos extratos. O extrato proteico foi obtido a partir da maceração de 200 mg do tecido foliar em nitrogênio líquido. A massa foliar macerada foi transferida para microtubos de 2 mL acrescido de 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,0, contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 1 mM e Polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1%, seguido de centrifugação por 30 minutos a 4 °C e 18.000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo e armazenado em freezer.

4.5.1 Proteínas totais

Para quantificar as proteínas totais, 1 µL dessa amostra foi misturado aos reagentes fluorométrico do kit comercial de ensaio proteína Qubit (Assay, Invitrogen, Oregon, USA), preparado de acordo com a instrução do fabricante, incubado por 5 minutos e lidos em Fluorômetro Qubit® (modelo 3.0, Invitrogen, New York, USA), de acordo com a metodologia citada por Casas *et al.* (2021). Os experimentos foram conduzidos em delineamentos inteiramente casualizados, com sete tratamentos e três repetições cada tratamento, em duplicata

4.5.2 Atividade de quitinases

A atividade de quitinases foi avaliada por meio da liberação de fragmentos solúveis de quitina carboximetilada, marcados com remazol brilhante

violeta (CM-Chitin-RBV) e 1mL do extrato proteico, misturados com 1 mL do tampão acetato de sódio 0,2 M (pH 7,0) e 5 mg de CM-chitin-azure. Posteriormente, as amostras foram incubadas a 38 °C por 3 horas. Após esse período, os tubos foram centrifugados e a absorbância do sobrenadante foi determinada em espectrofotômetro a 560 nm. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância.min⁻¹.mg de proteína⁻¹, seguindo a metodologia descrita por Ramírez *et al.* (2004).

4.5.3 Atividade de glucanases

A atividade de glucanase foi determinada de acordo com a metodologia de Lever (1972) adaptada por Júnior *et al* (2015). A reação foi iniciada pela adição de 20 µL do extrato enzimático a uma mistura de 230 µL da solução tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0) e 250 µL de Laminarina (4mg mL⁻¹) como substrato. A mistura foi incubada por 30 minutos a 45°C. Após o período de incubação, a quantidade de açúcares redutores foi determinada pela adição de 500 µL de ácido dinitrossalicílico à mistura reacional, posteriormente incubada durante 15 minutos a 100°C. A reação foi interrompida por arrefecimento das amostras em banho de gelo. Nas amostras controle, a mistura reacional foi o mesmo, exceto que o extrato não foi adicionado. A absorbância do produto liberado por glicose foi mensurada em espectrofotômetro a 540 nm. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância.min⁻¹.mg de proteína⁻¹

4.5.4 Atividade de peroxidase

A atividade de peroxidases foi determinada a 30 °C, utilizando o método espectrofotométrico direto pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol no comprimento de onda 470 nm descrita por Lusso e Pascholati, (1999), baseado na oxidação do guaiacol descrita originalmente por Chance e Maehly (1955). Foram utilizados 100 µL de extrato proteico, e 2,9 mL de solução I (250 µL de guaiacol e 306 µL de peróxido de hidrogênio em 100 mL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0)). A cubeta de referência conteve 3 mL da solução I, sem adição do extrato proteico. A atividade de peroxidases foi expressa como atividade específica (unidades de absorbância.min⁻¹.mg de proteína⁻¹).

4.6 Análise de traços fisiológicos ligados a mecanismos de promoção do crescimento vegetal

4.6.1 Avaliação quantitativa de sideróforos

A quantificação dos sideróforos foi realizada utilizando a metodologia descrita por Ghazy e El-Nahrawy (2021). Para produção do caldo fermentado de seis isolados de *Trichoderma* spp, dois discos de micélio dos isolados foram transferidos para 50 mL de meio BD (batata-dextrose) e incubados, sob agitação de 150 rpm a 30 °C, no escuro, por sete dias. Após esse período, meio de cultura e o micélio de cada isolado foram transferidos para tubos Falcon e centrifugados, sob refrigeração, por 15 minutos a 10.000 rpm. Em seguida, em microtubo de 2 mL, foi adicionado 1 mL do sobrenadante e 1 mL de Chrome Azurol S (CAS) e incubado por duas horas em temperatura ambiente de 30 °C, no escuro. A leitura foi realizada, após esse período, em espectrofotômetro a 630 nm. A solução branca consistiu de meio BD e 1 mL de CAS. A porcentagem de sideróforos foi estimada pela fórmula: $[(B-A) / B] \times 100$, onde: A- absorbância da amostra e B- absorbância da amostra controle (branco). O tratamento testemunha consistiu em meio BD na ausência dos isolados de *Trichoderma* spp. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos (seis isolados de *Trichoderma* spp. + tratamento testemunha) com três repetições.

4.6.2 Quantificação de ácido indolacético (AIA)

A capacidade de produção de AIA foi estimada utilizando a metodologia descrita por Sarwar e Kremer (1995) modificada. Culturas puras dos isolados foram cultivadas por cinco dias em meio BDA. Após o crescimento, dois discos de micélio das colônias foram transferidos para Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de meio BD, suplementado com triptofano (150 mgL^{-1}), e incubados sob agitação a 150 rpm, no escuro, por sete dias. Após esse período, o sobrenadante foi separado, por centrifugação a 10.000 rpm por 15 minutos, em tubo Falcon. Uma alíquota de 1,0 mL do sobrenadante foi transferida para microtubos de 2 mL e, em cada microtubo foi adicionado 1 mL da solução de

Salkowski (1,2 g de $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 42,1 mL de H_2SO_4 + 57,89 mL de água destilada). Após a incubação, no escuro, à temperatura ambiente de 30 °C, por 60 minutos, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 595 nm. A unidade de quantificação foi $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. O branco foi constituído de meio BD com triptofano, na ausência dos isolados de *Trichoderma* spp. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos (seis isolados de *Trichoderma* spp. + tratamento testemunha) e três repetições. A relação entre as variáveis analisadas foi ajustada a uma equação linear.

5. Resultados e discussão

5.1 Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. no controle da podridão-de-esclerócio

Nas plantas não tratadas verificaram-se as maiores incidências da doença, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3: Incidência de podridão-de-esclerócio e produção de tomate em plantas cv. Yoshimatsu tratadas com isolados de *Trichoderma* spp., em Manaus-AM.

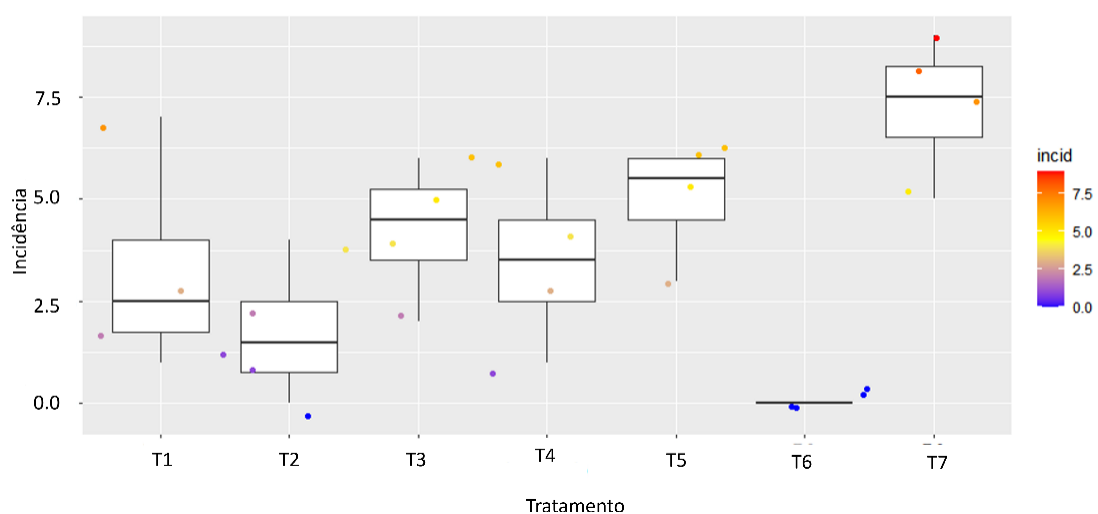
Rendimento do tomate									
Tratamento		Incidência (%)		(g.m ⁻²)		(frutos.m ²)		(g.frutos ¹)	
1	Inpa 2951 ⁴	22	b	195.38	b	4.48	b	43.61	a
2	Inpa 2957 ⁵	12	a	359.28	a	7.63	a	47.73	a
3	Inpa 2959 ⁶	28	b	299.93	a	6.78	a	43.25	a
4	Inpa 2475 ⁷	23	b	156.55	b	3.80	b	41.34	a
5	Trichoturbo ¹	33	b	254.92	a	6.11	a	41.40	a
6	Orkestra ²	0	a	294.45	a	6.80	a	43.24	a
7	Sem tratamento ³	48	c	207.02	b	4.40	b	47.34	a
cv		0.64		0.39		0.35		0.11	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão. Efeito significativo ($p < 0,01$). ¹ Tricho-Turbo: fungicida microbiológico constituído de conídios vivos de *Trichoderma asperellum* BV-10 (Vittia). ² Orkestra (Piraclostrobina; Fluxapiroxade) -SC Basf: Fungicida químico. ³Sem tratamento: sem controle da doença. ⁴Inpa2951 (*Trichoderma asperelloides*); ⁵Inpa2957 (*Trichoderma rugulosum*); ⁶Inpa2959 (*Trichoderma asperellum*); ⁷Inpa2475 (*Trichoderma agriamazonicum*).

As plantas tratadas com o isolado Inpa 2957 registraram a menor média de incidência, sendo estatisticamente equivalente às plantas tratadas com fungicida Orkestra (Figura 2). Este resultado reforça o potencial do isolado para reduzir significativamente a incidência da doença em tomateiros, sendo uma possível alternativa promissora no manejo da doença.

O tratamento com Tricho-turbo, embora tenha apresentado desempenho inferior aos isolados testados, também contribuiu para a redução da incidência da doença em relação ao fungicida. Esse resultado sugere que produtos comerciais podem ser benéficos, mas ressalta a importância do uso de isolados específicos, como o Inpa 2957, que são selecionados na região amazônica e que podem ser melhor adaptados às condições locais, como temperatura, clima e outros fatores ambientais e que possivelmente tenham contribuído para os resultados coletados.

Figura 2: Distribuição da incidência de podridão-de-esclerócio (*Agroathelia rolfsii*) em tomateiros sob diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp.



T1 - Inpa 2951; T2 - Inpa 2957; T3 - Inpa 2959; T4 - Inpa 2475); biofungicida à base de *Trichoderma* (T5 - Tricho-turbo), fungicida (T6 - Orkestra®); e uma testemunha sem tratamento (T7- ausência de isolados fúngicos ou fungicida)

Reyes *et al.* (2002), demonstraram a habilidade de *Trichoderma* em parasitar diretamente *A. rolfsii* e reduzir sua viabilidade. O tratamento com *Trichoderma harzianum* (isolado A24) reduziu a incidência de *A. rolfsii*

comparado ao controle não tratado, diminuindo significativamente a incidência da doença em plantas de tomateiros.

Resultados semelhantes foram observados por Sousa e Blum (2013), onde os tratamentos à base de *T. harzianum* foram mais eficientes no controle da podridão do alho (*Allium sativum* L.) causada por *A. rolfsii*, sendo indicado um aumento do parasitismo nos escleródios. As plantas testemunhas, sem tratamento, em solo infestado com *A. rolfsii* apresentaram 90% e 60% de plantas com podridão de esclerócio, enquanto as plantas tratadas com *T. harzianum* com condicionador de solo apresentaram 40% e 20% de doença.

O uso de *Trichoderma spp.* como controlador biológico de fitopatógenos habitantes do solo é facilitado pelo fato de esse fungo também ser um habitante natural desse ambiente, onde compete por espaço e nutrientes, promovendo a supressão de microrganismos patogênicos. Silva *et al.* (2017) realizaram testes em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) para avaliar o potencial antagônico de diferentes isolados de *Trichoderma* contra podridão de *A. rolfsii*, com posterior análise biométrica das plantas. Os autores observaram que as linhagens de *Trichoderma spp.* não apenas conferiram saúde às plantas, mas também atuaram como promotores de crescimento, favorecendo o desenvolvimento das plantas de feijão-caupi.

Foi relatado que alguns isolados de *Trichoderma* podem ativar a resistência sistêmica induzida (ISR), um mecanismo desencadeado após a colonização das raízes por rizobactérias ou fungos não patogênicos e regulado por uma cascata de transdução de sinal específica. As plantas cujas raízes são colonizadas por isolados selecionados de *Trichoderma* são sensibilizadas e respondem mais rápido e/ou mais intensamente ao ataque do patógeno (Tucci *et al.*, 2011)

Meena *et al.* (2024) analisaram a eficácia de um consórcio microbiano para controlar a incidência de podridão-do-caule, causada por *A. rolfsii*, em campo e o rendimento de vagens em plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Neste estudo, os autores constataram que a doença foi efetivamente suprimida pelo tratamento de sementes e do solo, sendo o controle mais promissor obtido com uma mistura de *Trichoderma harzianum* e *Pseudomonas*

fluorescences. Este tratamento também proporcionou maior rendimentos de vagens nas plantas.

Auler *et al.* (2013) avaliaram o potencial de isolados de *T. harzianum* no biocontrole de podridão-de-esclerócio em feijoeiro e em plantas de soja. De acordo com os resultados obtidos, seis isolados de *Trichoderma* (CEN155, CEN158, CEN169, CEN170, CEN194 e CEN197) foram ativos nos experimentos in vivo com as culturas, proporcionando percentual médio de plantas sadias acima de 88%, aos 15 dias após as inoculações de patógeno e antagonistas no solo.

Elias *et al.* (2016) realizaram estudos para avaliar o controle da podridão-da-alface, causada por *Sclerotinia minor* e *Sclerotinia sclerotiorum*, em alface (*Lactuca sativa* L.) utilizando isolados de *Trichoderma*. Em condições de casa de vegetação, os isolados testados, identificados como *T. asperellum* (IBLF 897, IBLF 904 e IBLF 914) e *T. asperelloides* (IBLF 908), reduziram significativamente o tombamento das mudas de alface causado por ambos os patógenos, com maior eficácia para *S. minor*. As plantas infectadas e não tratadas apresentaram menor sobrevivência e massa seca, em comparação às plantas testemunhas, não inoculadas, evidenciando o impacto negativo de *S. minor* e *S. sclerotiorum* na germinação e no desenvolvimento inicial das plântulas de alface.

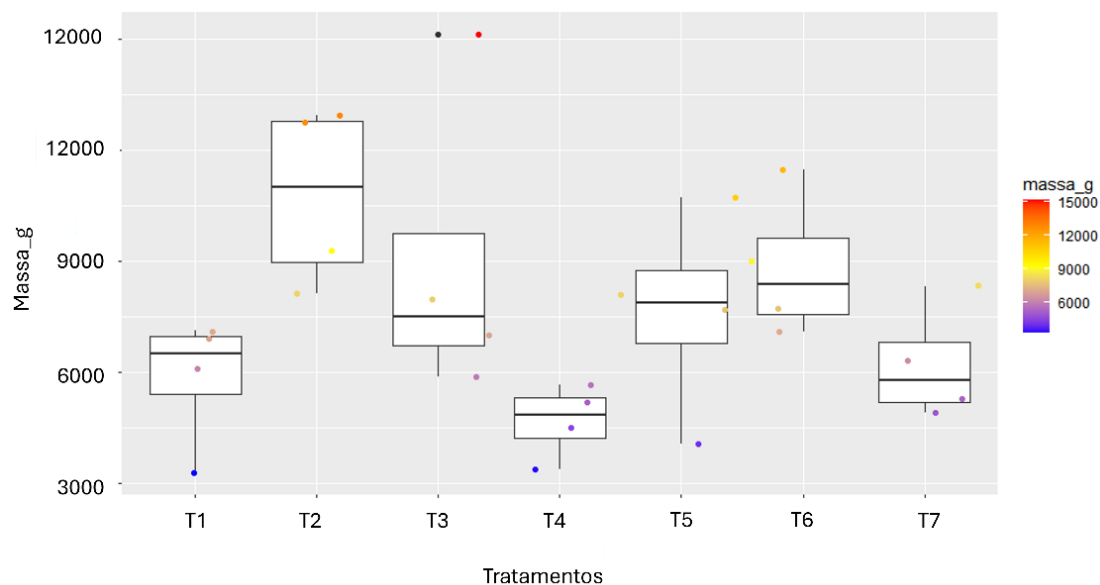
Kamel *et al.* (2020), ao avaliarem a bioeficácia de isolados de *Trichoderma* no controle da podridão-de-raízes e copa causada por *A. rolfsii* em tomateiro (*S. lycopersicum*), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e repolho (*Brassica oleracea* var. capitata.). As plantas tratadas com o fungicida Rhizolex T (Tolclofos methyl + thiram, Basf, Japão) apresentaram menor incidência da doença em todas as culturas testadas, sendo mais eficaz que os tratamentos biológicos. No entanto, *T. koningii*, *T. viride* e *T. harzianum* apresentaram o maior efeito antagônico, com severidade da doença registrando 19,06%, 19,69% e 21,5%, respectivamente, demonstrando diferenças estatisticamente significativas aos demais tratamentos. As plantas tratadas com *T. asperellum* e *T. hamatum* apresentaram as maiores severidades da doença, entre os tratamentos com *Trichoderma*, com médias de 28,91% e 28,64%, respectivamente. As plantas testemunhas inoculadas e não tratadas em comparação ao controle inoculado e não tratadas, apresentaram severidade de 91,44%.

Os tratamentos com *Trichoderma* spp. e com o fungicida Orkestra proporcionaram um aumento significativo na produção de frutos e no número de frutos por parcela (tabela 3), em comparação à testemunha sem tratamento. O isolado Inpa 2957 destacou-se como o mais eficiente. Nos tomateiros tratados com este isolado, foram registradas as maiores produções de frutos (359,28 g.m²) (Figura 3) e o maior número de frutos (7,63 m²), seguido de Orkestra (produções de frutos 294,45 g.m² número de frutos 6,80 m²). A produtividade ainda está abaixo da média nacional e também inferior às produtividades possíveis na região amazônica, mesmo com as limitações locais. Porém, a baixa produtividade observada pode ser justificada pelo formato experimental, que envolveu parcelas pequenas, inoculação do patógeno *A. rolfsii* e ausência de práticas intensivas de cultivo, como adubação e irrigação em escala comercial. Além disso, as condições edafoclimáticas da região amazônica, como alta umidade, temperatura elevada e solos pobres, podem ter limitado o desenvolvimento das plantas.

As plantas tratadas com Inpa 2959 e Orkestra também demonstraram alta produção (299,93 g.m² e 294,45 g.m² por parcela, respectivamente). As produtividades alcançadas com os tratamentos Inpa 2959 e Orkestra são inferiores tanto à média nacional, onde a produtividade média de tomate no Brasil é de cerca de 62 t/ha, podendo atingir até 140 t/ha em sistemas de cultivo protegido com alta tecnologia. Portanto, os valores obtidos com os tratamentos mencionados são significativamente inferiores à média nacional e às produtividades obtidas em sistemas de cultivo adaptados à região amazônica. Para melhorar esses resultados confirmando a eficácia desse isolado e do fungicida na promoção de crescimento e na proteção contra a doença. O desempenho do Tricho-Turbo, também foi positivo, evidenciando que biocontroladores podem ser alternativas viáveis ao controle químico.

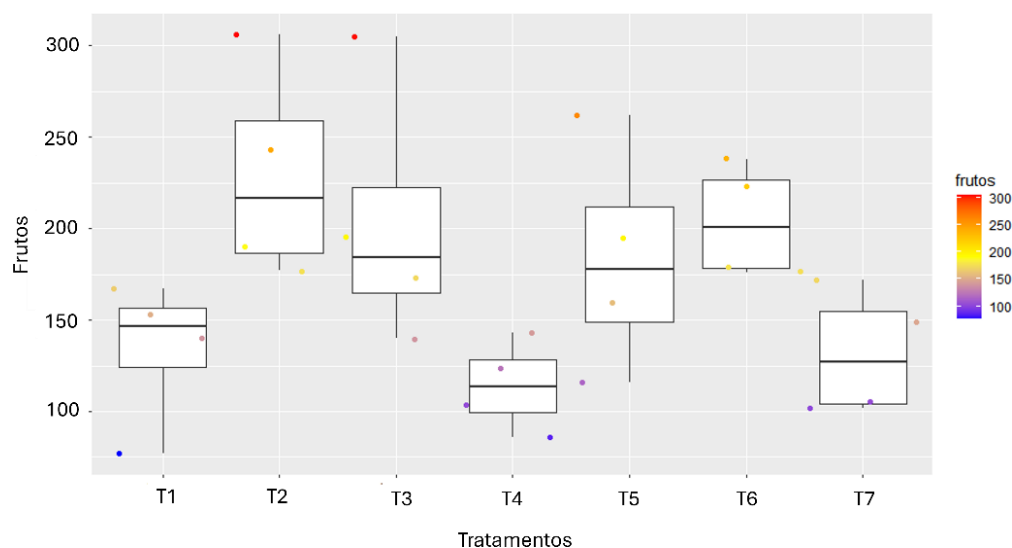
Por outro lado, as plantas tratadas com os isolados Inpa 2475 e Inpa 2951 apresentaram menor produção, não diferindo das plantas testemunha, sem tratamento, em relação ao número de frutos. A alta severidade da doença e a baixa produção das plantas do tratamento testemunha reforça o impacto negativo da infecção por *A. rolfsii* em tomateiro e destaca a importância do uso de agentes biológicos e químicos para mitigar seus efeitos e melhorar a produtividade.

Figura 3: Distribuição da produção média de frutos de tomates produzidos por plantas cultivadas em área infestada com *Agroathelia rolfsii* tratadas com isolados de *Trichoderma* spp.



T1 - Inpa 2951; T2 - Inpa 2957; T3 - Inpa 2959; T4 - Inpa 2475); biofungicida à base de *Trichoderma* (T5 - Tricho-turbo), fungicida (T6 - Orkestra®); e uma testemunha sem tratamento (T7- ausência de isolados fúngicos ou fungicida)

Figura 4: Produção de tomates em plantas cultivadas em solo infestado com *Agroathelia rolfsii* e tratadas com isolados de *Trichoderma* spp.



T1 - Inpa 2951; T2 - Inpa 2957; T3 - Inpa 2959; T4 - Inpa 2475); biofungicida à base de *Trichoderma* (T5 - Tricho-turbo), fungicida (T6 - Orkestra®); e uma testemunha sem tratamento (T7- ausência de isolados fúngicos ou fungicida)

Sorpreso e Amaral (2024) observaram um incremento de 90% na massa dos frutos nas plantas tratadas com *Trichoderma harzianum*, em relação às plantas testemunha.

Khan *et al.* (2017) avaliaram a aplicação de *Trichoderma* em tomate e concluíram que a produtividade de frutos aumentou de 3 a 11%. Segundo Romero *et al.* (2021), os benefícios do fungo no campo são amplamente reconhecidos, com relatos de aumento na produtividade de diversas culturas em até 300% devido ao uso de *Trichoderma*.

A aplicação de *Trichoderma* favorece a absorção de nutrientes pelas plantas, além de estimular a produção de hormônios de crescimento. Esses efeitos resultam em plantas mais vigorosas e produtivas, refletindo diretamente no aumento do rendimento das culturas (Singh *et al.*, 2021). Estudos conduzidos por Inciarte *et al.* (2019) demonstraram que plantas de tomate tratadas com *T. spirale* e *T. virens* apresentaram um número significativamente maior de frutos colhidos sob condições de inverno. Esse efeito positivo pode ser atribuído à ação sinérgica de *Trichoderma spp.*, que inclui mecanismos como competição por espaço e nutrientes, produção de enzimas líticas e antibiose contra fitopatógenos.

5.2. Avaliação de isolados de *Trichoderma spp.* na promoção de crescimento em tomateiros

Não se observou promoção de crescimento nas plantas tratadas com os isolados de *Trichoderma spp.* em relação às variáveis avaliadas (Tabela 4). A ausência de efeito significativo pode ser atribuída a diversos fatores, como a adaptação dos isolados ao ambiente experimental e o método de aplicação, que podem não ter sido ideais para expressar o potencial do microrganismo. Além disso, é possível que os isolados utilizados sejam ineficientes na promoção de crescimento, por não apresentarem mecanismos fisiológicos e bioquímicos associados a esse efeito suficientemente ativos, como a produção de

fitohormônios ou a solubilização, capazes de gerar diferenças estatísticas nas variáveis analisadas.

Embora o fungo *Trichoderma* seja amplamente reconhecido por promover o crescimento de diversas culturas, incluindo o tomateiro, alguns estudos indicam que o estímulo a promoção de crescimento nem sempre ocorre. Por exemplo, Ozbay e Newman (2004) observaram que os isolados T22 e T95 de *T. harzianum* não auxiliaram na emergência do tomateiro, embora tenham aumentado o crescimento das plântulas. Para Machado *et al.* (2015), os mecanismos de ação dos fungos promotores do crescimento vegetal são específicos e podem variar conforme o substrato, disponibilidade de nutrientes e interferência de outros microrganismos, de forma que o crescimento vegetal por bioagentes depende das propriedades e mecanismos de ação do organismo.

Tendência semelhante foi constatada por Gava e Menezes (2012), que avaliaram a competência rizosfera e a eficiência de controle de doenças de quatro isolados de *Trichoderma* e observaram que os isolados avaliados não apresentaram interferência significativa no desenvolvimento das mudas de meloeiro amarelo (*Cucumis melo* L.), quando comparados ao controle. Do mesmo modo Resende *et al* (2004) avaliaram o efeito de *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento de milho (*Zea mays* L.), quando incorporado às sementes tratadas com diferentes fungicidas. No ensaio, variáveis como altura da planta, matéria seca da parte aérea e matéria seca de raiz não tiveram variação significativa quando tratadas com isolados de *Trichoderma*, sugerindo que a interação com os fungicidas ou as condições ambientais possam ter influenciado a eficácia do fungo.

Isolados nativos, adaptados às condições edafoclimáticas locais, podem potencializar a eficiência desses antagonistas. A ampla distribuição do fungo *Trichoderma* em diferentes tipos de solo torna possível a obtenção de isolados nativos (Fernandes *et al.*, 2024).

Ao contrário do estudo realizado por Luciano *et al.* (2023), os quais constataram que *T. harzianum* apresentou eficiência como promotor de crescimento de mudas clonais de eucalipto (*Eucalyptus urograndis* S.T. Blake) em condições de viveiro, sendo bastante eficaz no aumento do comprimento da raiz, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz aos 30 e 60 dias após o plantio e a inoculação de *B. subtilis* Bs08, *B. subtilis* Bs10 e *T. harzianum* UFT-25 ao substrato, o que proporcionou efeito positivo no acúmulo de biomassa de mudas, evidenciando estes microrganismos como promissores na promoção de crescimento dessa espécie.

Ethur *et al.* (2008) verificaram a ação de isolados de *Trichoderma harzianum* no desenvolvimento e na proteção de mudas contra a fusariose em tomateiro. Foi utilizado tratamento de sementes com três isolados e um mix de *T. harzianum*, para avaliar germinação, emergência e desenvolvimento de mudas. Para o controle da fusariose (*Fusarium* spp.) foram utilizadas duas formas de aplicação dos agentes biocontrole, via semente infestação do substrato. O tratamento testemunha diferiu significativamente dos tratamentos com isolados e mix de *T. harzianum*, apresentando maior percentual de plântulas anormais e com menor desenvolvimento da radícula. As plantas tratadas com o isolado ETSR20 tiveram destaque por apresentarem menor comprimento de raiz em relação aos demais, enquanto as tratadas com os isolados ETSR8 e ETSR20 registraram os menores estandes de plântulas. Quanto à emergência e ao desenvolvimento inicial das mudas de tomateiro, não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos, sugerindo que os isolados de *T. harzianum* não influenciaram o vigor inicial das plântulas.

Bortolin *et al.* (2018) observaram um expressivo decréscimo no desenvolvimento das plantas de *Paspalum regnellii* Mez. com doses de conídios viáveis superiores a 30×10^9 , sendo estatisticamente semelhantes aos obtidos no tratamento em que não houve a aplicação do agente biológico. Este comportamento em altas concentrações podem estar ligado a um processo conhecido por autoinibição, que ocorre quando um alto número de propágulos é aplicado tanto no solo como no tratamento de sementes. Segundo os autores, esta condição tende a ocasionar uma elevada competição e a consequente

inibição da germinação dos próprios conídios do bioagente, reduzindo consideravelmente sua capacidade como promotor de crescimento.

Souza Pedro *et al.* (2012) avaliaram a capacidade de *Trichoderma* spp. em promover o crescimento de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e reduzir a severidade da antracnose do feijoeiro, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magn). Esses autores observaram aumentos na matéria seca da parte aérea superiores a 30%, e percentagens de proteção contra antracnose entre 77,60 e 97,54%.

Tabela 4: Variáveis de desenvolvimento de tomateiros tratados com isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	Frutos	Rendimento do tomate	MSPA	MSR	MFPA	RFM	MFR	DC	CR	Altura
	(m ²)	- (g.m ⁻²)-	-----	(g)-----	-----	-----	-----	cm-----	cm ³	m
Inpa 2961 ⁸	32,8a	990,3a	72.34a	4.80a	391.00a	22.50a	15.08a	8.64a	9.50a	1.45a
Inpa 2473 ⁷	29a	834,4a	75.36a	5.63a	424.17a	34.67a	15.50a	8.97a	10.50a	1.37a
Trichoturbo ¹	27,2a	914,82a	62.04a	4.74a	330.33a	21.83a	15.08a	8.77a	10.92a	1.39a
Inpa 2475 ⁶	26,7a	844,2a	56.12a	4.75a	312.50a	26.33a	14.33a	8.21a	9.75a	1.33a
Inpa 2951 ³	26,6a	775,8a	79.17a	4.73a	394.67a	25.67a	14.83a	8.64a	11.50a	1.41a
Sem tratamento ²	26,6a	866,2a	51.72a	4.54a	290.17a	21.67a	14.67a	7.56a	10.08a	1.34a
Inpa 2959 ⁵	22,4a	698,8a	60.03a	4.04a	327.33a	22.83a	13.42a	8.19a	8.83a	1.33a
Inpa 2957 ⁴	18,8 a	659,6a	57.81a	4.90a	350.83a	31.83a	14.92a	7.68a	10.33a	1.31a
CV	22%	25%	28%	27%	27%	27%	11%	7%	30%	5%

MSPA – Massa seca da parte aérea, MSR – Massa seca da raiz, MFPA – Massa fresca da parte aérea; MFR – Massa fresca da raiz, CR – Comprimento da raiz DC – Diâmetro do caule. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Efeito significativo ($p < 0,01$). ¹ Tricho-Turbo: fungicida microbiológico constituído de conídios vivos de *Trichoderma asperellum* BV-10 (Vittia). ²Sem tratamento: sem controle da doença. ³Inpa2951 (*Trichoderma asperelloides*); ⁴Inpa2957 (*Trichoderma rugulosum*); ⁵Inpa2959 (*Trichoderma asperellum*); ⁶Inpa2475 (*Trichoderma agriamazonicum*); ⁷Inpa 2473 (*Trichoderma endophyticum*); ⁸Inpa 2961 (*Trichoderma asperellum*).

5.3 Isolamento de *Trichoderma* spp. do solo

A partir de diluição seriada de amostra de solo rizosférico de tomateiro, foi possível observar o crescimento de diversos microrganismos em diferentes diluições testadas. No entanto, no tratamento com o isolado Inpa 2473, verificou-se o crescimento de *Trichoderma* na concentração de diluição de 10^{-3} conídios mL^{-1} . A identificação do fungo foi realizada com base em suas características morfológicas distintivas, como a coloração das colônias. Embora os resultados sugiram que as colônias são provenientes dos isolados na infestação do solo, análises complementares, como identificação molecular, serão necessárias para confirmar a espécie do isolado e diferenciar o fungo inoculado das populações nativas presentes no solo. É possível que este isolado tenha se adaptado melhor às condições do experimento, como temperatura, umidade e características do solo, favorecendo o desenvolvimento de *Trichoderma* spp. Esse gênero fúngico atua no solo por diversos mecanismos, incluindo a competição por nichos ecológicos.

Em estudo desenvolvido por Barbosa (2024), onde se avaliou o desenvolvimento de *Trichoderma asperellum* e *T. harzianum* em solos de seis áreas produtoras de sisal (*Agave sisalana*) do semiárido da Bahia, utilizando o método de diluição seriada. Constatou que não houve diferenças significativas nos tratamentos quanto a população do fungo. As características físico-químicas das amostras de solo não apresentaram correlação significativa com o número de unidades formadoras de colônias de ambos os isolados de *Trichoderma*, ou seja, as características desses solos não interferiram na sobrevivência dos isolados. Além disso, a população dos fungos aumentou ao longo dos 36 dias em todos os solos, indicando que, mesmo com a microbiota nativa interferindo no desenvolvimento do *T. harzianum* e *T. asperellum*, ambos apresentaram potencial de sobrevivência nos solos da região sisaleira do semiárido da Bahia.

Barbosa *et al.* (2021) avaliaram o isolamento de espécies nativas de *Trichoderma* de amostra de solo do estado de Mato Grosso do Sul e o potencial antagonista dos isolados a *Colletotrichum musae*. Apesar de todos os isolados avaliados apresentaram potencial antagônico sobre *C. musae*. O isolado

Amambai AB 101 apresentou 95,6% de ocupação da placa de Petri. No teste de produção de metabólitos voláteis, todos os isolados de *Trichoderma* inibiram o crescimento de *C. musae* sendo que os isolados de *Trichoderma* B 201 e PP203 foram os que exibiram maior ação antifúngica contra o patógeno, apresentando valores de inibição do crescimento micelial de 74% e 65%, respectivamente.

5.4 Avaliação da inibição do crescimento micelial de *Agroathelia rolfsii* por *Trichoderma* spp.

O crescimento micelial de *Agroathelia rolfsii* em cultura pareada variou significativamente entre os tratamentos (Tabela 5). O isolado Inpa 2957 inibiu o crescimento micelial de *A. rolfsii* em 89 %, seguido pelos isolados Inpa 2959 (85%) e Inpa 2961 (66%). O potencial competitivo desses isolados contra *A. rolfsii*, possivelmente devido à rápida ocupação do nicho e micoparasitismo. Em condições de campo, o isolado Inpa 2957 também se destacou no controle da podridão-de-esclerócio em tomateiros, apresentando os melhores resultados entre os tratamentos avaliados. A consistência entre os ensaios *in vitro* e em campo reforça sua eficácia como agente de biocontrole promissor, com potencial aplicação no manejo integrado de doenças em sistemas tropicais.

A inibição de *A. rolfsii* por meio da produção de metabólitos voláteis também variou significativamente entre os isolados (Figura 6). O Inpa 2961 se destacou com a maior taxa de inibição (91%), indicando uma forte capacidade de interferência química à distância no crescimento do patógeno. Esse efeito pode estar relacionado à liberação de compostos voláteis antifúngicos, como 6-pentil- α -pirona, frequentemente associados à ação biocontroladora de *Trichoderma* spp. No entanto, esse desempenho *in vitro* não se refletiu de forma equivalente em campo, onde o isolado não promoveu controle estatisticamente significativo da doença, em comparação com o tratamento testemunha. Essa divergência entre os ensaios laboratoriais e os resultados em condições de campo pode ser atribuída a fatores ambientais, à interação com a microbiota nativa do solo, à persistência do isolado e à eficácia do método de aplicação. Ainda assim, os testes *in vitro* são fundamentais como etapa preliminar, pois permitem triagens eficientes e padronizadas para identificar isolados com potencial, que posteriormente devem ser validados em experimentos de campo

para confirmar sua eficácia prática. Outros isolados, como Inpa 2957 (81%) e Inpa 2473 (90%), também demonstraram alta eficácia, reforçando a importância dos metabólitos voláteis como mecanismo de supressão do fitopatógeno.

Quanto aos metabólitos não voláteis (Figura 7), o isolado Inpa 2475 apresentou a maior taxa de inibição (58%) do crescimento micelial de *A. rolfsii*, seguido pelo Inpa 2961 (31%). Esses isolados podem produzir compostos antifúngicos solúveis em meio de cultura, como quitinases e glucanases, que degradam a parede celular do patógeno.

A termoestabilidade do extrato bruto (Figura 8) foi mais evidente no isolado Inpa 2475 (19%), seguido pelo Inpa 2957 (14%). Alguns compostos bioativos secretados por esses isolados permanecem ativos mesmo após exposição a temperaturas elevadas, o que pode ser vantajoso para formulações comerciais de biofungicidas.

No geral, os resultados confirmam que diferentes isolados de *Trichoderma* spp. utilizam distintos mecanismos de biocontrole contra *A. rolfsii*, combinando competição por espaço e nutrientes, além da produção de metabólitos voláteis e não voláteis. A eficácia de inibição desses isolados reforça o potencial de seu uso como agentes de biocontrole em programas de manejo integrado de doenças em culturas agrícolas.

Tabela 5: Percentual de inibição do crescimento micelial de *Agroathelia rolfsii* spp. por isolados de *Trichoderma* spp. por ação de competição, metabólitos voláteis, metabólitos não voláteis e por extratos submetidos a tratamento térmico

Tratamentos	Cultura Pareada (%)	Metabólitos Voláteis (%)	Metabólitos Não Voláteis (%)	Termoestabilidade do filtrado (%)
Testemunha ¹	0 d	0 c	0 d	0 b
Inpa 2957 ²	89 a	81 a	14 c	14 a
Inpa 2959 ³	85 c	70 b	17 c	7 b
Inpa 2961 ⁴	66 c	91 a	31 b	3 b
Inpa 2951 ⁵	66 c	15 b	7 c	1 b
Inpa 2475 ⁶	65 b	65 b	58 a	19 a
Inpa 2473 ⁷	52 b	90 a	12 c	12 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Efeito significativo ($p < 0,01$). ¹Testemunha: ausência do extrato fúngico. ²Inpa2957 (*Trichoderma rugulosum*); ³Inpa2959 (*Trichoderma asperellum*); ⁴Inpa 2961 (*Trichoderma asperellum*); ⁵Inpa2951 (*Trichoderma asperelloides*); ⁶Inpa2475 (*Trichoderma agriamazonicum*); ⁷Inpa 2473 (*Trichoderma endophyticum*).

Montalvão *et al.* (2023) avaliaram a eficiência de fungos do gênero *Trichoderma* na inibição do crescimento *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary, agente causal do mofo branco, e *Agroathelia rolfsii*. Nos testes de cultivo pareado, os isolados CEN281 e CEN287, ambos pertencentes à espécie *T. afroharzianum*, destacaram-se pela alta capacidade de inibição dos patógenos. Além disso, seis isolados inibiram *A. rolfsii*, incluindo CEN1075 (*T. asperellum*), isolado originalmente da rizosfera do tomateiro. No que se refere à produção de metabólitos não voláteis, 11 isolados, majoritariamente provenientes de amostras de solo rizosférico de tomateiros, apresentaram atividade antagonista contra ambos os patógenos. Os efeitos desses metabólitos incluíram a redução do crescimento micelial, tornando as colônias menos densas e apresentando deformações estruturais e como resultado da competição, houve emaranhamento e deformação de hifas.

Segundo estes autores, na avaliação do controle do tombamento de mudas de tomateiro causado por *A. rolfsii*, os isolados CEN281 e CEN126 (*Trichoderma* sp.) foram os mais eficientes na supressão da doença, ambos oriundos da rizosfera do tomateiro. Entre os isolados testados, CEN281, CEN1070 (*Trichoderma* sp.) e CEN1080 (*Trichoderma* sp.) apresentaram os melhores resultados na redução da incidência do tombamento.

Diversos autores destacam a produção de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) por *Trichoderma atroviride* (P. Karst.), sendo a acetoína, o 2-metil-1-propanol, o 3-metil-1-butanol e a 6-pentil-2-pirona os mais abundantes quando esse fungo é confrontado com *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, em tubérculos de batata na pós-colheita. A análise por microscopia eletrônica das hifas tratadas com esses compostos revelou danos significativos na morfologia e na ultraestrutura do patógeno, incluindo deformação celular, colapso e degradação de organelas citoplasmáticas (Elsherbiny *et al.*, 2020). A produção de metabólitos secundários por *Trichoderma* é amplamente documentada, com a identificação de diversas classes de compostos, incluindo pironas (lactonas), ácidos, furanos, lipídios, álcoois e ésteres. Em estudos com *T. koningiopsis* (Samuels, C. Suárez & H.C. Evans) VM115, a 6-n-pentil-6H-piran-2-ona (6PP) destacou-se como um dos metabólitos mais abundantes, evidenciando o potencial desse fungo como agente de biocontrole (Leylaie & Zafari, 2018).

Grimes *et al.* (2023) investigaram o potencial de quatro isolados de *Trichoderma* spp. no controle de diversos fungos fitopatogênicos de relevância florestal, incluindo *A. rolfsii*, por meio do pareamento de cultura. Observou-se diferença significativa no crescimento micelial, em todos os tratamentos, em comparação ao controle. No entanto, para *A. rolfsii*, apenas um isolado apresentou efeito inibitório, reduzindo o crescimento micelial em 27,9%.

Fernandes *et al.* (2024), ao avaliarem quatro isolados de *Trichoderma* provenientes de solos de Aquidauana-MS, observaram que, em cultivo pareado, o isolado T214.2 apresentou 70% de inibição do crescimento de *Agrothelia rolfsii*. No teste de metabólitos voláteis, esse mesmo isolado demonstrou uma inibição de 20% no crescimento do fitopatógeno.

A atividade micoparasitária do gênero *Trichoderma* envolve enzimas, sinalização e produção de metabólitos e foram associadas à supressão de doenças de plantas. Além da atividade micoparasitária, *T. agriamazonicum* também inibiu o crescimento micelial de fitopatógenos por meio de sua produção de Compostos Orgânicos Voláteis (Sousa *et al.*, 2023).

Figura 5: Aspecto de colônias de *Agrothelia rolfsii* cultivadas em meio BDA, sob a ação de cultura pareada de isolados de *Trichoderma* spp. identificados acima da imagem de cada placa de Petri. Testemunha = colônia de *Agrothelia rolfsii* (5A); Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Agrothelia rolfsii* por isolados de *Trichoderma* spp. em ensaio de cultivo pareado *in vitro* (5B).

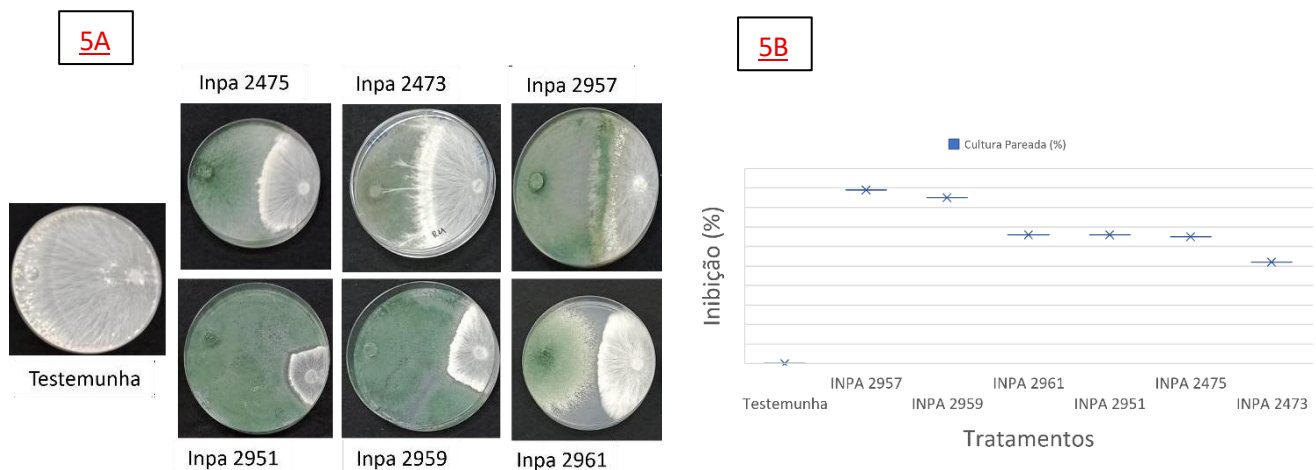


Figura 5: Aspecto de colônias de *Agroathelia rolfsii* cultivadas em meio BDA, sob a ação de metabólitos voláteis de isolados de *Trichoderma* spp. identificados acima da imagem de cada placa de Petri. Testemunha = colônia de *Agroathelia rolfsii* (6A); Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Agroathelia rolfsii* por metabólitos voláteis produzidos por isolados de *Trichoderma* spp. (6B).

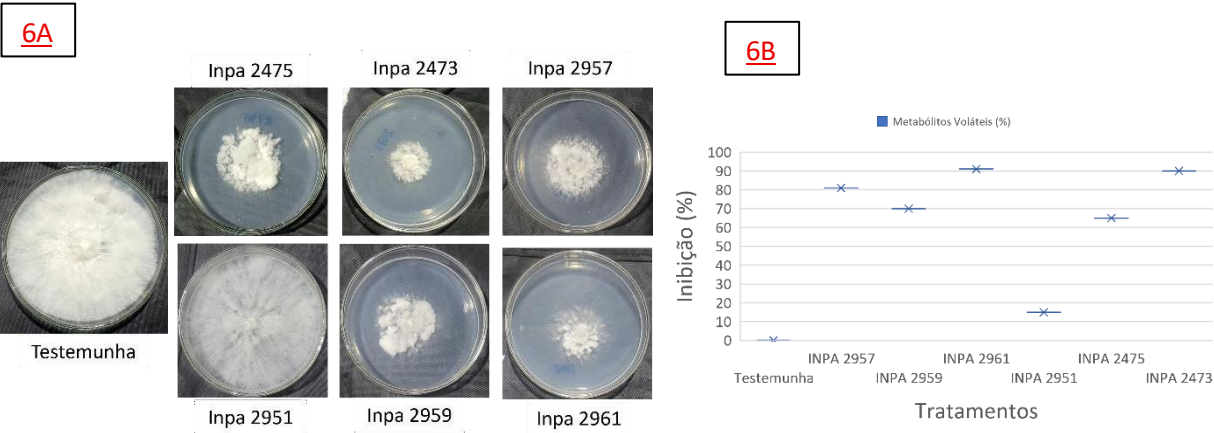


Figura 7: Aspecto de colônias de *Agroathelia rolfsii* cultivadas em meio BDA, sob a ação de metabólitos não voláteis de isolados de *Trichoderma* spp. identificados acima da imagem de cada placa de Petri. Testemunha = colônia de *Agroathelia rolfsii* (7A); Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Agroathelia rolfsii* por metabólitos não voláteis de isolados de *Trichoderma* spp. (7B).

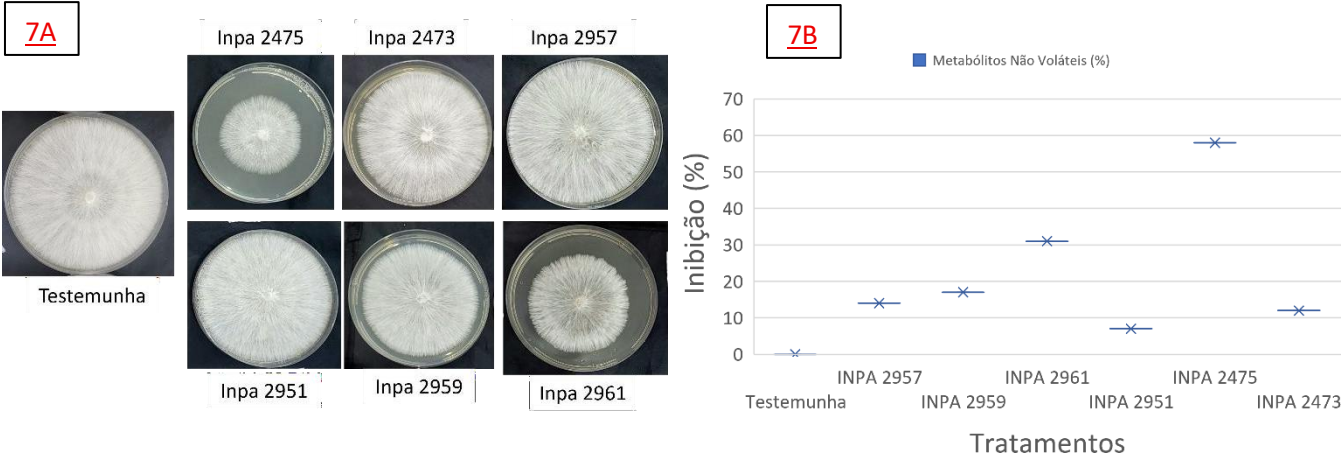
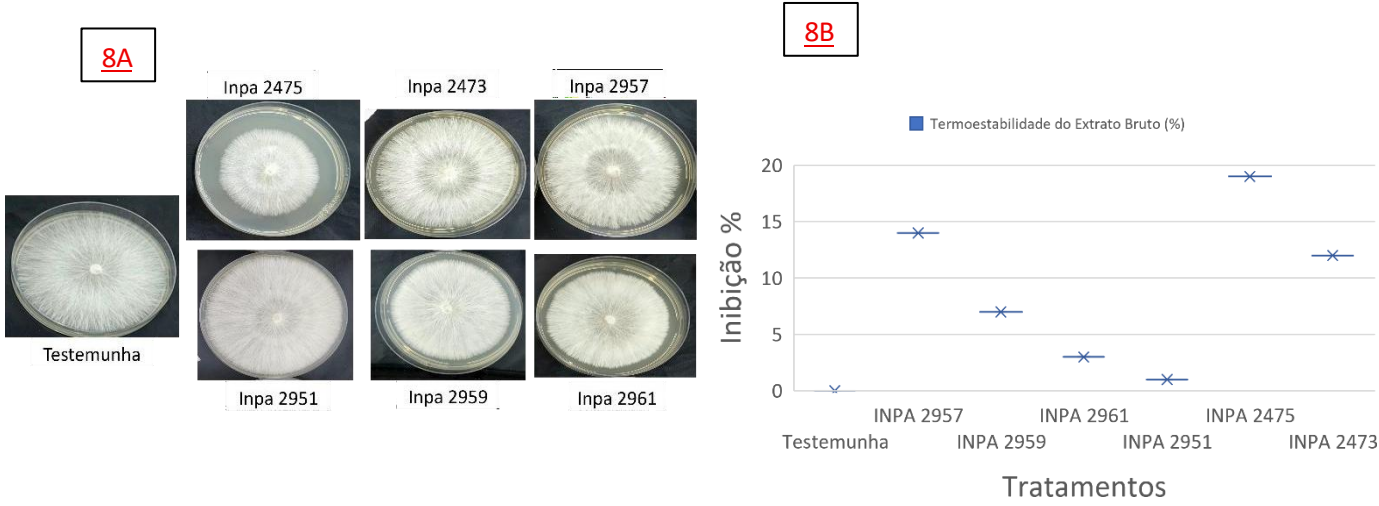


Figura 6: Aspecto das colônias de *Agroathelia rolfsii* cultivadas em meio BDA acrescido de extrato bruto de *Trichoderma* spp. submetidos a aquecimento térmico (8A); Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Agroathelia rolfsii* após tratamento térmico do extrato bruto de isolados de *Trichoderma* spp., indicando a termoestabilidade dos compostos antimicrobianos (8B).



5.5 Ensaio de atividade quantitativa de enzimas hidrolíticas

Os teores de proteínas totais e a atividade das enzimas quitinase, glucanase e peroxidase nos diferentes tratamentos estão apresentados na Tabela 6. O teor de proteínas totais apresentou alteração significativa em relação ao controle, com valores variando entre 242,80 µg/mL (Inpa 2951) e 341,47 µg/mL, onde o tratamento sem controle apresentou o maior valor (341,47 µg/mL), diferindo estatisticamente dos demais.

Para as enzimas quitinase, glucanase e peroxidase, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos, com todos apresentando atividades enzimáticas próximas a 0,01 U/mL, exceto os tratamentos com os isolados Inpa 2475 e Inpa 2959, que apresentaram 0,00 U/mL de peroxidase. A ausência de diferenças significativas na atividade dessas enzimas sugere que os isolados de *Trichoderma* testados e o fungicida Orkestra não induziram resposta enzimática mensurável sob as condições experimentais adotadas. A indução de resistência em plantas por *Trichoderma* pode variar dependendo do isolado, da dose utilizada e das condições ambientais (Medeiros *et al.*, 2019). A ausência de aumento na atividade enzimática pode estar relacionada à especificidade das interações planta-microrganismo e ao tempo de avaliação.

De acordo com Oliveira *et al.* (2012), a produção dessas enzimas pode ocorrer de forma transitória, especialmente nas primeiras 48 a 72 horas após o estímulo. Além disso, é possível que os isolados de *Trichoderma* utilizados atuem por outros mecanismos de indução de resistência, como a produção de compostos secundários, sideróforos, ou ativação de vias hormonais como ácido jasmônico e etileno, não necessariamente refletidos na atividade dessas enzimas específicas (Benítez *et al.* 2004).

Dessa forma, os dados obtidos sugerem que, sob as condições e no tempo analisado, os isolados testados não promoveram incremento na atividade das enzimas clássicas de defesa em tomateiros (figura 9), embora tenham afetado significativamente o conteúdo de proteínas totais (Figura 10). Estudos adicionais são recomendados para investigar a dinâmica temporal dessas enzimas, bem como a expressão gênica relacionada à defesa vegetal.

A baixa atividade de quitinase e glucanase pode indicar que não houve ativação da degradação da parede celular de patógenos, um dos mecanismos frequentemente associados à biocontrole por *Trichoderma* (Lutz *et al.*, 2003). Do mesmo modo, a peroxidase, envolvida na resposta de defesa oxidativa das plantas, apresentou incremento nos tratamentos testados, sugerindo que os indutores avaliados desencadearam estresse oxidativo suficiente para promover uma resposta significativa (Romero Puertas *et al.*, 2004). Esses estudos destacam a importância das enzimas produzidas por *Trichoderma* no incremento da produção agrícola, seja pelo controle de patógenos ou pela promoção do crescimento das plantas. Rodrigues (2023), ao avaliar a produção de enzimas por isolados de *Trichoderma*, identificou um aumento da atividade da peroxidase na presença dos tratamentos com *Trichoderma*, sendo o isolado TQ superior aos demais, com incremento de 109% em comparação ao controle (0,11 U abs min⁻¹ mg WF). Além disso, houve um incremento de produção em plantas de soja (*G. max*), onde todos os tratamentos com *Trichoderma* spp. elevaram o peso total de grãos por vaso, e revelaram um aumento entre 46 e 60% de incremento de produtividade quando comparado ao controle (16 g).

Estudos realizados por Silva *et al.* (2011), foram avaliados dezenove isolados e o Trichodermil e observaram que promoveram o crescimento de pepineiro em até 100% e conferiram proteção à antracnose em até 88,39%. O isolado IB 31/06 apresentou melhor desempenho quanto à redução dos sintomas de antracnose, em aplicações aos 3, 7 ou 14 dias antes da inoculação do patógeno. Não foi observado aumento significativo de peroxidase, sete dias após o tratamento com IB 31/06, nas plantas tratadas e infectadas com o patógeno, em comparação às plantas infectadas. Apenas as plantas infectadas com *Colletotrichum lagenarium*, previamente tratadas ou não com IB 31/06, apresentaram aumento significativo da atividade enzimática.

A adição de quitina, laminarina ou parede celular de *Phytophthora* spp. ao meio de cultivo induz o aumento da atividade enzimática de quitinase e glucanase em *Trichoderma* spp. Além da quitina, a parede celular dos fungos é composta por β -glucanos, que atuam como componentes estruturais essenciais, contribuindo para a rigidez e integridade da célula. A atividade da enzima β -1,3-glucanase foi intensificada quando *Trichoderma harzianum* foi cultivado na

presença do fungo fitopatogênico *Pythium ultimum*, indicando que a interação com microrganismos antagonistas pode estimular a produção de enzimas hidrolíticas. *Trichoderma* spp., além de produzir quitinases, é reconhecido por sua capacidade de sintetizar glucanases, enzimas que hidrolisam ligações β -1,3-glucano, presentes na parede celular de diversos fungos e bactérias. Há uma correlação significativa entre a concentração de parede celular adicionada ao meio e a atividade da quitinase produzida. Prasetyawan *et al.* (2018) observaram que a adição de 1% de parede celular de *Phytophthora* ao meio resultou em um aumento de $3,2 \times 10^{-2}$ unidades na atividade de quitinase em comparação ao controle, evidenciando o papel indutor desses componentes na expressão enzimática.

Tabela 6: Produção de proteínas totais e enzimas hidrolíticas por amostras foliares de tomateiros tratados com suspensões de *Trichoderma* spp. e fungicida

Tratamentos	Proteínas Totais ($\mu\text{g/mL}$)	Quitinase (U.mL^{-1})	Glucanase (U. mL^{-1})	Peroxidase (U. mL^{-1})
Sem controle ³	341,47 a	0,01 a	0,01 a	0,01 a
Orkestra ²	292,93 b	0,01 a	0,01 a	0,01 a
Inpa 2475 ⁷	277,20 b	0,01 a	0,01 a	0,00 a
Inpa 2959 ⁶	270,33 b	0,01 a	0,01 a	0,00 a
Tricho-Turbo ¹	264,00 b	0,01 a	0,01 a	0,01 a
Inpa 2957 ⁵	262,27 b	0,01 a	0,01 a	0,01 a
Inpa 2951 ⁴	242,80 b	0,01 a	0,01 a	0,01 a
CV (%)	0.26	0.52	0.52	1.04

Médias nas colunas seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Efeito significativo ($p < 0,01$). ¹ Tricho-Turbo: fungicida microbiológico constituído de conídios vivos de *Trichoderma asperellum* BV-10 (Vittia). ² Orkestra (Piraclostrobina; Fluxapiroxade) -SC Basf: Fungicida químico. ³Sem tratamento: sem controle da doença. ⁴Inpa2951 (*Trichoderma asperelloides*); ⁵Inpa2957 (*Trichoderma rugulosum*); ⁶Inpa2959 (*Trichoderma asperellum*); ⁷Inpa2475 (*Trichoderma agriamazonicum*).

Figura 7: Correlação entre a produção de enzimas peroxidase (A), quitinase (B) e glucanase (C) em tomateiro tratados com *Trichoderma* spp. e o tempo após a inoculação.

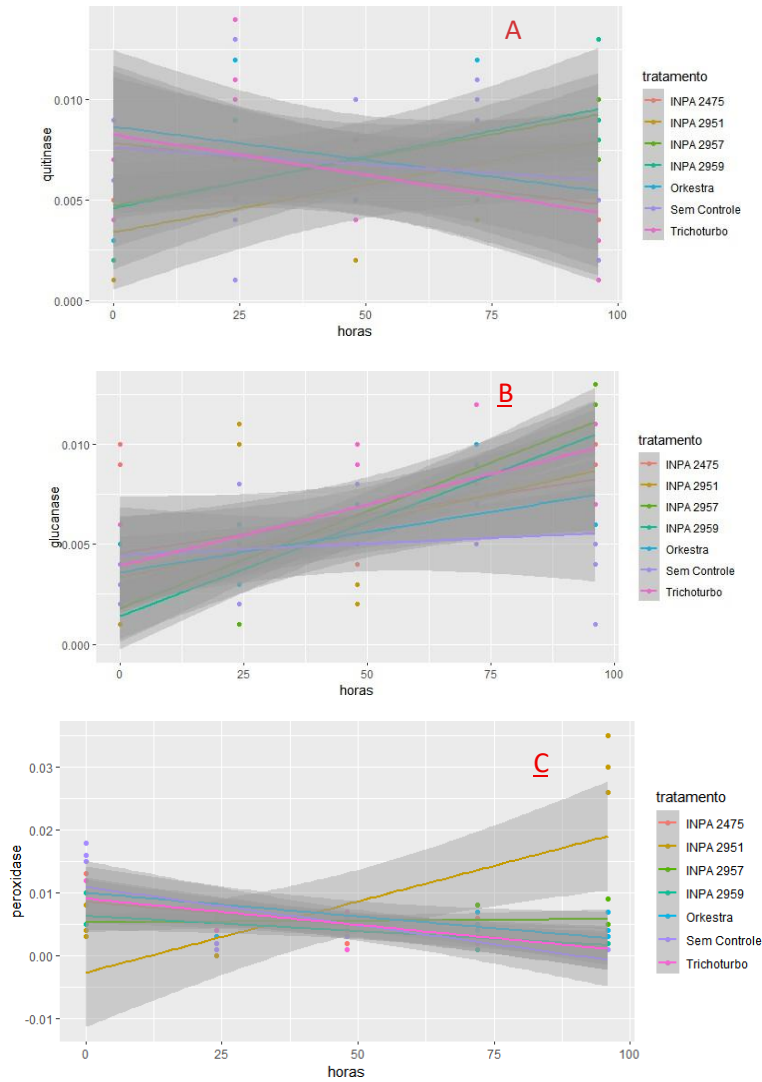
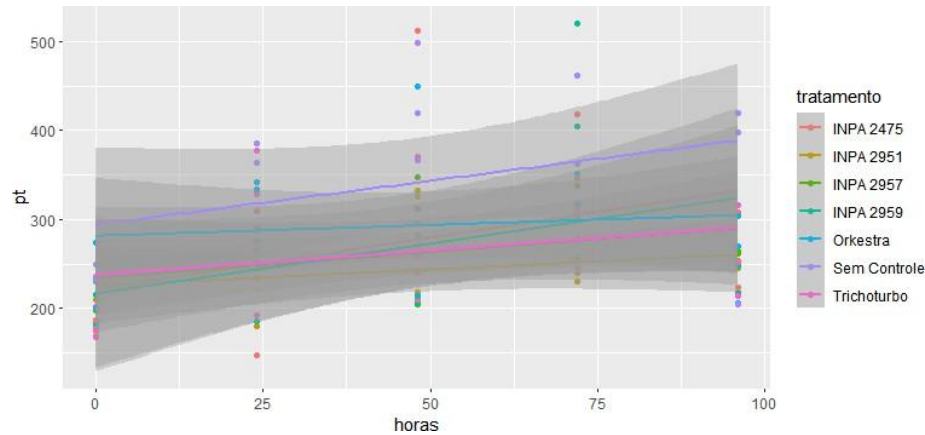


Figura 8: Correlação entre concentração de proteínas totais, em folhas de tomateiros tratados com *Trichoderma* spp., e o tempo após a inoculação.

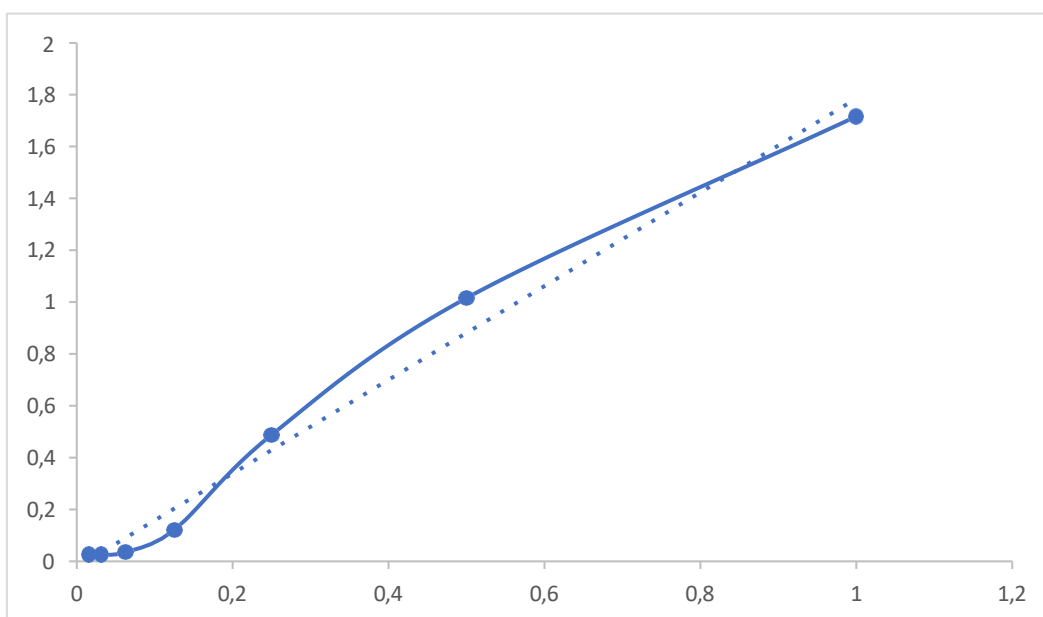


5.6 Análise de traços fisiológicos ligados a mecanismos de promoção do crescimento vegetal

5.6.1 Quantificação de AIA (ácido indol-acético)

A relação entre os analisados foi ajustada a uma equação linear, conforme mostrado na Figura 2. Com um coeficiente de determinação de 0,9857, indicando um excelente ajuste do modelo aos dados experimentais. Esse resultado sugere uma forte correlação entre as variáveis, demonstrando que a tendência dos dados pode ser bem representada por uma relação linear.

Figura 9: Relação entre os valores analisados, ajustada por uma equação linear ($y = 1,8075x - 0,0225$), com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9857$. A linha pontilhada representa a tendência linear dos dados.



A produção de Ácido Indolacético (AIA) pelos isolados de *Trichoderma spp.*, em meio BD suplementados com triptofano, variou significativamente entre os tratamentos (Tabela 8). Os isolados Inpa 2473 e Inpa 2475 apresentaram os maiores valores, com 60,72 µg/mL e 60,53 µg/mL, respectivamente, seguidos pelo Inpa 2951 (59,70 µg/mL), não diferindo estatisticamente entre si. Esses resultados indicam a capacidade desses isolados de sintetizar AIA em meio líquido, sugerindo um potencial para promoção do crescimento vegetal.

Por outro lado, os isolados Inpa 2957, Inpa 2959 e Inpa 2961 apresentaram menor produção de AIA, com destaque para os dois últimos, que exibiram valores abaixo de 10 µg/mL. A testemunha sem tratamento não apresentou detecção de AIA, confirmando que a síntese desse fitormônio foi exclusivamente atribuída aos isolados de *Trichoderma spp.*

Estudos anteriores relatam que a produção de AIA por *Trichoderma* pode variar conforme a espécie e as condições de cultivo, influenciando diretamente a promoção do crescimento vegetal (Oliveira *et al.*, 2012). Dados significativos observados neste estudo para os isolados Inpa 2473, Inpa 2475 e Inpa 2951 reforça seu potencial para aplicação agrícola, principalmente em sistemas que visam o uso de microrganismos benéficos para estimular o desenvolvimento radicular e melhorar a absorção de nutrientes. Podem estar associados à eficiência metabólica desses microrganismos na síntese de compostos relacionados ao AIA, como fitormônios ou intermediários bioativos.

Kumar *et al.* (2017) investigaram a produção de AIA pelo isolado *Trichoderma viride* VKF3 e verificaram que este apresentou uma elevada produção de 115 µg/mL na presença de 0,5% de L-triptofano. A confirmação da produção de AIA foi realizada por cromatografia em camada fina (TLC) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), comparando-se os resultados com um padrão de AIA. Além disso, o isolado demonstrou a capacidade de sintetizar enzimas extracelulares, como celulase e xilanase, e de produzir sideróforos, contribuindo para a melhoria das condições do solo e a disponibilidade de nutrientes.

A promoção do crescimento vegetal pelo fungo *Trichoderma* spp. ocorre por meio de metabólitos secundários liberados na rizosfera, incluindo pequenos peptídeos e outros metabólitos ativos capazes de promover a ramificação radicular e a solubilização dos micronutrientes insolúveis presentes no solo, o que garante uma maior absorção e translocação de minerais escassamente disponíveis, aumentando o desenvolvimento da planta. Ribas *et al.* (2014) avaliaram diversos isolados de *Trichoderma* spp. e verificaram que todos foram capazes de produzir AIA, com concentrações variando entre 11,35 e 52,42 µg/mL, evidenciando seu potencial na promoção do crescimento vegetal. Da mesma forma, Gueye *et al.* (2018) relataram uma produção de AIA de 90 µg/mL em isolados de *Trichoderma*, reforçando a capacidade desse fungo de sintetizar fitormônios benéficos às plantas.

Oliveira *et al.* (2012) avaliaram a capacidade de isolados de *Trichoderma* spp. de solubilizar fosfato e sintetizar AIA *in vitro*, utilizando isolados oriundos do produto Trichoplus JCO Fertilizantes e Bioprodutos e todos os isolados foram capazes de produzir AIA nos meios de cultura testados, independentemente da suplementação com L-triptofano. No entanto, a adição de L-triptofano resultou em valores significativamente maiores de AIA. Após dois dias de avaliação, as maiores médias foram observadas para os isolados Tr-SMa (11,1 µg mL⁻¹), Tr-SMb (13,3 µg mL⁻¹) e Tr-har (9,4 µg mL⁻¹) no meio BD, enquanto o isolado Tr-Euc (18,9 µg mL⁻¹) apresentou os maiores valores no meio FAN (glicose, 20 g; extrato de levedura, 3 g; K₂HPO₄, 0,6 g; MgSO₄, 0,3 g; pH 5,9 – 6,1). Esses resultados reforçam o potencial dos isolados de *Trichoderma* como promotores do crescimento vegetal e síntese de AIA.

O ácido indol-acético (AIA) promove o crescimento das raízes e a proliferação de pelos radiculares, o que pode melhorar a absorção de nutrientes e água do solo e, conseqüentemente, melhorar o crescimento da planta (Pinheiro *et al.*, 2024). A interação entre a produção de AIA e sideróforos por isolados de *Trichoderma* exerce um efeito sinérgico positivo sobre o crescimento radicular das plantas. O AIA atua diretamente na indução de raízes laterais e na elongação da raiz principal, enquanto os sideróforos atuam na solubilização e disponibilização de ferro, um micronutriente essencial para processos fisiológicos e bioquímicos nas plantas. Essa associação resulta em maior

absorção de nutrientes, fortalecimento do sistema radicular e, consequentemente, em plantas mais vigorosas e tolerantes a estresses. Além disso, estudos demonstram que sideróforos purificados, especialmente em meio com baixa disponibilidade de ferro, são capazes de aumentar os níveis de AIA nas raízes de *Arabidopsis thaliana* e intensificar seu crescimento. Nesse contexto, o isolado *Trichoderma asperellum* Q1 e seu sideróforo purificado apresentaram os efeitos mais expressivos na promoção do desenvolvimento radicular de *Arabidopsis* (Zhao *et al.*, 2020).

Segundo Chagas Júnior *et al.* (2024), o isolado *Trichoderma asperellum* UFT-21 demonstrou capacidade de produzir ácido indolacético (AIA) em meio BD suplementado com triptofano, com médias variando entre 0,9 e 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A inoculação com esse isolado promoveu ganhos significativos no desenvolvimento de mudas de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong), refletidos especialmente na massa fresca de raiz, com aumento de 2,43 g. As doses mais eficientes de inoculante foram de 10,27 g L^{-1} para a massa seca da raiz, com ganho de 0,65 g de biomassa seca. O índice de qualidade de Dickson também foi positivamente influenciado pela inoculação, com incremento de 35% em comparação à testemunha.

No presente estudo, conforme apresentado na Tabela 7, o ácido indolacético (AIA) pode ter contribuído significativamente para o crescimento radicular ao estimular alterações morfológicas nas raízes, como o aumento do comprimento e a maior formação de pelos radiculares. Essas modificações estruturais ampliam a área de absorção, potencializando a eficiência das plantas na captação de água e nutrientes do solo.

O aminoácido L-triptofano tem sido usado como precursor fisiológico para a biossíntese de auxinas em plantas e microrganismos. Os exsudados radiculares são fontes naturais de L-triptofano para a microbiota do solo, contribuindo para a síntese microbiana de AIA na rizosfera (Oliveira *et al.*, 2012). Estudos conduzidos por França *et al.* (2017), ao avaliarem a concentração de AIA com adição de L-triptofano, permitiram observar que os isolados de *Trichoderma* “F” e “G” apresentaram maior produção de AIA após 48 horas, com 42 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 34 $\mu\text{g L}^{-1}$ de concentração de AIA, respectivamente. Nas amostragens subsequentes de 72, 96 e 144 horas, houve diminuição na concentração de AIA no meio de cultura, chegando a 0 $\mu\text{g L}^{-1}$. A redução na

concentração de AIA após 48 horas em meio de cultura reflete a dinâmica natural desse fitormônio no solo, onde sua produção, absorção e degradação ocorrem de forma semelhante. A biossíntese de AIA é dependente da disponibilidade de triptofano, cuja exsudação pelas raízes influencia diretamente a atividade microbiana na rizosfera. No solo, *Trichoderma* e outros microrganismos produtores de AIA seguem um padrão de pico e declínio, com a maior produção ocorrendo entre 48 e 72 horas, período associado à intensa atividade microbiana. O AIA liberado pode ser rapidamente absorvido pelas raízes e utilizado para estimular o crescimento radicular, reduzindo sua disponibilidade no ambiente. Além disso, as plantas podem modular essa absorção conforme sua demanda, favorecendo o desenvolvimento de raízes laterais e pelos radiculares.

De acordo com Santos (2021), *Trichoderma longibrachiatum* 'LPPC299' promoveu um aumento significativo no crescimento de porta-enxertos de cajueiro-anão (*Anacardium occidentale* L., var. Anão-precoce). No entanto, as linhagens de *Trichoderma* avaliadas não demonstraram capacidade de produzir ácido 3-indolacético (AIA) in vitro, mesmo na presença de seu precursor, o L-triptofano. Esse resultado sugere que há variações metabólicas entre diferentes isolados de *Trichoderma*, influenciando sua capacidade de síntese de fitormônios.

5.6.2 Quantificação de sideróforos

A produção de sideróforos pelos isolados de *Trichoderma spp.* variou entre 55,01 µg/mL e 65,03 µg/mL, sem diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 8). O isolado Inpa 2473 apresentou a maior produção (65,03 µg/mL), seguido pelos isolados Inpa 2475 (59,74 µg/mL), Inpa 2951 (61,12 µg/mL), Inpa 2959 (61,17 µg/mL) e Inpa 2961 (61,23 µg/mL). A testemunha sem tratamento não apresentou produção de sideróforos, confirmando que a síntese dessas moléculas é uma característica específica dos isolados de *Trichoderma spp.*

Os sideróforos, são substâncias que aumentam a disponibilidade de ferro por plantas em ambientes onde esse nutriente é escasso. A presença de sideróforos é crucial para a promoção do crescimento de plantas, especialmente em solos que podem ter disponibilidade limitada de ferro, pois eles atuam na solubilização e mobilização desse micronutriente. Segundo Leylaie & Zafari (2018), *Trichoderma* é um dos principais organismos capazes de sintetizar sideróforos, auxiliando na solubilização e absorção de ferro pelas plantas. O ferro (Fe) é um micronutriente essencial para as plantas, desempenhando funções fundamentais nos processos metabólicos relacionados à fotossíntese, respiração celular, fixação de nitrogênio e ativação enzimática. Embora seja necessário em pequenas quantidades, sua presença é indispensável para o desenvolvimento saudável das plantas (Li *et al.*, 2023).

Ao secretar sideróforos, *Trichoderma* não apenas capta Ferro de forma eficiente, mas também inibe o crescimento de patógenos, competindo com microrganismos patogênicos pelo mesmo recurso, criando um ambiente mais favorável para si e para as plantas com as quais interagem. Diversos estudos têm mostrado que os sideróforos produzidos por *Trichoderma* são altamente eficazes na quelatação de ferro. Ribas *et al.*, (2014) avaliaram a produção de sideróforos por isolados de *Trichoderma* spp. pelo método qualitativo e identificaram a produção do composto por todos os isolados avaliados. Estudos conduzidos por Santos *et al.* (2021), que buscaram avaliar a biossíntese in vitro de sideróforos por *Trichoderma* aplicados em porta-enxertos de cajueiro-anão para promover crescimento, constataram uma produção de sideróforos significativa pelo isolado LPPC299- *Trichoderma longibrachiatum*, que também foi responsável pelo aumento no crescimento do porta-enxerto de cajueiro anão CCP 06, influenciando positivamente nas variáveis biométricas analisadas.

Já em estudos realizados por Vieira *et al.* (2024), os quais objetivaram selecionar *Trichoderma* com potencial para promover o crescimento de mudas de porta-enxertos da cultivar nóz-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch., através das análises de variáveis morfológicas e caracterização bioquímica dos isolados, observaram que a maioria das variáveis analisadas, exceto altura da planta, diâmetro do caule e número de folhas por muda, a inoculação com *Trichoderma* spp. proporcionou os melhores resultados, além disso, os isolados CPACT838 e CPACT852 apresentaram capacidade de produção de sideróforos.

De acordo com Rodrigues (2023), foi realizada a avaliação da produção de sideróforos por quatro isolados de *Trichoderma*, comparados a um isolado comercial de *T. asperellum* URM 5911 (TA). Todos os isolados apresentaram algum nível de produção de sideróforos. O isolado comercial TA destacou-se por apresentar a maior absorbância relativa (Aa/Aref), com valor de 1,01, seguido pelo isolado TF, com 0,82. Os isolados TP e TQ não apresentaram diferença significativa entre si, sendo ambos inferiores, com valores próximos de 0,66. A absorbância relativa foi expressa em absorbância relativa (Aa/Aref) considerando Aa absorbância da amostra dividida pela Aref Absorbância de referência (testemunha)

Tabela 7: Produção *in vitro* de ácido indolacético e de sideróforos por isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	AIA (µg/mL)	Sideróforos (µg/mL)
Inpa 2473 ⁷	60,72 a	65,03 a
Inpa 2475 ⁶	60,53 a	59,74 a
Inpa 2951 ⁵	59,70 a	61,12 a
Inpa 2957 ²	35,18 b	55,01 a
Inpa 2959 ³	9,27 c	61,17 a
Inpa 2961 ⁴	8,99 c	61,23 a
Testemunha ¹	0,00 c	0,00 a
CV (%)	0,11	0,11

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Efeito significativo (p<0,01). CV (%): Coeficiente de variação em porcentagem. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Efeito significativo (p < 0,01). ¹Testemunha: ausência do extrato fúngico. ²Inpa2957 (*Trichoderma rugulosum*); ³Inpa2959 (*Trichoderma asperellum*); ⁴Inpa 2961 (*Trichoderma asperellum*); ⁵Inpa2951 (*Trichoderma asperelloides*); ⁶Inpa2475 (*Trichoderma agriamazonicum*); ⁷Inpa 2473 (*Trichoderma endophyticum*).

6. Conclusões

Entre os seis isolados do gênero *Trichoderma*, oriundos do estado do Amazonas, no controle da podridão-de-esclerócio causada por *A. rolfsii* e na promoção do crescimento de tomateiros cultivados em campo. O isolado Inpa 2957 se destacou pela sua eficácia no controle da doença, reduzindo significativamente a incidência da doença (1,75%). Além disso, esse isolado demonstrou capacidade de estimular o desenvolvimento vegetativo e produtivo das plantas, resultando em um rendimento de 359.28 g.m². Os isolados Inpa 2473, Inpa 2475 e Inpa 2951 apresentaram resultados promissores para a promoção do crescimento, evidenciado pela produção máxima de AIA (60,72 µg/mL).

Os isolados mais promissores (Inpa 2957 e Inpa 2473), poderão contribuir para o aumento da produtividade de tomateiros e para a melhoria da qualidade sanitária tomaticultura no contexto amazônico.

Recomenda-se a continuidade das pesquisas, com foco na formulação, aplicação em larga escala desses isolados, avaliação da eficácia em outros tipos de solo, em solos naturalmente infestados, bem como na compreensão aprofundada dos mecanismos moleculares envolvidos no controle da doença e na promoção de crescimento. Essas etapas são fundamentais para viabilizar o uso comercial dessas tecnologias e fortalecer a agricultura sustentável na região.

7. Referências Bibliográficas

Abd-Elghany, F.M.K.; Farag, F.M.; Abdou, El-S.; Saleh, O.I. 2021. Controlling of crown and root rot in tomato caused by *Sclerotium rolfsii*. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 49(2): 141-149. DOI10.21608/ejp.2021.98799.1044

Abreu, L.M.; Pfenning, L.H. 2019. O gênero *Trichoderma*. In: Meyer, M.C.; Mazaro, S.M.; Silva, J.C. da (eds). *Trichoderma: uso na agricultura*. 1ª ed. Brasília, DF: Embrapa, cap. 3, 163-235. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/208230/1/livro-trichoderma-online-06.01.20.pdf>

AGROFIT. 2025 Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 21/03/2025.

Auler, A.C.V.; Carvalho, D.D.C.; Mello, S.C.M. 2013. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. *Revista Agroambientale*, 7(3): 359-365. Barbosa, M.L.; Barros, R.P. de; Pinheiro, R.A. 2021. Aspectos biológicos e produtivos do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) sob adubação húmica. *Revista Ambientale*, 13(1): 71-78. DOI: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v7i3.1335>.

Baker, K.F. Cooker, R.J. 1983. Biological control of plant pathogens: Thay to apical. *The university of chicago press journals*, 59(4): 430-630 DOI <https://doi.org/10.1086/414138>.

Barbosa, G.G.; Costa, F.A.; Costa, A.C.; Ulhoa, C.J. 2021. Evaluation of the potential of *Trichoderma* spp. native to the state of Mato Grosso do Sul against the fungus *Colletotrichum musae*. *Brazilian Journal of Development*, 7(3): 29484-29502 DOI:10.34117/bjdv7n3-592.

Barbosa, L.O.; Conceição, T.D.S.; Neves, A.O.; Rocha, W.Z.B.; Damasceno, B.S.; Fonseca, P.L.C.; Ribeiro, P.R.; Tome, L.M.R.; Bortolini, D.E.; Martins, F.M. Raya, F.T.; Goes Neto, A.; Soares, A.C.F. Solo nativo e não nativo e *Trichoderma* spp. endofítico de campos de sisal semiárido do Brasil são potenciais agentes de biocontrole para a doença da podridão do fuste do sisal. *Journal Fungi Basileia*, 10(12):860. doi: [10.3390/jof10120860](https://doi.org/10.3390/jof10120860)

Batista, F.C.; Fernandes, T.A.; Abreu, C.S. de; Oliveira, M.C. de; Ribeiro, V.P.; Gomes, E.A; Lana, U.G.P; Marriel, I.E.; Paiva, C.A.O. 2018. *Potencial de microrganismos rizosféricos e endofíticos de milho em solubilizar o fosfato de ferro e produzir sideróforos*. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas-MG, 21p. <https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>.

Bertinez, T.; Rincón, A.M.; Limón, M.C.; Codón, A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7:249-260.

- Bettiol, W.; Silva, J.C.; Castro, M.L.M.P. 2019. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: Meyer, M.C.; Mazaro, S.M.; Silva, J.C. da. (Eds.) *Trichoderma: Uso na Agricultura*. Embrapa. Brasília-DF, 21-44. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1119303/1/Bettiolusoatual2019.pdf>
- Bissacotti, A.P.; Londero, P.M.G.; Costabeber, I.H. 2021. Tomate: botânica, produção, composição nutricional e benefícios à saúde. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, 38(2): e26643. DOI: <http://dx.doi.org/10.35977/0104-1096.cct2021.v38.26643>
- Bortolin, G. S.; Wiethan, M.M.S.; Vey, R.T.; Oliveira, J.C.P.; Köpp, M.M.; Silva, A.C.F. da. 2019. *Trichoderma* na promoção do desenvolvimento de plantas de *Paspalum regnellii* Mez. *Revista de Ciências Agrárias* 42(1): 135-145. DOI: [10.19084/RCA18114](https://doi.org/10.19084/RCA18114)
- Bradford, M.M. 1976. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248- 254. DOI: [10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brandão Filho, J.U.T.; Goto, R.; Braga, R.S.; Hachmann, T.L. 2018. Solanáceas In: Brandão Filho, J.U.T.; Freitas, P.S.L.; Berian, L.O.S.; Goto, R. (Eds.). *Hortaliças-fruto [online]*. Maringá: EDUEM. p. 37-70. ISBN: 978-65-86383-01-0. (<https://doi.org/10.7476/9786586383010.0004>).
- Campbell, C.L.; Madden, L.V. 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. New York, John Wiley & Sons. 532 p.
- Caniato, M.M.; Catarino, A.M.; Souza, T.F.; Silva, G.F.; Bichara, K.P.A.; Cruz, J.C.; Assis, L.A.G. e outros 2020. Diversity of bacterial strains in biochar-enhanced Amazon soil and their potential for growth promotion and biological disease control in tomato. *Acta Amazonica* 50: 278-288. (<http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201901072>).
- Carvalho, R.C.P.; Tobar, L.L.M.; Dianese, E.C.; Fonseca, M.E.N. Melhoramento genético do tomateiro para resistência a doenças de etiologia viral: avanços e perspectivas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 22: 280-361.
- Casas, L.L.; Pereira, J.O.; Costa Neto, P.Q.; Silva, J.F.; Almeida, L.N.; Bianco, R.A. e outros. 2021. Endophyte *Colletotrichum siamense* for biocontrol and resistance induction in guarana seedlings. *International Journal of Microbiology*, v. 2021, article ID 1925226. (<https://doi.org/10.1155/2021/1925226>).
- Cavalcanti, V.P.; Araújo, N.A.F.; Estrada, K. R.F.S.; Pasqual, M.; Dória, J. 2018. *Athelia (Sclerotium) rolfsii* em *Allium sativum*: potenciais agentes de biocontrole e seus efeitos em metabólitos vegetais. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 90: 3949-3962. DOI: [10.1590/1809-2950/17017026022019](https://doi.org/10.1590/1809-2950/17017026022019)

Chagas Júnior, A.F.; Oliveira, L.A.; Oliveira, A.N.; Willerding, A.L. 2010. Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. *Acta Scientiarum Agronomy*, 32(2): 359-366. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i2.3185>

Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 2: 764–775. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)

Coelho Netto, R.A.; Ferreira, A.A.B; Noda, H. 2013. Manejo da podridão-de-Sclerotium em pimentão em um argissolo no Amazonas. *Acta Amazonica*, 43(3). <https://doi.org/10.1590/S0044-59672013000300007>

Colla, L.M.; Primaz, A.L.; Lima, M.; Bertolin, T.E.; Costa, J.A.V. 2008. Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solos contaminado com herbicidas triazínicos. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(3):809-813. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000300016>

Costa, R.V.S.; Silva, H.F.; Silva, E.C.; Oliveira, M.D.M.; Nascimento L. C. 2022. Efeito de *Trichoderma* spp. na qualidade de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). *Scientia Plena*, 18(7): 1-11. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2022.070216>

Collins, E.J.; Bowyer, C.; Souza, A.; Chopra, M. 2022. Tomatoes: An extensive review of the associated health impacts of tomatoes and factors that can affect their cultivation. *Biology*, 11(2): 239. <https://doi.org/10.3390/biology11020239>.

Contreras-Cornejo, H.A.; Schmoll, M.; Esquivel-Ayala, B.A.; González-Esquivel, C.E.; Rocha-Ramírez, V.; Larsen, V. 2024. Mechanisms for plant growth promotion activated by *Trichoderma* in natural and managed terrestrial ecosystems. *Microbiological Research*, 281: 127621. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127621>

Cook, R. J.; Baker, K. F. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. The American Phytopathological Society, 539 p.

Elias, L.M.; Domingues, M.V.P.F.; Moura, K.E.; Salomão, D.; Harakava, R.; Patricio, F.R.A. 2016. Selection of *Trichoderma* isolates for biological control of *Sclerotinia minor* and *Sclerotinia sclerotiorum* in lettuce. *Summa Phytopathologica*, 42 (3): 216-221. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2147>

Elsherbiny E.A; Amin B.H.; Aleem B.; Kingsley, K.L.; Bennett J.W. 2020. *Trichoderma* Volatile Organic Compounds as a Biofumigation Tool against Late Blight Pathogen *Phytophthora infestans* in Postharvest Potato Tubers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(3):8163–8171. DOI: [10.1021/acs.jafc.0c03150](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03150).

Ethur, L.Z.; Blume, E.; Muniz, M.F.B.; Camargo, R.F.; Flores, M.G.V.; Cruz, J.L.G.; Menezes, J.P. 2008. *Trichoderma harzianum* no desenvolvimento e na proteção de mudas contra a fusariose do tomateiro. *Ciência e Natura*, 30(2): 57 – 69. DOI: <https://doi.org/10.5902/2179460X9837>

Farias, J.R.B. 2019. Apresentação. In: Meyer, M.C.; Mazaro, S.M.; da Silva, J.C. (eds.). *Trichoderma: uso na agricultura*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Soja. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF: Embrapa, 13 p. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1117296/1/livrotrichodermaonline06.01.20.pdf>

Fantinel, V.S.; Muniz, M.F.B.; Poletto, T.; Dutra, A.F.; Krahn, J.T. e outros. 2018. Biocontrole *in vitro* de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Ciência Agrícola*, 16(3): 43-50. DOI: [10.28998/RCA.V16I3.4818](https://doi.org/10.28998/RCA.V16I3.4818)

FAO. 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Informações sobre a produção de Tomate (*Solanum lycopersicum*) mundial e regional. (<https://www.fao.org/faostat/en/#data>). Acesso em 15 de maio de 2025.

Fernandes, B.; Blanco, N.H.M.; Graichen, F.A.S. 2024. Controle biológico de *Sclerotium rolfsii* com isolados de *Trichoderma* spp. nativos de Aquidauana-MS. *Revista Pantaneira*, 23: 78-87.

Filgueira, F.A.R. 2003. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV. 412 p.

Fontes, E.M.G.; Valadares-Inglis, M.C. 2020. *Controle biológico de pragas da agricultura*. 1ª edição. Editora técnicas, Brasília, DF. 510 p. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1121825>

Furquim, M.G.D.; Nascimento, A.R.; Corcioli, G 2021. Aspectos gerais sobre a tomaticultura de mesa: uma revisão sistemática de literatura. *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais*, 12(9): 598-610. (DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.009.0046>).

França, D.V.C.; Kupper, K.C.; Magri, M.M.R.; Gomes, T.M.; Rossi, F. 2017. *Trichoderma* spp. isolates with potential of phosphate solubilization and growth promotion in cherry tomato. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 47(4): 360-368. <https://doi.org/10.1590/1983-40632017v4746447>

Gabardo, G.; Pria, M.D.; Prestes, A.M.C.; Silva, H.L. 2020. *Trichoderma asperellum* and *Bacillus subtilis* as antagonists in the growth of phytopathogenic fungi *in vitro*. *Brasilian Journal of Development*, 6(8): 55870-55885. DOI: [10.34117/bjdv6n8-123](https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-123)

Garrido, L.R. 2022. Resistência de fungos e cromistas a diferentes princípios ativos: Classificação e medidas de manejo. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 17p. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1139770/1/Doc-129-2022.pdf>

Gava, C.A.T.; Menezes, M.E.L. 2012. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. *Revista Ciência Agronômica*, 43 (4): 633-640. ISSN 1806-6690.

Gentil, D.F. de O.; Vasconcelos, G.J.N. de; Assis, L.A.G. de; Netto, R.A.C; Hanada, R. E.; Figueiredo, J.N.R. 2023. Guia fitossanitário de hortaliças cultivadas no Amazonas. Manaus: Editora INPA, 145 p.

Gonçalves, D.C.; Fernandes, C.H.S.; Tejo, D.P.; Vidal, T.C.M. 2018. Cultivo do tomate cereja sob sistema hidropônico: influência do turno de rega. *Uniciências*, 22(1): 20-23. DOI: 10.17921/1415-5141.2018v22n1p20-23.

GBIF: The Global Biodiversity Information Facility. Disponível em: (<https://www.gbif.org/fr/species>). Acesso em 05/03/2025.

Gueye, N.; kumar, K.G.; Dangué, A.; Ndiaye, M.A.F.; Diop, T.A.; Ram, M.R. 2018. Bioproduction of indole-3-acetic acid by *Trichoderma* strains isolated from soils of agricultural fields in Senegal. *Revista Mundial de Pesquisa Farmacêutica*, 7 (17): 817-825. DOI: 10.20959/wjpr201817-13258.

Guimarães, G. R.; Ferreira, D. S.; Galvão, C. S.; Mello, S. C. M.; Carvalho, D. D. C. 2016. Ação de metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, 21(1): 7-11. DOI: [10.12661/pap.2016.002](https://doi.org/10.12661/pap.2016.002)

Ghazy, N.; El-Nahrawy, S 2021. Siderophore production by *Bacillus subtilis* MF497446 and *Pseudomonas koreensis* MG209738 and their efficacy in controlling *Cephalosporium maydis* in maize plant. *Archives of Microbiology* 203(3): 1195-1209. Doi: 10.1007/s00203-020-02113-5

Grimes, R.; Santos, G.C.D.; Graf Júnior, A.L.; Tolentino Júnior, J.B. 2023. Antagonismo *in vitro* de espécies de *Trichoderma* contra fungos fitopatogênicos florestais. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 43: e202002140. DOI: <https://doi.org/10.4336/2023.pfb.43e202002140c>

Honorato Júnior, J.; Zambolim, L.; Aucique-Pérez, C.E.; Resende, R.S.; Rodrigues, F.A. 2015. Photosynthetic and antioxidative alterations in coffee leaves caused by epoxiconazole and pyraclostrobin sprays and *Hemileia vastatrix* infection. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 123:31-39. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.01.016>.

Inciarte, L.V.; Arrieta, Y.F.; Méndez, M.L.; Jardin, M.C.; Vera, A.; Carmona, D.; Pereira, M.H.; Jardin, P.C.; Blas, E.S. 2019. Use of different *Trichoderma* species in cherry type tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) against *Fusarium oxysporum* wilt in tropical greenhouses. *Agronomía Costarricense*, 43(1): 85-100.

Isaias, C.O.; Martins, I.; Silva, J.B.T.; Silva, J.P.; Mello, S.C.M. 2014. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. *Summa Phytopathologica*, 40 (1): 34-41. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052014000100005>.

Kamel, S., Farag, F., Arafa, R., Essa, T. 2020. Bio-Control Potentials of *Trichoderma* spp. Against *Sclerotium rolfsii* the Causative of Root and Crown Rot in Tomato, Common Bean and Cabbage. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 48(1): 122-136. doi: 10.21608/ejp.2020.54217.1018.

Khan, M.Y.; Haque, M.M.; Molla, A.H.; Rahman, M.M.; Alam, M.Z. 2017. Antioxidant compounds and minerals in tomatoes by *Trichoderma* enriched biofertilizer and their relationship with the soil environments *Journal of integrative Agriculture*, 16(3):691-703. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61350-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61350-3)

Krohling, T.; Costa, A.F. da; Galeano, E.A.V.; Costa, H.; Rossi, D.A.; Carvalho, D.R. 2018. Análise de custos do tomateiro no município de Marechal Floriano, ES: Um estudo de caso. *Revista Científica Intellecto*, 3: 59-68. <http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/handle/123456789/3435>

Kumar, N.V.; Rajam, K.S.; Rani, M.E. 2017. Plant Growth Promotion Efficacy of Indole Acetic Acid (IAA) Produced by a Mangrove Associated Fungi-*Trichoderma viride* VKF3. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11): 2692-2701. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.317>.

Kupper, V.; Kortekamp, A.; Steiner, U. 2023. Combination of *Trichoderma koningiopsis* and chitosan as a synergistic control and biostimulant complex to reduce copper levels in the control of downy mildew in grapevines. *Biology Control*, 185: e105293. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2023.105293](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105293)

Lever, M. (1972). A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. *Analytical Biochemistry*, 47 (1), 273–279. doi:10.1016/0003-2697(72)90301-6.

Leylaie S.; Zafari, D. (2018). Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Secondary Metabolites and Phylogenetic Study of Endophytic *Trichoderma* Species From *Vinca* Plants. *Frontiers in Microbiology*, 9:1484. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01484>.

Li, M.; Watanabe, S.; Gao, F.; Dubos, C. 2023. Iron Nutrition in Plants: Towards a New Paradigm? *Plants*, 12 (2), 384. <https://doi.org/10.3390/plants12020384>

Lima, R.G.; Ticona-Benavente, C.A.; Silva, D.F.; Silva, I.S.; Guimarães, R.G.V.; Hanada, R.E. 2021. *Pachyrhizus* spp. seed extracts control the *Sclerotium rolfsii* Sacc. mycelial growth. *Journal of Medicinal Plants Research*, 15(7): 289-296. <https://doi.org/10.5897/JMPR2021.7088>

Lopes, C.A. 2021. Doenças do tomateiro. 3ª edição, Brasília, DF: Embrapa, 212 p.

Lopez, A.C.; Alvarenga, A.E.; Zapata, P.D.; Luna, M.F.; Villaba, L.L. 2019. *Trichoderma* spp. from Misiones, Argentina: effective fungi to promote plant growth of the regional crop *Ilex paraguariensis* St. Hil. *Mycology*, 10(4):210-221. doi: 10.1080/21501203.2019.1606860

Luciano, D.O.; Lima, C.A.; Lopes, M.B.; Moura, D.M.O.; Ferreira, A.L.L.; Martins, A.L.L.; Chagas, L.F.B.; Chagas Junior, A.F.; 2023. *Bacillus* e *Trichoderma* como promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*.

Research, Society and Development, 12(2): e11012239509.
DOI: [10.33448/rsd-v12i2.39509](https://doi.org/10.33448/rsd-v12i2.39509)

Lusso M.F.G.; Pascholati, S.F 1999. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. *Summa Phytopathologica*, 25: 244-249.

Lutz, M.P.; Feichtinger, G.; Défago, G.; 2003. Mycotoxigenic *Fusarium* and deoxynivalenol production repress chitinase gene expression in the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* P1. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6):3077-84. doi: 10.1128/AEM.69.6.3077-3084.2003. PMID: 12788701; PMCID: PMC161502.

Machado, D.F.M.; Parzianello, F.R.; Silva, A.C.F. da; Antonioli, Z.I. 2012. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente, *Revista de Ciências Agrárias*, 35(1): 274-288.

Machado, D.F.M.; Tavares, A.P.; Lopes, S.J.; Silva, A.C.F. 2015. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de Cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). *Revista Árvore*, 39 (1):167-176. <https://doi.org/10.1590/0100-67622015000100016>

Marques, M.J.; Vizú, J.F.; Silva Filho, D.F.; Ticona-Benavente, C. A 2019. Tomato progenies selection in Rondônia, Brazil. *Horticultura Brasileira* 37: 106-111. (DOI - <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620190117>).

Martins, L.H.P.; Noda, H.; Mendonça, M.S.P.; Machado, F.M. 2013. Tomate Yoshimatsu- Uma cultivar adaptada ao trópico úmido brasileiro. In: Noda, H.; Souza, L.A.G.; Silva Filho, D.F. (eds.) *Agricultura Familiar no Amazonas: Conservação dos recursos ambientais*. Manaus-AM: Weg, 15-26.

Medeiros, F.H.V.; Guimarães, R.; Silva, J.P.C. Magalhães, V.C. 2019. *Trichoderma*: Interações e estratégias. In book: Meyer, MC ; Mazaro, SM ; Silva, JC da. *Trichoderma: uso na agricultura* (pp.291-234). Publisher: Embrapa. Brasília-DF.

Meena, P.N.; Meena, A.K.; Tiwari, R.K.; Lal, M.K.; Kumar, R. 2024. Controle biológico da podridão do caule do amendoim induzida por *Sclerotium rolfsii* sacc. *Patógenos*, 13:632. DOI: [10.3390/patogenos13080632](https://doi.org/10.3390/patogenos13080632)

Menten, J.O.M.; Minussi, E.; Castro, C.; Kimati, H. 1976. Efeitos de alguns fungicidas no crescimento micelial da *Macrophomina phaseolina* in vitro. *Fitopatologia Brasileira*, 1:57-66.

Meyer, M.R.; Mazaro, S.M.; Silva, J.C. *Trichoderma: uso na agricultura*. Embrapa Soja-Livro científico (ALICE), 2019. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1117296/1/livrotrichodermaonline06.01.20.pdf>. Acesso em 06/01/2025.

Monte, E. Bettiol, W.; Hermosa, R. 2019. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: Meyer, M. C.; Mazaro, S.

M.; Silva, J. C. da (eds.) *Trichoderma: Uso na Agricultura*. Embrapa. Brasília-DF, 163-235.

Montalvão, S.C.L.; Marques, E.; Martins, I.; Silva, J.P.; Mello, S.C.M. 2023. Suppression of the phytopathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. *Biologia*, 78:2941–2952. <https://doi.org/10.1007/s11756-023-01457-9>.

Morandi, M.A.B.; Bettiol, W. 2009. Controle Biológico de doenças plantas no Brasil. In: Bettiol, W.; Morandi, M.A.B. (eds.) *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. 1ª edição. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, 7-14. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/579954/1/livrobiocointrole.pdf>

Moreira, C.; Coelho, R.S.; Graichen, F.A.S 2022. Sensibilidade *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* a fungicidas. *Summa Phytopathologica*, 48(4): 163-164. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/243830>

Nascimento, V.C.; Santos, K.C.R.; Alencar, K.L.C.; Castro, M.B.; Krugerb, R.H.; Lopes, F.A. C 2022. *Trichoderma*: eficiência no controle biológico e perspectivas para os estados do Centro-Oeste brasileiro e Tocantins. *Revista Brasileira de Biologia*, 82: e260161. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.260161>.

Nogueira, G.A.; Silva, S.G.A.; Linhares, C.M.S.; Ambrósio, M.M.Q.; Nunes, G.H.S 2019. Métodos de inoculação de *Fusarium solani* e *Sclerotium rolfsii* em meloeiro. *Summa Phytopathologica*, 45(1): 59-63. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/187147>

Oliveira, A.G.; Chagas Júnior, A.F.; Santos, G.R. dos; Miller, L.O.; Chagas, L.F.B. 2012. Potencial de solubilização de fósforo e produção de AIA por *Trichoderma* spp. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 7(3): 149-155. ISSN 1981-8203. DOI: [10.18378/rvads.v7i3.1338](https://doi.org/10.18378/rvads.v7i3.1338).

Olowe, O.M.; Nicola, L. Asemoloye, M.D.; Akammu, A.O.; Babalola, O.O. 2022. *Trichoderma*: potential bioresource for the management of tomato root rot diseases in Africa. *Microbiological Research*, 257: e126978. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.126978>.

Ozbay, N.; Newman, S.S. 2004. Efeito de cepas de *Trichoderma harzianum* para colonizar raízes de tomate e melhorar o crescimento do transplante. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7: 253-257. DOI: [10.3923/pjbs.2004.253.257](https://doi.org/10.3923/pjbs.2004.253.257)

Paiva, B.; Fernandes, F.M.; Silva, A.R.D.; Graichen, F.A.S. 2021. Podridão de escleródio em espécies florestais. *Revista De Ciências Agro-Ambientais*, 18(2): 104–110. (<https://doi.org/10.5327/rcaa.v18i2.3727>).

Pereira, G. R. S; Coelho Netto, R.A. 2010. Uso de tetrazólio na avaliação da viabilidade e da sobrevivência em solo de escleródios de *Sclerotium rolfsii*. Repositório Institucional do INPA.

Perkins, D.D. 1962. Preservation of *Neurospora* stock cultures with anhydrous silica gel. *Canadian Journal of Microbiology*. 8: 591. <https://doi.org/10.1139/m62-078>

Pinheiro, G.R.; Andrade, A.S.; Ribeiro, V.G.S. 2024. Desenvolvimento inicial de milho promovido por microrganismos. *Revista Perquirere*, 21(2) :94-101.

Ponce, L.M.S.; Zambrano, J.S.Z 2021. Efecto *in vitro* de fungicidas y biochar sobre *Agrothelia rolfsii*. Dissertação de mestrado. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabi Manuel Félix López, Calceta. 79 p.

Pradhan, D.A.; Bagagoni, P.; Makandar, R. 2023. Evaluation of *Trichoderma asperellum* strains from the rhizosphere regarding root colonization and antagonistic competences against *Fusarium* wilt through molecular and biochemical responses in castor beans, *Biological Control*. 184: 105280. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105280>

Prasetyawan, S.; Sulistyowati, L.; Aulanni'am. 2018. Glucanase and Chitinase from Some Isolates of Endophytic Fungus *Trichoderma* spp *Materials Science and Engineering*, 299(1): 012026. doi:10.1088/1757-899X/299/1/012026.

Raju, Y.; Punamalay, G. 2025. A Review on the Overview of *Trichoderma* - A Versatile Biocontrol Agent and Plant Growth Promotor. *Frontiers in Environmental Microbiology*, 11(2): 10-25. [10.11648/j.fem.20251102.11](https://doi.org/10.11648/j.fem.20251102.11)

Ramírez, M.G.; Avalizapa, L.R.; Avalizapada, N.G.; Camarilloa, R.C.2004. Colloidal chitin stained with Remazol Brilliant Blue R, a useful substrate to select chitinolytic microorganisms and to evaluate chitinases. *Journal of Microbiological Methods*, 56(2):213-219. doi: 10.1016/j.mimet.2003.10.011.

Ramos, K.O.; Bauta, R.C.; Portal, O.; Ruiz, R.E. 2020. Actividad antifúngica *in vitro* de extractos de plantas frente a hongos. *Centro Agrícola*, 47: 49-53.

Resende, M.L.; Oliveira, J.A. de; Guimarães, R.M.; Von Pinho, R.G.; Vieira, A.R. 2004. Inoculação de sementes de milho utilizando *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. *Ciências e Agrotecnologia*, 28 (4): 793-798. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000400010>.

Reyes, R.A.; Martinez, B.B.; Rivero, G.G.; Montejo, G.J. 2002. Actividad in vivo de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plantulas de tomate. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia*, 66: 45-48.

Ribas, P.P.; Matsumura, A.T.S.; Van der Sand, S.T. 2014. Caracterização de isolados de *Trichoderma* e seu potencial para o controle biológico de patógenos em feijoeiro in vitro. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*. 20 (1):94 103.

Ribas, P.P.; Rech, R.; Matsumura, A.T.S.; Van der Sand, S.T. 2016. Potencial *in vitro* para solubilização de fosfato por *Trichoderma* spp. *Revista Brasileira de Biociências*, 14(2): 70-75.

RODRIGUES, Cleverson. Atividades bioquímicas de isolados amazônicos de *Trichoderma*, ação antagônica ao *Fusarium brasiliense* e efeito bioestimulante em plantas de soja. 2023. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2023.

Rodriguez-Kábana, R.; Beute, M.K.; Backman, P.A. 1980. A method for estimating numbers of viable sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil. *Phytopathology*, 70: 917-919.

Romero, P.I.A.; Cruz, M.A.I.; Guerra, J.H.R.; Ferreira e Ferreira, A.F.T.A. 2021. Efeito do *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiatum* no desenvolvimento de diferentes mudas de espécies florestais. *Revista Agrária Acadêmica*, 4 (4): 74-83. doi: 10.32406/v4n4/2021/74-83/agrariacad

Romero-Puertas, M.C.; Eu McCarthy, M.; Gómez, L.M.S; Corpas, F.J. La Del Rio, J.M.P. 2004. Reactive oxygen species-mediated enzymatic systems involved in the oxidative action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant, Cell & Environment*, 27:1135-1148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01219>.

ROZA, Diego Luiz Vieira da. 2021. Influência de coberturas vegetais na longevidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* no campo e uso de fungicidas químicos e biológicos na germinação do escleródio *in vitro*. Dissertação de mestrado. Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages. 68 p. (<https://www.udesc.br/arquivos/cav>).

Rush, T.A.; Shrestha, E.K.; Meena, M.G.; Spangler, M.K.; Jesse, C.E.; Abraham, P.E. 2021. Bioprospecting *Trichoderma*: A systematic roadmap to screen genomes and natural products for biocontrol application. *Frontiers in Fungal Biology*, 2: e716511. doi: 10.3389/ffub.2021.716511.

Sá, M.N.F. de; Lima, J.S.; Jesus, F.N. de; Peres, J.O.; Gava, C.A.T 2019. Efeito de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. no crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii*. *Acta Brasiliensis*, 3(2): 79-81. ISSN 2526-4338. DOI: [10.22571/2526-4338158](https://doi.org/10.22571/2526-4338158).

Salvador, C.A.; Pereira, J.R. 2021. Prognóstico agropecuário Olericultura 2021/2022. Departamento de Economia Rural. 13(37):3-14. ISSN-2164-2887.

Sales, L.; Magalhães, W.C.; Santana Neto, D.; Andrade, J.P.; Figueiredo, C.N. 2020. Diversidade taxonômica e identificação de *Trichoderma*. In: Soares, A.C.F; Evangelista-Barreto, N.S.; Marbach, P.A.S. Tópicos em Microbiologia Agrícola. Ed. UFRB, Cruz das Almas-BA. p.187-217.

Santos, J.M.R. dos; Taniguchi, C.A.K.; Silva, C.F.B. da; Natale, W.; Artur, A.G. 2021. *Trichoderma* in the promotion of growth and nutrition of dwarf

cashew rootstock. *Revista Ciência Agronômica*, 52 (4): e20207697. DOI: 10.5935/1806-6690.20210053

Sarwar, M.; Kremer, R.J. 1995. Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. *Letters in Applied Microbiology*, Oxford, 20(5): 282-285. DOI: [10.1111/j.1472-765X.1995.tb00446](https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1995.tb00446)

Sehim, A.E.; Hewedy, O.A.; Altammar, K.A.; Alhumaidl, M.S.; Abd Elghaffar, R.Y. 2023. *Trichoderma asperellum* empowers tomato plants and suppresses *Fusarium oxysporum* through priming responses. *Frontiers Microbiology*, 14:1140378. doi.org/10.3389/fmicb.2023.1140378.

Singh, A.K.; Kumar, A.; Singh, R.; Saini, R.; Maanju, S.; Leharwan, M.; Sehgal, M.; Kumar, B.; Dixit, P.S. (2023). Revolutionary Role of *Trichoderma* in Sustainable Plant Health Management: A Review. *International Journal of Environment and Climate Change*, 13 (11), 4203-4217. DOI: 10.9734/IJECC/2023/v13i113600.

Silva, V. N.; Guzzo, S.D.; Lucon, C.M.M. Harakava, R. 2011. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 46(12): 1609-1618.

Silva, R. L; Zacaroni, A. B.; Muniz, P.H.P.C.; Botelho, A.S.; Mello, S.C. M. 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*, 28: (163-183). doi: 10.31976/0104-038321v280007.

Silva, R. N.; Monteiro, V. N.; Steindorff, A. S.; Gomes, E. V.; Noronha, E. F. e outros. 2019. *Trichoderma*/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. *Fungal Biology*, 123(8): 565-583. doi: 10.1016/j.funbio.2019.06.010

Silva, G.B.; Rego, M.C.F.; França, S.K.S.; Souza, T.P.; Nascente, A.S.; Lanna, A.C.; Filippi, M.C.C; Souza, A.C.A.; Andrade, G.B. 2019. Uso do *Trichoderma* na cultura do arroz. In: Meyer, M. C.; Mazaro, S. M.; Silva, J. C. da. (eds.) *Trichoderma: Uso na Agricultura*. Embrapa. Brasília-DF 342-361.

Silva, J.M.; Teixeira, R.O.; Rocha, J.R.; Santos, T. M.C. 2017. Antagonismo *in vitro* e *in vivo* de *Scerotium rolfsii* sacc por cepas de *Trichoderma* spp. *Revista Internacional de Agricultura, Meio Ambiente e Biotecnologia*, 2 (1): 60-67.

SILVA, Joseani Castro da. Controle biológico da resinose do coqueiro. 2024. 91 f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2015

Silva Filho, D.F. da; Yuyama, L.K.O.; Aguiar, J.P.L.; Oliveira, M.C. Martins, L.H.P. 2005. Caracterização e avaliação do potencial agrônomo e nutricional de etnovarietales de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) da Amazônia. *Acta*

Amazonica, 35(4): 399-406. (<https://doi.org/10.1590/S0044-59672005000400003>).

Shoresh, M. Harman, G.E.; Mastouri, F. 2010. Induced Systemic Resistance and Plant Responses to Fungal Biocontrol Agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48: 21-43. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114450>.

Solino, A.J.S.; Oliveira, J.B.S.; Schwan-Estada, K.R.F.; Alencar, M.S.R.; Ribeiro, L.M. 2017. Potencial antagonista em controle *in vitro* de *Alternaria solani* por fungos sapróbios. *Summa Phytopathologica*, 43(3): 199-204. DOI: [10.1590/0100-5405/2202](https://doi.org/10.1590/0100-5405/2202)

Sood, M.; Kapoor, D.; Kumar, V.; Sheteiwy, M.; Ramakrishnan, M.; Landi, M.; Araniti, F.; Sharma, A. 2020. *Trichoderma*: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants*, 9(6):762-785. DOI: [10.3390/plants9060762](https://doi.org/10.3390/plants9060762)

Sorpreso, J.K.; Amaral, H.F. 2024. Desenvolvimento e Produtividade de tomateiro em inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Trichoderma harzianum*. *Agricultura em bases agroecológica e conservacionista*, 2: 144-153. DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.96324280516>.

Sousa, T.F.; Reça, B.N.P.V.; Castro, G.S.; Silva, I.J.S.; Caniato, F.F.; Araújo Júnior, M.B.; Yamagishi, M.E.B.; Koolen, H.H.F.; Bataglioni, G.A.; Hanada, R.E.; Silva, G.F. 2023. *Trichoderma agriamazonicum* sp. nov. (Hypocreaceae), a new ally in the control of phytopathogens. *Microbiological Research*, 275: 127469. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127469>

Sousa, T.G.; Blum, L.E.B. 2013. Uso de *Trichoderma harzianum* e condicionador orgânico de solo para controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho. *Bioscience Journal*, 29 (1):1616-1623.

Souza Pedro, E.A.; Harakava, R.; Mantovanello Lucon, C.M.; Guzzo, S.D. 2012. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47 (11): 1589-1595. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012001100005>.

Souza, L.V. de; Gentil, D.F. de O. 2019. Enxertia em cultivar de tomateiro Yoshimatsu. *Revista Agrária Acadêmica*, 2(1): 47-55. doi: 10.32406/v2n12019/47-55/agrariacad.Stehmann, J.R.; Oliveira, D.M.G. 2022. Flora da serra do cipó, Minas Gerais: Solanaceae. *Boletim de Botânica*, 39, 67-94. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9052.v39p67-94>

Schwyn, B.; Neilands, J.B 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160(1): 47-56. DOI: [10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)

Tofoli, J.G.; Domingues, R.J. 2018. Doenças fúngicas. In: Brandão Filho, J.U.T.; Freitas, P.S.L.; Berian, L.O.S.; Goto, R. (eds.) *Hortaliças-fruto*. Maringá: EDUEM. 535p.

Tucci, M.; Ruocco, M.; Masi, L.; Palma, M.; Lorito, M. 2011. O efeito benéfico de spp. em tomate é modulado pelo genótipo da planta. *Patologia Molecular de plantas*, 14: 1-14. DOI: 10.1111/J.1364-3703.2010.00674.

Vanderplank, J.E. (1963). *Plant Diseases: Epidemics and Control*. Academic Press.

Vieira, C.T.R.; Boeira, Y.S.; Nachtigal, G.F.; Martins, C.R.; Valgas, R.A. 2024. Growth promotion of pecan rootstock seedlings with *Trichoderma* spp. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 59: e03745. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2024.v59.03745>

Wetzel, M.V.S.; Soave, J. 1987. Patologia de sementes. Campinas. Fundação Cargill. XIV, 480 p.

Yulong Li, Fei He, Qiao Guo, Zhaoyang Feng, Mian Zhang, Chenglong Ji, Quanhong Xue, Hangxian Lai. 2022. Compositional and functional comparison on the rhizosphere microbial community between healthy and *Sclerotium rolfsii*-infected monkshood (*Aconitum carmichaelii*) revealed the biocontrol potential of healthy monkshood rhizosphere microorganisms. *Biological Control*, 165: 104790. (<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104790>).

Yong-Chang, S.; Korkor, N.L.; Xiao, R.; Pu, Q.; Hu, M. e outros. 2020. Antagonistic activity of combined bacterial strains against the southern leaf spot pathogen *Dendrobium officinale*. *Biological Control*, 151: 104291. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104291.

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*, 23:501–509. DOI: [10.1007/s10123-020-00122-4](https://doi.org/10.1007/s10123-020-00122-4).

Zayat, J.Z.M.; Bernardes Neto, J.F.B.; Golinsky, A.; Marques, P.V.R.; Gonçalves, G. P. e outros. 2022. Viabilidade econômica da produção de tomate do tipo saladete no sul do estado de Goiás. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação- REASE*. 8 (06): 1455-1486. DOI: [10.51891/rease.v8i6.6076](https://doi.org/10.51891/rease.v8i6.6076).