A vertical strip on the left side of the cover features a microscopic image of Trichoderma fungus, showing its characteristic branched, septate hyphae and circular spores.

Trichoderma

USO NA AGRICULTURA

Maurício Conrado Meyer

Sérgio Miguel Mazaro

Juliano Cesar da Silva

Editores Técnicos

UTFPR

 **BALLAGRO**

Embrapa

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Trichoderma

USO NA AGRICULTURA

Maurício Conrado Meyer
Sérgio Miguel Mazaro
Juliano Cesar da Silva

Editores Técnicos

Embrapa
Brasília, DF
2019

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, acesso Orlando Amaral, Distrito de Warta
Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR
Fone: (43) 3371 6000 Fax: (43) 3371 6100
www.embrapa.br/
www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Soja

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Ricardo Vilela Abdelnoor*

Secretária-Executiva: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite*

Membros: *Alvadi Antonio Balbinot Junior, Clara Beatriz Hoffmann-Campo, Claudine Dinali Santos Seixas, José Marcos Gontijo Mandarino, Liliane Márcia Mertz-Henning, Mariangela Hungria da Cunha, Norman Neumaier e Vera de Toledo Benassi.*

Supervisão editorial: *Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol*

Normalização bibliográfica: *Ademir Benedito Alves de Lima, Victor Paulo Marques Simão, Valéria de Fátima Cardoso*

Projeto gráfico e editoração eletrônica: *Edil Gomes*

Capa: *Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol*

1ª edição: 2019

1ª impressão: 2000 exemplares

As opiniões emitidas nesta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Soja

Trichoderma: uso na agricultura / Maurício Conrado Meyer... [et al.], editores técnicos. –

Brasília, DF : Embrapa, 2019.

538 p.

ISBN: 978-85-7035-943-8

1. *Trichoderma*. 2. Fungo. 3. Agricultura. I. Meyer, Maurício Conrado. II. Mazaro, Sergio Miguel. III. Silva, Juliano Cesar da.

CDD: 579.5677 (21.ed.)

Valéria de Fátima Cardoso (CRB 9/1188)

@Embrapa, 2019

Adriano Stephan Nascente

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador na Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

Aida Terezinha Santos Matsumura

Engenheira-agrônoma, doutora em Genética e Biologia Molecular, professora na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

Akio Santos Matsumura

Administrador, diretor de Planejamento, Gestão e Execução de Projetos da ICB Bioagritec Ltda., Porto Alegre, RS.

Alaerson Maia Geraldine

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, professor do Instituto Federal Goiano, Rio Verde, GO.

Alan Bernard Oliveira de Sousa

Engenheiro-agrônomo, doutor em Engenharia de Biosistemas, professor da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

Alan Carlos Alves de Sousa

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, professor assistente do Centro Universitário de Anápolis, GO.

Alfredo Ricieire Dias

Engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia, pesquisador na Fundação Chapadão, Chapadão do Sul, MS.

Álvaro Figueredo dos Santos

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador na Embrapa Florestas, Colombo, PR.

Amanda Naye Guimarães Tavares

Biotecnologista, Faculdade Ciências da Vida, bolsista na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Ana Clara Pimenta Pereira

Engenheira-agrônoma, mestranda em Ciências Agrárias na Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, MG.

Ana Iraidy Santa Brígida

Engenheira-química, doutora em Processos Químicos e Bioquímicos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Anna Cristina Lanna

Licenciada em Química, doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora na Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

Carine Rusin

Tecnóloga em Horticultura, mestre em Agronomia, doutoranda da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, PR.

Carlos Alberto Kenji Taniguchi

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Carlos Mitinori Utiamada

Engenheiro-agrônomo, pesquisador da TAGRO, Londrina, PR.

Cassiano Forner

Engenheiro-agrônomo, doutor em Proteção de Plantas, pesquisador na Biotrop, Vinhedo, SP.

Celson Alexandre Weiler

Engenheiro-agrônomo, mestre em fitotecnia, gerente industrial da Ballagro Agro Tecnologia Ltda, Bom Jesus dos Perdões, SP.

Christiana de Fátima Bruce da Silva

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Cintia Rodrigues Maruyama

Biotecnologista, mestre em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental, doutoranda na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Sorocaba, SP.

Cirano José Ulhoa

Biólogo, doutor em Genética e Bioquímica de Microrganismos, professor da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

Claudia Vieira Godoy

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Cleusa Maria Mantovanello Lucon

Bióloga, doutora em Microbiologia, pesquisadora do Instituto Biológico, São Paulo, SP.

David de Souza Jaccoud Filho

Biólogo, engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, professor da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR.

Diouneia Lisiane Berlitz

Bióloga, doutora em Biologia, pesquisadora da ICB Bioagritec Ltda., Porto Alegre, RS.

Edna Dora Martins Newman Luz

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, Auditor Fiscal Federal Agropecuário do Ministério da Agricultura / Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, Itabuna, BA.

Edson Pereira Borges

Engenheiro-agrônomo, mestre em Produção e Gestão Agroindustrial, diretor executivo da Desafios Agro, Campo Grande, MS.

Eduardo Gilberto Dallago

Engenheiro-agrônomo, pesquisador da CWR Pesquisa Agrícola, Palmeira, PR.

Eduardo Jun Fuzitani

Engenheiro-agrônomo, doutor em Produção Vegetal, pesquisador na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA Vale do Ribeira), Registro, SP.

Enrique Monte

Farmacêutico, doutor em Farmácia, catedrático de Microbiologia do Instituto Hispano-Luso de Investigações Agrárias (CIALE), Universidade de Salamanca, Espanha.

Fabyano Alvares Cardoso Lopes

Biólogo, doutor em Biologia Microbiana, professor da Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, TO.

Fernando Cezar Juliatti

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

Fernando Hercos Valicente

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Flávia de Oliveira Marzarotto

Engenheira-agrônoma, pesquisadora da CWR Pesquisa Agrícola, Palmeira, PR.

Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, professor da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Frederick Mendes Aguiar

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pós-doutorando na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Gabriel Moura Mascarin

Engenheiro-agrônomo, PhD em Entomologia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

Gisele Barata da Silva

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, professora da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA.

Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Químico, doutor em Processos Químicos e Bioquímicos, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Gustavo de Andrade Bezerra

Engenheiro-agrônomo, mestre em Produção Vegetal / Fitopatologia, doutorando em Agronomia / Fitossanidade na UFG, Goiânia, GO.

Heloisa Thomazi Kleina

Engenheira-agrônoma, mestre em Agronomia / Produção Vegetal, doutoranda na Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

Henrique da Silva Silveira Duarte

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, professor da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

Hercules Diniz Campos

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade de Rio Verde, Rio Verde, GO.

Ibraian Valério Boratto

Engenheiro-agrônomo, pesquisador na CWR Pesquisa Agrícola, Palmeira, PR.

Jéssica Leticia Abreu Martins

Engenheira-agrônoma, mestranda em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, MG.

Jonatas Rafael Lacerda Rebouças

Engenheiro-agrônomo, mestre em Ciência do Solo, gerente de produção da Itauera Agropecuária, Ribeira do Amparo, BA.

Jorge Teodoro de Souza

Engenheiro-agrônomo, PhD em Fitopatologia, professor da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

José Nunes Junior

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador do Centro Tecnológico de Pesquisa Agropecuária, Goiânia, GO.

Juliano Cesar da Silva

Engenheiro-agrônomo, doutor em Proteção de Plantas, gerente da Ballagro Agro Tecnologia Ltda, Bom Jesus dos Perdões, SP.

Júlio Alves Cardoso Filho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Microbiologia Agrícola, professor da Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL.

Júlio Carlos Pereira da Silva

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pós-doutorando na Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Julio César Tonello

Tecnólogo em Viticultura e Enologia, especialista em Viticultura, produtor rural, Bento Gonçalves, RS.

Laís Lacerda Brasil de Oliveira

Biotecnologista, mestre em Climatologia Física, biotecnologista da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

Leonardo Fernandes Fraceto

Químico, doutor em Biologia Funcional e Molecular, professor da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Sorocaba, SP.

Lilian Simara Abreu Soares Costa

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pós-doutoranda da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

Lucas Magalhães de Abreu

Engenheiro-agrônomo, doutor em Química, professor da Universidade Federal de Viçosa UFV, Viçosa, MG.

Luciana Celeste Carneiro

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, professora da Universidade Federal de Goiás, Jataí, GO.

Ludwig Heinrich Pfenning

Biólogo, doutor em Fitopatologia, professor da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Luís Henrique Carregal Pereira da Silva

Engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia, pesquisador da AgroCarregal, Rio Verde, GO.

Marcela Cristiane Ferreira Rêgo

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, bolsista da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA.

Marcelo Henrique Soller Ramada

Biólogo, doutor em Biologia Molecular, professor da Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF.

Márcia Eloísa da Silva

Bióloga, doutora em Botânica, pesquisadora da ICB Bioagritec Ltda., Porto Alegre, RS.

Marcio Marcos Goussain Junior

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Assist Consultoria e Experimentação Agrônômica, Campo Verde, MT.

Marcus André Kurtz Almança

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia / Fitossanidade, professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, RS.

Margarida Fumiko Ito

Bióloga, doutora em Fitopatologia, pesquisadora do Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas, SP.

Maria Luiza Marcico Publio de Castro

Bióloga, mestre em Entomologia, diretora técnica da Cesis Ltda., Brasília, DF.

Mariana Guilger-Casagrande

Bióloga, mestre em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental, doutoranda na Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP.

Marina Guimarães Pacifico

Engenheira-agrônoma, mestre em Fitopatologia, doutoranda na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP.

Marta Cristina Corsi de Filippi

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

Maurício Conrado Meyer

Engenheiro-agrônomo, doutor em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Mírian Rabelo de Faria

Engenheira-agrônoma, mestre em Agronomia, doutoranda na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP.

Mônica Cagnin Martins

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Círculo Verde Assessoria Agrônômica e Pesquisa, Luís Eduardo Magalhães, BA.

Murillo Lobo Junior

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

Natalia Bilesky-José

Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia, mestranda na Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP.

Nean Locatelli Dalacosta

Engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.

Nelson Dias Suassuna

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Algodão, Santo Antônio de Goiás, GO.

Nilce Naomi Kobori

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitotecnia, consultora independente, Campinas, SP.

Paula Steilmann

Bióloga, mestre em Fitopatologia, doutoranda em Produção Vegetal na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.

Rafaela Araújo Guimarães

Engenheira-agrônoma, doutora em fitopatologia, pós-doutoranda na Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Renata de Lima

Bióloga, doutora em Ciências Médicas, professora na Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP.

Renato Vasconcelos Botelho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia / Horticultura, professor na Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava, PR.

Robinson Martins Venancio

Engenheiro-agrônomo, pesquisador na CWR Pesquisa Agrícola, Palmeira, PR.

Rosa Hermosa

Farmacêutica, doutora em Farmácia, catedrática de Microbiologia do Instituto Hispano-Luso de Investigações Agrárias (CIALE), Universidade de Salamanca, Espanha.

Rosa Maria Valdebenito Sanhueza

Engenheira-agrônoma, doutora, pesquisadora do Centro de Pesquisa Proterra, Vacaria, RS.

Sérgio Florentino Pascholati

Biólogo, doutor em Fitopatologia, professor da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

Sérgio Miguel Mazaro

Engenheiro-agrônomo, doutor em Produção Vegetal, professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Silvânia Helena Furlan

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora do Instituto Biológico, Campinas, SP.

Suélen Mazon

Engenheira-agrônoma, mestranda na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.

Sueny Kelly Santos de França

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, professora da Universidade Federal Rural da Amazônia, Capanema, PA.

Tariane Alves Machado-Rosa

Engenheira-agrônoma, mestre em Fitossanidade, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

Thatyane Pereira de Sousa

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, professora da Faculdade Vale do Aço, Açailândia, MA.

Thiago de Oliveira Vargas

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia, professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.

Ubiraci Gomes de Paula Lana

Químico, doutor em Genética, analista da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Valter Cruz-Magalhães

Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Biologia Molecular, pós-doutorando na Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Vanessa Nathalie Modesto Boratto

Engenheira-agrônoma, pesquisadora da CWR Pesquisa Agrícola, Palmeira, PR.

Victor Hugo Moura de Souza

Biólogo, mestre em Fitopatologia, doutorando na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

Vinicius Adão Bartnicki

Engenheiro-agrônomo, doutor em Produção Vegetal, pesquisador do Centro de Pesquisa Proterra, Vacaria, RS.

Wagner Bettiol

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

Wilson Story Venancio

Engenheiro-agrônomo, doutor em Proteção de Plantas, pesquisador da CWR Pesquisa Agrícola, Palmeira, PR; professor da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR.

Zayame Vegette Pinto

Engenheira-agrônoma, doutora em Proteção de Plantas, pesquisadora da Ballagro Agro Tecnologia Ltda, Bom Jesus dos Perdões, SP.

APRESENTAÇÃO

A necessidade de aumentar a produção global de alimentos, bioenergia e têxteis gerou grandes investimentos em desenvolvimento tecnológico e inovação nas últimas décadas, acelerando a produção de diversas culturas, com otimização das áreas agricultáveis.

Mesmo assim, nem sempre o aumento da produção agrícola andou lado a lado com a adoção de boas práticas de manejo fitossanitário, resultando em alguns desequilíbrios e agravamento de algumas doenças, tornando difícil e oneroso o seu controle.

Na busca pela integração de diversas opções de medidas de manejo de doenças de plantas, o controle biológico ganhou espaço e vem se consolidando no mercado agrícola, com o registro e lançamento de vários produtos nos últimos anos.

No Brasil, um dos principais agentes de controle biológico é o fungo *Trichoderma* spp., pela sua ampla adaptação às condições ambientais do País e pela grande variabilidade e especificidade de controle a determinados patossistemas.

Muitos dados de pesquisa vêm sendo gerados no Brasil acerca do uso de *Trichoderma* spp. na agricultura, e é com prazer que apresentamos este livro, que reúne boa parte destas informações.

A Embrapa espera, assim, continuar contribuindo para o avanço do conhecimento e geração de tecnologias nesta área, visando trazer mais sustentabilidade ao manejo de doenças de plantas.

José Renato Bouças Farias
Chefe Geral
Embrapa Soja

A agricultura brasileira responde por grande parte da produção mundial de alimentos, têxteis e energia renovável, e representa uma das poucas opções que permitem produção econômica e ambientalmente sustentável. Graças ao desenvolvimento tecnológico e ao empreendedorismo do produtor rural, o Brasil aumentou significativamente a produtividade na agricultura, otimizando e preservando o uso da terra.

Contudo, nas últimas décadas, a rápida expansão da agricultura, destacando-se a região dos Cerrados, propiciou alguns desequilíbrios, devido principalmente ao monocultivo, o que resultou no agravamento de problemas fitossanitários. Se medidas de controle não passarem a ser adotadas, poderá ocorrer o comprometimento da sustentabilidade dos sistemas de produção.

O manejo integrado de doenças de plantas é fundamental para a manutenção da estabilidade de produção, cuja implementação ocorre pela adoção conjunta de várias medidas de controle, como a utilização de cultivares resistentes, de sementes com alta qualidade sanitária e fisiológica, de rotação de culturas não hospedeiras, de práticas culturais que desfavoreçam o patógeno, do uso de controle químico e biológico, entre outras.

Neste contexto, a adoção do controle biológico de doenças de plantas apresentou crescimento nas últimas décadas no País, fruto de investimentos em pesquisa e inovação por parte de diferentes instituições públicas e privadas. Nas últimas safras, sua adoção vem crescendo em torno de 20% ao ano, como uma consequência da conscientização da necessidade de diversificação de medidas de controle, de posicionamentos técnico mais assertivo e da melhoria da qualidade dos produtos disponibilizados ao mercado.

As informações técnicas referentes a utilização correta de produtos à base de agentes de biocontrole estavam dispersas em diferentes meios de divulgação, muitas vezes desconexas, o que dificultava o acesso e a interpretação para a definição de estratégias de controle. Assim, surgiu a ideia de agrupar em uma obra, informações acerca do fungo *Trichoderma* spp., um dos principais microrganismos utilizados como antagonista de patógenos de plantas.

Esta obra teve sua concepção no 50º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, realizado em Uberlândia, MG, em agosto de 2017, quando os editores consultaram diversos fitopatologistas sobre a viabilidade e alcance de um livro abordando os usos de *Trichoderma* spp. na agricultura. A receptividade foi unânime e empolgante pelos colegas, o que deu início a formatação do livro, subdividido em quatro partes: cenários, taxonomia e fisiologia das interações com plantas e patógenos, qualidade de produtos formulados e aplicação em culturas específicas.

Obviamente esta obra não esgota todos os assuntos relativos a este importante agente de biocontrole, mas sinceramente esperamos que sirva de incentivo à continuidade de estudos mais aprofundados, diversificados e inovadores, o que certamente trará grande contribuição à agricultura.

Boa leitura!

Os editores

PARTE I - CENÁRIOS

Capítulo 1	
Uso atual e perspectivas do <i>Trichoderma</i> no Brasil	21
Capítulo 2	
Produtos comerciais à base de <i>Trichoderma</i>	45

PARTE II - TAXONOMIA E FISIOLOGIA

Capítulo 3	
O gênero <i>Trichoderma</i>	163
Capítulo 4	
<i>Trichoderma</i> e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas.....	181
Capítulo 5	
<i>Trichoderma</i> : metabólitos secundários	201
Capítulo 6	
<i>Trichoderma</i> : interações e estratégias	219
Capítulo 7	
Indução de resistência por <i>Trichoderma</i>	235

PARTE III - QUALIDADE

Capítulo 8	
Produção industrial de <i>Trichoderma</i>	255
Capítulo 9	
Controle de qualidade de produtos biológicos à base de <i>Trichoderma</i>	275
Capítulo 10	
Uso de micro e nanotecnologia com <i>Trichoderma</i>	297
Capítulo 11	
Riscos da produção de microrganismos de forma artesanal	315
Capítulo 12	
Compatibilidade de produtos à base de <i>Trichoderma</i> com fungicidas utilizados no tratamento de sementes.....	323
Capítulo 13	
Avaliação à campo de <i>Trichoderma</i> em mofo-branco	339

PARTE IV - APLICAÇÕES

Capítulo 14
Uso do *Trichoderma* na cultura do arroz 349

Capítulo 15
Uso do *Trichoderma* na cultura do algodão..... 361

Capítulo 16
Uso do *Trichoderma* na cultura da batata 381

Capítulo 17
Uso de *Trichoderma* na cultura do feijão-comum 393

Capítulo 18
Uso do *Trichoderma* em cereais..... 407

Capítulo 19
Mofo-branco em soja – ensaios cooperativos..... 417

Capítulo 20
Uso do *Trichoderma* na cultura da banana 433

Capítulo 21
Uso do *Trichoderma* na cultura do cacau..... 445

Capítulo 22
Uso do *Trichoderma* em hortaliças 455

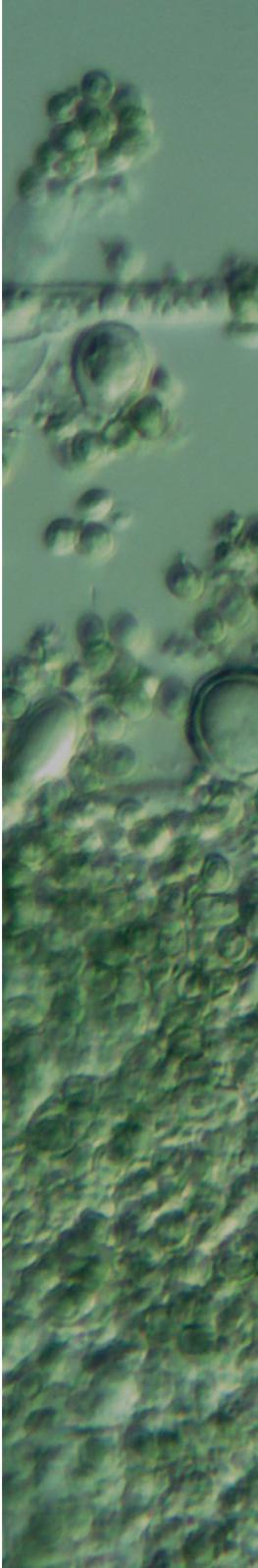
Capítulo 23
Uso do *Trichoderma* na cultura da maçã..... 471

Capítulo 24
Uso do *Trichoderma* na cultura do melão..... 479

Capítulo 25
Uso do *Trichoderma* na cultura do morango..... 493

Capítulo 26
Uso do *Trichoderma* na cultura da uva..... 507

Capítulo 27
Uso do *Trichoderma* em culturas florestais..... 521



PARTE I CENÁRIOS

Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil

Wagner Bettiol

Juliano Cesar da Silva

Maria Luiza Marcico Publio de Castro

Conceitos

No transcorrer dos capítulos do livro, diversos termos relacionados ao controle biológico de doenças de plantas são utilizados. Assim, é de extrema importância que estes termos sejam conceituados. Controle biológico será utilizado neste livro, que é dedicado exclusivamente ao mais importante gênero de fungos considerados como agentes de controle biológico de doenças de plantas, como o controle de um organismo por outro organismo, ou ainda o controle de um agente causal de uma doença de planta por um microrganismo antagonista. Entretanto, o conceito de controle biológico mais aceito pela comunidade é ... “a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença, provocada por um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não o homem” (Cook; Baker, 1983). Para esses autores, as atividades determinantes das doenças implicam crescimento, infectividade, virulência, agressividade e outras qualidades do patógeno ou processos que determinam a infecção, o desenvolvimento de sintomas e a reprodução. E os organismos incluem: indivíduos ou populações avirulentas, hipovirulentas dentro das espécies patogênicas; plantas hospedeiras manipuladas geneticamente ou por práticas culturais; microrganismos, para maior ou mais efetiva resistência contra o patógeno; e antagonistas dos patógenos (definidos como microrganismos que interferem na sobrevivência ou atividades determinantes de doenças causadas por patógenos). Desta forma, de acordo com Cook e Baker (1983), neste conceito, o controle biológico pode ser acompanhado de: práticas culturais para criar um ambiente favorável para os antagonistas e a resistência da planta hospedeira, ou ambas as coisas; melhoramento das plantas para aumentar a resistência ao patógeno ou para melhor se adaptar às atividades dos

antagonistas; introdução dos antagonistas, isolados não patogênicos e outros organismos ou agentes benéficos; e outras práticas culturais.

Outro termo que será constantemente utilizado nos capítulos é biopesticidas. De acordo com Bettiol (2011) biopesticidas são organismos vivos (fungos, bactérias, protozoários, straminipila e vírus), animais microscópicos (nematóides) e macrorganismos (predadores e parasitoides, insetos e ácaros) ou produtos naturais derivados desses organismos que são usados na proteção das plantas contra problemas fitossanitários. Assim, o termo biofungicidas indica os organismos agentes de biocontrole utilizados para controlar doenças de plantas.

Neste capítulo também será discutida a evolução da legislação brasileira para o registro de produtos de baixa toxicidade e periculosidade, onde se enquadram os produtos contendo agentes de biocontrole.

Mercado

O mercado global de biopesticidas foi de US\$ 6,387 bilhões em 2017 e estima que alcance US\$ 16,7 bilhões até 2024, com uma taxa anual de crescimento - CAGR (compound annual growth rate) de 15% (Markets&Markets, 2019). Entretanto, a previsão de 2012 era de que o mercado atingiria em 2017 o valor de US\$ 3,2 bilhões. Esses dados indicam o acentuado crescimento deste método de controle no mundo. Por outro lado, a CAGR para o mercado de pesticidas químicos está prevista para 2,3% ao ano até 2023, devendo atingir o valor US\$ 55,6 bilhões.

No ano de 2018 a indústria brasileira de controle biológico registrou um dos maiores índices de crescimentos de vendas de sua história. O conjunto das empresas associadas à Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABCBio), que representa 70% do mercado, fechou o ano com vendas totais da ordem de R\$ 464,5 milhões, resultando numa expansão de 77% (Brasil, 2019), referente ao faturamento de R\$ 262,4 milhões obtidos no ano de 2017. Os dados foram apurados em levantamento do Departamento de Estatística da entidade. Estes dados demonstram a tendência de maior adoção da tecnologia por parte do agricultor. Dentre os biopesticidas, o mercado brasileiro para os biofungicidas apresentou um incremento de 148% em 2018, quando comparado com o ano anterior. Estes dados demonstram o interesse pelo agricultor na utilização da tecnologia. Atualmente, os biofungicidas registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa) são à base de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma koningiopsis* e *Trichoderma stromaticum* (Figura 1), além de biofungicidas à base de *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus methylotrophicus*.

Apesar do avanço nos últimos anos, os biopesticidas representam menos do que 20% dos pesticidas registrados no Brasil em 2019 (Agrofit, c2003). Em agosto de 2011 havia somente 27

produtos à base de agentes de biocontrole registrados no Brasil, em meados de 2018 esse número chegou a 137 e subiu para 200 em março de 2019 (Agrofit, c2003). Esses dados indicam a importância dos biopesticidas no agronegócio brasileiro.

Trichoderma mudou completamente o cenário de controle biológico de doenças de plantas no Brasil. O primeiro produto disponibilizado no mercado para uso no Brasil, à base de *Trichoderma*, foi em 1987. O produto continha grãos de sorgo colonizados por *Trichoderma viride* para o controle de *Phytophthora cactorum*, sendo produzido pela Embrapa Clima Temperado. Entretanto, o aumento da produção e uso de *Trichoderma* ocorreu após o ano 2000. O primeiro registro de um produto comercial à base de *Trichoderma* foi em 2006 (Bettiol et al., 2014). Em 2008 produtos à base de *Trichoderma* foram aplicados em aproximadamente 600.000 ha de soja para o controle do mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum*. A importância de produtos à base de *Trichoderma* para o Brasil, pode ser avaliada pela área tratada já em 2010 que foi superior a 1,2 milhões de ha, tendo chegado a mais de 5 milhões de ha em 2015.

Analisando os biofungicidas à base de *Trichoderma*, no ano 2019, o número total de produtos registrados no Mapa, à base de espécies deste bioagente, foi de 21 (Figura 1). Destes, 66% dos produtos registrados são à base de *Trichoderma harzianum*, 24% à base de *Trichoderma asperellum*, 5% à base de *Trichoderma koningiopsis* e 5% à base de *Trichoderma stromaticum* (Figura 2).

Os biofungicidas à base de *Trichoderma* são utilizados no Brasil para as culturas da soja, algodão, milho, feijão, morango, citros, cana-de-açúcar, café, tabaco, hortaliças, ornamentais, frutíferas e espécies florestais. Em diversas situações produtos à base de *Trichoderma* são utilizados para promoção de crescimento. Inclusive no Brasil tem um produto registrado com esta finalidade (Tabela 1).

Outro aspecto fundamental para o crescimento do mercado de controle biológico no Brasil foi o avanço na legislação. Sem os recentes avanços coordenados entre Mapa, Ibama e Anvisa, as empresas teriam dificuldades em obter o registro dos produtos. Assim, o próximo item deste capítulo discute exatamente a evolução da legislação brasileira para o registro de produtos de baixa toxicidade e periculosidade, onde estão incluídos os agentes de biocontrole.

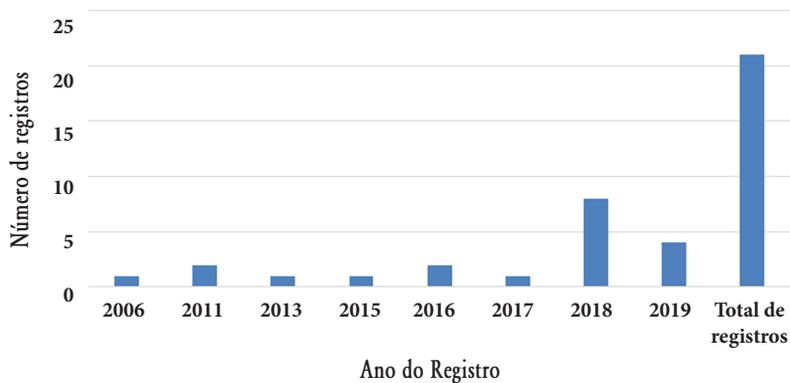


Figura 1. Número de biofungicidas à base de *Trichoderma* spp. registrados no Brasil.

Fonte Agrofit (c2003).

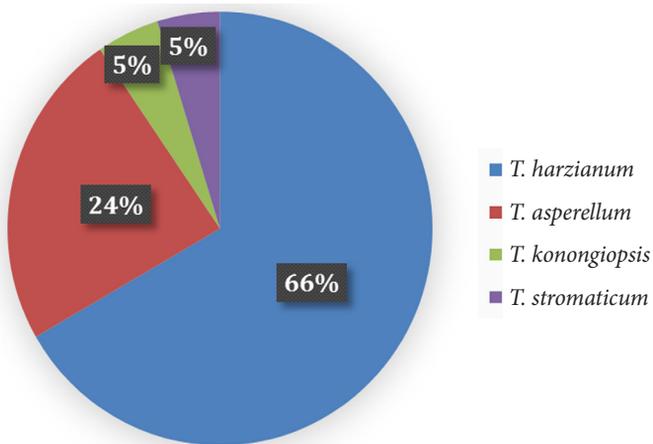


Figura 2. Biofungicidas registrados à base das espécies de *Trichoderma* no Brasil em porcentagem.

Fonte: Agrofit (c2003).

Tabela 1. Produtos biológicos formulados à base de *Trichoderma* spp. e registrados no mercado brasileiro¹ (Agrofit, c2003).

Microorganismo antagonista	Produto (Empresa) e ano de registro	Concentração Declarada - produto comercial	Formulação	Alvo
<i>Trichoderma asperellum</i>	Quality (Laboratório de Bio Controle Farroupilha Ltda)/2011	1,5 x 10 ¹⁰ UFC/g	Granulado dispersível	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Organic WP (Laboratório de Bio Controle Farroupilha Ltda)/2016	1,0 x 10 ¹⁰ UFC/g	Pó-molhável	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>
	Trichodermax EC (Novozymes)/2011	1,5 x 10 ⁸ conídios viáveis/mL	Concentrado emulsionável	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>glycines</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Tricho-Turbo (Biovalens)/2018	1,0 x 10 ¹⁰ conídios viáveis/mL	Concentrado emulsionável	<i>Rhizoctonia solani</i>
	Bio-Hulk (Biovalens)/2019	1,5 x 10 ¹⁰ conídios viáveis/mL	Concentrado emulsionável	<i>Rhizoctonia solani</i>
	Ecotrich WP (Ballagro)/2013	1,0 x 10 ¹⁰ UFC/g	Pó-molhável	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Predatox (Ballagro)/2011	2,0 x 10 ⁸ UFC/mL	Suspensão concentrada	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Majestic (Ballagro)/2018	1,0 x 10 ¹⁰ UFC/g	Pó-molhável	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Trichodermil SC (Koppert)/2006	2,0 x 10 ⁸ conídios viáveis/mL	Suspensão concentrada	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>Pratylenchus zaei</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Thielaviopsis paradoxa</i>
	Trichodermil DS (Koppert)/2018	1,0 x 10 ⁸ UFC/g	Granulado dispersível	<i>Macrophomina phaseolina</i> e <i>Pratylenchus brachyurus</i>
<i>Trichoderma harzianum</i>	Trichodermil Super SC 1306 (Koppert)/2019	2,0 x 10 ⁹ conídios viáveis/mL	Suspensão concentrada	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>Pratylenchus zaei</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Thielaviopsis paradoxa</i>
	Octane (Koppert)/2018	2,0 x 10 ⁸ conídios viáveis/mL	Suspensão concentrada	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Daytona (Koppert)/2018	2,0 x 10 ⁸ conídios viáveis/mL	Suspensão concentrada	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>Pratylenchus zaei</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Thielaviopsis paradoxa</i>
	Triaction (Koppert)/2018	1,0 x 10 ⁸ UFC/g	Grânulo dispersível	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Trianium WG (Koppert)/2017	1,0 x 10 ⁸ UFC/g	Grânulo dispersível	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Stimucontrol (Simbiose)/2016	1,0 x 10 ⁹ UFC/L	Suspensão concentrada	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Trychonyd FR 25 (TZ Biotech)/2019	1,1 x 10 ⁸ UFC/cm ²	Gel emulsionável	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Rizoderma (Ballagro)/2019	1 x 10 ¹⁰ UFC/g	Pó-molhável	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>
	Bio Zenon (Simbiose)/2019	1,0 x 10 ⁹ UFC/L	Suspensão concentrada	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Natucontrol (Nufarm)/2019	1 x 10 ⁷ UFC/g	Pó-molhável	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i>

continua...

Tabela 1. Continuação

Microrganismo antagonista	Produto (Empresa) e ano de registro	Concentração Declarada - produto comercial	Formulação	Alvo
<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Shocker (Agrivalle)/2018	1,0 x 10 ⁷ UFC/g + 1,0 x 10 ⁸ UFC/g	Pó-molhável	<i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	Diamond (Farroupilha)/2018	3,0 x 10 ⁹ UFC/g	Grânulo dispersível	<i>Heterodera glycines</i> , <i>Meloidogyne</i> e <i>Pratylenchus brachyurus</i>
<i>Trichoderma stromaticum</i>	Tricovab (Ceplac)/2012	2,3 x 10 ⁸ esporos/g	Pó-molhável	<i>Monilophthora perniciosa</i>

¹Estes são os bioprodutos registrados. Entretanto, até o momento, diversos outros continuam sendo comercializados sem registro. No mercado brasileiro existe um bioproduto à base de *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e *T. koningiopsis* registrado como inoculante (ICB Nutrisolo, da empresa ICB). ²UFC: unidades formadoras de colônia.

Evolução da legislação brasileira para o registro de produtos de baixa toxicidade e periculosidade

O registro de um produto é a forma legal de sua comercialização no país, seja por intermédio de formulação/fabricação dos seus componentes e/ou de importação/exportação do mesmo. O objetivo do registro, entre outras coisas, é garantir a segurança da população e do meio ambiente, além de garantir padrões de qualidade e eficiência dos produtos.

O Brasil tem uma das mais avançadas legislações para registro de produtos voltados a agricultura brasileira e a ambientes urbanos do mundo. Conectadas as essas legislações estão diversas outras que também devem ser observadas pelos empreendedores que buscam a legalização de seus produtos. Por mais paradoxal que seja, no Brasil, os Produtos de Baixa Toxicidade e Periculosidade, como por exemplo, os produtos biológicos utilizados no controle de pragas e doenças agrícolas, em função do seu enquadramento, são regulados pela Lei nº 7.802/89 (Brasil, 1989), a Lei de Agrotóxicos e Afins. Ressalta-se ainda que não é a origem dos produtos que os classifica nesse contexto, mas sim a finalidade para a qual os produtos se destinam, ou seja, controlar seres vivos considerados nocivos (Castro e Oliveira-Filho, 2006).

Um produto é definido como agrotóxico ou afim, segundo regulamentação, se for um produto ou agente “de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos”. Nesse contexto, se enquadram na legislação os agentes de controle biológico (Brasil, 2006a), os agentes de controle microbiológico (Brasil, 2006b), os semioquímicos (Brasil, 2006c) e os bioquímicos (Brasil, 2006d).

Anteriormente a Lei de Agrotóxicos e Afins, a legislação que regulamentava o setor era extremamente antiga, tendo como base o Decreto nº 24.114/34 (Brasil, 1934). Naquela época, o registro de produtos agrotóxicos era de competência apenas do Ministério da Agricultura. A Lei nº 7.802/89 (Brasil, 1989) trouxe uma série de inovações e benefícios garantindo a segurança da população e do meio ambiente, assegurando padrões de qualidade e eficiência, além do uso seguro dos agrotóxicos no país, envolvendo conjuntamente três órgãos federais como regulamentadores: o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, vinculada ao Ministério da Saúde) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (Ibama, vinculado ao Ministério do Meio Ambiente). Todo o detalhamento dos requisitos necessários ao registro dos produtos agrotóxicos e afins encontra-se estabelecido no Decreto 4.074/02 (Brasil, 2002), que, além de mencionar a necessidade de publicação de demais instrumentos jurídicos normativos específicos existentes para cada produto considerado de Baixa Toxicidade e Periculosidade, levanta a questão da priorização e avaliação diferenciada dessa categoria de produtos.

Um fator complicador para alavancar a priorização e a avaliação diferenciada dos produtos considerados de Baixa Toxicidade e Periculosidade, de que trata o Decreto 4.074/02 (Brasil, 2002), é a inexistência de norma que defina o termo “Baixa Toxicidade e Periculosidade”. Esse detalhe é de extrema importância, pois sem uma definição apropriada, cada um dos órgãos federais regulamentadores, pode interpretar a sua maneira, quais produtos, analisados caso a caso, devem ou não receber a tramitação priorizada, estabelecida no Decreto. Cabe ressaltar que a avaliação para esses produtos não segue um padrão prévio, como acontece com os agrotóxicos químicos convencionais, uma vez que apresentam peculiaridades que os colocam em uma situação individualizada e, muitas vezes, inéditas para o avaliador (Castro e Oliveira-Filho, 2006). Esse ineditismo vem ocorrendo com frequência, pois com o avanço da ciência, novos produtos chamados de “alternativos” surgem constantemente no mercado.

Anteriormente a publicação de normas específicas que contemplassem os requisitos técnicos exigidos para o registro, diferenciando os produtos de baixa toxicidade e periculosidade dos agrotóxicos convencionais, todo o processo de avaliação e registro, era voltado exclusivamente para a avaliação de substâncias químicas. Os demais produtos enquadrados na mesma Lei, totalmente distintos, também seguiam os mesmos protocolos. Somente a partir da publicação da Portaria Normativa Ibama nº 131/97 (Ibama, 1997), iniciou-se a aplicação de requisitos diferenciados para a regulação de produtos com base em agentes microbiológicos de controle, diferenciando-os dos agrotóxicos químicos convencionais, aplicando-se o sistema de fases para desenvolver a sua avaliação.

Esse primeiro avanço, frente à regulamentação dos produtos agrotóxicos, além de reduzir o número de estudos obrigatórios para o registro dos produtos considerados de baixa toxicidade

e periculosidade minimizando os custos em relação a apresentação de dados, teve a intenção de otimizar o tempo de avaliação dos pleitos de registro de produtos com essa característica.

Um problema enfrentado quando da publicação da Portaria nº 131/97 (Ibama, 1997) foi a harmonização dos requisitos necessários para a elaboração dos processos de registro dos Produtos Microbiológicos, uma vez que a Lei de Agrotóxicos e Afins definiu a competência conjunta entre Anvisa, Mapa e Ibama para a avaliação e registro dos mesmos e somente o Ibama apresentou esse documento jurídico detalhando quais seriam os parâmetros técnicos exigidos para um pleito de registro. Neste sentido, a Anvisa, também entendendo que seus regulamentos existentes para Agrotóxicos e Afins relativos a saúde humana, tais como a Portaria nº 03/92 (Brasil, 1992), não tratavam especificamente de Produtos Microbiológicos, publicou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 195/02 (Anvisa, 2002), com o objetivo de diferenciar e priorizar o registro destes produtos no contexto dos Agrotóxicos e Afins.

A harmonização das normas e requisitos técnicos para o Registro de Produtos Biológicos, com base na Lei de Agrotóxicos e Afins, se completou com a publicação de Instruções Normativas Conjuntas, mencionadas pelo Decreto nº 4.074/02, ao estabelecer a priorização para avaliação diferenciada dessa categoria de produtos. A Instrução Normativa Conjunta nº 3/06 (Brasil, 2006b), que trata da regulamentação de Produtos Microbiológicos, contemplando todos os aspectos referentes às avaliações da Anvisa, Ibama e Mapa, é o exemplo principal dessa questão.

Os instrumentos legais depois de harmonizados entre os órgãos governamentais competentes pelo registro dos Produtos considerados de baixa toxicidade e periculosidade, inseridos na Lei de Agrotóxicos e afins, mantiveram a divisão em fases, dos requisitos técnicos obrigatórios a serem apresentados durante o processo de registro conforme sugerido originalmente pela Portaria Normativa Ibama nº 131/97 (Ibama, 1997), específica para Produtos Microbiológicos. Com a manutenção desse sistema, o Governo Federal evidenciou a tentativa de reduzir alguns vieses existentes na legislação, aumentando a possibilidade de registro desses produtos no mercado brasileiro (Rangel, 2006). Essa avaliação é realizada com base no entendimento de que, quanto menor a toxicidade de produtos usados no controle de pragas e doenças, maior será a segurança da população e do meio ambiente.

Considerando a possível baixa toxicidade dos produtos, o escopo da análise divide-se em três fases distintas (I, II e III) (Tabelas 2 a 8) e objetiva exigir o que é realmente necessário para comprovar a toxicidade desses produtos como é o caso dos Produtos Microbiológicos. A Fase I consiste em uma bateria de testes de curta duração. Caso nenhum efeito adverso seja observado nesta primeira fase, não há necessidade da realização dos demais testes das Fases II e III. A Fase II avalia uma situação particular, quando são encon-

trados indícios de toxicidade ou efeitos adversos na Fase I. Quando forem observados danos nos resultados dos estudos da Fase II, devem ser realizados diretamente os estudos da Fase III.

Outro exemplo importante que demonstra avanços na diferenciação dos Produtos de Baixa Toxicidade e Periculosidade daqueles considerados Agrotóxicos convencionais são os requisitos exigidos pela Instrução Normativa Conjunta nº 25/05 (Brasil, 2005), que trata do Registro Especial Temporário (RET), mecanismo criado pelo governo, para ser informado sobre as pesquisas e experimentações que estão em condução no Brasil na área de defesa vegetal. Para receber o Certificado de RET é necessário o envio de informações para que o governo tome ciência sobre as pesquisas de eficácia e da toxicidade do produto. Em se tratando dos Produtos Microbiológicos dentre outros, considerados diferentes daqueles Agrotóxicos convencionais, não há necessidade de pagamento da Taxa de RET, estabelecida pelo Ibama, que pode variar de R\$ 1.443,54 (Hum mil, quatrocentos e quarenta e três reais e cinquenta e quatro centavos) a R\$ 5.779,59 (cinco mil, setecentos e setenta e nove reais e cinquenta e nove centavos). Até este momento, a mudança acontece somente no Ibama, pois as taxas cobradas pela Anvisa, a depender do porte da Empresa, continuam as mesmas. Outro exemplo de evolução da legislação visando minimizar as dificuldades para o registro de produtos considerados de baixa toxicidade devido as exigências, é o da não necessidade de destruição das áreas de terceiros após utilizadas para a experimentação com produtos como os Agentes Biológicos de Controle (parasitoides e predadores) - Instrução Normativa Conjunta nº 2/06 (Brasil, 2006c), além dos Produtos Semioquímicos. Antes da publicação da Instrução Normativa Conjunta nº 25/05 (Brasil, 2005), o proprietário da terra deveria receber uma indenização pela destruição dos restos culturais, pois não poderia mais utilizar a cultura para nenhuma finalidade.

Ao longo dos anos, algumas soluções foram implantadas pelos órgãos governamentais na tentativa de otimizar a tramitação dos pleitos de registro submetidos à Lei de Agrotóxicos e Afins. O Sistema Eletrônico de Requerimento de Análise de Registro Especial Temporário (SISRET) foi uma dessas soluções. Porém, desde a sua implantação até o momento, o SISRET atende somente as necessidades dos Agrotóxicos químicos convencionais. Ainda não são contemplados pelo sistema eletrônico produtos biológicos e/ou naturais, considerados de Baixa Toxicidade e Periculosidade, que continuam tendo seus pleitos submetidos aos órgãos regulamentadores por meio de processos em papel. Isso diminui a agilidade da análise necessária, já que os protocolos eletrônicos são recebidos e analisados de imediato, enquanto que aqueles recebidos em papel seguem por outro caminho de tramitação até chegar às mesas dos técnicos analistas.

Outras importantes iniciativas apresentadas pelo governo visando agilizar o registro dos produtos de Baixa Toxicidade e Periculosidade foram trazidas com a publicação do Decreto nº 6.323/07 (Brasil, 2007) que disciplinou as atividades da Lei de Orgânicos nº 10.831/03

(Brasil, 2003) estabelecendo que os insumos com uso regulamentado para agricultura orgânica deveriam ser objeto de processo de registro priorizado e diferenciado. Neste contexto, o Mapa teria a responsabilidade de garantir sua simplificação e agilização estabelecendo procedimentos técnicos em atos complementares, em conjunto com os demais órgãos federais envolvidos na avaliação e registro desses produtos, Anvisa e Ibama.

Mesmo assim, somente com a publicação do Decreto nº 6.913/09 (Brasil, 2009) a conexão da Lei de Orgânicos com a Lei de Agrotóxicos e Afins ficou melhor entendida, uma vez que este Decreto, acresceu aos dispositivos do Decreto 4.074/02 (Brasil, 2002), que regulamenta a Lei de Agrotóxicos e Afins, definições como a de Produto Fitossanitário com uso na Agricultura Orgânica e também a definição de Especificação de Referência, como sendo especificações e garantias mínimas que os produtos fitossanitários com uso aprovado na agricultura orgânica deverão seguir para a obtenção de registro. O Decreto nº 6.913/09 e a INC n 1 (Brasil, 2011a) detalharam ainda, os procedimentos a serem seguidos para o registro desses produtos.

Até o fim de 2018 foram publicadas 36 (trinta e seis) Especificações de Referência, apresentando as características e os padrões de concentração estabelecidos pelo Governo para o registro de produtos como Produto Fitossanitário com uso aprovado na Agricultura Orgânica, tendo garantida a forma simplificada de organização dos processos, bem como a priorização e agilização da análise dos pleitos em cada um dos órgãos federais regulamentadores, Mapa, Anvisa e Ibama.

Os produtos que fazem parte da lista positiva das Especificações de Referência publicadas até este momento pelo Governo são:

a) Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 02 de 12 de julho de 2013 (Brasil, 2013).

1 - *Cotesia flavipes*; 2 - *Trichogramma galloi*; 3 - *Neoseiulus californicus*; 4 - Isca vegetal à base de *Tephrosia candida*; 5 - Baculovírus *Anticarsia gemmatalis*; 06 - Baculovírus *Condylorthiza vestigialis*; 7 - *Metarhizium anisopliae* isolado IBCB 425; 8 - *Trichoderma stromaticum* isolado CEPLAC 3550; 9 - *Azadirachta indica* (item alterado pela INC SDA/SPRC nº 1 de 6 de novembro de 2015) (Brasil, 2015b); 10 - *Beauveria bassiana* IBCB 66; 11 - *Phytoseiulus macropilis*; 12 - *Trichogramma pretiosum*; 13 - Regulador de crescimento à base de *Ecklonia máxima*; 14 - Terra de diatomácea (dióxido de silício); 15 - *Paecilomyces lilacinus* isolado UEL Pae 10;

b) Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 01 de 06 de fevereiro de 2015 (Brasil, 2015a):

16 - *Stratiolaelaps scimitus*; 17 - *Deladenus (Beddingia) siricidicola*; 18 - *Cryptolaemus montrouzieri*; 19 - *Trichoderma asperellum* isolado URM-5911; 20 - Baculovírus *Spodoptera frugiperda* (item alterado pela INC SDA/SPRC nº 1 de 6 de novembro de 2015) (Brasil, 2015b).

c) Instrução Normativa Conjunta SDA/SPRC nº 1, de 6 de novembro de 2015 (Brasil, 2015b):

9 - *Azadirachta indica* (item 9 do Anexo I e o item 20 do Anexo II, ambos da Instrução Normati-

va Conjunta SDA/SDC nº 2, de 12 de julho de 2013 (Brasil, 2013), alterado pela INC SDA/SPRC nº 1 de 6 de novembro de 2015) (Brasil, 2015b); 20 - Baculovirus *Spodoptera frugiperda*; 21 - *Chrysoperla externa*; 22 - *Trissolcus basalisi*; 23 - *Orius insidiosus*; 24 - *Trichoderma asperellum* isolado CBMAI 840 (T-211); 25 - *Bacillus subtilis* isolado UFPEDA 764; 26 - *Trichoderma harzianum* isolado IBLF006; 27 - *Bacillus methylotrophicus* isolado UFPEDA 20.

d) Instrução Normativa Conjunta SDA/SMC nº 1, de 28 de novembro de 2017 (Brasil, 2017):

28 - *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* isolado HD-1 (S1450) (CCT1306); 29 - *Beauveria bassiana* isolado CBMAI 1306.

e) Instrução Normativa Conjunta SDA/SMC nº 1, de 16 de abril de 2018 (Brasil, 2018a):

30 - *Beauveria bassiana* isolado IBCB 66 + *Metarhizium anisopliae* isolado IBCB 425.

f) Instrução Normativa Conjunta SDA/SMC nº 2, de 29 de agosto de 2018 (Brasil, 2018b):

31 - Acetato de (Z)-8-dodecenila + Acetato de (E)-8-dodecenila + (Z)-8-dodecenol (monitoramento - uso em armadilha); 32 - Acetato de (E)-8-dodecenila + Acetato de (Z)-8-dodecenila + (Z)-8-dodecenol (monitoramento - uso em armadilha); 33 - Acetato de (Z)-8-dodecenila + Acetato de (E)-8-dodecenila + (Z)-8-dodecenol (disrupção do acasalamento); 34 - Acetato de (E)-8-dodecenila + Acetato de (Z)-8-dodecenila + (Z)-8-dodecenol (disrupção do acasalamento); 35 - *Bacillus thuringiensis* isolado CBMAI 1398; 36 - *Diachasmimorpha longicaudata*.

Exemplos importantes dos avanços da legislação trazendo benefícios aos produtos considerados de Baixa Toxicidade e Periculosidade em relação aos agrotóxicos convencionais são o da publicação do ATO Mapa No. 6 de janeiro de 2014 (Brasil, 2014), que autorizou o uso desses produtos para controle nos alvos biológicos indicados em qualquer cultura nas quais ocorram, excetuando-se casos em que houver restrições pelos órgãos competentes, facultando às empresas indicar ou não em rótulo e bula, a eficiência do produto comprovada para culturas especificamente testadas. Também, o ATO Mapa No. 105, de 28 de dezembro de 2018 (Brasil, 2018c), dispensa a realização de testes de Toxicidade/Patogenicidade e de Ecotoxicidade na Fase I das avaliações para os produtos à base de Baculovirus, em função de suas características, reconhecendo esses como típicos patógenos de artrópodes e apresentando alta especificidade com relação a espécie-alvo.

Outros exemplos referem-se ao conteúdo das informações obrigatórias dispostas em rótulo e bula para produtos de baixa toxicidade, bem como o uso de pictogramas tais como caveira com duas tibias cruzadas entre outros símbolos que ao longo desta evolução, também foram entendidos, pelo Governo, como inadequados. Neste sentido, produtos de origem biológica, quando dispensados de apresentação de estudos toxicológicos conforme legislação específica, ficam dispensados de incluir o pictograma referente à caveira com as duas tibias cruzadas em seus rótulos e bulas, além de serem enquadrados na categoria de “Produto Não Classificado,

conforme as resoluções RDC Anvisa 296/19 e RDC Anvisa 294/19, além de apresentar a faixa verde ou branca de identificação, seguindo as diretrizes de rotulagem do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos GHS, adotadas pela Anvisa (Brasil 2019a; 2019b).

O avanço da legislação brasileira no que tange a regulamentação do registro de produtos diferenciados dos agrotóxicos convencionais visa trazer para a legalidade produtos que fazem parte de alternativas sustentáveis para o controle de pragas na agricultura brasileira. Mesmo assim, o enquadramento dos produtos considerados de Baixa Toxicidade e Periculosidade como os Produtos Microbiológicos, além de tantos outros na definição de Agrotóxicos e Afins, trouxe dificuldades para seu registro, devido a complexidade dos requisitos técnicos exigidos, bem como dos custos relacionados a obtenção de todos esses dados. Tantas inovações implantadas pelo Governo com descritas acima, ainda enfrentam dificuldades com o número diminuto de técnicos especializados voltados para a análise desses produtos diferenciados daqueles agrotóxicos convencionais, dentro dos Órgãos Federais, comprometendo assim, a agilidade da liberação dos processos.

O imprescindível é lembrar que o registro dos produtos Agrotóxicos e Afins é uma condição obrigatória, porém não suficiente, para toda e qualquer atividade que utilize esses produtos no Brasil. Para usufruir dos direitos adquiridos pelo Certificado de Registro, um titular de registro não deve esquecer de observar todas as eventuais normas legais que regem o setor.

Tabela 2. Estudos Requeridos para a Avaliação Toxicológica, Ecotoxicológica e da Patogenicidade de Produtos Microbiológicos segundo a INC N^o 03/2006. Estudos Requeridos para a Caracterização do Produto.

Propriedades Físico-Químicas		
3. Miscibilidade (T)	PT ou PF	
4. pH (T)	PT ou PF	
5. Densidade (T)	PT ou PF	
6. Estabilidade (T)	PT ou PF	A luz solar, pH 5, 7,9; ar, temperatura, metais e seus íons
Estabilidade durante armazenagem (T)	PT ou PF	Condições para manutenção do produto
8. Viscosidade (T)	PT ou PF	Apenas para líquidos a temperatura ambiente
9. Características corrosivas (T)	PT ou PF	Em relação a materiais de acondicionamento

Legenda: IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico; PF = produto formulado; T = teste

Tabela 3. Estudos Requeridos para a Avaliação Toxicológica e da Patogenicidade, divididos em três fases distin-

tas: FASE I

Parâmetros	EE	Produto(s) a ser(em) testado (s)	Observações
1. Toxicidade/patogenicidade oral aguda	R	IA ou PT e PF	
2. Toxicidade/patogenicidade pulmonar aguda	R	IA ou PT e PF	
3. Toxicidade/patogenicidade intravenosa aguda	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando o IA for bactéria ou vírus
4. Toxicidade/patogenicidade intraperitoneal	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando o IA for fungo ou protozoário
5. Sensibilização dérmica	R	PT e PF	
6. Cultura de células	CR	IA ou PT	Requerido quando o IA for vírus.
7. Toxicidade cutânea aguda	R	IA ou PT e PF	
8. Irritação/infecção ocular primária	R	IA ou PT e PF	
9. Irritação cutânea primária	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando o microorganismo for taxonomicamente relacionado com outro sabidamente irritante. Dispensado para pH < 2 ou pH > 11

Legenda: EE = especificação da exigência R = requerido CR = condicionalmente requerido

Tabela 4. Estudos Requeridos para a Avaliação Toxicológica e da Patogenicidade, divididos em três fases distintas: FASE II

Parâmetros	EE	Produto(s) a ser(em) testado (s)	OBSERVAÇÕES
1. Toxicidade oral aguda - DL50	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando toxicidade oral, mas não patogenicidade ou infectividade for observada nos estudos agudos da Fase I.
2. Toxicidade inalatória aguda - CL50	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando toxicidade pulmonar, mas não patogenicidade ou infectividade for observada nos estudos agudos da Fase I. Requerido quando infectividade e/ou persistência anormal forem observados, na ausência de patogenicidade e/ou toxicidade dos estudos da Fase I; as vias de exposição devem corresponder àquelas em que efeitos adversos foram observados. Também pode ser exigido para avaliar efeitos adversos devido a contaminantes microbianos ou subprodutos tóxicos, independente de qualquer efeito na Fase I.
3. Toxicidade/ patogenicidade subcrônica	CR	IA ou PT	

Legenda: EE = especificação da exigência; CR = condicionalmente requerido; IA= ingrediente ativo; PT = produto técnico; PF = produto formulado.

Tabela 5. Estudos Requeridos para a Avaliação Toxicológica e da Patogenicidade, divididos em três fases

distintas: FASE III

Parâmetros	EE	produto(s) a ser(em) testado (s)	Observações
1. Efeitos sobre reprodução/ fertilidade e teratogenicidade	CR	IA ou PT	Requerido quando quaisquer das situações seguintes forem observadas: inefectividade do agente de controle em animais no estudo subcrônico da Fase II, porém nenhum sinal de patogenicidade ou toxicidade; se o agente de controle for vírus que possa persistir ou replicar mamíferos; o agente microbiológico não é totalmente patogenicidade ou toxicidade; se o conhecido taxonomicamente e é relacionado a organismos parasíticos a células de mamíferos; quando existam indicações de que possam conter contaminantes que são parasitos de animais. Requerido para produtos que contenham ou sejam suspeitos de conter vírus carcinogênicos. Requerido para produtos que contenham ou sejam suspeitos de conter vírus que possam interagir adversamente sobre componentes do sistema imunológico de mamíferos.
2. Carcinogenicidade	CR	IA ou PT	
3. Resposta de imunidade celular	CR	IA ou PT	

Legenda: EE = especificação da exigência; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico

Tabela 6. Estudos Requeridos para a Avaliação Ecotoxicológica, divididos em três fases distintas: FASE I.

Testes	EE	Produto(s) a ser(em) testado (s)	Observações
1. Oral para aves	R	IA ou PT	
2. Inalatório para aves	CR	IA ou PT	Requerido quando a natureza do agente microbiológico e/ou suas toxinas indicarem patogenicidade potencial p/ aves.
3. Mamíferos silvestres	CR	IA ou PT	
4. Peixes de água doce	R	IA ou PT	
5. Invertebrados de água doce	R	IA ou PT	
6. Animais de estuários e marinhos	CR	IA ou PT	Quando o uso for direto em estuário e ambientes marinhos, ou com expectativa de atingir tais ambientes em concentrações significativas (padrão de uso, mobilidade do agente).
I.7. Plantas não alvo	CR	IA ou PT	
I.8. Insetos não alvo	R	IA ou PT	
I.9. Abelhas	R	IA ou PT	
I.10. Mínhocas	CR	IA ou PT	

Legenda: EE = especificação da exigência; R = requerido; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico.

Tabela 7. Estudos Requeridos para a Avaliação Ecotoxicológica, divididos em três fases distintas: FASE II.

Testes	EE	Produto(s) a ser(em) testado (s)	Observações
1. Comportamento no ambiente terrestre	CR	IA ou PT	Requerido quando efeitos patogênicos ou tóxicos forem observados nos testes da Fase I com organismos terrestres. Requerido quando efeitos patogênicos forem observados nos testes da Fase I com organismos aquáticos de água doce.
3. Comportamento em ambiente estuarino e marinho	CR	IA ou PT	Requerido quando o produto for para aplicação terrestre ou em água doce, e forem observados efeitos tóxicos ou patogênicos em qualquer dos estudos da Fase I com organismos de estuário e marinhos; ou quando o produto for recomendado para ambientes marinhos ou de estuários, ou forem observados efeitos tóxicos ou patogênicos em qualquer dos seguintes testes da Fase I: oral agudo em aves; inalação com aves; toxicidade/patogenicidade em animais marinhos ou de estuários.

Legenda: EE = especificação da exigência; R = requerido; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico.

Tabela 8. Estudos Requeridos para a Avaliação Ecotoxicológica, divididos em três fases distintas: FASE III.

Testes	EE	Produto(s) a ser(em) testado (s)	Observações
1. Organismos terrestres e aquáticos	CR	IA ou PT	Requerido quando efeitos tóxicos sobre organismos não-alvo selvagens, terrestres ou aquáticos forem observados em um ou mais testes da Fase I e os resultados da Fase II indicarem exposição de tais organismos ao agente microbiológico.
2. Patogenicidade crônica e reprodução de aves	CR	IA ou PT	Requerido quando efeitos patogênicos forem observados em aves na Fase I; efeitos crônicos carcinogênicos ou teratogênicos forem relatados em testes de avaliação (tóxico - patológica); testes de comportamento no ambiente da Fase II indicarem que a exposição de animais terrestres ao agente de controle for provável.
3. Especificidade a invertebrados aquáticos e Estudos do ciclo biológico de peixes	CR	IA ou PT	Requerido quando o produto for indicado para uso em água ou quando houver possibilidade do mesmo ser transportado local de uso, e quando para a água a partir do patogenicidade ou infectividade for observada nos testes aquáticos da Fase I.
5. Plantas não-alvo	CR	IA ou PT	Se o produto é transportado do local de aplicação pelo solo, ar, água ou por animais, e quando se observar patogenicidade alvo. O grau de sobre plantas não movimentação será determinado pelos testes da Fase II.

Legenda: EE = especificação da exigência; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico.

Perspectivas de mercado no Brasil

Nos anos recentes a popularidade do biocontrole e de produtos alternativos ou biocompatíveis tem aumentado, não somente entre os agricultores e diferentes segmentos da sociedade brasileira, mas inclusive entre os técnicos das companhias de pesticidas químicos. Associado a isto, o desenvolvimento desses produtos é prioridade em diversas agências de fomento de pesquisa e desenvolvimento, bem como em diversas instituições de pesquisa e ensino e nas empresas de pesticidas. Essa mudança está tendo reflexo no crescimento do mercado anualmente,

fato demonstrado no considerável aumento nas vendas de produtos biológicos em 2018 no Brasil (Mapa, 2019).

Um importante aspecto é que os agricultores estão ávidos por técnicas alternativas para o controle dos problemas fitossanitários, pois acreditam que podem reduzir custos e atender à demanda da sociedade por alimentos livres de pesticidas químicos. Esses novos produtos devem fortemente fazer parte do manejo integrado de pragas, pois seguramente ocorrerá redução de custos da produção de alimentos, fibras e energia, bem como melhorará a qualidade dos alimentos produzidos.

É importante ressaltar que necessitamos aumentar o uso de biopesticidas e produtos biocompatíveis na agricultura brasileira, pois são indispensáveis para o agronegócio. Também necessitamos urgentemente aprimorar a regulamentação e os registros dos biopesticidas e dos produtos biocompatíveis, pois aumentará a vantagem competitiva do país haja vista que o aumento do uso de biopesticidas/produtos biocompatíveis reduz os impactos ambientais dos pesticidas químicos, além de contribuir para o manejo integrado de pragas. Desta forma, é imprescindível o desenvolvimento de novos produtos, com formulações inovadoras visando aumentar a oferta e consequentemente estimular a geração de demanda.

Embora culturalmente sempre se relacione que a agricultura orgânica e o biocontrole ou produtos alternativos ou biocompatíveis caminham juntos e que a agricultura orgânica representa o grande mercado para o controle biológico, no Brasil o maior mercado para os biopesticidas e produtos biocompatíveis é a agricultura convencional.

Desafios para o desenvolvimento de biopesticidas no Brasil

São diversos os desafios para o desenvolvimento de biopesticidas no Brasil e alguns serão comentadas abaixo, não significando que são os mais importantes.

1. Melhorar a forma de abordagem para alterar a cultura do uso de agrotóxicos existentes entre os agricultores, agrônomos, professores, pesquisadores e outros atores e com isso aumentar o entendimento do biocontrole.

2. Realização de pesquisas básicas com os bioagentes, incluindo os impactos ambientais.

Aumentar a disponibilidade de produtos biológicos com novos agentes de biocontrole no mercado. Portanto, é imprescindível realizar o isolamento e a seleção de novos bioagentes, pois atualmente são poucas as espécies comercializadas. Neste sentido, no processo de isolamento e seleção de isolados de *Trichoderma*, seria importante buscar isolados resistentes a alguns dos principais ingredientes ativos utilizados no tratamento de sementes. Também seria importante disponibilizar no mercado isolados de *Trichoderma* resistentes aos principais ingredientes ativos de fungicidas pulverizados nas plantas. Essa característica facilitaria o manejo integrado das doenças de plantas. Além disso, é de extrema importância que as empresas dis-

ponibilizem informações sobre a compatibilidade de suas formulações contendo *Trichoderma* com os principais agrotóxicos utilizados na cultura. Alguns aspectos da compatibilidade de fungicidas com *Trichoderma* são discutidos no capítulo 12.

4. Aumentar o número de laboratórios/empresas que trabalham com a multiplicação de organismos e técnicas de produção para melhorar a qualidade dos produtos obtidos nas empresas, bem como aumentar a disponibilidade de produtos para os agricultores. Os processos produtivos de agentes de biocontrole devem ser mais eficientes, tanto do ponto de vista de eficiência produtiva (concentração e viabilidade do organismo), como do ponto de vista de custo de produção. Em relação ao *Trichoderma*, reconhecidamente há necessidade de processos produtivos mais eficientes. Há necessidade constante de melhorar o processo de multiplicação de *Trichoderma* para se obter a maior produção das estruturas a serem formuladas. Atualmente, a produção de *Trichoderma* ocorre basicamente via fermentação sólida-estática e raramente via fermentação líquida submersa, sendo que as técnicas, bem como as vantagens e desvantagens de cada processo estão descritas no capítulo 8. Um dos aspectos importantes a ser considerado é o tipo de estrutura reprodutiva de *Trichoderma* que se deseja produzir. Por exemplo, para determinados uso seria mais importante a produção de clamidósporos e microscleródios do que de conídios, haja vista a maior resistência aos estresses desta estrutura.

5. Alterar a relação entre as empresas e as instituições de pesquisa e ensino para o desenvolvimento de projetos conjuntos, combinando os conhecimentos da indústria em relação ao mercado e os básicos em microbiologia, entomologia e agronomia das instituições de pesquisa.

6. Controle de qualidade dos produtos comercializados. O controle de qualidade é uma etapa imprescindível durante todo o processo produtivo. Atualmente, para *Trichoderma*, existem diversas metodologias para serem utilizadas, conforme descritas no capítulo 9. Entretanto, existe a necessidade de buscar novas possibilidades, como o desenvolvimento de métodos mais rápidos para a quantificação e também na avaliação de viabilidade das estruturas reprodutivas dos microrganismos, como por exemplo o uso de laser para esta finalidade. Também necessita avaliar o vigor das estruturas no controle dos patógenos até o final do prazo de validade do produto, não apenas estar viável.

7. Desenvolvimento de formulações adequadas para a manutenção da viabilidade do princípio ativo visando a proteção das estruturas, a persistência e a eficácia em campo, bem como vida de prateleira superior a um ano. Além disso, as formulações necessitam apresentar maior concentração possível de estruturas de *Trichoderma* visando a redução de custos com a logística e facilidade de aplicação no campo. As formulações necessitam ainda manter o vigor da estrutura utilizada de *Trichoderma*. Nos capítulos 8 e 10 são discutidos diversos aspectos sobre a multiplicação e processos de formulação de *Trichoderma*. Além do desenvolvimento de formulações com estruturas de *Trichoderma*, também há necessidade de desenvolver formu-

lações contendo *Trichoderma* em mistura com outros bioagentes. Esta é uma forma de atingir alvos diferentes ou mesmo permitir que diferentes mecanismos de ação atuem simultaneamente sobre o mesmo alvo. Essa mistura pode levar ao aumento da eficiência de um produto biológico no controle de doenças. Ação de sinergismo, como por exemplo *Trichoderma* com *Clonostachys*. Outra possibilidade é a mistura entre agente de controle biológico de doenças com agente de controle biológico de pragas, por exemplo, formulações contendo a mistura de *Trichoderma* com *Metarhizium* ou *Trichoderma* com *Beauveria*.

8. Ajustar a produção em escala e a logística de distribuição e transporte.

9. Treinamento para uso e integração dos biopesticidas dentro dos sistemas de cultivo. A recomendação técnica deve ser direcionada para cada sistema produtivo/cultivo avaliando também o histórico da área. As culturas, as doenças e as interações que ocorreram ao longo dos anos, deverão ser analisadas de um ponto de vista mais amplo. O momento da aplicação, as condições climáticas durante a aplicação, a modalidade de aplicação, o equipamento e a compatibilidade entre os produtos a serem utilizados. Todo este entendimento, resultará no manejo integrado do agroecossistema. Precisa também melhorar o conhecimento da estrutura e do funcionamento do agroecossistema. A recomendação técnica para o controle biológico é fundamental e difere da recomendação para produtos químicos, pois envolve também um conceito mais amplo do que é controle biológico, haja vista que mais um componente vivo fará parte do sistema. O índice de controle envolvido no controle biológico é diverso do controle químico. Em muitas situações um controle abaixo do padrão químico não representa ineficácia do produto, mas sim o potencial de controle do bioagente. Assim, é fundamental utilizar todas as técnicas de manejo para que a doença não atinja o limiar de dano econômico. Desta forma, a demanda de pesquisa para determinar o momento de aplicação é fundamental para o sucesso da técnica. Também é necessário entender as diferenças do conceito de eficiência biológica e eficiência agrônômica. Somente este fato pode levar, muitas vezes, a interpretação equivocada. Além disso, no manejo integrado o controle biológico sempre exige um período mais amplo para se verificar a eficiência do agente.

10. Política pública apropriada para biocontrole, por meio de incentivos fiscais e créditos.

11. Regulamentação para pesquisa, desenvolvimento e registro de biopesticidas.

12. Tecnologia de aplicação e liberação

Considerações finais

Trichoderma é mais do que um agente de controle biológico de doenças. Tem diversas outras finalidades, como a produção de enzimas para as indústrias. Além disso, pode colaborar com a agricultura em diversos aspectos fundamentais, como aumentar a eficiência no uso de nitrogênio, promover o desenvolvimento das plantas, bem como a produtividade e aliviar os impactos dos estresses salinos. Esses três aspectos serão discutidos nos próximos três parágrafos.

O primeiro aspecto é em relação ao nitrogênio. O nitrogênio é um dos nutrientes essenciais para as plantas e sua carência é um fator limitante para o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade das culturas. Entretanto, a maior fração do nitrogênio do solo está presente na forma orgânica, presente na matéria orgânica ou como parte de organismos vivos, a qual não é prontamente disponível para as plantas (Cantarella, 2007). Nos últimos 40 anos, a produção de cereais triplicou. Por outro lado, a quantidade de nitrogênio sintético aplicado às lavouras para aumentar sua produtividade subiu de 12.000.000 ton/ano para 104.000.000 ton/ano (Mulvaney et al., 2009), sendo que entre 30% a 50% são absorvidos pela planta em desenvolvimento e o restante é perdido, o que tem um impacto muito negativo sobre o meio ambiente (Rockström et al., 2009). Além disso, os fertilizantes nitrogenados são produzidos principalmente a partir de combustíveis fósseis, não renováveis (Cantarella, 2007). Diversos estudos demonstraram que plantas tratadas com *Trichoderma*, além de ter o controle de doenças, apresentaram maiores rendimentos do que as plantas não tratadas (Harman, 2000; Harman, 2011; Harman et al., 2010; Shoresh et al., 2010; Rubio et al., 2014; 2017). Embora estudos sobre o papel de *Trichoderma* na assimilação de nitrogênio simbiótico, como um componente importante de tais respostas benéficas, ainda sejam escassos, Harman (2000) relatou que *Trichoderma harzianum* favoreceu a absorção de nitrogênio em testes de campo de milho. Assim, uma das possíveis indicações de uso de *Trichoderma*, e, portanto, um novo mercado para esse bioagente seria o seu uso visando o uso eficiente de nitrogênio.

O segundo aspecto a ser discutido é o potencial de *Trichoderma* na promoção de crescimento e de produtividade das plantas. O uso de *Trichoderma* em relação à promoção de crescimento das plantas, mecanismo discutido no capítulo 4, é de grande importância. Harman (2011) relata aumento médio de produtividade de milho em cerca de 820 kg/ha com o tratamento de sementes com *Trichoderma*. O efeito na promoção de crescimento de plantas mediado por *Trichoderma* está discutido ao longo do livro. Como por exemplo, foi relatado que o tratamento de sementes de arroz, trigo e tomate com *T. harzianum* aumenta sua taxa fotossintética, o peso das plantas, o comprimento de suas raízes e brotos e o número de folhas e área foliar (Rawat et al., 2011; Domínguez et al., 2016). No mercado mundial são diversos os produtos formulados à base de *Trichoderma* que são registrados como promotores de cresci-

mento. Diversos destes produtos estão relatados no capítulo 2. Essa promoção de crescimento será fundamental para o aumento da disponibilidade de alimentos, inclusive considerando que a melhoria nos rendimentos das culturas ajudará a reduzir os custos ambientais.

O terceiro aspecto a ser considerado é o potencial de *Trichoderma* em aliviar o estresse salino. É amplamente reconhecido que espécies de *Trichoderma* protegem plantas contra patógenos por competição, micoparasitismo e antibiose (Lorito et al., 2010; Druzhinina et al., 2011) e promovem o crescimento das plantas e induzem defesas contra estresses bióticos e abióticos (Shoresh et al., 2010; Hermosa et al., 2012). Também tem sido relatado que *Trichoderma* spp. são eficazes em aliviar os efeitos adversos que o estresse salino tem sobre as plantas (Mastouri et al., 2010; Rubio et al., 2014). Em um estudo onde foram avaliados parâmetros fisiológicos e as alterações de expressão de genes ligados a estresses abióticos para investigar as respostas de plantas de tomate adubadas e não adubadas com fertilizantes minerais e submetidas ou não a estresse salino, Rubio et al. (2017) relataram que *Trichoderma harzianum* T34, na ausência de fertilização mineral, promoveu o crescimento de plantas de tomate, independentemente do estresse salino. Entretanto, os mesmos autores verificaram que a combinação de adubação mineral e biológica (com *Trichoderma*) aumentou a sensibilidade das plantas de tomate ao estresse salino e previne respostas adaptativas. Esses resultados indicam o potencial do bioagente em mediar o estresse salino, mas também indica que pode ocorrer problemas em plantas super estimuladas.

Trichoderma continuará sendo utilizado, principalmente, como agente de controle biológico, mas apresenta um potencial considerável para aumentar a eficiência no uso de nitrogênio, promover o desenvolvimento das plantas, bem como a produtividade e aliviar os impactos dos estresses salinos. Para que o organismo desempenhe esses novos papéis, bem como continue como o principal bioagente fúngico de controle biológico de doenças de plantas será fundamental a seleção de novas espécies e melhorar todo o sistema de multiplicação e formulação.

Referências

AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: Mapa, c2003. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: mar. 2019.

ANVISA - AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 294, de 29 de julho de 2019. Dispõe sobre critérios de avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes e afins e preservativos de madeira e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 31 set. 2019b, v. 146, Seção 1, p. 78.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução - RDC nº 195, de 8 de julho de 2002. Regulamentação de Produtos Semoquímicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 jul. 2002, Seção 1, p. 229-230.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 296, de 29 de julho de 2019. Adota as diretrizes de rotulagem do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos, GHS. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 jul. 2019a, v. 146, Seção 1, p. 88-89.

BETTIOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 22, n. 6, p. 280-284, 2011.

BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermidades de plantas en Brasil. In: BETTIOL, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, J. R.; COLMENÁREZ, Y. C. **Control biológico de enfermidades de plantas en América Latina y el Caribe**. [Montevideu]: Facultad de Agronomia, Universidad de la Republica, 2014., p. 91-137, 2014, p. 91-137.

BRASIL. Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934. Aprova o Regulamento de Defesa Sanitária Vegetal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 dez. 1934, Seção 1, p. 555.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 jan. 2002, Seção 1, p. 1-12.

BRASIL. Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Dispõe sobre agricultura orgânica. **Diário Oficial da União**, Brasília, 28 dez. 2007, Seção 1, p. 2.

BRASIL. Decreto nº 6.913, de 23 de julho de 2009. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 jul. 2009, Seção 1, p. 8.

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 dez. 2003, Seção 1, p. 8-9.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 12 de julho de 1989. Dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 jul. 1989, Seção 1, p. 11459-11460.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ato CGAL/SDA/Mapa nº 6, de 23 de janeiro de 2014. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 jan. 2014, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ato CGAL/SDA/Mapa nº 105, de 28 de dezembro de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 dez. 2018c, Seção 1, pág. 11.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 25, de 14 de setembro de 2005. Regulamenta o Registro Especial Temporário. **Diário Oficial da União**, Brasília, 15 set. 2005a, Seção 1, p. 4-6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 32, de 26 de outubro de 2005. Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de produtos bioquímicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 nov. 2005a, Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 1, de 23 de janeiro de 2006. Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de produtos semioquímicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 jan. 2006a, Seção 1, p. 7-8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 3, de 10 de março de 2006. Estabelece normas específicas para fins de registro de produtos microbiológicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, 15 mar. 2006b, Seção 1, p. 23-25.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 23 de janeiro de 2006. Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de Agentes Biológicos de Controle. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 jan. 2006c, Seção 1, p. 8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2, de 12 de julho de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 jul. 2013, Seção 1, p. 6-8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 1, de 06 de fevereiro de 2015. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 fev. 2015a, Seção 1, p. 2-3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 1, de 28 de novembro de 2017. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 01 dez. 2017, Seção 1, p. 31-33.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 1, de 16 de abril de 2018.

Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 abr. 2018a, Seção 1, p. 10-11.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2, de 29 de agosto de 2018.

Diário Oficial da União, Brasília, DF, 03 de set. de 2018b, Seção 1, p. 27 -31.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 1, de 06 de novembro de 2015.

Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 nov. 2015b, Seção 1, p. 36-39.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mercado de bio defensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano.** [2019]. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/feffmercado-de-bio-defensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>>. Acesso em:

24 abr. 2019.

BRASIL. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992. Diretrizes e exigências referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 4 fev. 1992.

CANTARELA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. p. 375-470.

CASTRO, M. L. M. P.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Avaliação ambiental de produtos biológicos. In: OLIVEIRA-FILHO, E. C.; MONERAT, R. G. (Eds.). **Fundamentos para a regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006. p. 343-352.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St Paul: APS, 1983. 539 p.

DOMÍNGUEZ, S.; RUBIO, M. R.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; NICOLÁS, C.; BETTIOL, W. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase amdS gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1182, 2016.

DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 9, p. 749-759, 2011.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E. *Trichoderma*: not just for biocontrol anymore. **Phytoparasitica**, v. 39, p. 103-108, 2011.

HARMAN, G. E.; OBREGON, M. A.; SAMUELS, G. J.; AND LORITO, M. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developed and developing world. **Plant Disease**, v. 94, p. 928-939, 2010.

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

IBAMA. Portaria Normativa nº 131, de 03 de novembro de 1997. Estabelece os critérios a serem adotados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 4 nov. 1997, Seção 1, p. 24988-24991.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-417, 2010.

MARKETS AND MARKETS. **Biopesticides market by type, source, mode of application, formulation, crop application and region: global forecast to 2023**. Charing: REPORT BUYER, 2019. Disponível em: <<https://www.reportbuyer.com/product/4364825>>. Acesso em: 7 mar. 2019.

MASTOURI, F.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology**, v. 100, p. 1213-1221, 2010.

MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; ELLSWORTH, T. R. Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: a global dilemma for sustainable cereal production. **Journal Of Environmental Quality**, v. 38, p. 2295-2314, 2009.

RANGEL, L. E. P. Eficiência e praticabilidade de produtos biológicos. In: OLIVEIRA-FILHO, E. C.; MONERAT, R. G. (Eds.). **Fundamentos para a regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006. p. 313-323.

RAWAT, L.; SINGH, Y.; SHUKLA, N.; KUMAR, J. Alleviation of the adverse effects of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) by seed biopriming with salinity tolerant isolates of *Trichoderma harzianum*. **Plant and Soil**, v. 347, p. 387-400, 2011.

ROCKSTRÖM, J.; STEFFEN, W.; NOONE, K.; PERSSON, A.; CHAPIN, F. S.; LAMBIN, E. F.; LENTON, T. M.; SCHEFFER, M.; FOLKE, C.; SCHELLNHUBER, H. J.; NYKVIST, B.; DE WIT, C. A.; HUGHES, T.; VAN DER LEEUW, S.; RODHE, H.; SÖRLIN, S.; SNYDER, P. K.; COSTANZA, R.; SVEDIN, U.; FALKENMARK, M.; KALBERG, L.; CORRELL, R. W.; FABRY, V. J.; HANSEN, J.; WALKER, B.; LIVERMAN, D.; RICHARDSON, K.; CRUTZEN, P.; FOLEY, J. A. A safe operating space for humanity. **Nature**, v. 461, p. 472-475, 2009.

RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The Combination of *Trichoderma harzianum* and Chemical Fertilization Leads to the Deregulation of Phytohormone Networking, Preventing the Adaptive Responses of Tomato Plants to Salt Stress. **Frontiers In Plant Science**, v. 8, p. 294, 2017.

RUBIO, M. B.; QUIJADA, N. M.; PÉREZ, E.; DOMÍNGUEZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Identifying beneficial qualities of *Trichoderma pararesei* for plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 1864-1873, 2014.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.

Produtos comerciais à base de *Trichoderma*

Wagner Bettiol

Zayame Vegette Pinto

Juliano Cesar da Silva

Cassiano Forner

Mírian Rabelo de Faria

Marina Guimarães Pacifico

Lilian Simara Abreu Soares Costa

Introdução

Este capítulo foi preparado na forma de um guia contendo informações básicas sobre produtos formulados à base de *Trichoderma*, tanto para o controle de doenças de plantas, como visando a promoção de crescimento das plantas. Ao longo do capítulo são apresentadas informações sobre 246 produtos. Essas informações foram obtidas em sítios oficiais dos órgãos registrantes, nos sítios eletrônicos das empresas produtoras e comercializadoras, universidades, instituições de pesquisa, órgãos fiscalizadores, em periódicos científicos e diretamente com responsáveis técnicos de empresas. Entretanto, com certeza, os autores não tiveram acesso a todos os produtos disponíveis no mercado mundial e, portanto, muitos produtos utilizados não estão apresentados neste capítulo. Esse fato indica tão somente a dificuldade dos autores em obter todas as informações e não que os autores deixaram voluntariamente de incluir algum produto nesta publicação.

Aos autores do capítulo coube compilar as informações disponíveis nos diversos órgãos. Assim, os autores não realizaram análises sobre as características e qualidades dos produtos, sobre a eficiência em controlar os fitopatógenos ou sobre a promoção de crescimento, sobre os mecanismos de ação e outras informações incluídas no capítulo. Desta forma, em nenhum momento os autores subscrevem as indicações de uso, bem como as qualidades dos produtos aqui apresentados. Há necessidade de enfatizar que a inclusão ou omissão dos produtos, bem como a indicação de uso para o controle de doenças ou promoção de crescimento, não subentende julgamento e ou avaliação sobre eficiência por parte dos autores e suas respectivas instituições.

Para facilidade de leitura, bem como para mostrar claramente o número de produtos disponíveis no mercado, a apresentação dos produtos está classificada inicialmente pela espécie de *Trichoderma* e a seguir, em ordem alfabética, pelo nome comercial. Para cada produto são apresentados: nome comercial, princípio ativo, doenças e patógenos alvos ou promoção de crescimento, modo de ação, características do agente de controle biológico, formulações disponíveis, métodos de aplicação, registro e comercialização e empresa produtora. Entretanto, para diversos produtos, não foi possível obter todas as informações, pois não estão disponíveis ou não foram encontradas pelos autores.

Informações sobre agentes de biocontrole de doenças de plantas disponíveis no mercado foram publicadas por Bettiol et al. (2009, 2012) e Woo et al. (2017).

Essa publicação retrata pontualmente parte do mercado mundial dos produtos à base de *Trichoderma* para o controle de doenças de plantas e promotores de crescimento disponíveis. Portanto, é uma publicação que reflete parte da realidade de março de 2019. Assim, representa apenas um retrato do momento do mercado mundial. Certamente existe um número maior de produtos à base de *Trichoderma* comercializados no mundo. Entretanto, esses foram os que os autores localizaram de diversas formas. Também há necessidade de considerar que esses produtos poderão ser retirados do mercado, bem como ter a sua recomendação ampliada, além de que novos produtos poderão entrar no mercado.

Dos produtos à base de *Trichoderma*, a espécie *Trichoderma harzianum* é a mais comercializada mundialmente, sendo encontrada, quando considerado os produtos sem mistura de microrganismos, em 38,8% dos produtos comerciais. Entretanto, quando considerado os produtos onde há mistura de espécies de *Trichoderma* este valor chega 50% dos produtos disponíveis no mercado mundial e sobe para 60% quando considerado todos os produtos, incluindo aqueles que espécies de *Trichoderma* são misturadas com outros fungos, bactérias e micorrizas. *Trichoderma viride* ocupa a segunda posição com 16,1%, seguida de *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma asperellum* e *Trichoderma* spp., com 6,5%, 4,4% e 3,2%, respectivamente. As demais espécies comercializadas individualmente são: *Trichoderma lignorum* (1,2%), *Trichoderma catenulatum* (0,8%), *Trichoderma koningiopsis* (0,8%), *Trichoderma virens* (0,8%), *Trichoderma fertile* (0,4%), *Trichoderma stromaticum* (0,4%). Também *Trichoderma gamsii*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma polysporum*, *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma parceramosum* são comercializadas (Figura 1). Estas últimas somente em mistura de produtos. Assim, considerando o número de 254 de espécies conhecidas de *Trichoderma* (Bissett et al., 2015) o número utilizado em controle biológico é de 4% das espécies conhecidas.

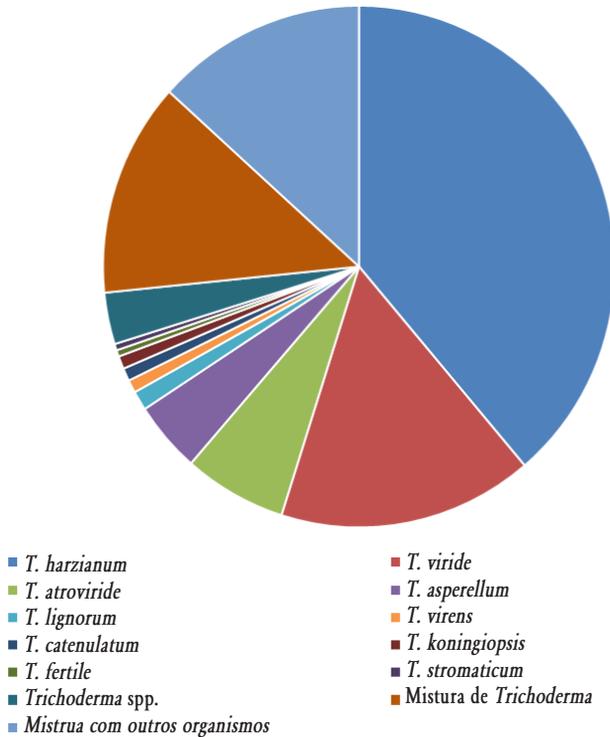


Figura 1. Porcentagem de produtos à base de cada espécie de *Trichoderma* comercializada.

A seguir são apresentados os dados dos produtos à base de *Trichoderma* disponíveis no mercado mundial que os autores obtiveram as informações.

Trichoderma asperellum

ASPERELLO T 34 BIOCONTROL

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* T34.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium oxysporum* em plantas ornamentais cultivadas em casa-de-vegetação. Para o controle de *Pythium* em cultivo protegido de tomate, pimenta e berinjela.

Modo de ação: competição por espaço e nutriente, indução de resistência na planta e parasitismo.

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma* germina e cresce em uma ampla gama de solos, com pH entre 6 a 8 e temperatura de solo de 20 °C a 35 °C.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável na concentração de 1×10^9 UFC/g. Armazenar em local seco e fresco (4 °C) para obter 24 meses de vida de prateleira.

Método de aplicação: pulverização, imersão e fumigação. Aplicar o produto em intervalos regulares de dois a três meses durante o ciclo da cultura. Iniciar a aplicação durante a propagação da planta.

Registro e comercialização do produto: EUA, Canadá, Peru, Japão, Egito, Marrocos, França, Bélgica, Tunísia e diversos países da Europa. Possui certificação OMRI-CERES, ECO-CERT e Organic Farmers and Growers.

Empresa produtora: Biocontrol Technologies S.L. Av. Madrid, 215-217, ent. A Barcelona 08014. Espanha. Empresa distribuidora: Biobest Canadá, Ltd. 2020 Fox Run Rd Leamington (Ontario) N8H 3V7, Canadá. Biobest Maroc SARL (Asperello..., 2019).

ECO-T

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum*.

Doenças e patógenos visados: *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Fusarium* e outros.

Modo de ação: *Trichoderma* tem crescimento rápido e eficiente capacidade de competir e deslocar os agentes patogênicos das culturas, além de inibir o crescimento de outros microrganismos através da liberação de compostos inibidores de crescimento. Atua como biofungicida contra patógenos do solo e bioestimulante favorecendo o desenvolvimento do sistema radicular das plantas.

Características do agente de controle biológico: o fungo ajuda a controlar doenças radiculares e promove o crescimento de uma ampla variedade de culturas, plantas ornamentais e eucalipto.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^9 conídios/g para tratamento de sementes de uso geral e em aplicações via sulco de plantio ou via “drench”.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes e via “drench” para mudas em bandejas, canteiros, vasos e gramado no plantio. O produto deve ser aplicado mensalmente após o plantio. Para tratamento de sementes: milho 1 g/kg de semente; trigo 25 - 50 g/ha ou 1 - 2 g/kg de semente ou 40 - 80 g/ha; soja 1 g/kg de semente ou 50 - 70 g/ha. Usar espalhante adesivo adequado. Via “drench”: 1 g/4 L de água.

Registro e comercialização do produto: África do Sul (Eco-T - L7495; Eco-T Ezi-Flo - L9276). Comercializado no Quênia, Zâmbia, França, Reino Unido, Marrocos, Tunísia, Índia e China.

Empresa produtora: Plant Health Products (Pty) Ltd. África do Sul (Eco-T..., 2018).

MAZAO SUSTAIN

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* TR900.

Uso recomendado: registrado como biofertilizante.

Modo de ação: promove o crescimento e o desenvolvimento radicular.

Formulação e vida de prateleira: formulação líquida em óleo vegetal contendo 10⁸ UFC/mL. Vida de prateleira de 12 meses fechado, armazenado em local seco e fresco (15 °C a 20 °C).

Métodos de aplicação: via “drench”: 200 mL/ha.

Registro e comercialização do produto: África do Sul como um biofertilizante.

Empresa produtora: Real IPM. Quênia (Mazao..., 2019).

ORGAMICA F

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani* e *Phytophthora infestans* em batata; fitopatógenos causadores de podridões radiculares; *Ascochyta pisi* e *Uromyces* sp. em ervilha; *Fusarium* spp., *Ascochyta sojaecola* e *Uromyces sojae* em soja; podridões radiculares; *Botrytis cinerea* e *Phytophthora infestans* em tomateiro sob cultivo protegido; *Pseudoperonospora cubensis* e oídios em pepino sob cultivo protegido.

Modo de ação: competição e parasitismo.

Características do agente de controle biológico: o isolado se desenvolve em uma ampla faixa de pH do solo e é eficaz em estações frias (outono e primavera da Rússia).

Formulação e vida de prateleira: líquida na concentração de 1 x 10⁸ UFC/mL. Validade por até 10 meses entre temperatura de 5 °C a 15 °C, protegido de luz solar direta.

Métodos de aplicação: batata: tratamento de tubérculos 1 - 2 dias antes do plantio, com 2,5 L/ton. para o controle de *Rhizoctonia solani*. Para o controle de *Phytophthora infestans*, recomenda-se a primeira pulverização preventiva, com 4 L/ha, na fase de fechamento das linhas e a segunda aplicação com intervalo de 10 - 15 dias. Ervilha: tratamento de sementes, um a dois dias antes da semeadura, com 0,2 L/ton para o controle de podridões radiculares e *Ascochyta pisi*. Pulverizações (0,8 L/ha) durante o período de crescimento da cultura para o controle de *Ascochyta pisi* e *Uromyces* sp., sendo a primeira no aparecimento dos primeiros sinais/sintomas da doença e a segunda com intervalo de 10 a 15 dias. Soja: tratamento de sementes, um a dois dias antes da semeadura, com 0,2 L/ton para o controle de *Fusarium* spp. e *Ascochyta sojaecola*. Pulverizações (0,8 L/ha) durante o período de crescimento da cultura para o controle de *Ascochyta sojaecola* e *Uromyces sojae*, sendo a primeira no aparecimento dos primeiros sintomas da doença e a segunda com intervalo de 10 a 15 dias. Tomate e pepino: tratamento de sementes 2 a 3 dias antes da semeadura com 10 mL de produto/kg de semente

para o controle de podridões radiculares. Para o controle de *Botrytis cinerea* e *Phytophthora infestans* em tomateiro, *Pseudoperonospora cubensis* e oídios em pepino, aplicar durante a estação de crescimento, a primeira aplicação preventiva e depois em intervalo de 7-10 dias (4 L/ha).

Registro e comercialização do produto: Rússia.

Empresa produtora: Bionovatic. 420095, г. Казань, технополис «Химград», ул. Восстания, дом 100, здание 45, Rússia (Organica..., 2018).

ORGANIC

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* URM5911.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*.

Modo de ação: parasitismo, competição, antibiose e indução de resistência de plantas.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável (WP) com mínimo de 1×10^{10} UFC/g. Validade de 90 dias entre 20 °C e 25 °C.

Método de aplicação: tratamento de semente na dose de 280 g/100 kg de sementes.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 12616).

Empresa produtora: Laboratório de Biocontrole Farroupilha Ltda. Avenida Julia Fernandes Caixeta, 555, 38706-420. Patos de Minas, MG. Brasil (Agrofit, c2003).

ORGANIT STERN

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum*.

Indicação de uso: decompositor de restos de culturas.

Modo de ação: decompositor de restos culturais, mesmo não sendo a principal função, atua como parasita de fungos fitopatogênicos.

Características do agente de controle biológico: decompositor de restos culturais, melhora a fertilidade do solo, tem ação em temperaturas baixas no outono-inverno e aumenta a produtividade de plantas.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável na concentração de 1×10^{10} UFC/g. Validade de 12 meses entre 5 °C a 30 °C.

Métodos de aplicação: pulverização nos restos culturais do trigo da primavera ou inverno, girassol e milho (80 g/ha).

Registro e comercialização do produto: Rússia.

Empresa produtora: Bionovatic. 420095, г. Казань, технополис «Химград», ул. Восстания, дом100, здание 45, Rússia (Organit..., 2018).

QUALITY

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* SF 04.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Modo de ação: parasitismo, competição, antibiose e indução de resistência de plantas.

Formulação : granulado dispersível na concentração de 1×10^{10} UFC/g.

Método de aplicação: para o controle de tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*: 200 g/100 kg de sementes. Para o controle da podridão radicular causada por *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* é recomendado o tratamento de semente com 100 g/100 kg de sementes. Para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* recomenda-se duas aplicações após a emergência na dose de 100 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 08611) e Paraguai (SENAVE 5476).

Empresa produtora: Laboratório de Biocontrole Farroupilha Ltda. Av. Julia Fernandes Caixeta, 555, 38706-420. Patos de Minas, MG, Brasil (Agrofit, c2003, Paraguai, 2019).

T34 BIOCONTROL

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* T34.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium oxysporum* em cravo e *Pythium aphanidermatum* em tomate, pimentão, pimenta e berinjela.

Características do agente de controle biológico e modo de ação: a ação se deve a colonização do substrato e da rizosfera das plantas e assim compete por espaço e nutrientes, bem como por parasitismo dos fungos patogênicos. O produto deve ser aplicado preventivamente para proteção contra a murcha de *Fusarium oxysporum* em cravo. Em tomate, pimentão, pimenta e berinjela para prevenção de *Pythium aphanidermatum*. O produto não deve ser usado em misturas com outros pesticidas ou fertilizantes líquidos

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^{12} UFC/kg.

Métodos de aplicação: incorporação no substrato: misturar 10 g de produto/m³ de substrato antes da semeadura, enraizamento ou plantação. Diluir 10 g/L de água e aplicar 0,1 L de água/L de substrato. Pulverização do substrato: aplicar por pulverização com uma dose de 0,5 g/m² de área (5 L de calda/m²), antes ou imediatamente após a semeadura ou o enraizamento. Imersão radicular (apenas para craveiro): antes do plantio, recomenda-se mergulhar as raízes nos propágulos durante algumas horas, ou durante a noite, numa suspensão de 0,01 g/L de água. Rega no plantio e ao longo do ciclo vegetativo: aplicar o produto por aspersão numa dose de 10 g/1000 vasos (1 L de substrato/vaso) no dia do plantio, ou 5 g/ 1000 vasos no plantio e mais 5 g/1000 vasos uma semana depois. Em cravo, repetir a mesma dosagem a cada

2 a 3 meses, como tratamento de manutenção da população do fungo no substrato e antes de uma situação de risco ou quando as plantas se encontram em estresse (diluir 10 g/L de água e aplicar a 100 ml/L de substrato).

Registro e comercialização do produto: União Europeia e Reino Unido.

Empresa produtora: Biocontrol Technologies S.L., Avda. Madrid 215-217, Barcelona, Espanha. IQV Agro Portugal SA. R. Dr. Hilário Barreiro Nunes, 49, Santarém, Portugal (T34..., 2017; T34..., 2019).

TRICHO TURBO

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* BV-10.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*.

Modo de ação: antibiose, competição, parasitismo e indução de resistência.

Formulação: concentrado emulsionável (EC) contendo $1,0 \times 10^{10}$ conídios viáveis/mL.

Método de aplicação: recomenda-se 200 a 800 mL/ha. O produto deve ser aplicado no plantio via jato dirigido cobrindo todo o fundo do sulco de plantio e sobre os tubérculos; uma segunda aplicação deve ser realizada no colo das plantas antes da amontoa.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 34018).

Empresa produtora: Biovalens Ltda. Rua Manoelzinho Rodrigues da Cunha, 81, 38.059-367 Uberaba, MG, Brasil. Vittia Fertilizantes e Biológicos Ltda. Av. Marginal Esquerda, 1000, 14.600-000. São Joaquim da Barra, SP, Brasil (Agrofit, c2003).

TRICHODERMAX EC

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum*.

Doenças e patógenos visados: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani* f. sp. *glycines* e *Rhizoctonia solani*.

Modo de ação: antibiose, parasitismo, competição e indução de resistência em plantas.

Características do agente de controle biológico: além de atuar no biocontrole, produz metabólitos que auxiliam no desenvolvimento radicular de plantas e na participação da decomposição de matéria orgânica do solo.

Formulação: concentrado emulsionável, com mínimo de $1,5 \times 10^9$ conídios viáveis/mL.

Método de aplicação: aplicação após a sementeira. Na cultura da soja é recomendado 1000 mL/ha para o controle de *Fusarium solani* f. sp. *glycines* e *Rhizoctonia solani*. Para *Sclerotinia sclerotiorum* recomenda aplicação de 1200 mL/ha no estágio V3 da soja. Em feijoeiro é recomendada a aplicação de 1000 mL/ha no estágio V4 da cultura para controle de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 12511).

Empresa produtora: Novozymes Bioag Produtos para Agricultura Ltda. Rua Aristeu Luciano Adamoski, 12, 83420-000. Quatro Barras, PR. Brasil (Agrofit, c2003).

TRICHOTECH WP

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* isolado H22.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotinia* spp. e *Pythium* spp. e como promotor de crescimento das plantas.

Modo de ação: competição, antibiose, parasitismo e promoção de crescimento.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 4×10^9 UFC/g. Deve ser armazenado em local fresco e escuro.

Métodos de aplicação: via gotejamento: 125 g/100 L de água. Via “drench” ou aplicação pré-transplante de mudas: 125 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Quênia.

Empresa produtora: Dudutech. Quênia (Trichotech..., 2019).

Trichoderma atroviride

ECO-77

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride* 77.

Doenças e patógenos visados: proteção de feridas de podas em videiras contra *Eutypa* e para a supressão de *Botrytis*.

Modo de ação: *Trichoderma atroviride* coloniza os ferimentos causados por podas e evita que patógenos, como *Botrytis*, entrem na planta. Da mesma forma, protege as podas de videiras e outras árvores frutíferas, colonizando o local da poda e evitando a entrada de patógenos.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^9 conídios/g de produto formulado.

Métodos de aplicação: aplicar 1 g/2 L de água. Aplicar como um jato dirigido nos ferimentos imediatamente após a poda. Pulverizar em cobertura total quando a doença é notada pela primeira vez. Repetir a aplicação quando necessário.

Registro e comercialização do produto: África do Sul (Reg. L7945). Comercializado na África do Sul, Zâmbia e Quênia.

Empresa produtora: Plant Health Products Ltd. África do Sul (Eco-77..., 2018).

ECOHOPE E ECOHOPE-DRY

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride* SKT-1.

Doenças e patógenos visados: doenças de arroz causadas por *Gibberella fujikuroi*, *Burkholderia plantarii*, *Burkholderia glumae* e *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*.

Modo de ação: degradação da parede celular pela produção de enzimas.

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma atroviride* SKT-1 foi isolado da rizosfera de *Zoysia japonica* (Nagayama et al., 2007).

Formulação e vida de prateleira: líquida (armazenar a 4 °C durante 4 meses). Formulação WP (armazenar em temperatura ambiente por 6 meses).

Método de aplicação: tratamento de semente.

Registro e comercialização do produto: Japão. Ecohope (21009) e Ecohope Dry (21434)

Empresa produtora: Kumiai Chemical Industry Co. Ltd. Japão (Ecohope..., 2019).

ESQUIVE WP

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride* I-1237.

Doenças e patógenos visados: podridão do tronco da videira causada por *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum* e *Fomitiporia mediterranea*. Também indicado para controlar *Eutypa lata* e *Botryosphaeria* spp. (Bertsch et al., 2013).

Modo de ação: antagonismo, parasitismo, competição e antibiose.

Características do agente de biocontrole: limita e retarda a progressão de agentes patogênicos presentes na videira e contribui para a redução de diversos sintomas de doenças associadas à podridão do tronco.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 10^{11} UFC/kg. Armazenar por seis meses à temperatura ambiente (20 °C) ou por 18 meses refrigerado (5 °C).

Métodos de aplicação: foliar: 4 kg/ha ou 100 g/L (1 tratamento por ano). Também pode ser aplicado com pincel em ferimentos de poda.

Registro e comercialização do produto: Europa (França AMM 2080004.), Austrália, Nova Zelândia, África do Sul e Vietnã.

Empresa produtora: Agrauxine, ZA de Troyalac'h. África do Sul (Esquive..., 2018).

LETTUCEMATE

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride*.

Indicação de uso: bioinoculante para a cultura da alface.

Modo de ação: promotor de crescimento de raízes da alface.

Formulação: pó-molhável contendo 5×10^8 UFC/g.

Métodos de aplicação: aplicar nas mudas de alface 200 g/50 L entre 3 a 5 dias antes do plantio de campo.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Lettucemate..., c2016).

PLANT HELPER

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride*.

Doenças e patógenos visados: *Microdochium nivale*, *Myriosclerina borealis*, *Pythium* sp. e outros.

Modo de ação: crescimento da planta e induzindo a resistência natural da planta a fitopatógenos.

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma atroviride* foi isolado da região subártica do Alaska, logo é tolerante ao frio, sobrevivendo a temperatura de 4 °C a 33 °C.

Formulação: comercializado em concentrado líquido contendo 10⁶ UFC/mL e pó-molhável na concentração de 1 x 10⁸ UFC/g.

Método de aplicação: pode ser aplicado por pulverização e via irrigação.

Registro e comercialização do produto: EUA.

Empresas produtoras: AmPac Biotech. Fresno, CA, USA (Plant..., 2018).

PLANTMATE FOLIAR

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride*.

Indicação e modo de ação: promotor de crescimento.

Características do produto: pode ser aplicado com fertilizante foliar líquido e produtos orgânicos, como extratos de algas marinhas e produtos à base de peixe.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1 x 10⁹ UFC/g produto formulado.

Métodos de aplicação: culturas de campo: aplicar 500 g/ha a cada 14-28 dias durante o ciclo da cultura, dependendo do clima, das condições de cultivo e do estresse da colheita. Viveiro e culturas de ambiente protegido: aplicar 100 g/100 L de água a cada 7-14 dias durante o ciclo da cultura dependente do clima, condições de crescimento e estresse. Assegurar que o tanque de mistura tenha sido cuidadosamente lavado removendo os resíduos químicos. Pré-misturar 500 g em 10 L de água cinco minutos antes de adicionar no tanque de 500 L de pulverização. Manter agitação constante no tanque. A mistura tem que ser aplicada no mesmo dia de preparação. Deve ser aplicado no final da tarde com espalhante adesivo.

Registro e comercialização do produto: Austrália.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Plantmate..., 2015).

SENTINEL

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride* LU132.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis cinerea* nas culturas da uva e tomate.

Modo de ação: competição.

Características do produto: pode ser usado no manejo integrado de pragas e doenças, alternando com aplicações de fungicidas químicos.

Formulação: pó-molhável na concentração de $2,5 \times 10^9$ UFC/g.

Métodos de aplicação: para tomate recomenda-se 200 g/500 L de água pulverizado a cada 14 a 21 dias antes das aplicações com fungicidas químicos. Para uva 200 g/300 L ou 500 L de água (66 g/100 L de água por ha).

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia (ACVM Act 1997 - P7235). Certified BioAgro New Zeland, Inputs for organics 3515.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Sentinel..., 1997).

TENET

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride* LU132.

Doenças e patógenos visados: podridão branca da cebola (*Sclerotium cepivorum*) e a podridão basal de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*).

Modo de ação: competição.

Características do produto: aplicar no sulco de semeadura próximo das sementes para garantir a atividade biológica do ingrediente.

Formulação: grânulo contendo 5×10^6 UFC/g.

Métodos de aplicação: bulbo de cebola: 25 - 50 kg/ha. Cebolinha: 25 kg/ha. Alho: 25 - 35 kg/ha. Aplicar no sulco de plantio.

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia (ACVM Act 1997, P7644). Certified BioAgro New Zeland - Inputs for organics 3515 C01.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Tenet..., 2013).

TIFI POLVO

Ingrediente ativo: *Trichoderma atroviride* MUCL45632.

Doenças e patógenos visados: mofo cinzento e podridão do tronco (*Botrytis*, *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum australes*) em tomate, uva, mirtilo, maçã e frutas de caroço.

Modo de ação: coloniza a rizosfera. Tem ação antagonista direta a certos patógenos do solo e de parte aérea. Tem efeito bioestimulante promovendo o desenvolvimento radicular e vegetativo. A produção de metabólitos secundários estimula o sistema de defesa da planta e promove o desenvolvimento e a nutrição do mesmo.

Características do agente de controle biológico: via irrigação, quando o objetivo é reduzir os patógenos do solo, ou via foliar, quando o objetivo é reduzir os patógenos transportados pelo ar, usando um nebulizador, bomba eletrostática ou bomba costal. Durante a aplicação, agitar para manter uma suspensão homogênea. No inverno, a aplicação deve ser feita nas primeiras horas da manhã, enquanto no verão, no final da tarde.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^8 conídios/g.

Método de aplicação: foliar: 3 - 4 g/L de água, desde a floração até a pré-colheita. Aplicar 10 dias após aplicação de fungicida químico. Uva e ameixa: 1 kg/ha em 50 L de água. Maçã e Frutas de caroço: 2 kg/ha em 100 L de água. Aplicação dirigida aos cortes de poda ou feridas ocasionadas por danos mecânicos. Aplicar 10 dias depois da aplicação do fungicida químico.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2708).

Empresa produtora: Agrotecnologías Naturales S.L., Tarragona, 43762, Espanha (Chile, 2019; Tifi-Polvo..., [2018]).

TRICHODRY

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride*.

Indicação: bioinoculante para promoção de crescimento.

Modo de ação: estimula o crescimento das raízes e aumenta a assimilação e a utilização de micronutrientes, aumenta a resistência a condições adversas.

Formulação: pó-molhável (WP) contendo $2,5 \times 10^7$ UFC/g.

Métodos de aplicação: aplicar 1 kg/m³ de substrato de crescimento.

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia. Certified Bioagro New Zealand-Inputs for Organics 3515.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Trichodry..., 2015).

TRICHOINPRO WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma atroviride*.

Doenças e patógenos visados: tombamento (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp.) em arroz e nematoide de galhas (*Meloidogyne* spp.) em crisântemo.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^9 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: utilizado de forma preventiva. Tratamento de sementes 2 kg/ton. Aplicação foliar ou sobre o solo 250 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 6777).

Empresa produtora: Inproarroz Ltda. Km. 15 Vía Puerto López Villavicencio, Meta, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018; Trichoinpro, 2019).

UNITE

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride*.

Doenças e patógenos visados: tombamento em plântulas, causado por *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, e podridão radicular, causada por *Phytophthora* spp. e *Cylindrocarpon destructans*, em videiras

Modo de ação: competição e indução de resistência.

Formulação: pó-molhável contendo 5×10^7 UFC/g.

Métodos de aplicação: aplicar a cada duas semanas 500 g/5.000 m³ de substrato orgânico ou 500 g/1000 L de substrato inorgânico a cada 10 a 14 dias. Em hidroponia: 500 g/1000 L a cada 10 a 14 dias. Em plantações: 750 g/ha mensalmente. Em videira e plantios ornamentais: 750 g/ha 3 a 5 vezes por estação. Em viveiros: 750 g/ha de 2 a 3 vezes por estação. Em mudas e sementes: 500 g/100 L de água.

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia (ACVM P7643). Certified Bio-Agro New Zeland - Inputs for organics 3515.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Unite..., 2015).

VINEVAX BIO-DOWEL e VINEVAX WOUND DRESSING

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride*.

Doenças e patógenos visados: *Chondrostereum purpureum*, *Eutypa lata*, *Botryosphaeria stevensii* e *Phaeoemoniella chlamydospora* em videira e frutos de caroço.

Modo de ação: coloniza os vasos de plantas lenhosas e atuam como uma barreira protetora contra os fitopatógenos.

Formulações: pó-molhável e tarugo na concentração de 5×10^8 UFC/g.

Métodos de aplicação: Vinevax Wound Dressing. Pulverização: misturar 10 g/L de água limpa. Pré-misturar o produto adicionando 100 g/2 L de água, mantendo a consistência até 10 L. Mexer até misturar bem e deixar em repouso por 10 minutos antes de usar. Videiras: pulverizar em todos os cortes de poda e quebras de galhos ou danos causados pelo vento. Agitar regularmente e aplicar em todas as feridas. Para melhores resultados aplicar 4-5 h depois das podas. Pincelamento em pomares ou plantas ornamentais: misturar 100 g/L, agitar e repousar por 10 minutos. Use um pincel limpo para aplicar no ferimento das podas. Agitar regularmente e aplicar em todas as feridas. Esperar que a seiva da superfície tenha secado antes da aplicação.

Vinevax Bio-Dowel: aplicar um tarugo por planta jovem e 2 a 3 por plantas adultas de videira; frutos de caroço aplicar 1 a 5 tarugos/planta.

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia (ACVM P2686 e P4231). Certified BioAgro New Zeland - Inputs for organics 3515.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancred's Road PO Box 35, Christchurch 8150, New Zealand. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Vinevax..., 2015).

Trichoderma catenulatum

PRESTOP e PRESTOP MIX

Princípio ativo: *Gliocladium catenulatum* J1446 (ex-*Gliocladium catenulatum*).

Doenças e patógenos visados: *Botrytis cinerea*, *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium*, *Fusarium* e *Phytophthora* em diversas culturas.

Modo de ação: competição, parasitismo e produção de enzimas que rompem a parede celular do patógeno.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 10^8 UFC/g. Vida de prateleira de 12 meses.

Método de aplicação: pulverização foliar, tratamento do substrato de plantio e via irrigação.

Registro e comercialização do produto: EUA, Canadá e União Europeia. Possui certificação da OMRI.

Empresas produtoras: Lallemand/Verdera Oy, P.O. Box 5, Kurjenkallontie, 5B, Finlândia. <http://www.lallemand.com/> (Prestop..., 2007).

Trichoderma fertile

TRICHOPLUS TM

Princípio ativo: *Trichoderma fertile* JM41R.

Doenças e patógenos visados: doenças radiculares causadas por *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Sclerotinia* spp. e *Phytophthora* e também para estimular o crescimento das plantas.

Modo de ação: inibe o crescimento e as atividades dos patógenos, estimula os mecanismos de defesa nas plantas, capacidade de colonização da rizosfera e promoção de crescimento das plantas.

Características do agente de controle biológico: é uma linhagem local adequada para as condições da África do Sul.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^9 conídios /g. Deve ser armazenado a 4 °C.

Métodos de aplicação: misturar 250 g/1000 L de água (deixar a suspensão em repouso por 20 minutos). Este volume é para tratar 1 ha ou 3000 bandejas.

Registro e comercialização do produto: África do Sul (Reg. L7161).

Empresa produtora: Basf South Africa (Trichoplus, 2018).

Trichoderma harzianum

AGRODERMA

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* em diversas culturas anuais e perenes.

Formulação: líquida contendo 1×10^8 conídios/mL e outros inertes, como carboidratos e aminoácidos.

Registro e comercialização do produto: EUA onde possui certificação pela Materials Review Institute - OMRI, podendo ser utilizado na agricultura orgânica. A empresa também atua no Chile, Peru, Colômbia e México (Agroderma..., 2018).

Empresa produtora: Gruindag International, S.A. de C.V. Calle Allende s/n, lote 2, Manzana 13, Parque Industrial de Cuautla, Villa Ayala, Morelos, México. (Agroderma..., 2018).

AGROINT-T

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^9 conídios viáveis/g.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 7384).

Empresa produtora: Edgar Yamil Acosta Lopez - Agroinsumos Biologicos - Carrera 11 N. 7-27 De Villanueva/Casanare, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

ANTAGON WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento causado por *Rhizoctonia solani*, em arroz; de mofo branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, em feijão; murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum*) e podridão de Fusarium (*Fusarium roseum*) em cravo.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^7 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: sulco de plantio, líquida, por meio de abelhas, pasta para poda e tratamento de sementes.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 4778).

Empresa produtora: Bioecológicos S.A.S. Avenida 116, 54-90 - Barrio Alhambra, Bogotá, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Peru, 2019).

BIO-T

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento causado por *Rhizoctonia solani* e *Fusarium* spp., em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: concentrado solúvel contendo 3×10^7 UFC/mL.

Método de aplicação: é aplicado de acordo com a fenologia da cultura e os períodos críticos de risco em sistemas de irrigação por gotejamento, aspersão e rega. Aplicações nas sementes pós germinação. O antagonista, além de ser incorporados no solo, ambos com matéria orgânica, ou pulverizado diretamente, pode ser também inoculado na semente para ocorrer o seu estabelecimento e multiplicação nas radículas, evitando doenças radiculares.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 9413).

Empresa produtora: P.L.A. Biológicos - Carrera 48 Sur 117-78 (Vía Panamericana a Bogotá), Ibagué, Tolima, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

BIO-TRICHO

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* SF.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis* e doenças radiculares causadas por *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium*, etc., em várias culturas.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^9 conídios/g. Armazenar em geladeira (4 °C). Prazo de validade superior a 12 meses.

Métodos de aplicação: solo ou tratamento de sementes 40 g/10 L de água.

Registro e comercialização do produto: África do Sul.

Empresa produtora: Agro-Organics (Pty) Ltd. (Bio-Tricho..., 2018).

BIOBEN

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Sclerotinia* sp., *Sclerotium* sp., *Fusarium* sp., *Verticillium* sp., etc.

Modo de ação: parasitismo, estimula a planta a produzir fitoalexina como mecanismo de defesa; produz substâncias que impedem e/ou limitam o desenvolvimento do patógeno e produz substâncias que ativam a produção de hormônios e crescimento de raiz, facilitando a absorção de nutrientes pela planta (Bioben..., 2018).

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^7 UFC/g.

Método de aplicação: 200 - 800 g/ha.

Registro e comercialização do produto: EUA. Possui certificação da OMRI-CERES (Bioben..., 2018).

Empresa produtora: Agrícola Innovación S.A. de C.V. Av. Central 206 3 er Piso Col. San Pedro de los Pinos. Cidade do México, MX 01180 (Bioben..., 2018).

BIODERMA

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ultimum*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Botrytis* sp.

Modo de ação: competição, antibiose, parasitismo e promoção de crescimento.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1×10^{10} conídios viáveis/g.

Método de aplicação: tratamento de sementes na concentração de 4 g/kg de semente e diretamente ao solo na concentração de 2,5 kg/ha. Pode ser pulverizado nas folhas na concentração de 2,5 kg/ha. Não deve ser aplicado com bactericidas. A cada 30 dias, aplicar 50 a 100 g/ha ou 0,25 g/L de água.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 6301).

Empresa produtora: Ideias Biologicas. Valle do Aburra. Colômbia (Bioderma..., 2017; Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

BIOFLOWER TRICHODERMA

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: podridões da raiz ou doenças fúngicas que causam murcha e afetam o desenvolvimento dos frutos, vegetais e plantas ornamentais e gramados.

Modo de ação: antagonismo.

Formulação: *Trichoderma harzianum* em sachês. Caixa com 3 sachês de 4 g/unidade.

Métodos de aplicação: mudas: aplicar 4 - 8 g (1 - 2 sachês)/L de água. Utilizar cerca de 1 L/3 m lineares. Vasos: 4 - 8 g (1 - 2 sachês)/L de água. Aplicar 150 - 250 mL/vaso de 10 - 20 cm de diâmetro. Transplante: 4 - 8 g (1 - 2 sachês)/L de água. Aplicar 150 - 250 mL/planta no momento do transplante. A manutenção nas culturas deve ser feita visando assegurar um mínimo de população de *Trichoderma* em solos ou substrato para isso é recomendada a aplicação de 2 - 4 g/L de água a cada 30 dias.

Registro e comercialização do produto: Espanha.

Empresa produtora: BioFlower, Espanha (Bioflower, c2019).

BIOFUNGO WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* OBTH15.

Doenças e patógenos visados: *Pyricularia oryzae* (arroz), *Botrytis cinerea*, *Phytophthora* sp. e *Sphaeroteca pannosa* (rosas).

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: pulverização na pré-floração a cada 15 dias na dose de 300 g/ha. Em arroz aplicar no perfilhamento e pré-floração por aspersão na dose de 300 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 4678).

Empresa produtora: Orius Biotech, Colômbia (Biofungo..., 2017; Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

BIOHARZ

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Sclerotium*, *Verticillium*, *Alternaria* e *Botrytis cinerea*.

Modo de ação: parasitismo e promoção de crescimento.

Formulação: suspensão contendo 2×10^8 UFC/mL.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: aplicar 5 - 10 mL/50 mL de água em 1 kg de semente. Tratamento de mudas: 250 mL/50 L de água e mergulhar as raízes das mudas por meia hora na suspensão e transplantar imediatamente. Via “drench”: 750 - 1000 mL/100 L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: International Panaacea Ltd. Índia (Bioharz..., 2018).

BIOPONIC MIX BM

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium* e *Pythium*.

Modo de ação: competição e promoção de crescimento.

Formulação: pó-molhável.

Método de aplicação: misturar 1 g/10 L de água e aplicar no solo. Repetir a cada 6 ou 8 semanas.

Registro e comercialização do produto: Espanha.

Empresa produtora: GHE - General Hydroponics Europe. Biopole 32500 Fleurance, França (Bioponic..., 2019).

BIOREGULAX WP

Ingrediente ativo *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em arroz e de mofo branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, em crisântemo.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: pulverização na pré-floração das plantas a cada 15 dias na dose de 300 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 4677).

Empresa produtora: Orbiotec S.A. Carrera 23, 5-86, Villavicencio, Departamento de Meta, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

BIOTRICO-H

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo.

Modo de ação: competição, antibiose, parasitismo e indução de resistência da planta.

Registro e comercialização do produto: EUA, com certificação OMRI.

Empresa produtora: Sagana Agrobiológicos. Costerita, 1900 Orilla de Carretera Km 3 Col. El Ranchito Culiacan, Sinaloa 80309 (Biotricho-H..., 2018).

BLINDER SC MYCROS

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* BTH003.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em arroz e de mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea*, em morango, rosa e tomilho.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo, estimula a defesa da planta e solubiliza fosfatos.

Formulação: suspensão concentrada contendo 5×10^8 conídios viáveis/mL.

Método de aplicação: foliar ou no solo.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 7669).

Empresa produtora: Mycros Internacional S.A.S - Lugar Km 1.3, Via Parcelas de Cota Bod. 14 Bodega Aepi PH, Cota, Cundinamarca, Colômbia (Blinder..., 2016; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

COMMANDER

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: nematoides e murchas causadas por *Fusarium* spp.

Modo de ação: parasitismo e competição.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1%.

Métodos de aplicação: solo 1 kg/0,5 ha. Foliar: 2 g/L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia

Empresa produtora: H. T. C. Impex Private Ltd. Índia (Commander..., 2019).

DAYTONA

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* ESALQ-1306.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pratylenchus zeae* e *Thielaviopsis paradoxa*.

Modo de ação: parasitismo.

Formulação: suspensão concentrada (SC) com, no mínimo, $2,0 \times 10^9$ conídios viáveis/mL.

Método de aplicação: *Fusarium*: 800 - 1000 mL/ha pulverizados no sulco da semeadura. Para *Rhizoctonia*: 1000 mL/ha em aplicação foliar (para morango 2 - 7 aplicações em intervalos de 20 - 50 dias a partir do transplante). *Sclerotinia*: duas pulverizações (V3 e V5 em soja) com dose de 500 - 1000 mL/ha. *Pratylenchus*: aplicação no sulco de plantio (1000 mL/ha) em

cana-de-açúcar. *Thielaviopsis paradoxa*: 1000 - 2500 mL/ha pulverizados no sulco de plantio em cana-de-açúcar.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 19318).

Empresa produtora: Koppert do Brasil Holding Ltda. Rodovia SP-135, km 17,5, 13420-280, Piracicaba/SP, Brasil. (Agrofit, c2003).

ECOGOLD TRICHA

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* NBRI-1055.

Doenças e patógenos visados: doenças radiculares causada por *Rhizoctonia*, *Fusarium* e *Pythium*.

Modo de ação: parasitismo, antibiose e promoção de crescimento.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 5 - 10 g/25 mL de água para 1 kg de semente. Mudanças: 10 g/L de água e mergulhar as raízes por 30 minutos antes do transplante no campo. Aplicação no solo: misturar 1 kg/25 kg de esterco para 4000 m². Aplicação foliar: 1 kg/100 L água, pulverizado nas folhas.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Metro Exporters PVT. Ltd. Índia (Ecogold..., 2019).

ECOSOM - TH

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Botrytis cinerea* e nematoides.

Modo de ação: competição por espaço e nutrientes, parasitismo, produção de enzimas degradadoras, promoção de crescimento e produz toxinas que possuem ação nematicida.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: foliar: 10 g/500 mL de água. Gotejamento: 3 - 5 kg/50 L de água. Aplicação no solo como bionematicida: 50 - 150 kg/ha aplicado na zona das raízes. Imersão das raízes: mergulhar as raízes das plantas numa suspensão contendo 10 g/L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Agri Life. Índia (Ecosom..., 2019).

ECOTRICH

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* IBLF006.

Doenças e patógenos visados: recomendado no Brasil para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*; no Paraguai é recomendado para o controle de tombamento, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina phaseolina* e *Pythium* spp., em soja e para controle da podridão radicular, causada por *Pythium* spp., *Fusarium* spp. *Macrophomina* spp., em milho; na Bolívia é recomendado para o controle de *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani*, causadores de tombamento na soja.

Modo de ação: competição, parasitismo e antibiose.

Características do agente de controle biológico: sobrevive a diversas condições ambientais.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável (WP) na concentração de 1×10^{10} UFC/g. Validade de 11 meses a 20 °C.

Método de aplicação: soja: aplicar 40 - 60 g/100 kg de sementes para o controle de *Rhizoctonia solani*; para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* pulverizar 200 - 250 g/ha no estádio V5. Alfafa: 150 g/ha imediatamente após o transplante de mudas.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 04213), Paraguai (SENAVE 4848) e Bolívia (SENASAG 3948).

Empresa produtora: Ballagro Agro Tecnologia Ltda. Estrada Municipal Carlos Gebim, 2353, 12955-000. Bom Jesus dos Perdões/SP. Brasil (Agrofit, c2003; Paraguai, 2019).

EMERALD AVANI

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Phytophthora*, *Fusarium* e *Pythium*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Ralstonia*, doenças bacterianas e fúngicas do algodão, cereais, leguminosas, vegetais, oleaginosas, fruteiras e floricultura.

Modo de ação: competição, antibiose e parasitismo.

Características do agente de controle biológico: os metabólitos estimulam a germinação de sementes, o crescimento das plantas e a formação inicial de flores.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Emerald Bio. Índia (Emerald..., 2019).

FITOBAC

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em cri-sântemo.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: tratamento de sementes: 20 - 30 g/100 kg sementes. Tratamento de solo: 20 - 30 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 6379).

Empresa produtora: Organización Pajonales SA. Carrera 65C 32B-13, Medellín, Antioquia, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

FOLIGUARD SC

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis cinerea*, causador do bolor cinza, em roseira. Controle de *Leveillula taurica*, *Stemphylium versicarium*, *Uncinula necator*, *Botrytis cinerea* e *Peronospora destructor*.

Características do produto: inibe a germinação dos conídios e o crescimento dos fitopatógenos.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: suspensão concentrada contendo 5×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: aplicar na parte aérea das plantas (tronco, folhas, flores e frutos) via nebulização com alta turbulência para garantir a cobertura. Recomenda-se aplicação, preferencialmente, de forma preventiva ou no início do aparecimento da doença na dosagem de 750 mL/ha ou 200 - 300 mL/100 L. Pimenta, aspargo, uva, alcachofra, abacate e cebola: aplicar 200 - 300 mL/100 L. Oídio da videira: 750 mL/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 6014) e Peru (SENASA PBUA 159).

Empresa produtora: Live System Technology S.A. Calle 126 11 B-9, Bogotá, Colômbia. Farmago SA. Av. Alfredo Mendiola, Auxiliar Panamericana Nte. 6068, Los Olivos 15314, Peru (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018; Peru, 2019).

FRAGATA

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: podridões causadas por *Fusarium oxysporum* em tomate, berinjela, tabaco e pimenta.

Modo de ação: parasitismo, competição por nutrientes e antibiose.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^9 UFC/g.

Método de aplicação: foliar com um adjuvante.

Registro e comercialização do produto: EUA.

Empresa produtora: Química Agronomica de Mexico S. de R.L. de C.V. Calle 18, 20501 Colonia Impulso Chihuahua, Chihuahua 31183, México (Fragata..., 2016).

FUNGIGRASP WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp. causadores de tombamento nas culturas da soja e do tomate.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^8 UFC/g.

Método de aplicação: em pré-transplante e oito dias após o transplante (250 - 500 g/ha).

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 8069) e Bolívia (SENASAG 3601).

Empresa produtora: Core Biotechnology. Av. 4 Norte, 8N-67, Cali, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

GLIOCLADIN TAB

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* (18 ВИЗР).

Doenças e patógenos visados: fitopatógenos causadores de podridões de raiz e colo em pepino, tomate e flores.

Formulação e vida de prateleira: tablete ou pastilha contendo 10^9 UFC/g. Validade de até dois anos em temperatura entre -30 °C a 30 °C.

Métodos de aplicação: tomate e pepino: colocar 1 tablete/cova numa profundidade de, pelo menos, 1 cm, na semeadura/transplante de mudas. Flores: colocar 1 tablete/300 mL de solo na semeadura ou transplante de mudas.

Registro e comercialização do produto: Rússia. Certificado de Registro 1596-09-307-214-0-0-3-1.

Empresa produtora: АгробИоТехноЛогИя - Agrobiotecnologia LLC. 125212, Moscou, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4. (Gliocladin..., 2018c).

GLIOCLADIN SK

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* (18 ВИЗР).

Doenças e patógenos visados: fitopatógenos causadores de podridões de raiz e colo, além da murcha causada por *Fusarium* sp. em tomate e pepino.

Características do agente de controle biológico: promoção do crescimento de plantas.

Formulação e vida de prateleira: suspensão concentrada contendo 10^{10} UFC/g. Validade de até três meses em temperatura entre 2 - 8 °C.

Métodos de aplicação: via “drench” na dose de 140 mL/ha ou pulverização do solo. Uma semana após a vaporização do solo, aplicar o produto em uma profundidade de 20 - 35 cm, objetivando que o *Trichoderma* ocupe o vazio microbiano. Durante a estação de crescimento, aplicar o produto de duas a três vezes.

Registro e comercialização do produto: Rússia. Certificado de Registro 1448-09-107-214-0-0-0-0.

Empresa produtora: АгроБиоТехнология - Agrobiotecnologia LLC. 125212, Moscou, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4. (Gliocladin..., 2018a).

GLIOCLADIN SP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* (18 ВИЗР).

Doenças e patógenos visados: fitopatógenos causadores de podridões de raiz e colo.

Modo de ação: inibe o desenvolvimento do patógeno.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 10^{10} UFC/g. Validade de dois anos a -30 °C a 30 °C.

Métodos de aplicação: via “drench” na dose de 60 g/ha ou pulverização do solo. Uma semana após a vaporização do solo, aplicar o produto em uma profundidade de 20-35 cm, objetivando que o *Trichoderma* ocupe o vazio microbiano. Durante a estação de crescimento, aplicar o produto de duas a três vezes.

Registro e comercialização do produto: Rússia. Certificado de Registro 2120-10-307-214(434) -0-0-3-0.

Empresa produtora: АгроБиоТехнология. Agrobiotecnologia LLC.125212, Moscou, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4, Rússia (Gliocladin..., 2018b).

GROW-BOOST

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T-22.

Doenças e patógenos visados: *Pythium* e *Fusarium*.

Modo de ação: promove o crescimento das raízes e a absorção de água e nutrientes pela planta.

Métodos de aplicação: uma embalagem/40 bandejas de produção de mudas ou 20m² de superfície de cultivo. Dissolver o conteúdo da embalagem de 20 g em água, pulverizar sobre as bandejas de sementes ou mudas com um regador. Ideal para a propagação bem-sucedida de sementes e estacas, bandejas, vasos, recipientes e canteiros elevados e para aplicação em sementeira ou no transplante. Repetir as aplicações a cada 10 a 12 semanas. Pode ser utilizado em cultivos de legumes, saladas, ervas, frutos vermelhos, bulbos, plantas ornamentais e plantas perenes.

Registro e comercialização do produto: Reino Unido.

Empresa produtora: Dragonfli, Unit 4 Rippers Court, Sible Hedingham, Halstead Essex, CO9 3PY. United Kingdom (Grow-boost..., 2019).

HARZINA GOLD

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: protege as sementes e brotos emergentes dos patógenos habitantes do solo.

Modo de ação: promoção de crescimento e competição.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1%.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Super Agro (I) Pvt. Ltd. Índia (Harzina..., 2019).

HARZTOP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: mofo cinzento, tombamento e podridão de raiz causadas por *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp. em uva, mirtilo, morango, framboesa, tomate, alface, salsa, pimentão, pêssego, nectarina, ameixa, damasco, amendoa, noz, limão, laranja, oliveira, abacate, trigo, aveia, cevada, milho e maçã.

Modo de ação: inibe o crescimento de fitopatógenos, competição por espaço e nutrientes, produção de metabólitos que induzem resistência sistêmica adquirida em plantas, geração de outros metabólitos do tipo antibiótico e parasitismo.

Formulação: suspensão concentrada contendo 1×10^8 conídios/mL.

Método de aplicação: utilizar 1 - 2 L/ha, com pulverização foliar no início e final da floração e na formação do fruto. Utilizar 100 mL/100L via irrigação durante a semeadura ou transplante.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2738).

Empresa produtora: Biogram SA. Los Canteros, 8534, La Reina, Santiago, Chile (Harztop, 2014; Chile, 2019).

HASIRU FRESH TRICHODERMA

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo, murchas vasculares e podridões de raiz.

Modo de ação: antibiose, indução de resistência das plantas e parasitismo.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Hasiru Organics. Índia (Hasiru..., 2019a).

HULKGREEN

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Puccinia* e *Peronospora*.

Modo de ação: inibe o crescimento dos patógenos, indução de resistência, promoção de crescimento, competição, parasitismo e antibiose.

Formulação: suspensão concentrada de conídios.

Registro e comercialização do produto: Argentina (SENASA 39751).

Empresa produtora: Agro Advance Technology SA. Fátima, Buenos Aires, Argentina (Argentina, 2019a; 2019b).

LABRADOR

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Pythium*, *Fusarium*, *Cylindrocladium*, *Thielaviopsis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pyrenochaeta terrestres* e *Phytophthora cinnamomi* nas culturas de morango, mirtilo, cebola, abacate, noz e outras.

Modo de ação: parasita hifas, escleródios e conídios de fungos. Produz metabólitos que inibem a germinação, o desenvolvimento e formação de micélio. Induz o sistema de defesa da planta, estimulando a produção de fitoalexina. Além disso, produz auxina que promove o crescimento de raízes e facilita a absorção de nutrientes.

Formulação: pó-molhável contendo $1,1 \times 10^7$ UFC/g.

Método de aplicação: tratamento de sementes, na propagação de hortaliças em bandeja e tratamentos de estacas por imersão. O produto deve ser diluído em água. Não aplicar nas horas mais quentes do dia, com baixa umidade relativa e com alta luminosidade. Não expor o produto a temperatura superiores a 40 °C por mais de 30 dias.

Registro e comercialização do produto: EUA. Possui certificação da OMRI (Labrador..., 2018).

Empresa produtora: Agroquímicos Versa S.A. de C.V. Planta industrial: Alfonso Gómez Torres, 160. CP 27019 Torreón, Coahuila, México (Labrador..., 2018).

LYCOMAX

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* e *Fusarium*.

Modo de ação: controla doenças de plantas causadas por fungos e promove o crescimento das plantas.

Formulação: grânulos ou pó.

Métodos de aplicação: no sistema de irrigação ou diretamente na superfície da planta.

Registro e comercialização do produto: Reino Unido.

Empresa produtora: Russell IPM. Reino Unido. <http://russellipm-agriculture.com/lycomax-3/>. Acesso em: 22 set. 2018 (Fraceto et al., 2018).

MAJESTIC

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* IBLF006.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Modo de ação: competição, parasitismo e antibiose.

Formulações disponíveis: pó-molhável contendo 1×10^{10} UFC/g.

Método de aplicação: no sulco de semeadura para controle de *Rhizoctonia solani* (500 g/ha). Para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* recomenda-se a aplicação via solo (300 g/ha) imediatamente após o transplante e via foliar (500 g/ha), sendo na cultura da soja no estádio V4.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 24318).

Empresa produtora: Ballagro Agro Tecnologia Ltda. Estrada Municipal Carlos Gebim, 2353, 12955-000. Bom Jesus dos Perdões/SP, Brasil (Agrofit, c2003).

NATIBIOL

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^7 UFC/g.

Método de aplicação: via “drench” ou no sistema de irrigação após o transplante. Recomenda-se reaplicar em intervalos de 7 a 20 dias. Utilizar a dose de 60 - 120 g/L de água via “drench” ou 400 - 800 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Venezuela.

Empresa produtora: Probiagro SA. Acarigua, Venezuela (Bettiol et al., 2012).

NATUCONTROL

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia* sp. e *Phytophthora cinnamomi* nas culturas de tomate, alface, abacate, morango, framboesa, groselha etc.

Modo de ação: parasitismo, indução de resistência, antibiose e promoção de crescimento.

Características do agente de controle biológico: protege as plantas contra doenças radiculares causadas por fitopatogenos, atuando na defesa durante todo ciclo de cultivo.

Formulação: pó-molhável.

Registro e comercialização do produto: EUA. Possui certificação da OMRI. A empresa encontra-se em diferentes países, como EUA, México, Guatemala, Panamá, Colômbia, Nicarágua, Equador, Peru e Brasil.

Empresa produtora: Biokrone, USA (Natucontrol..., 2019).

NATUCONTROL MEZFER

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani* e *Fusarium* spp., em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^7 UFC/g.

Método de aplicação: via “drench” ou no sistema de irrigação após o transplante. Recomenda-se reaplicar em intervalos de 7 a 20 dias. Utilizar a dose de 60 - 120 g/L de água via “drench” ou 400 - 800 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 10490).

Empresa produtora: Mezfer de Colômbia Ltda. Edifício OXXO Via Chía-Cajicá, Cundinamarca, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

OCTANE

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* ESALQ-1306.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pratylenchus zeae* e *Thielaviopsis paradoxa*.

Modo de ação: parasitismo.

Formulação: suspensão concentrada com $2,0 \times 10^9$ conídios viáveis/mL.

Método de aplicação: *Fusarium*: 800 - 1000 mL/ha pulverizados no sulco da semeadura. Para *Rhizoctonia*: 1000 mL/ha em aplicação foliar (para morango 2 - 7 aplicações em intervalos de 20 - 50 dias a partir do transplante). *Sclerotinia*: duas pulverizações (V3 e V5 em soja)

com dose de 500 - 1000 mL/ha. *Pratylenchus*: aplicação no sulco de plantio (1000 mL/ha) em cana-de-açúcar. *Thielaviopsis paradoxa*: 1000 - 2500 mL/ha pulverizados no sulco de plantio em cana-de-açúcar.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 22318).

Empresa produtora: Koppert do Brasil Holding LTDA. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba/SP, Brasil (Agrofit, c2003).

PEAK TRICO-H

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: podridão da raiz, apodrecimento, a murcha de *Fusarium*, *Ganoderma*, etc.

Modo de ação: parasitismo e antibiose.

Formulação: líquido solúvel contendo 1×10^9 UFC/ml.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 20 ml/500 mL de água e recubra as sementes para 0,5 ha. Foliar: 20 ml/100 L de água/0,5 ha. Aplicação no solo: 250 ml/20 kg de resíduos da fazenda. Mudanças: 50 mL/100 L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Peak Group. Índia (Peak..., 2019b).

PHC T-22

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* cepa T-22 (KRL-AG2).

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Fusarium* sp., em cucurbitáceas; podridão rosada causada por *Pyrenochaeta terrestres* em cebola e cebolinha; podridão de raiz causada por *Fusarium* sp. em morango, framboesa, tabaco, batata e outras culturas.

Modo de ação: inibe o crescimento de patógenos do solo, compete no solo formando uma proteção ao redor do sistema radicular. Também atua por parasitismo.

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma harzianum* cepa T-22 foi desenvolvida pela Universidade de Cornell mediante o cruzamento de duas cepas de *Trichoderma harzianum* provenientes de regiões e clima contrastantes. A cepa se adapta a uma ampla gama de espécies vegetais; solos argilosos e arenosos; clima temperado a tropical e pH na faixa de 4 a 8.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 1×10^7 UFC/g. Quando conservado em baixa temperatura, o tempo de vida de prateleira é de 24 meses.

Método de aplicação: via solo, no tratamento de semente e pulverizado.

Registro e comercialização do produto: EUA e México.

Empresa produtora: Plant Health Care de México, S. de R.L. de C.V. Av. Ceylan, 959, Bodega 26. Col. Industrial Vallejo. Cidade do México, México 02300 (PHC, 2018).

PHC Planter Box

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* KRL - AG 2 (cepa T-22).

Doenças e patógenos visados: *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Cylindrocladium*, *Thielaviopsis* e *Sclerotinia*.

Modo de ação: competição e parasitismo.

Características do agente de controle biológico: a cepa foi desenvolvida pela Universidade de Cornell mediante o cruzamento de cepas de *Trichoderma* de regiões de clima e solo contrastante.

Formulação e vida de prateleira: o produto contém 1×10^7 UFC/g. Quando armazenado em baixas temperaturas a viabilidade poderá se estender entre 8 a 12 meses.

Método de aplicação: tratamento de sementes ou no substrato de cultivo.

Registro e comercialização do produto: EUA e México. O produto é certificado pela OMRI e patentado: US Patent 5.260.213 (PHC, 2018).

Empresa produtora: Plant Health Care de México, S. de R.L. de C.V. Av. Ceylan, 959, Bodega 26. Col. Industrial Vallejo. Cidade do México, México 02300. BioWorks, Inc., 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, New York 14564. Site: <http://www.bioworksinc.com/index.html>.

PLANT BOOST

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T-22.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo.

Modo de ação: aumento do desenvolvimento da raiz da planta, maior rendimento para vegetais e frutas e melhoria do estabelecimento de plantas após o plantio.

Características do agente de controle biológico: promoção de crescimento, estimula o crescimento de raízes e aumenta a absorção de nutrientes e água.

Formulação: granulado contendo 40 g de *Trichoderma harzianum* T-22.

Métodos de aplicação: misturar os grânulos com o substrato antes do plantio (10 g /10 L de substrato). Os grânulos também podem ser colocados nas covas de plantio para garantir que os grânulos tenham contato com as raízes. Repetir três meses após o plantio.

Registro e comercialização do produto: Reino Unido.

Empresa produtora: Dragonfli, Unit 4 Rippers Court, Sible Hedingham, Halstead Essex, CO9 3PY. United Kingdom (Plant-Boost..., 2019).

PLANTMATE GRANULAR

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Indicação: usado em culturas de campo, bulbos e tubérculos, pomares, vinhedos e substrato para produção de sementes. Deve ser aplicado no sulco de plantio de árvores, trepadeiras e sementes. O organismo estimula o desenvolvimento da raiz.

Características do produto: grânulos para aplicação nas zonas das raízes, recomendado para todas as plantas.

Formulação: *Trichoderma harzianum* 1×10^6 UFC/g formuladas em uma matriz de colonização específica.

Métodos de aplicação: culturas de campo: aplicar 10 a 25 kg/ha no sulco de plantio. Se a semente for de tamanho similar ao grânulo a semente pode ser misturada com o grânulo antes da semeadura. Alternativamente, o produto deve ser aplicado ao sulco na mesma profundidade que a semente utilizando outro depósito anexado à plantadeira. Bulbos de flores e tubérculos: aplicar 1 kg/100 m² diretamente em torno dos bulbos e tubérculos no plantio. Assegurar a cobertura dos grânulos pelo solo. Sementeira: aplicar 1 kg/20 m² e misturar com os 5 cm superiores do perfil do solo para preparar o local de semeadura. Assegurar a cobertura dos grânulos pelo solo. Pomares e vinhedos: aplicar 5 a 25 g do produto no fundo da cova de plantio de árvores e videiras.

Registro e comercialização do produto: Austrália.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Plantmate..., 2014).

PLANTSHIELD HC

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T-22.

Doenças e patógenos visados: podridões causadas por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Cylindrocladium* e *Thielaviopsis* em Cucurbitáceas (pepino, melão, abóbora, etc.); flores e plantas ornamentais; vegetais (berinjela, tomate, pimenta); ervas, especiarias e hortelã; verduras (rúcula, aipo, endívia, alface, couve, acelga, mostarda, repolho, etc.); culturas hidropônicas (pepino, tomate, alface, ervas e especiarias); frutas de clima temperado (pêra, marmelo); culturas de viveiro (maple, carvalho, uva, pinho, etc.); frutas de caroço (damasco, cereja, pêssego, ameixa, nectarina) e amêndoa, nozes, castanha, macadâmia, pistache, etc.

Modo de ação: parasitismo, antibiose, competição, solubilização de nutrientes inorgânicos para a absorção radicular, indução de resistência e inativação de enzimas do patógeno envolvidas no processo de infecção (Paulitz; Bélanger, 2001).

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma harzianum* KR-L-AG2 (T-22) é o resultado da fusão de protoplasmas entre os isolados de *Trichoderma harzianum* T-95 (que possui competência rizosférica) e o isolado T-12. O isolado T-22 coloniza todo o sistema radicular e persiste por um longo período quando aplicado como tratamento de semente (Paulitz; Bélanger, 2001). Fornece proteção as plantas contra patógenos de solo. O fungo cresce em pH de 4 a 8 e temperatura de 8,9 °C a 36 °C. Alimenta-se de nutrientes liberados pela raiz, removendo suprimento para o patógeno. Não causa danos a saúde humana, animal e para a planta (Plantshield..., 2018).

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 1×10^7 UFC/g. A vida de prateleira é de seis meses quando armazenado entre 10 °C - 25 °C, nove meses de 0 °C - 10 °C e 12 meses abaixo de 0 °C.

Método de aplicação: no solo ou na parte aérea da planta.

Registro e comercialização do produto: EUA.

Empresa produtora: BioWorks, 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, New York 14564, USA. (Plantshield..., 2018).

PREDATOX

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* IBLF006.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Modo de ação: fungicida microbiológico de contato.

Formulação e vida de prateleira: suspensão concentrada (SC) com 2×10^8 UFC/mL. Validade de seis meses em temperatura menor que 22 °C.

Método de aplicação: para o controle de *Rhizoctonia solani* em feijoeiro: 1 L/ha aplicado no sulco de semeadura. Para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*: 1,0 - 1,5 L/ha para a cultura da alface, imediatamente após o transplantio das mudas no campo, em aplicação direcionado ao solo. Para a cultura da soja: aplicação no estágio V4 de 1,0 - 2,5 L/ha.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 05015).

Empresa produtora: Ballagro Agro Tecnologia Ltda. Estrada Municipal Carlos Gebim, 2353. 12955-000, Bom Jesus dos Perdões/SP, Brasil (Agrofit, c2003).

PRORECTOR WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: patógenos de solo, tombamento, podridões de caules e raízes causados por *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Fusarium* sp., *Sclerotinia* sp., *Botrytis* sp. em sementes de tomate, café, banana, flores, arroz, hortaliças e tomate,

cana-de-açúcar, batata, milho, soja, sorgo, tabaco, abacaxi, melão, melancia e alecrim, tomilho, orégano, baunilha, estragão e hortaliças.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável na concentração de 2×10^8 UFC/g.

Método de aplicação: via solo antes e depois da sementeira: 1 - 2 g/L de água. Via “drench”: 0,5 - 0,8 g/m² aplicando 50 L da mistura em água por canteiro de 30 m². Para tratamento de sementes: 1 - 5 g/kg de sementes.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 6213).

Empresa produtora: BIO-CROP LTDA - Carrera 24 n 21-31 Palmira, Departamento Valle, Colômbia (PRROCTOR..., 2011; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

RIZODERMA

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* Th2.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium graminearum*, *Drechslera tritici repentis*, *Bipolaris sorokiniana*, *Tilletia laevis*, *Ustilago tritici* causadores de tombamento, manchas foliares e carvões em trigo e *Cercospora kikuchii*, *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp. causadores da mancha de Cercospora e de Phomopsis e podridão vermelha da raiz em soja.

Modo de ação: inibe o crescimento de patógenos, promove o crescimento das plantas e aumenta o comprimento e volume das raízes e das partes aéreas das plântulas.

Formulação: líquido (AL) contendo 2×10^8 conídios/mL.

Método de aplicação: Tratamento de sementes: trigo (600 mL/100 kg de sementes) e soja (300 mL/100 kg de sementes).

Registro e comercialização do produto: Argentina (SENASA 38004) e no Paraguai (SENAVE 5268), Estados Unidos, Ucrânia e Uruguai.

Empresa produtora: Rizobacter Argentina S.A. Microbiología Agrícola. Laboratorio Elaborador de Productos Biológicos, PB0013 Av. Dr. Arturo Frondizi 1150 - Parque Industrial - C.P. B2702HDA Pergamino, Buenos Aires, Argentina (Rizoderma..., 2016; Argentina, 2019a, 2019b).

ROOT GUARDIAN

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* cepa T-22 (KRL - AG 2).

Doenças e patógenos visados: fitopatógenos habitantes do solo.

Modo de ação: cresce nas raízes das plantas protegendo contra patógenos.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^6 UFC/g.

Método de aplicação: tratamento de semente, sistema radicular e solo.

Registro e comercialização do produto: EUA.

Empresa produtora: Garden Alive Inc. 5100 Shenley Place. Lawrenceburg, IN, 47025 USA (Root..., 2019).

ROOT PRO

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* Th2.

Doenças e patógenos visados: *Pythium* spp., *Sclerotium rolfsii* e *Fusarium* spp.

Métodos de aplicação: em mudas e viveiro.

Registro e comercialização do produto: Israel

Empresa produtora: Agriance, Israel (Agriance, c2014).

ROOTGARD SP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* isolado 21.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Sclerotium* e *Fusarium* spp. em milho, trigo, feijão, batata, tomate, alface, crucíferas, cenoura, cebola e cucurbitáceas.

Modo de ação: coloniza e defende as raízes da planta de ataques de patógenos radiculares. Também ajuda na solubilização de fósforo, tornando-o disponível para a planta, acelera a decomposição de matéria orgânica e produz substâncias promotoras de crescimento.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^9 conídios/g.

Métodos de aplicação: pode ser usado em gotejamento, em jato, em pulverização, mergulhando o sistema radicular e tratamento de sementes: 25 g/100 L de água. Via “drench”: aplicar em bandejas de mudas, canteiros ou hortalças direcionadas após o plantio como tratamento preventivo. Uma nova aplicação pode ser feita se for considerada necessário. Tratamento de sementes: 1 g/kg de sementes.

Registro e comercialização do produto: Quênia e África do Sul.

Empresa produtora: Juanco SPS Ltd. África do Sul. (Rootgard..., 2019).

ROOTSHIELD WP, ROOTSHIELD GRANULES E ROOTSHIELD AG

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* KRL-AG2 (T-22).

Doenças e patógenos visados: podridões causadas por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Thielaviopsis* e *Cylindrocladium* em frutas pequenas e em bagas (amora, mirtilo, groselha, framboesa, morango, etc.); bulbos (alho, alho-porró, cebola, ornamentais de bulbo, etc.); citros (laranja, toranja, limas, etc.); cucurbitáceas (pepino, melão, abóbora, etc.); legumes (berinjela, tomate, pimenta); ervas, especiarias e menta; culturas hidropônicas (pepino, tomate, alface, ervas e especiarias); verduras (rúcula, aipo, endívia, alface, couve, etc.); frutas de clima temperado (pera, marmelo); culturas de viveiro (maple, carvalho, uva, pinus, etc.); flores e plantas ornamentais; frutas de caroço (damasco, cereja, pêssego, ameixa, nectarina); amêndoas, nozes,

castanha, macadâmia, pistache, etc.; tuberosas (batata, batata doce, inhame, gengibre, etc.). O produto RootShield Granules também é recomendado para leguminosas (feijão, soja, lentilha, ervilha); oleaginosas (algodão, canola, cártamo, girassol); trigo, milho e aspargo. O produto RootShield AG também é recomendado para banana, gramado, aspargo, alfafa e ervilhaca.

Modo de ação: parasitismo, antibiose, competição, solubilização de nutrientes inorgânicos para a absorção radicular, indução de resistência e inativação de enzimas do patógeno envolvidas no processo de infecção (Paulitz; Bélanger, 2001).

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma harzianum* KRL-AG2 (T-22) é o resultado da fusão de protoplasmas entre os isolados de *Trichoderma harzianum* T-95 (que possui competência rizosférica) e o isolado T-12. O isolado T-22 coloniza todo o sistema radicular e persiste por um longo período quando aplicado como tratamento de semente. Fornece proteção as plantas contra patógenos de solo. O fungo cresce em pH de 4 a 8 e temperatura de 8,9 °C a 36 °C.

Formulações disponíveis e vida de prateleira: o produto RootShield WP é comercializado em formulação pó-molhável contendo 1,15% de *Trichoderma harzianum* KRL-AG2 (T22) na concentração de 1×10^7 UFC/g e 98,85% de outros ingredientes. A vida de prateleira é de menos de um mês a temperatura acima de 24 °C, de quatro meses quando estocado 21 °C a 24 °C, de seis meses quando estocado a 4,4 °C e oito meses em temperatura inferior a 0 °C; o produto RootShield Granules é formulado em grânulos contendo 1,15% de *Trichoderma harzianum* T-22 na concentração de 1×10^7 UFC/g e 98,85% de outros ingredientes. A vida de prateleira é de seis meses quando armazenado entre 10 °C a 25 °C, nove meses de 0 °C a 10 °C e 12 meses abaixo de 0 °C; o produto RootShield AG contém 1,15% de *Trichoderma harzianum* T-22 na concentração de 1×10^7 UFC/g e 98,85% de outros ingredientes. A vida de prateleira é de oito quando armazenado abaixo de 0 °C, seis meses a 4 °C, quatro meses entre 20 °C a 24 °C e menos de um mês quando armazenado acima de 24 °C.

Método de aplicação: Rootshield WP é um fungicida biológico preventivo para o controle de doenças de plantas. O produto é aplicado em órgão de propagação ou no solo. Pode ser aplicado sozinho e/ou em conjunto com alguns fungicidas. Nunca deve ser misturado com benomyl, imazalil, propiconazole, tebuconazole e triflumizole (Rootshield WP, 2018).

Os grânulos são incorporados no solo para proteção de doenças radiculares. O produto RootShield AG é aplicado em tratamento de semente.

Registro e comercialização do produto: RootShield WP e RootShield Granules são comercializados nos EUA e no Canadá. Os produtos são certificados pela More Profitable Sustainability - MSP e Ecocert no Canadá e pela Organic Materials Review Institute - OMRI nos Estados Unidos. O produto RootShield AG é comercializado nos EUA.

Empresa produtora: BioWorks, Inc., 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, New York 14564, USA (Rootshield..., 2018a, 2018b, 2018c).

SARDAR ECO GREEN

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Verticillium* *Alternaria*, *Macrophomina*, míldios e *Botrytis*.

Modo de ação: parasitismo, estímulo da germinação de sementes e crescimento de plantas.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 5 - 10 g/kg de semente. Aplicação no solo: 2,5 kg/ha. Pulverização: 2,5 kg/ha.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Gujrat State Fertilizers & Chemicals Ltd. Índia (Arora et al., 2016; Sardar..., 2018).

SILANKI

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) e tombamento (*Rhizoctonia solani*) em tomate. Controle de *Rhizoctonia solani* em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, impedindo o desenvolvimento de fungos como *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani* na cultura do tomate e antagonismo.

Características do produto: compete com fungos causadores de doenças radiculares nos cultivos, pois desenvolve-se primeiro no substrato e é parasita de fungos fitopatogênicos. Pode ser incluído dentro do manejo integrado de cultivos, assim como na agricultura orgânica.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^8 conídios/g.

Método de aplicação: para tratamento de solo a recomendação é de 400 g/ha, antes ou no momento da semeadura. Também é recomendado utilizar no sistema de irrigação: 250 - 300 g/ha. Aplicar o produto duas vezes, com intervalo de 20 dias, no início do transplante.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 2900) e Peru (SENASA PBUA 097).

Empresa produtora: Biocare S.R.L. Av. Pedro Rivera, n 530, Barrio Flelg UV, Santa Cruz de la Sierra, Bolívia. SEFI AS. Av. República do Panamá, 2577, La Victoria, Lima13, Peru (Peru, 2019).

STERNIFAG SP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* (BKM F-4099D).

Doenças e patógenos visados: fungos causadores de podridões de raízes em trigo e cevada; *Rhizoctonia solani* e *Alternaria* spp. em batata; podridões de raiz e colo de tomate; *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, podridão de raiz causada por *Fusarium* spp. e podridões de plântulas em girassol; *Helminthosporium* spp. e podridões de raiz do milho; tombamento de plântulas (*Aphanomyces cochlioides*, *Pythium debaryanum*, *P. ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma betae* e *Fusarium* sp.) em beterraba; podridão de raiz e da haste causa por *Fusarium* spp. em soja.

Características do agente de controle biológico: decompositor de restos culturais após a colheita. Em temperaturas acima de 8 °C, a decomposição dos restos culturais é de dois meses.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 10¹⁰ UFC/g. Validade do produto de até dois anos a -30 °C a 30 °C.

Métodos de aplicação: aplicação de 80 g/ha, em calda de 300 L, através da pulverização sobre o solo e restos culturais da safra anterior e da pulverização do solo, antes da semeadura/plantio.

Registro e comercialização do produto: Rússia. Certificado de Registro 2118-10-307-214(434)-0-0-3-0.

Empresa produtora: АгробиоТехнология - Agrobiotecnologia LLC. 125212, Moscou, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4, Rússia (Sternifag..., 2018).

STIMUCONTROL

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* CCT 7589.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Modo de ação: competição, parasitismo e estimula o crescimento do sistema radicular das plantas.

Formulação: suspensão concentrada (SC) com 1 x 10⁹ UFC/L.

Método de aplicação: para o controle de *Rhizoctonia solani* recomenda-se o tratamento de sementes na dose de 200 - 400 mL/100 kg de sementes, enquanto que para o tratamento de solo, recomenda-se a aplicação após a semeadura com 1,5 - 2,5 L/ha. Para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, recomenda-se o tratamento de sementes (200 - 400 mL/100 kg de sementes) e o tratamento do solo na dose de 1,5 - 2,0 L/ha. Na aplicação via solo, recomenda-se para a cultura da soja duas aplicações, uma após semeadura e a segunda no pré-florescimento, enquanto que para a alface, recomenda-se de duas a três aplicações (dez dias após a emergência; logo após o transplante das mudas; sete dias após o transplante das mudas).

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 22516) e Paraguai (SENAVE 4966).

Empresa produtora: Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda. Rod. BR 158, km 206, Cruz Alta, RS. Brasil (Agrofit, c2003; Paraguai, 2019).

T-22-HC

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T-22.

Doenças e patógenos visados: podridões causadas por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Cylindrocladium* e *Thielaviopsis* em bulbos (alho, alho-poró, cebola, ornamentais de bulbo, etc.); cereais (trigo, milho, etc.); cucurbitáceas (pepino, melão, abóbora, etc.); legumes (berinjela, tomate, pimenta); ervas, especiarias e hortelã; folhosas (rúcula, aipo, endívia, alface, couve, acelga, mostarda, repolho, etc.); leguminosas (feijão, soja, lentilha, ervilha); plantas para alimentação animal (alfafa, ervilhaca, etc.); oleaginosas (algodão, canola, cártamo, girassol) e tuberosas e raízes (batata, batata doce, inhame, gengibre, etc.).

Modo de ação: parasitismo, antibiose, solubilização de nutrientes inorgânicos para a absorção radicular, indução de resistência e inativação de enzimas do patógeno envolvidas no processo de infecção, bloqueia o patógeno de ocupar o espaço próximo da raiz (Paulitz; Bélanger, 2001).

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma harzianum* T-22 é o resultado da fusão de protoplasmas entre os isolados de *Trichoderma harzianum* T-95 (que possui competência rizosférica) e o isolado T-12. (Paulitz; Bélanger, 2001). O antagonista forma uma barreira protetora no sistema radicular contra patógenos. Cresce melhor em pH 4 a 8. Alimenta-se de nutrientes liberados pela raiz, removendo suprimento para o patógeno.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 1×10^7 UFC/g. A vida de prateleira é de seis meses quando armazenado entre 10 °C a 25 °C, nove meses de 0 °C a 10 °C e 12 meses abaixo de 0 °C (T-22-HC..., 2018).

Método de aplicação: tratamentos de semente, órgão de propagação, durante o transplante e/ou no solo. Pode ser aplicado sozinho e/ou em conjunto com alguns fungicidas. Não deve ser misturado com imazalil, propiconazole, tebuconazole e triflumizole (T-22-HC..., 2018).

Registro e comercialização do produto: É comercializado nos EUA.

Empresa produtora: BioWorks, Inc., 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, New York 14564, USA (T-22-HC..., 2018).

TRIACTION

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T-22.

Doenças e patógenos visados: *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Modo de ação: parasitismo

Formulação: granulado dispersível contendo, no mínimo, 1×10^8 UFC/g.

Método de aplicação: recomenda-se a aplicação de 1,0 - 1,5 kg/ha do produto comercial para ambos os patógenos. Recomenda-se até duas aplicações foliares, sendo em soja no estádio V2 e V4 e em tomate após o plantio e na pré-florada ou no surgimento dos primeiros sintomas.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 27718).

Empresa produtora: Koppert do Brasil Holding Ltda. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba/SP, Brasil (Agrofit, c2003).

TRIANUM-G, TRIANUM-P, TRIANUM-WG

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T-22.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Sclerotinia* spp. e *Microdochium* spp. em gramados, aipo, alface, cenoura, couve, couve-flor, pepino, morango, feijão-verde, melão, nabo, cebola, alho-francês, pimentão, tomate, alecrim, aneto, coentro, estragão, funcho de folhas, manjerição, oréganos, salsa e tomilho e plantas ornamentais para a produção de flor ou folhas e roseira e frutíferas em viveiros de produção de mudas.

Modo de ação: competição por espaço e nutrientes, parasitismo, fortalecimento das plantas, indução de resistência e absorção de nutrientes.

Características do agente de controle biológico: o fungo coloniza as raízes protegendo contra *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*. *Trichoderma harzianum* aumenta a resistência da planta ao estresse causado por patógenos, falta de nutrientes e condições climáticas. Aumenta a absorção de nutrientes, conseqüentemente, melhora o desenvolvimento de raízes e da parte aérea da planta. O fungo cresce em ampla faixa de temperatura (10 a 34 °C) e de pH (4 a 8).

Formulações disponíveis e vida de prateleira: TRIANUM-G grânulos contendo $1,5 \times 10^8$ conídios/g. TRIANUM-P granulado dispersível (WG) contendo $1,5 \times 10^9$ conídios/g. TRIANUM WG granulado dispersível (WG) contendo, no mínimo, 1×10^8 UFC/g. Validade de seis meses.

Métodos de aplicação: soja e tomate: recomenda-se a aplicação de 1,0 - 1,5 kg/ha do produto Trianum WG. Recomendada duas aplicações foliares por meio de pulverizadores (barra e costal) ou aérea (aeronaves agrícolas). Pode ser misturado em substrato, dispersão no

solo ou no sulco próximo das sementes ou raízes. Gramados: aplicar na superfície do solo molhando: 3 kg/ha na primeira aplicação e 1,5 kg/ha para as aplicações mensais. Aplicar com temperatura do solo superior a 8 °C. Viveiro ou plantas jovens: aplicar 1,5 g/m² de superfície cultivada (em 2,5-5 litros de mistura final/m² segundo o modo de rega). Aplicar imediatamente depois da semeadura ou plantação de estacas (enraizadas ou não). Nas aplicações seguintes utilizar 0,75 g/m². Substrato de plantio: Aplicar após o plantio 30 g/1000 plantas ou vasos (em 100 litros de suspensão), na primeira aplicação. Para manter a presença do antagonista nas raízes, repetir o tratamento utilizando metade da dose. Se ocorrer transferência para vasos maiores reaplicar a cada 10 semanas para culturas em substrato orgânico e a cada 4 semanas para culturas em lâ de rocha. Utilizar 30 g/1.000 plantas. Culturas não perenes: aplicar após o plantio 30 g/1.000 plantas (em 100 litros de suspensão) para a primeira aplicação. Repetir as aplicações a cada 10 semanas. Culturas perenes: aplicar 0,3 - 1 g/planta. Repetir se necessário. Outras formas: aplicar 1 - 2,5 kg/ha no sulco de semeadura. No campo aplicar 2,5 - 5 kg/ha. Aplicar com temperatura do solo superior a 8 °C. Árvores - em viveiro: aplicar 1,5 g/m² de superfície cultivada (em 2,5 - 5 litros de suspensão final/m²). É indicado para aplicação preventiva no sulco de plantio, via pivô central, com barra de pulverização, fertirrigação ou tratamento de sementes. 1 - 1,5 kg/200 L de calda/ha.

Registro e comercialização do produto: Bégica; Brasil (Trianum-WG, Mapa 32117); Dinamarca; Canadá (Trianum-P e Trianum-G); Quênia; África do Sul; China; Nova Zelândia e Austrália.

Empresa produtora: Koppert B.V. The Netherlands. Veilingweg 14, P.O. Box 155. 2651 Berkel en Rodenrijs, Holanda. Koppert Canada Limited. 40 Ironside Cres., Unit 3, Scarborough, Ontario. Site: www.koppert.can. Koppert do Brasil Holding Ltda. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba, SP, Brasil (Agrofit, c2003; Trianum..., 2018).

TRICAT

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis cinerea*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* em frutíferas, café, tomate, batata doce, batata, cebola, páprica, alcachofras, aspargos, alho, viveiros florestais e mudas e sementes de milho.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: suspensão concentrada contendo 1×10^{12} UFC/g.

Método de aplicação: para a cultura do café, visando o controle da ferrugem do cafeeiro: 1 L/ha. Para a cultura da videira, visando o controle de mofo-cinzento: 2 L/ha. A frequência de aplicação dependerá do nível de severidade da doença.

Registro e comercialização do produto: Peru (SENASA PBUA 324).

Empresa produtora: Agroindustrial Lisa. Via La Falca. Lote 04, Sector Pago de Ñoco, Toma La Huaca Lote 04, Urb. La Falca Grocio Prado Chinchá, ICA, Peru (Peru, 2019; Tricat..., 2017).

TRICHO D

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium oxysporum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Phytophthora cinnamomi*, causadores de murcha vascular e podridão radicular e de tronco. Controle do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) do crisântemo, murcha de *Ceratocystis* (*Ceratocystis fimbriata*) do cafeeiro e podridão de raiz causada por *Rhizoctonia solani* em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: nas culturas da alcachofra e cebola para o controle de *Fusarium oxysporum*: 300 g/ha. Aplicar na cebola após a semeadura e na alcachofra após o transplantio das mudas. Em abacate para o controle de podridão radicular do tronco: 600 g/ha. Aplicar duas a três vezes durante o desenvolvimento das raízes, dependendo da severidade da doença. Cultura anuais: aplicar por aspersão em solo úmido ou em sistema de irrigação na pré-semeadura ou na semeadura ou pós-semeadura, repetir a aplicação na quarta semana. Culturas perenes - Aplicar por aspersão no solo úmido ou em sistema de irrigação na pré-semeadura ou na semeadura e a cada 16 semanas depois da fertilização; também após a poda e colheita. Tratamento de sementes: 1g/kg de semente. Para as demais culturas utilizar a dosagem de 300 g/ha ou de 3 g/canteiro de 30 m².

Registro e comercialização do produto: Peru (SENASA PBUA 036) e Colômbia (ICA 4573).

Empresa produtora: Orius Biotecnologia Ltda. Cra 23, 5 - 86, Barrio La Albonada, Villavivencio, Meta, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

TRICHO D WP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* OBTh55.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Sclerotium*, *Rosellinia*, *Pythium*, *Armillaria*, *Alternaria* e outros em flores, hortaliças, fruteiras e grãos.

Modo de ação: inibe o desenvolvimento e crescimento de patógenos no solo por parasitismo e antibiose; cresce rapidamente e coloniza o solo após a aplicação, protegendo as raízes das plantas e competindo por espaço com os patógenos.

Características do agente de controle biológico: isolado depositado em coleção de cultura internacional sob a referência ATCC 20847.

Formulação: pó-molhável contendo 10^8 conídios/g.

Método de aplicação: o produto pode ser aplicado no solo, pulverizado na planta ou em tratamento de semente.

Registro e comercialização do produto: Colômbia, Equador, Panamá, Peru, Costa Rica e Chile. Possui certificado para uso na agricultura orgânica: CE, USDA/NOP e JASP.

Empresa produtora: Orius Biotecnologia, Colômbia (Trichod..., 2017).

TRICHO-D WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: mofo-cinzeno (*Botrytis cinerea*) em uva.

Modo de ação: antibiose, competição e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^9 conídios/mL.

Método de aplicação: foliar desde a floração, utilizando a dosagem de 300 g/ha, repetir a cada 25 dias. Máximo de cinco aplicações por temporada, dependendo do dossel da planta.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2594), Colômbia (ICA 4573), Equador (Agrocalidad 327-F-AGR), Panamá (Mida 2636), Peru (Senasa PBUA 036) e Costa Rica (MAG 6117).

Empresa produtora: Orbiotec SA. - Carrera 23, 5-86, Villavicencio, Departamento de Meta, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018; Peru, 2019).

TRICHODERAMA SUSPENSION

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: mofo-cinzeno e podridões do colo e das raízes causados por *Botrytis cinerea* e *Phytophthora cactorum* em uva, mirtilo, morango, framboesa, maçã e cereja.

Modo de ação: competição, antibiose e parasitismo.

Formulação: suspensão concentrada contendo 1×10^9 conídios/mL.

Método de aplicação: dosagem de 100 - 200 mL/100 L de água, aplicar uma vez em cada um dos seguintes estádios fenológicos: flor, 4 - 5 mm, racimo; fruto e pré-colheita. Aplicar no início da manhã ou no final da tarde, evitar radiação ultravioleta intensa. A menor dose se aplica como preventivo, a dose maior logo após de eventos com alta umidade. A dosagem de 100 - 200 mL/100 L de água, pulverização foliar no início da floração, até a formação dos frutos. Aplicar a cada 15 - 20 dias segundo a pressão da doença. Não tem número máximo de aplicações recomendado. A menor dose se aplica como preventivo, a dose maior logo após eventos com alta umidade ou dano inicial na plantação. A dosagem de 100 - 200 mL/100 L de água, aplicação na brotação e pós-colheita através de irrigação ou pulverização do solo. A menor dose se aplica como preventivo e a maior logo após de eventos com alta umidade.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2719).

Empresa produtora: Itas S.A. Carretera Gral. San Martín Km. 15.5 Colina, Chile (Trichoderma-Suspensión..., 2014).

TRICHODERMA HARZIANUM

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T-22.

Doenças e patógenos visados: doenças radiculares causadas por *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Thielaviopsis*, *Cylindrocladium* e problemas causados por cultivo contínuo. O produto pode ser aplicado em tomate, pepino, pimentão, aipo, cominho, espinafre, melancia, morango, mirtilo, zimbro de dragão, planta cultivadas em viveiros, ginseng, fritilária, plantas fitoterápicas, cravo, lírio e orquídea.

Modo de ação: competição, parasitismo, antibiose e indução de resistência. Regulação do crescimento vegetal: *Trichoderma harzianum* tem uma relação simbiótica com a planta, fornece nutrição e ambiente favorável ao crescimento do deste fungo que como consequência auxilia no crescimento das raízes das plantas, facilitando o crescimento das plantas e aumento do rendimento das culturas.

Formulação: pó-molhável contendo 3×10^8 UFC/g.

Métodos de aplicação: irrigação na raiz durante o transplante e após o transplante realizar irrigação na base da planta, via “drench” em sementeiras, cortar a raiz mergulhando ou mergulhando direto no pó seco, misturar com o solo.

Registro e comercialização do produto: China.

Empresa produtora: Beijing Coway BioWorks Biotech Co., Ltd. China (Chinabioworks..., 2018).

TRICHODERMA PASTA

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: podridão do tronco causada por *Phytophthora cactorum* e *Botrytis* nas culturas de maçã, uva, mirtilo, pera, cereja, pêsego, ameixa e quivi.

Formulação: suspensão concentrada contendo 1×10^9 conídios/mL.

Método de aplicação: maçã: 25 - 50 g/árvore. Aplicar uma vez na primavera e uma no outono, na base da árvore. Dose mais alta para aplicações em árvores com maior diâmetro e/ou maior dano de tecido. Frutas: 1,5 - 5 g/planta. Aplicar imediatamente após a poda. Dose maior em diâmetros superiores de poda.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2718).

Empresa produtora: Itas S.A. Carretera Gral. San Martín Km 15,5 Colina, Chile (Trichoderma-Pasta..., 2014).

TRICHODERMIL DS

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* (T-22).

Doenças e patógenos visados: *Macrophomina phaseolina* e *Pratylenchus brachyurus*.

Formulação: granulado dispersível contendo, no mínimo, 1×10^8 UFC/g.

Método de aplicação: tratamento de sementes na dose de 200 - 300 g de produto comercial para 100 kg de sementes.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 27618).

Empresa produtora: Koppert do Brasil Holding Ltda. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba, SP, Brasil (Agrofit, c2003).

TRICHODERMIL SC

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* ESALQ-1306.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Pratylenchus zeae*.

Modo de ação: competição, parasitismo e metabólitos produzidos pelo *Trichoderma harzianum* 1306 (protease, lipase, glucanase e quitinase) que promovem degradação da parede celular de fungos e nematoides no solo.

Formulação: suspensão concentrada contendo, no mínimo, 2×10^9 conídios viáveis/mL.

Método de aplicação: para a cultura do feijão, recomenda-se 800 - 1000 mL/ha pulverizados no sulco de plantio junto com a semeadura, para o controle de *F. solani* f. sp. *phaseoli* e *Rhizoctonia solani*. Para a cultura do morango, recomenda-se 1 L/ha em aplicação foliar (2 - 7 aplicações em intervalos de 20 a 50 dias a partir do transplante) para o controle de *Rhizoctonia solani*. Recomendada duas pulverizações (V3 e V5), com dose de 500 - 1000 mL/ha, para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. No controle de *Pratylenchus zeae* recomenda-se a aplicação no sulco de plantio (1 L/ha) na cultura da cana-de-açúcar.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 002007) e Paraguai (SENAVE 4916).

Empresa produtora: Koppert do Brasil Holding Ltda. Rodovia SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba/SP, Brasil (Agrofit, c2003; Paraguai, 2019).

TRICHODERMUS

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo

Formulação: pó-molhável contendo 9×10^8 conídios viáveis/g.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 5315).

Empresa produtora: Biológicos y Ecológicos de Colombia Ltda. Av Pepe Sierra 54-90 Of 302 Bogotá, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

TRICHOFLOW

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Indicação: inoculante para promoção de crescimento.

Modo de ação: estimula o crescimento das raízes e aumenta a assimilação e a utilização de micronutrientes, aumenta a resistência a condições adversas.

Formulação: pó-molhável (WP) contendo 1×10^8 UFC/g.

Métodos de aplicação: aplicar 250 g/100 L. Irrigar o substrato dos vasos ou bandejas. Garantir uma boa mistura e agitação para evitar o assentamento de partículas. Aplicar antes de semear e aplicar mensalmente. Usar 250 mL/bandeja por aplicação.

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia. Certified Bioagro New Zealand-Inputs for Organics 3515.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Trichoflow..., 2015).

TRICHOHAR WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis cinerea* em ervilha e videira.

Modo de ação: competição e antagonismo.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1×10^8 conídios/g.

Método de aplicação: ervilha: 500 g/200 L. Uva: 2 kg/ha. Realizar uma a duas aplicações durante a safra, na floração ou frutificação.

Registro e comercialização do produto: Peru (SENASA PBUA 392) (Peru, 2019).

Empresa produtora: Biocare S.R.L. Av. Pedro Rivera, 530, Barrio Flelg UV, Santa Cruz de la Sierra, Bolívia. Comercial Andina Industrial SAC (Peru, 2019; Trichohar..., 2019).

TRICHOFUS WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum*) e podridão de raiz causada por *Rhizoctonia solani* em cravo.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^8 conídios viáveis/g.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 7055).

Empresa produtora: Saanitex S.A.S. Cr. 11 82 01 Piso 5, Bogotá, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

TRICHOLLANOS WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em arroz e soja.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^9 conídios viáveis/g.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 5870).

Empresa produtora: Laboratorio Biologico La Avispita. Carretera 33 17 A-29, Villavicencio - Departamento Meta, Colômbia. Acesso em: 26 fev. 2019 (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

TRICHOPEL

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Indicação: utilizado para propagação de mudas, aplicação em vasos, bulbos e tubérculos.

Modo de ação: inoculante para promoção de crescimento.

Formulação: grânulos contendo 10^6 UFC/g.

Métodos de aplicação: produção de mudas: deve ser distribuído uniformemente 5 - 10 g/bandeja na camada da zona da raiz. Vasos: aplicar 3 - 5 g/planta diretamente nas raízes. Bulbos e tubérculos: 50 g/m² como uma camada uniforme abaixo dos tubérculos no plantio. Campo: 10 - 30 kg/ha diretamente no sulco de semeadura. Covas de plantio colocar o produto na parte inferior da cova de plantio. Videiras: 1 - 5 g/planta jovem e 5 - 10 g/planta adulta. Arbustos aplicar 10 - 20 g/planta. Árvores: 50 g/planta. Árvores e videiras estabelecidas: aplicar no solo ao redor das raízes da base da planta e até a 50 cm do tronco. Cobrir o produto após a aplicação com solo ou palha.

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia. Certified Bioagro New Zeland-Inputs for Organics 3515.

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Trichopel..., 2015).

TRICHOPLUS JCO GRAFITE

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* UFT 201.

Indicação: promoção de crescimento de feijão e soja.

Modo de ação: promoção de crescimento, solubilização de fosfatos e decomposição de matéria orgânica.

Formulação: composto orgânico. Contém conídios, hifas e clamidósporos.

Registro e comercialização do produto: Brasil

Empresa produtora: JCO Indústria e Comércio de Fertilizantes. BR 242/020 - 830 Km 802. Barreiras, BA. Brasil (Trichoplus..., 2019).

TRICHOR

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium oxysporum*, *Oidium* spp. e *Colletotrichum gloeosporioides* em abacate, citros, rosa, crisântemo, gladiolo, tulipa, cravo, morango, framboesa, groselha, tomate, batata, entre outras.

Formulação: suspensão concentrada a 1%.

Método de aplicação: aplicar na base da planta em intervalos de 20 dias. Iniciar as aplicações cinco dias após o transplante. Também pode aplicar via sistema de irrigação.

Registro e comercialização do produto: EUA. Possui certificação da OMRI-CERES.

Empresa produtora: Bio Loga S.A. de C.V. Calle sin nombre s/n. Chilchota, Michoacan 59799, México (Trichor..., 2019).

TRICHOSAV-34

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: fitopatógenos habitantes do solo como *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora capsici* e *Sclerotium rolfsii* em diversas culturas.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: grãos de arroz com estruturas do fungo.

Método de aplicação: tratamento de sementes, do substrato e plântulas. Pulverização foliar.

Registro e comercialização do produto: Cuba.

Empresa produtora: Centros de Reproducción de Medios Biológicos. INISAV. Havana, Cuba (Bettiol et al., 2012; Fraceto et al., 2018; Woo et al., 2014).

TRICHOSIL 50 WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* AP001.

Doenças e patógenos visados: *Phytophthora capsici*, causador de tombamento da pimenta.

Modo de ação: antibiose, antagonismo, parasitismo e competição.

Formulação: pó-molhável na concentração de 2×10^8 UFC/g.

Método de aplicação: para a cultura da pimenta: 8 kg/ha para aplicação foliar. Repetir a aplicação depois de 7 a 10 dias. Aplicação no transplantio das mudas: 50 g/5 L água. Aplicação foliar e dirigida ao solo: 200 g/ha. Tratamento de substrato: 200 g/m³.

Registro e comercialização do produto: Peru (SENASA PBUA 179).

Empresa produtora: Silvestre Peru S.A.C. Calle Arica 242 Miraflores. Lima 18, Peru (Peru, 2019; Trichosil..., 2019).

TRICHOSOIL

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis* spp., *Sclerotinia* spp., *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Sclerotium* causadores de tombamento em mudas de hortaliças, espécies florestais e ornamentais.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 5×10^8 UFC/g.

Método de aplicação: substratos: a dose de aplicação é de 2 kg/m³. Efetuar a mistura umedecendo o substrato, se for necessário. Cobrir com plástico ou lona para incubar e promover a germinação dos conídios e desenvolvimento de micélio de *Trichoderma*. Misturar diariamente durante 3 a 5 dias, dependendo da temperatura ambiente. Encher as bandejas ou tubetes e semear. Não são necessárias aplicações futuras durante a fase de viveiro. Dependendo da infestação de patógenos no solo, pode ser requerida ou não aplicação logo após o transplante. Canteiros em solo desinfestado por solarização ou outro método: a dosagem de 1 - 2 g/m³ para equilibrar o vácuo biológico logo após a desinfestação. Preparar uma suspensão e aplicar via sistema de irrigação com abundante quantidade de água que permita a penetração do produto no perfil do solo tratado. Aguardar 3 a 5 dias antes da semeadura. Canteiros em solo sem desinfestação: no momento do transplante realizar irrigação na dosagem de 2 g/m² com água em abundância no colo das mudas transplantadas. Pode-se complementar esta aplicação com um fungicida compatível. De acordo com o resultado do monitoramento da população de patógenos, das condições ambientais e do cultivo em questão, poderá realizar aplicações sequenciais de forma alternada com os tratamentos químicos. Campo: para o controle de *Sclerotium rolsii* em cultivo de alho a campo, a dose de aplicação é de 10 kg/ha,

distribuídos em 3 a 4 aplicações, começando no final do inverno até 10 dias antes da colheita. Se o campo também estiver infestado com *Sclerotium cepivorum* a aplicação deve ser iniciada antes. Quando a área apresentar alta infestação com escleródios e histórico de ocorrência de mofo-branco, deve-se duplicar a dose.

Registro e comercialização do produto: Uruguai (MGAP 3087).

Empresa produtora: Lage y Cia S.A. Cno. Carrasco 6948 - 11500, Montevidéu, Uruguai (Trichosoil, 2014).

TRICHOX WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*) em cravo e tombamento, causada por *Rhizoctonia solani*, em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1×10^8 UFC/g.

Método de aplicação: aplicar por aspersão, no momento da semeadura ou nos primeiros 15 dias depois de germinada a semente. Recomenda-se aplicar 200 - 400 g/ha. Em canteiros recomenda-se aplicar 05 - 0,9 g/m², aplicar a cada sete dias.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 9121).

Empresa produtora: Semillas Valle S.A. Carrera 34 n 14-156 Acopi, Yumbo, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

TRICHOSYM

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T78.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. e *Pythium* sp.

Modo de ação: competição, parasitismo, antibiose e indução de resistência

Formulação: concentrado solúvel contendo 5×10^{11} UFC/L.

Métodos de aplicação: em campo ou estufas: 3 L/ha em duas aplicações (1ª aplicação: 2 L após 15 dias do transplante, 2ª aplicação: 1 L após 30 dias da primeira aplicação). Não misturar com outros produtos no tanque de tratamento. Em viveiros: 100 ml/m³ de substrato.

Registro e comercialização do produto: Marrocos.

Empresa produtora: Éléphant Vert Maroc AS, Marrocos (Trichosym, 2018).

TRICOMAC

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Formulação: concentrado emulsionável (EC) contendo $1,5 \times 10^9$ UFC/g.

Registro e comercialização do produto: Paraguai (SENAVE 5478).

Empresa produtora: Macc SRI Agricultura de Precision. Fundación Proinpa. Av. Menezes, s/nº km 04 (Zona el Paso), Cochabamba, Bolívia (Paraguai, 2019).

TRICONE V

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Pythium* sp., *Ganoderma* sp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp.; nematoides parasitas de plantas, nematoide da bananeira (*Radopholus similis*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Rotylenchulus reniformis*).

Modo de ação: competição e antibiose.

Formulação: pó-molhável enriquecido com nem.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 40 g/100 ml de água/kg de semente. Tratamento da raiz: 50 g/L de água e mergulha as raízes das plantas antes do transplante.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Neuscire Biolab. Índia (Tricone..., 2019).

TRICOTOP PLUS

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*.

Efeitos e Alvos: promotor de crescimento de hortaliças, soja e frutas.

Modo de ação: promoção de crescimento.

Características do agente de controle biológico: promotor de crescimento radicular, secreta hormônios que promovem o desenvolvimento e sanidade das raízes, aumenta o volume radicular e melhora a absorção de nutrientes e água.

Formulação: concentrado emulsiónável.

Método de aplicação: tratamento de sementes de soja: 250 mL/500 kg sementes. Para tratamento de sulco de plantio: em hortaliças 40 - 100 mL/ha e em frutas utilizar 80 - 150 mL/ha.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 3577).

Empresa produtora: Fundación Proinpa - Av. Menezes, S/Nº, Km 04, Cochabamba, Bolívia.

TRIHOTCIN SP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* 30 ВИЗР.

Doenças e patógenos visados: podridões radiculares em trigo, centeio e cevada; *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* e *Septoria* spp. em trigo; *Fusarium* spp., *Septoria glycines* e *Ascochyta sojaecola* em soja; *Alternaria* spp., *Erysiphe cruciferarum*, *Oplidium brassicae* e podridão do colo (*Pythium debaryanum* e *Rhizoctonia aderholdii*) em colza; tombamento de plântulas (*Aphanomyces cochlioides*, *Pythium debaryanum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia*

solani, *Phoma betae* e *Fusarium* sp.) em beterraba; *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans* e *Alternaria* spp. em batata; *Alternaria* spp. em cenoura; podridão do colo em repolho; podridões de raiz e colo de hortaliças; podridão radicular e murcha de *Fusarium* sp. em flores e *Alternaria vitis* em videira.

Características do agente de controle biológico: aumenta o rendimento das culturas e também o teor de açúcar e vitamina de frutas.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 10^{10} UFC/g. Validade de 2 anos quando armazenado em temperatura de -30 a 30 °C.

Métodos de aplicação: para o controle de podridões radiculares em trigo, centeio e cevada, recomenda-se o tratamento de sementes (20 g /tonelada de sementes). Pulverizações de 30 - 40 g/ha nos períodos de perfilhamento e floração para o controle de *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* e *Septoria* sp. em trigo, *Septoria secalis* em centeio, *Drechslera teres* em cevada. Para as culturas da soja e colza: recomenda-se o tratamento de sementes com 20 - 30 g/tonelada de sementes, além de duas pulverizações com 20 - 40 g/ha, durante o crescimento da planta. Em beterraba: recomenda-se a aplicação de 40 g/ha antes ou quando realizar a semeadura. Na cultura da batata: recomenda-se tratar os tubérculos com 20 g/tonelada de tubérculo e pulverizar as plantas em crescimento em duas aplicações com 50-80 g/ha. Na cultura da cenoura: pulverizar do solo antes da semeadura ou quando realizar a semeadura, na dose de 50 g/ha, além de uma pulverização durante o crescimento da planta. Em repolho, hortaliças e flores: aplicar no solo 30 g/500 m² ao transplantar as mudas (calda de 50 L). Em videira: recomenda-se a aplicação de 80 g/ha (1200 - 1500 L de calda), sendo realizada até cinco aplicações, durante o crescimento da planta.

Registro e comercialização do produto: Rússia. Registro nº 139-02-96-1.

Empresa produtora: АгроБиоТехнология - Agrobiotecnologia LLC. 125212, Moscou, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4 (Trihotcin..., 2018).

TRI-CURE WP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* MIT04.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia*, *Fusarium* e *Pythium* em várias culturas.

Modo de ação: estimula o crescimento das plantas em condições de solo infectado.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^9 conídios/g. Preferencialmente estocado entre 5 a 20 °C.

Métodos de aplicação: diluir 25 g/100 L de água. Primeiro misturar a quantidade necessária do produto em pequena quantidade de água. Uma vez formada uma pasta fina, a água restante pode ser adicionada. Via “drench”: aplicar em bandejas de mudas, canteiros ou

hortaliças diretamente após o plantio como tratamento preventivo. Uma nova aplicação pode ser realizada se for considerada necessária. Tratamento de sementes: 1 g/1kg de sementes.

Registro e comercialização do produto: África do Sul (L 8295).

Empresa produtora: MBFI. África do Sul (Tri-cure..., 2016).

TRIXOCZIN SP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* 30 ВИЗР.

Doenças e patógenos visados: fitopatógenos causadores de podridão radicular em flores e de podridões de raiz e colo em pepino e tomate.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 10^{10} UFC/g. Validade de até dois de -30 a 30 °C.

Métodos de aplicação: para mudas de flores é recomendada a aplicação de 6 g/100 m², aplicando 2-3 L de calda/m². É recomendado aplicar no solo 1 a 3 dias antes do transplante e 3 a 7 dias após o transplante. Para tomate é recomendado a aplicação de 6 g/10 L de calda, sendo aplicado 10 L/100 m² diretamente no solo 1 a 3 dias antes do transplante. Após 3 a 7 dias do transplante, é recomendado a aplicação de 100 - 150 mL de calda/planta.

Registro e comercialização do produto: Rússia.

Empresa produtora: АгроБиоТехнология - Agrobiotecnologia LLC. 125212, Moscou, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4, Rússia (Trixoczin..., 2018).

TRYCHONYD FR 25

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* CCT6550.

Doenças e patógenos visados: *Sclerotinia sclerotiorum*.

Formulação: formulação gel emulsionável contendo $1,1 \times 10^8$ UFC/cm² (200 mL/L).

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 3919).

Empresa produtora: TZ Biotech Ltda. Av. Dra Nadir Aguiar, 1805, 14056.680 Ribeirão Preto, SP, Brasil (Agrofit, c2003).

Trichoderma koningiopsis

DIAMOND

Princípio ativo: *Trichoderma koningiopsis* IBCB 56/12.

Doenças e patógenos visados: nematoides *Meloidogyne incognita*, *Pratylenchus brachyurus* e *Heterodera glycines*.

Formulação e vida de prateleira: granulado dispersível com 3×10^9 UFC/g. Validade de três meses à temperatura de 21 a 25 °C.

Método de aplicação: tratamento de sementes: 1,5 a 2,0 g/kg de sementes.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 20518).

Empresa produtora: Laboratório de Biocontrole Farroupilha Ltda. Av. Julia Fernandes Caixeta, 555, 38706-420. Patos de Minas, MG, Brasil (Agrofit, c2003).

TRICOTEC

Ingrediente ativo: *Trichoderma koningiopsis*.

Doenças e patógenos visados: murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) e tombamento (*Rhizoctonia solani*) do tomateiro; mofo branco (*Sclerotinia minor*, *Sclerotinia sclerotiorum*) da alface e tombamento (*Rhizoctonia solani*) do arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^9 UFC/g.

Método de aplicação: Devido ao seu modo de ação, o produto deve ser aplicado preventivamente antes que a infecção ocorra. O produto pode ser aplicado através das linhas de gotejamento, bem como por imersão do material de plantio. Aplicação por gotejamento: 125 g/ha, misturado em 100 L de água. A agitação da mistura deve continuar durante todo o período de aplicação para assegurar a distribuição uniforme. Aplicação via “drench”: 125 g/ha em água para cobrir a área alvo. Aplicação por imersão: é recomendado como uma aplicação pré-transplante para plântulas ou estacas enraizadas. Colocá-los em caixas de plástico perfuradas e mergulhe-os em uma suspensão do produto.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 10150).

Empresa produtora: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuária (CORPOICA) Km 14 Via Mosquera, Bogotá, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

Trichoderma lignorum

MYCOBAC WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma lignorum*.

Doenças e patógenos visados: murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) em cravo e tomate e tombamento (*Rhizoctonia solani*) em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável na concentração de 2×10^7 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: pode ser aplicado no solo, dirigido ao rizoma fazendo um cobrimento do solo ao redor. Iniciar as aplicações após o transplante com reaplicações a cada semana em época chuvosa e a cada 15 dias em época seca. Dosagem 4 a 8 g/ 4L água/m².

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 3853).

Empresa produtora: Laverlam S.A. Carrera 5 n 47-165, Cali, Valle del Cauca, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

TRICHOBIO WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma lignorum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^9 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: recomenda misturar com água com pH entre 5 e 7, sugere o uso de corretor se necessário, adicionando primeiro o corretor a água, logo depois o produto. Aplicar 1 - 2 g/L de água.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 5397).

Empresa produtora: Arturo Orlando Mora Jaramillo - Biocontrol - Av Pepe Sierra 54-90 Of 302, Bogotá, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

TRICHOGEN WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma lignorum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani* em arroz.

Modo de ação: antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^9 conídios viáveis/g.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 4747).

Empresa produtora: Yaser S.A.S. Cra 2N N° 21-80 B/ El Piloto, Cali, Colômbia. <http://yasersas.com/producto/trichogen-wp/>. Acesso em: 1 mar. 2019. Orbiotec S.A. - Carrera 23, N° 5-86, Villavicencio, Departamento de Meta, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

Trichoderma virens

PHC ROOTMATE

Princípio ativo: *Trichoderma virens* G-14.

Doenças e patógenos visados: *Phytophthora* spp.

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma virens* é patenteado pela US Patent n° 5.165.928, Universidade de Cornell para o controle de *Phytophthora* spp.

Formulação e vida de prateleira: contém 6×10^8 UFC/g. O ideal é em temperaturas

inferiores a 20 °C. Quando armazenado em baixas temperaturas, a viabilidade poderá se estender para 24 meses.

Método de aplicação: aplicar por imersão das mudas ou pelo sistema de irrigação direcionado para a zona radicular da planta.

Registro e comercialização do produto: RootMate é marca registrada pela BioWork In, Nova York, a qual comercializa o produto nos EUA. No México a distribuição é realizada exclusivamente pela Health Care de México, S. de R.L. de C.V.

Empresa produtora: Plant Health Care de México, S. de R.L. de C.V. Av. Ceylan 959, Bodega 26. Col. Industrial Vallejo. Cidade do México, México 02300. BioWorks, Inc., 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, New York 14564 (PHC, 2018).

SOILGARD 12 G

Princípio ativo: *Trichoderma virens* (anteriormente *Gliocladium virens* GL-21).

Doenças e patógenos visados: tombamento e podridões radiculares, causadas por *Rhizoctonia solani*, *Pythium* e *Fusarium*, em diversas culturas (cucurbitáceas, ornamentais, alface, espinafre, etc.).

Modo de ação: antibiose, produz metabólitos tóxicos como gliovirina e a gliotoxina; parasitismo e competição.

Características do agente de controle biológico: é encontrado naturalmente em diferentes solos dos EUA e atua protegendo as plantas de patógenos veiculados pelo solo. Compatível com manejo integrado. Ampla espectro de controle de patógenos habitantes do solo (SoilGard..., 2019).

Formulação e vida de prateleira: granulado contendo 1×10^6 UFC/g. A vida de prateleira é de 12 meses quando estocado em temperatura ambiente.

Método de aplicação: incorporação ao solo ou em substratos antes da semeadura, em casa-de-vegetação, viveiros e jardins em cultivos convencionais ou orgânicos. O produto deve ser misturado em água antes da aplicação.

Registro e comercialização do produto: EUA e México. Possui certificado da OMRI.

Empresa produtora: Certis USA. L.L.C., 9145 Guilford Road, Suite 175, Columbia, MD 21046, EUA. Certis Agro México, S. de R.L. de C.V. Bosque de ciruelos 180 PP 101 Col. Bosque de las Lomas. 11700, Miguel Hidalgo, México (SoilGard..., 2019).

Trichoderma viride

AGRIGOLD TRICHOGOLD

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: podridão da raiz e do caule causada por *Phytophthora*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, murchas causadas por *Fusarium* e *Verticillium*, manchas causadas por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Ramularia*, míldio e oídio, ferrugem branca e doenças fúngicas de algodão, leguminosas, legumes, oleaginosas, fruteiras e floricultura.

Modo de ação: antagonismo e promoção de crescimento.

Formulações disponíveis: líquida e pó-molhável.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Agrigold Organics Private Ltd. Índia (Trichogold..., 2019).

ANKOOR

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: Patógenos habitantes do solo em culturas como soja, milho, arroz, trigo, grama, ervilha, amendoim, girassol, tomate, batata, couve-flor, pimenta etc. Controla murcha, podridão de raiz, podridão de talo, podridão de colo, podridão de carvão, podridão de fruta e *Phytophthora* spp.

Métodos de aplicação: pó-molhável na concentração de 1%.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Tender Sips. Índia (Ankoor..., 2019).

ANTAGON

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia* spp.

Modo de ação: promoção do crescimento de plantas e barreira protetora natural em torno das raízes.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^7 UFC/g. Vida de prateleira: 6 meses.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 6 g/kg de sementes. Tratamento de solo: 1 kg/15 kg de esterco e distribuir ao solo. Não deve ser misturado com inseticida e fungicida químicos. É recomendado para cana-de-açúcar, algodão, banana, amendoim, pimentas, café, chá, flores, hortaliças, etc.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Omega Ecotech Products India PVT-Ltd. 10, 5th Cross, Bharathi Nagar, Ganapathy, Coimbatore-641006, Índia (Antagon..., 2019).

ASTHA TV

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: podridões do colo e do rizoma.

Modo de ação: competição.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^7 UFC/g. Vida de prateleira: 6 meses.

Métodos de aplicação: misturar o produto com o composto vermiculita e espalhar no solo.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Lila Agrotech. Índia (Asta..., 2019).

BIO CURE-F

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia homoeocarpa* causando podridão radicular, murcha de raiz, podridão de plântulas e outras podridões em cereais, plantas ornamentais, lentilha, feijão, ervilha, arroz, tomate, pepino, batata, citros, melão, abacaxi, rosas, cravo, girassol, canola, amendoim, algodão, sisal, fumo, cana-de-açúcar, chá, café, grama, turfa pastagens e campo de golfe entre outras.

Modo de ação: competição, parasitismo e antibiose.

Características do agente de controle biológico: compatibilidade com mancozeb 75% WP, carbendazim 50% WP e cloreto de cobre 88%. Pode ser misturado no tanque com esses produtos.

Formulações disponíveis e vida de prateleira: líquida contendo 1×10^9 UFC/ml e em pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g. Vida de prateleira: 1 ano.

Métodos de aplicação: casa de vegetação ou via “drench”: suspender o produto em uma quantidade suficiente de água (1000 mL ou 2000 g/100 L) para obter uma aplicação uniforme. Para bulbos e plantas ornamentais: mergulhar os bulbos ou as mudas das plantas em uma suspensão contendo 10 mL ou 20 g/L antes do plantio. Tratamento de sementes: 6 mL ou 8 g/kg de sementes. Tratamento de mudas: 10 ml ou 20 g/L de água - mergulhar as raízes das mudas na suspensão por 30 min antes do plantio. Aplicação no solo: misturar 3 L ou 4 kg/ha com 1.000 kg de fertilizante orgânico ou qualquer outro material orgânico misturar bem e aplicar

uniformemente. No caso de alta infestação, várias aplicações são recomendadas. Misturar nos substratos de plantio ou aplicar no solo. Imersão de bulbos em suspensão na concentração de 10 mL ou 20 g/L de água antes do plantio. Tratamento de sementes, tratamento de mudas, no sistema de gotejamento e aplicação de solo.

Registro e comercialização do produto: Índia, União Europeia e USA (com certificação OMRI).

Empresa produtora: T. Stanes & Company Ltd. Índia (Bio-Cure..., 2019).

BIODERMA H

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium* e manchas causadas por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Ramularia*, míldio e oídio.

Modo de ação: competição, parasitismo, desintegração de hifas de patógenos por enzimas. Os metabólitos produzidos também estimulam a germinação de sementes, o crescimento de raízes e plantas.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^9 UFC/g. A vida útil do produto é de um ano, quando armazenado em local fresco e seco, longe da luz solar direta e calor em salas ventiladas.

Métodos de aplicação: tratamento das sementes: 5 - 10 g/kg de semente. Mudanças: 50 - 100 g/10 - 20 L de água e mergulhar as raízes por 30 minutos antes do transplante. Aplicação do solo: 2,5 kg/100 L. Tratamento foliar: 5 - 10 g/L de água e aplicar com pulverizador.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Biotech International Ltd. Índia (Biotech International, 2018).

BIOHIT

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: Patógenos de solo e nematoides.

Modo de ação: parasitismo e competição.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1%.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Indore Biotech Inputs and Research Pvt. Ltd. Índia (Biohit..., 2019).

BIO PLUS-TRICHO

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo.

Modo de ação: parasitismo e antibiose.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Deepa Farm Inputs Private Limited. Índia (Bio plus-tricho..., 2019).

BIOSHIELD

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1%.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Ambika Biotech. Índia (Bioshield..., 2019).

BHOOMIKA 1% WP

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: podridões causadas por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Botrytis*, murcha de *Fusarium*, *Sclerotium* spp., *Sclerotinia* spp. e *Ustilago* spp. em berinjela, batata, pimenta, tomate, pepino, flores de corte e vaso, pomares, vinhas, ornamentais em estufas, gramados e viveiros.

Modo de ação: Produz substâncias tóxicas, tais como glioxina, viridina e tricodermina e age por competição e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1% de *Trichoderma*.

Métodos de aplicação: em pomares e pimentão pulverizar para evitar o aparecimento de oídio e outras doenças foliares. A repetição da aplicação é necessária para proteger as culturas. Tratamento do solo: 5 kg/ha juntamente com qualquer fertilizante orgânico. Tratamento de sementes: 4 - 5 g/kg de sementes. Tratamento de mudas: 100 g/L antes do plantio. A pulverização foliar pode ser feita utilizando 5 g/L de água. O volume de pulverização depende do dossel da cultura.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Varsha Bioscience and Technology. Suvey 253/A, Jiblakpally Village, Pochampally mandal, Nalgonda dist., Telangana-508284, Índia (Bhoomika..., 2019).

BIOPROTECTOR

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Kisaan Kranti. Índia. <http://www.esuppliersindia.com/kisaan-kranti/trichoderma-viride-bio-protector-pr4028990-sFP-swf.html>. Acesso em 08/03.2019.

BIO PROTECTOR *TRICHODERMA VIRIDE*

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: podridão da raiz, murcha, podridão parda, amolecimento e outras doenças causadas *Pythium*, *Botrytis*, *Phoma*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Ascochyta*, *Alternaria* em diferentes plantas (pepino, tomate, repolho, pimenta, plantas ornamentais, cereais e leguminosas).

Modo de ação: antibiose e promoção de crescimento.

Formulação: pó-molhável e líquido concentrado.

Métodos de aplicação: misturar o produto com vermiculita e espalhar no solo.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: ManiDharma Biotech Private Ltd. 61, Kamatchi Nagar, Madhanandhapuram Porur, Kundrathur Road, Moulivakkam, Chennai, 600125 Tamil Nadu, Índia (Bio Protector..., 2018).

CONTEGO TR

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Indicação: promotor do crescimento de plantas e raízes, indutor de defesa, rendimento e qualidade. Proteção contra patógenos, tais como *Rhizoctonia*, *Pythium* e *Armillaria*.

Modo de ação: competição, degradação das paredes celulares dos fungos-alvo; parasitismo. É encontrado naturalmente no solo e é eficaz como um revestimento de sementes no controle de doenças transmitidas por sementes e por via terrestre.

Formulação: pó-molhável contendo duas cepas de *Trichoderma viride*.

Métodos de aplicação: aplicar em forma líquida a uma taxa mínima de 30 L/ha. Recomenda-se que o produto esteja na forma líquida por um período mínimo de 30 minutos para aplicação. Aplicar pela manhã ou no final da tarde, quando a temperatura do solo estiver acima de 10 °C. Pastagem: 500 g - 1000 g/ha. Aplicação no solo: 500 g - 1000 g/ha. Tratamento de raízes: misturar 1:8 com água e mergulhar cada planta por 30 segundos.

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia. Certificado para Agricultura Orgânica.

Empresa produtora: Biological Solutions Ltd 4a Cargill Place, Richmond, Nelson 7020, Nova Zelândia. www.biosolutions.co.nz. (Contego TR, 2013).

COIMBATORE

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: podridão de raiz, murchas, podridão parda, amolecimento e outras doenças causadas por patógenos habitantes do solo.

Modo de ação: antibiose, competição, promoção de crescimento e indução de resistência.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 1×10^7 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 40 g/kg de sementes. Mudanças: 2 kg/50 L de água e mergulhar por 10 minutos as mudas antes do plantio. Aplicação de solo: 5 kg/100 kg de esterco orgânico, mantenha a mistura à sombra durante uma semana antes de aplicar no solo.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Green Max Agro Tech. Índia (Coimbatore..., 2018).

ECODERMA

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: patógenos tanto de sementes quanto de solo, podridão radicular e murcha.

Modo de ação: antibiose e competição.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 1×10^8 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 100 g/10 L de água, mergulhar as sementes por 10 - 15 minutos, manter na sombra e semear em seguida. Via “drench”: 10 g/L de água. Aplicação do solo: 5 - 8 kg/ha.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: P.J. Margo Private Limited Bangalore. Índia (Ecoderma..., 2019).

ECOSOM - TV

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia* spp, *Pythium* spp, *Fusarium* spp e *Alternaria* spp.

Modo de ação: competição, parasitismo, promoção de crescimento, produção de enzimas (celulase e quitinase) que degradam a parede celular, produção de metabólitos tóxicos aos patógenos.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: encharcamento: 10 g/1 L de água. Gotejo: 3 - 5 kg/50 L de água misturado no sistema de irrigação. Aplicação no solo: 50 - 150 kg/ha. Imersão da raiz: 10 g/L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Agri Life, Índia (ECOSOM, 2018).

EMERALD MAULIKA

Princípio ativo: *Trichoderma viride*

Doenças e patógenos visados: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Macrophomina*, míldio e oídio.

Modo de ação: competição por espaço e nutrientes, parasitismo e antagonismo.

Características do agente de controle biológico: secretam celulase e quitinase.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Emerald Bio. Índia (Emerald..., 2019).

ENPRO-DERMA

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* e *Pythium*.

Modo de ação: antibiose, indução de resistência da planta, competição e promoção de crescimento.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: pulverização: 5 g/L de água. Aplicação no solo: 3 a 5 kg/200 L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Enpro Bio Sciences Private Ltd. Índia (Enpro-Derma..., 2018).

FUNGISTOP

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Sclerotium* spp., *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Verticillium* spp., *Peronospora* spp. e *Erysiphe* spp.

Modo de ação: parasitismo, competição e antibiose.

Formulação e vida de prateleira: produto composto por um complexo de conídios e micélio de *Trichoderma viride*, na concentração de $2,0 \times 10^9$ UFC/mL. Validade de até 6 meses.

Método de aplicação: cucurbitáceas: em casa de vegetação (15 - 30 L/ha), para o controle de podridões radiculares, murcha de *Fusarium*, míldio, podridão branca e cinzenta ou a campo (10 - 15 L/ha) para controle de *Alternaria*, murcha de *Fusarium*, míldio, podridão branca e cinzenta, através da fertilização regular das raízes com um intervalo de 35-30 dias (4 - 5 tratamentos). Solanáceas: aplicação de 10 - 15 L/ha para o controle de podridões radiculares, mancha de alternaria, requeima, murcha de *Fusarium* e oídio, através do tratamento durante a fase de crescimento da planta (2 - 3 aplicações). Frutíferas: tratamento durante a fase de cres-

cimento com 5 L/ha (2 - 3 aplicações) para o controle de oídio, podridão branca e cinzenta.

Registro e comercialização do produto: Rússia e Ucrânia.

Empresa produtora: Biona (Биона). Escritório Central em Belgorod: 308015, Federação Russa, Belgorod, ul. Chicherina, 3B. 308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Чичерина, 3Б, Rússia (Fungistor..., 2018).

KRISHI BIO NIDAN

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* e outros.

Modo de ação: promoção de crescimento, antibiose e competição.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2 x 10⁶ UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: aplicação no solo: 2 - 3 kg/100 kg de composto orgânico, na sequencia espalhar sobre o solo. Tratamento de sementes: 10 g/30 mL de água para 1 kg de sementes. Tratamento de raiz de mudas: 150 g/15 L de água e emergir as raízes por 30 minutos antes do plantio.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Krishi Bio Products and Research Pvt Ltd. Índia (Krishibio..., 2018).

MONITOR

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: doenças radiculares causadas por *Pythium*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium* e *Botrytis*.

Modo de ação: promoção de crescimento, antibiose, parasitismo e competição.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2 x 10⁸ UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: aplicação no solo: 250 g/m³. Tratamento de sementes: 2 g/kg de semente.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Agriland Biotech Ltd. Índia (Monitor..., 2016).

NICODERMA

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium* spp., podridões radiculares e de solo e murchas.

Modo de ação: parasitismo e antibiose.

Características do agente de controle biológico: ação como biofertilizante devido à sua solubilização de fósforo e sua capacidade de decompor matéria orgânica.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^8 UFC/g.

Métodos de aplicação: aplicar 4 kg/ha, preferencialmente mistura com 2.000 kg de matéria orgânica.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Nico Orgo. Índia (NicoDerma..., 2015).

NISARGA

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: podridões de raiz e de colo, murcha e tombamento.

Modo de ação: parasitismo, promoção de crescimento e antibiose.

Formulação: pó-molhável e suspensão concentrada 1%.

Métodos de aplicação: aplicação foliar: 3 g/L de água, pulverizar durante a noite. Aplicação no solo: 1 - 2 kg/100 kg esterco/ha.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Multiplex Group of companies, No.180, 1st main, Mahalakshmi layout, Bengaluru, Índia (Nisarga..., 2019).

PEAK TRICO

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: podridão da raiz, apodrecimento e murcha de *Fusarium*.

Modo de ação: parasitismo, antibiose e competição.

Formulação: líquido solúvel.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 20 mL/500 mL de água e recobrir as sementes necessárias para 0,5 ha. Foliar: 20 mL/100 L de água. Aplicação de solo: 250 ml/20 kg de matéria orgânica. Mudas: 50 mL/100 L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Peak Group. Índia (Peak..., 2019a).

PRABHA DERMA

Princípio ativo: *Trichoderma viride* ITCC6914.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Macrophomina*, *Ramularia*, *Myrothecium*, míldio e oídio em cereais, algodão, frutíferas e ornamentais, legumes e outras.

Modo de ação: antibiose, competição, parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Prabhat Fertilizer & Chemical Works. Mangalpur, Kunjpura Road, Karnal, Haryana-132001. Índia (Prabha ..., 2019).

SANJEEVNI

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Sclerotinia*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Phytophthora* e outros patógenos.

Modo de ação: antibiose e produção de enzimas.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^9 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 8 - 10 g/50 ml de água e aplicado em 1 kg de semente. Tratamento de mudas: 500 g/50 L de água, mergulhar as raízes de mudas por cerca de meia hora na suspensão. Via “drench”: 1 a 2 kg/200 L de água e encharcar o solo.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: International Panaacea Ltd. Índia (Sanjeevni..., 2018).

TRICHOMAX

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia* spp., *Botrytis* sp., *Alternaria* sp., *Stemphylium* sp., *Verticillium* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium* sp., *Phoma* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp. em abacate e asparto.

Modo de ação: competição, antibiose, indução de resistência, parasitismo e promoção de crescimento.

Formulação: grãos de milho contendo 1×10^{12} conídios/kg.

Método de aplicação: para a tristeza do abacateiro: 5 g/planta. Para outras doenças: 10 - 20 kg/ha. Em viveiro aplicar antes do transplante, em campo 2 a 3 vezes no ciclo da cultura. Antes de uso os conídios precisam ser suspensos em água, utilizar 800 g/L de água misturado com 0,5 mL de surfactante agrícola.

Registro e comercialização do produto: Peru (SENASA 393) (Peru, 2019).

Empresa produtora: Soluciones Agrosostenibles SAC. Av. Metropolitana Mz F1 Lote 5, Urb. San Isidro. Trujillo, La Libertad, Peru (Peru, 2019; TRICHOMAX, [2018]).

TRICHORICH

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: murchas, tombamento, podridão radicular. É adequado para as culturas como pimentões, algodão, sementes oleaginosas, cana-de-açúcar, banana e legumes.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1%.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 10 g/kg de semente. Aplicação de solo: 1 - 2 kg/ha.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Prathibha Biotech. Índia (Trichorich..., 2019).

TRICHOSTAR

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo, podridões do colo, raiz e caule, murcha, manchas foliares da plantação de cana-de-açúcar, cereais, flores, leguminosas, oleaginosas.

Modo de ação: promoção de crescimento e indução de resistência sistêmica.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Super Agro Pvt. Ltd Kolkata. Índia (Trichostar, 2019).

TRIFESOL 1000 WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: tombamento (*Rhizoctonia solani*), mancha foliar (*Helminthosporium oryzae*, *Sarocladium oryzae*) e mal do pé (*Gaeumannomyces graminis*) do arroz.

Modo de ação: competição, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: tratamento de sementes, utilizar 500 g/t semente. Aplicação no solo 15 dias após a emergência, utilizar 500 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 7146).

Empresa produtora: Biocultivos S.A. - bodegas de gradinsa bodega nº 8 Papayo, Ibagué, Departamento Tolima - Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018; Trifesol, 2019).

TRIFESOL WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani* em arroz.

Modo de ação: competição, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^7 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: tratamento de sementes, utilizar 500 g/t semente. Aplicação no solo 15 dias após a emergência, utilizar 500 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 4748).

Empresa produtora: Biocultivos S.A. - Bodegas de gradinsa bodega n 8 Papayo, Ibagué, Departamento Tolima - Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trifisol, 2019).

TRIFESOL 1000 SC

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: tombamento (*Rhizoctonia solani*), mancha foliar (*Helminthosporium oryzae*, *Sarocladium oryzae*) e mal do pé (*Gaeumannomyces graminis*) do arroz e tombamento (*Rhizoctonia solani*) em cafeeiro.

Modo de ação: competição, antibiose e parasitismo.

Formulação: suspensão concentrada contendo 1×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: tratamento de sementes, utilizar 500 mL/Ton semente. Aplicação no solo 15 dias após a emergência, utilizar 500 mL/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 7147).

Empresa produtora: Biocultivos S.A. - bodegas de gradinsa bodega nº 8 Papayo, Ibagué, Departamento Tolima - Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trifisol, 2019).

TRIFESOL SC

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em arroz.

Modo de ação: competição, antibiose e parasitismo.

Formulação: suspensão concentrada contendo 1×10^7 UFC/g.

Método de aplicação: tratamento de sementes, utilizar 500 mL/t semente. Aplicação no solo 15 dias após a emergência, utilizar 500mL/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 5886).

Empresa produtora: Biocultivos S.A. Bodegas de gradinsa, bodega, Papayo, Ibagué, Departamento Tolima, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trifisol, 2019).

TRIKHODERMIN

Princípio ativo: *Trichoderma viride* F395 (LLA-831).

Doenças e patógenos visados: *Fusarium oxysporum*, *Ascochyta pisi*, *Peronospora pisi*, *Erysiphe communis* em ervilha e soja; *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotovora*, *Pythium debaryanum*, *Fusarium oxysporum* e outros fitopatógenos de mudas em repolho; *Peronospora* sp., *Phoma lingam*, *Fusarium oxysporum* e *Xanthomonas* sp. em salsa e mostarda; *Fusarium* sp., *Peronospora* sp., *Ascochyta melonis*, *Erysiphe cucurbitacearum*, *Pythium debarianum* e outros fitopatógenos de plântulas em pepino e abóbora; *Macrosporium solani*, *Phytophthora infestans*, *Verticillium albo-atrum*, *Pythium debaryanum* e outros fitopatógenos de plântulas em tomate, pimenta e berinjela; *Phytophthora infestans*, *Streptomyces scabies*, *Spondiocladium atrovirens*, *Pectobacterium phytophthorum* e *Rhizoctonia solani* em batata; *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* e *Thielaviopsis basicola* em algodão; *Fusarium culmorum*, *Helminthosporium sativum*, *Puccinia graminis* e *Erysiphe graminis* em cereais de inverno; *Sclerotinia sclerotiorum*, *Plasmopara helianthi* e *Puccinia helianthi* em girassol.

Modo de ação: parasitismo, competição, produção de enzimas e metabolitos.

Características do agente de controle biológico: devido a sua alta atividade biológica, coloniza o substrato e decompõem compostos orgânicos, liberando nutrientes de forma assimiláveis para as plantas.

Formulação: líquida

Método de aplicação: tratamento de sementes/tubérculos: ervilha e soja (0,3 - 1 L/t), repolho (0,03 - 0,1 L/kg), salsa, endro e mostarda (0,03 - 0,1 L/kg), pepino e abóbora (0,03 - 0,1 L/kg), tomate, pimenta e berinjela (0,03 - 0,1 L/kg), cereais de inverno (0,5 - 1 L/t), girassol (0,5 - 1 L/t) e culturas de raiz/tubérculo - beterraba, cenoura, batata, etc (0,5 - 1 L/t). Através da pulverização de plantas: ervilha e soja (0,5 - 1 L/ha), repolho (0,5 - 1 L/ha), salsa, endro e mostarda (0,5 - 1 L/ha), pepino e abóbora (0,5 - 1 L/ha), tomate, pimenta e berinjela (0,5 - 1 L/ha), cereais de inverno (0,5 - 1 L/ha), girassol (0,5 - 1 L/ha) e culturas de raiz/tubérculo: beterraba, cenoura, batata, etc (0,5 - 1 L/ha). O produto tem recomendações especiais para cultivos de tomate e pepino em ambiente protegido, sendo as recomendações modificadas dependendo do alvo, forma de aplicação e época de aplicação.

Registro e comercialização do produto: Rússia.

Empresa produtora: Биобауэр ООО. 603058, Nizhny Novgorod, Rua Suzdalskaya, 62. (603058, город Нижний Новгород, улица Суздальская, дом 62), Rússia (Trikhodermin, 2018).

TRICHO GUARD

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Alternaria*, *Pythium*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Cercospora*, *Phytophthora* e *Botrytis*.

Modo de ação: protege as mudas do ataque de patógenos transmitidos pelo solo, promove crescimento das plantas, coloniza as raízes, aumenta a massa e a saúde das raízes. Competição, parasitismo, indução de resistência na planta e promoção de crescimento.

Características do agente de controle biológico: pode ser aplicado como tratamento de sementes com metalaxil, mancozeb, carbendazim e cloreto de cobre.

Formulações disponíveis: concentrado emulsionável contendo 10^9 UFC/mL e em pó-molhável contendo 10^7 UFC/g.

Métodos de aplicação: via “drench”: 1,5 a 2 kg/1.000 L de em água. Tratamento de sementes: 8 a 10 mL/1 kg de sementes. Tratamento de mudas: 5 a 6 mL/L de água para mergulhar as raízes.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Ajay Bio-Tech Ltd., Índia (Tricho-Guard..., 2019).

TRICHODERMA BIO-FUNGICIDE

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Macrophomina phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium sp.*, *Phytophthora sp.*, *Armillaria mellea*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium*, *Sclerotinia* e *Sclerotium*.

Modo de ação: parasitismo, antibiose, competição, tolerância ao estresse, solubilização de fosfato, resistência induzida e promoção de crescimento.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^8 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: pulverização: 1 kg/200 L de água. Tratamento de sementes: 5 g/kg de sementes. Tratamento do solo: 1 kg/25 kg de estrume de vaca e aplicar na preparação do solo. Preparação de canteiros: 500 g/100 L de água. Gotejo: 500 g/100 L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Ruchi Biochemicals, Índia (Trichoderma..., 2018).

TRICHO-SHIELD COMBAT

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: podridão de raiz, tombamento e murcha.

Modo de ação: parasitismo, antibiose e promoção de crescimento.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^6 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: via “drench”, no solo e aplicação foliar. Doses não informadas.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Kan Biosys Pvt. Ltd. Índia (Tricho-Shield..., 2018).

TRICHOLIFE

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Botrytis* etc.

Modo de ação: indução de resistência das plantas, parasitismo, antibiose e promoção de crescimento.

Formulações disponíveis e vida de prateleira: pó-molhável contendo 2×10^8 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses em locais fresco e seco.

Métodos de aplicação: aplicação no solo: misturar 1 kg/25 - 50 kg de esterco para um hectare e aplicar em torno da zona radicular da planta. Pulverização: 1 kg/200 L de água/ha. Recomenda-se a aplicação 60 dias antes e 15 dias após o plantio.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Gujarat Life Science, Índia (Tricholife..., 2018).

TRIECO

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Botrytis* etc.

Modo de ação: indução de resistência das plantas, promoção de crescimento, competição e antibiose.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 10^8 UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses em locais fresco e seco.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 4 - 8 g/10 mL de água para 1 kg de semente. Tratamento de rizomas e tubérculos: 500 g/100 L de água. Aplicação no solo: 1,5 kg/25 kg de esterco orgânico e distribuir uniformemente no solo. Via “drench”: 500 g/100 L de água para encharcar 400 m² no local onde se observa os sintomas de murcha ou podridão de raiz.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Ecosense Labs Ltd. Índia (Trieco..., 2019).

YASH DERMA

Princípio ativo: *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Phytophthora* e *Botrytis*.

Modo de ação: antibiose, parasitismo e promoção de crescimento.

Formulação: pó-molhável.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes a seco: 10 - 20 g/100 mL de água/kg de semente. Tratamento de mudas: 10 g/L de água e mergulhar as raízes por 15 minutos antes do transplante. Aplicação no solo: 1 kg/50 kg de esterco, cobrir com polietileno por 15 dias e umedecer 3 a 4 vezes; após esse período espalhar em 1 hectare de solo. Pulverização: 10 g/100 L de água.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Yash Krishi Takniki Evam Vigyan Kendra Índia (Yash..., 2018).

Trichoderma stromaticum**TRICOVAB**

Princípio ativo: *Trichoderma stromaticum* CEPLAC 3550.

Doenças e patógenos visados: vassoura-de-bruxa do cacau causada por *Monilophthora pernicioso*.

Modo de ação: parasitismo e inibição da formação de basidiomas do fitopatógeno.

Formulação: pó-molhável (WP) na concentração de $2,3 \times 10^8$ conídios/g.

Método de aplicação: aplicado sobre as vassouras secas no solo ou na copa dos cacauzeiros.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 01312).

Empresa produtora: Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira/Centro de Pesquisas do Cacau. Km 22 da Rodovia Ilhéus/Itabuna, 45600-970-Itabuna, BA, Brasil (Agrofit, c2003).

Trichoderma spp.

BIOSPARK

Princípio ativo: *Trichoderma* spp.

Doenças e patógenos visados: usado em milho, arroz, vegetais, manga, banana, cana, abacaxi e jardins para o controle de *Phytophthora*, efetivo como biofertilizante, promotor de crescimento e agente de compostagem

Formulação e vida de prateleira: O produto é composto por três cepas de fungos tropicais isoladas das florestas Filipinas. O meio orgânico seco contendo os fungos dormentes contém $1,2 \times 10^8$ UFC/g. Vida útil de 24 meses. O produto pode ser armazenado em condições ambientes.

Métodos de aplicação: pode ser aplicado em sementes, em sementeiras e restos da cultura.

Registro e comercialização do produto: Filipinas.

Empresa produtora: Biospark Corp., Filipinas (Biospark..., 2019).

BIO-IMPILO

Princípio ativo: *Trichoderma* spp.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Plasmopara viticola* e *Leptosphaeria maculans*.

Modo de ação: inibe o crescimento e as atividades dos patógenos e induz resistência. Os metabólitos aumentam o crescimento das plantas, influenciando a produção de raízes e brotos.

Formulação: pó-molhável contendo 2×10^9 conídios/g. Preferencialmente estocado entre 5 a 20 °C.

Métodos de aplicação: pulverização: 1 L/ha em hortaliças; videira, arbustos e árvores a recomendação é de 1 - 2 L/ha. Realizar a primeira aplicação nas mudas no início da primavera (4 - 6 folhas abertas), segunda aplicação alguns dias antes da floração e terceira após a colheita. Aplicações adicionais somente quando uma leitura de Brix de seiva de planta indica uma queda importante.

Registro e comercialização do produto: África do Sul.

Empresa produtora: Agro-Organics Ltd, África do Sul (Bio-Impilo..., 2019).

EXCALIBUR GOLD PBTM

Princípio ativo: *Trichoderma* spp.

Doenças e patógenos visados: doenças radiculares.

Modo de ação: colonização do sistema radicular e promoção de crescimento.

Formulação: pó-molhável contendo 2% de ingrediente ativo e 98% de inertes, sendo 80% de talco e 20% de grafite.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 30 g/45 kg de sementes. Para aplicação em imersão: preparar a suspensão colocando um pacote do produto/3 L de água não clorada e mergulhar o sistema radicular das plantas na mistura por 10 segundos ou até que o sistema radicular esteja suficientemente coberto. Transplantar em seguida.

Registro e comercialização do produto: África do Sul

Empresa produtora: ABM Africa Division (Advanced Biological Marketing). África do Sul (Excalibur, 2018).

HASIRU LIQUID TRICHODERMA

Princípio ativo: *Trichoderma* spp.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia* e *Sclerotinia*.

Modo de ação: antibiose, indução de resistência das plantas e parasitismo.

Formulação e vida de prateleira: concentrado emulsionável. Vida de prateleira de 12 meses em locais fresco e seco.

Métodos de aplicação: irrigação: 1 L/200 L de água. Via “drench”: 1 L/200L de água. Tratamento de sementes: 1 L/5 ha.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Hasiru Organics. Índia (Hasiru..., 2019b).

ICB NUTRISOLO TRICHODERMA

Princípio ativo: *Trichoderma* spp.

Indicação: bioestimulante e promoção de crescimento

Modo de ação: promoção de crescimento.

Registro e comercialização do produto: comercializado no Brasil como inoculante.

Empresa produtora: ICB Bioagritec Ltda. Rua Arabutan, 386, Porto Alegre, RS. Brasil (ICB..., 2019).

TRICHOBIO

Ingrediente ativo: *Trichoderma* spp.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium solani*, *Phytophthora sojae* e *Rhizoctonia solani*, causadores de tombamento na soja.

Modo de ação: antibiose, antagonismo, parasitismo, competição e bioestimulação.

Características do agente de controle biológico: é um produto formulado à base de

cepas de *Trichoderma* spp., utilizado como biofugicida e bioestimulante de enraizamento.

Formulação: pó-molhável contendo 200 g/kg.

Método de aplicação: para a cultura da soja: 600 g a 1 kg/ha em aplicação foliar. Para tratamento de sementes: 1 kg/2.000 kg de sementes de soja. Aplicação foliar e dirigida ao solo: 200 g/ha. Aplicação no transplantio de mudas: 50 g/5 L de água. Tratamento de substrato: 200 g/m³.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 3361).

Empresa produtora: BioSae Biotecnología y Servicios Agroecológicos. Calle Jose Vicente Soliz, 14, La Guardia, Santa Cruz de la Sierra, Bolívia (Bolívia, 2019; Trichobio..., 2018).

TRICODAMP

Ingrediente ativo: *Trichoderma* spp.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo causadores de tombamento.

Modo de ação: antibiose e parasitismo.

Características do agente de controle biológico: não misturar com produtos químicos e inoculantes.

Formulação: concentrado emulsionável.

Método de aplicação: tratamento de sementes de soja, chia, quinoa, trigo, sorgo, gergelim, fava, batata, etc. Tratamentos de mudas e aplicação foliar.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 0434).

Empresa produtora: Probiotec Probiología y Tecnología. Barrio Equipetrol, Calle Córdoba 7 este 29. Santa Cruz, Bolívia (Bolívia, c2011; Tricodamp..., 2019).

TUSAL WG

Princípio ativo: *Trichoderma* sp.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* sp., *Pythium* sp. e *Phytophthora* sp. em pimenta, tomate, pepino, abobrinha, berinjela e escarola.

Modo de ação: TUSAL contém várias espécies de *Trichoderma* spp. antagonicas de fungos fitopatogênicos do solo com ação de parasitismo direto. *Trichoderma* age por parasitismo, antagonismo, indução de resistência e antibiose. A combinação de diferentes espécies garante a eficácia do produto. Por outro lado, eles fornecem importantes benefícios nutricionais que envolvem estímulo no desenvolvimento.

Formulação: microgranulado solúvel contendo 2×10^8 UFC/g.

Métodos de aplicação: aplicar por gotejamento no campo e em sementeira. Recomenda-se aplicar todo início de cultivo para manter o antagonista no solo.

Registro e comercialização do produto: Espanha (24.244).

Empresa produtora: NewBiotechnic SA (NBT) Espanha (Tusal..., 2018).

Trichoderma asperellum e *Trichoderma gamsii*

BIOTAM

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* (ICC 012) e *Trichoderma gamsii* (ICC 080).

Doenças e patógenos visados: podridão radicular causada por *Armillaria* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Rosellinia* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium rolfisii*, *Thielaviopsis basicola* e *Verticillium* spp. em alfafa, cereais, algodão, soja, gramíneas, oleaginosas, tabaco, tuberosas, citros, alho, cebola, abacaxi e hortaliças, entre outras.

Modo de ação: competição com fitopatogenos e liberação de enzimas que atacam as paredes dos patógenos (BIOTAM, 2018).

Características do agente de controle biológico: O *Trichoderma gamsii* atua na faixa de temperatura de 7 °C e o *T. asperellum* de 12 °C. A faixa ótima de temperatura é de 25 °C a 30 °C.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma asperellum* ICC 012 na concentração de 5×10^6 UFC/g e 2 *Trichoderma gamsii* ICC 080 na concentração de 5×10^6 UFC/g.

Método de aplicação: pulverização (sulco de plantio, solo, linhas de plantio) e em sistema de irrigação.

Registro e comercialização do produto: EUA. Possui certificação pela Materials Review Institute - OMRI e Washington State Department of Agriculture - WSDA.

Empresa produtora: Isagro USA. 430 Davis Dr. Suite 240 Morrisville, NC 27560. USA (Biotam, 2018).

BIOTEN

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* ICC 012 e *Trichoderma gamsii* ICC 080.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae*, *Thielaviopsis basicola* e *Phytophthora capsici* em gramado, flores, plantas ornamentais, hortaliças, melão, erva-doce, alcachofra, manjerição, aipo, feijão, abobrinha, berinjela, pepino e ervas aromáticas.

Modo de ação: competição por espaço e por elementos nutritivos e inibição de crescimento e difusão dos patógenos de solo.

Formulação: pó-molhável contendo 2 g de *Trichoderma asperellum* ICC012; 2 g de *Trichoderma gamsii* ICC080; totalizando a concentração total mínima de 3×10^7 UFC/g.

Métodos de aplicação: deve ser aplicado preventivamente nas diferentes fases fenológicas da cultura, evitando desta forma que a infecção ocorra. Recomenda utilizar quando a temperatura do solo for maior que 10 °C. Para uma distribuição homogênea é recomendado usar um volume de água de 1000 L/ha. Em gramados e plantas ornamentais diluir em água e

irrigar ou pulverizar as plantas. Deve ser aplicado ao solo onde se desenvolve rapidamente e coloniza as raízes e a rizosfera, criando uma barreira física que impede o acesso de patógenos aos órgãos-alvo.

Registro e comercialização do produto: União Europeia, Estados Unidos e Itália.

Empresa produtora: Bayer CropScience S.r.l. Viale Certosa 130, 20156 Milão, Itália. Distribuído por: ICL Italia Terviso srl. Via Monterumici, 8, 31100, Treviso, Itália (Bioten..., 2015).

REMEDIER

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* ICC 012 e *Trichoderma gamsii* ICC 080.

Doenças e patógenos visados: patógenos de solo como *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Thielaviopsis basicola*, *Verticillium dahliae*, *Armillaria mellea* em plantas ornamentais, gramados, videira, frutíferas, arbustos e agentes da doença Esca da videira.

Modo de ação: competição, parasitismo e indução de resistência a patógenos em plantas hospedeiras.

Formulação: pó-molhável contendo 3×10^7 UFC/g.

Métodos de aplicação: pode ser aplicado via fertirrigação, sprinklers ou qualquer outro sistema que forneça conídios no solo para colonização de raízes. Na pré-germinação o produto deve ser colocado em água a temperatura ambiente cerca de 24 horas antes do tratamento para iniciar a germinação dos conídios.

Registro e comercialização do produto: União Europeia e Estados Unidos

Empresa produtora: Isagro S.p.A. Via Caldera, 21, 20153, Milão, Itália (Remedier..., 2017).

TENET WP

Princípio ativo: *Trichoderma asperellum* (ICC 012) e *Trichoderma gamsii* (ICC 080).

Doenças e patógenos visados: podridões radiculares causadas por *Armillaria* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Rosellinia* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Thielaviopsis basicola* e *Verticillium* spp. em alfafa, cereais, algodão, soja, gramíneas, oleaginosas, tabaco, tuberosas, citros, alho, cebola, abacaxi, hortaliças, entre outras.

Modo de ação: competição e produção de enzimas que atacam as paredes dos fitopatógenos.

Características do agente de controle biológico: *Trichoderma gamsii* atua na faixa de temperatura de 7 °C e o *Trichoderma asperellum* de 12 °C. A faixa ótima de temperatura é de 25 °C a 30 °C. Ativo atua em uma ampla gama de culturas.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma asperellum* ICC 012 na concentração de 5×10^6 UFC/g e *Trichoderma gamsii* ICC 080 na concentração de 5×10^6 UFC/g.

Método de aplicação: pulverização (sulco de plantio, solo, linha de plantio) e em sistema de irrigação.

Registro e comercialização do produto: EUA. Possui certificação pela Materials Review Institute - OMRI e Washington State Department of Agriculture - WSDA.

Empresa produtora: Isagro USA. 430 Davis Dr. Suite 240 Morrisville, NC 27560. USA (Tenet-Wp..., 2018).

Trichoderma atroviride e *Trichoderma virens*

KIWIVAX

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride* LU668, *Trichoderma atroviride* LU297 e *Trichoderma virens* LU753.

Doenças e patógenos visados: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* em quivi.

Modo de ação: colonização da raiz induzindo resistência sistêmica ao patógeno.

Formulação: pó-molhável contendo 5×10^8 UFC/g de *Trichoderma atroviride* LU668, 5×10^8 UFC/g de *Trichoderma atroviride* LU297 e 5×10^8 UFC/g de *Trichoderma virens* LU753.

Métodos de aplicação: em viveiros: 200 g/ha (doses maiores são recomendadas em solos com baixo teor de matéria orgânica). Aplicar por pulverização de 1000 L/ha. Três aplicações por ano são recomendadas para a colonização ativa de raízes. Mudas e plantas jovens: 200 g/100 L de água e aplicar nos tubetes ou nas plantas jovens antes de ensacar ou antes do plantio em campo. Aplicar mergulhando ou inundando as raízes. Aplicar nas mudas e plantas jovens no momento do plantio.

Registro e comercialização do produto: Nova Zelândia (ACVM P9340).

Empresa produtora: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christchurch 8150, New Zeland. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Austrália (Kiwivax..., 2017).

Trichoderma harzianum e *Trichoderma koningii*

PROMOT WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma koningii*.

Doenças e patógenos visados: *Phytophthora*, *Sclerotinia*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium* e, *Phomopsis*.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma koningii* (3×10^7 conídios/g) e *Trichoderma harzianum* (2×10^7 conídios/g).

Registro e comercialização do produto: Alemanha, como biofortificante.

Empresa produtora: Biofa AG. (Bio-farming Systems), Rudolf-Diesel Str. 2, D-72525, Alemanha (Promot, 2019).

TRICHOTROPICO WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani* em arroz.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^8 conídios viáveis/g de *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma koningii*.

Método de aplicação: aplicação foliar a partir do período de máximo perfilhamento, antes da emergência da panícula, época onde é mais comum sua presença e o dano é mais severo. Se recomenda uma primeira aplicação (inundativa), 1.000 g/ha, continuando com aplicações periódicas, ao menos a cada 10 dias, com doses menores entre 500 e 750 g/ha, dependendo dos níveis de incidência e severidade, assim como das condições climáticas que favoreçam *Rhizoctonia solani*.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 5970).

Empresa produtora: Soluciones Microbianas del Tropico S.A.S - km 2 via a Palestina, Parque Industrial las Delicias, Bodega 15, Chinchiná, Caldas, Colômbia (Trichotropico..., 2013; Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

TRICHOGEL

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma koningii*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani* em cafeeiro.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: gel emulsionável contendo 1×10^8 conídios viáveis/g de *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma koningii*.

Método de aplicação: misturar com água no momento da preparação, prévia a sua aplicação. Se distribui em unidades de 170 g e 440 g, na solução dissolvente.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 11161).

Empresa produtora: Soluciones Microbianas del Tropico S.A.S. Km 2 via a Palestina, Parque Industrial las Delicias, Bodega 15, Chinchiná, Caldas, Colômbia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trichogel..., 2019).

TRICOX

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma koningii*.

Doenças e patógenos visados: *Meloidogyne incognita* e *Phytophthora capsici*.

Características do produto: estimula o crescimento radicular, promove o crescimento e desenvolvimento vegetal, promove a floração e melhora a produtividade e qualidade dos cultivos.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma koningii* (3×10^7 conídios/g) e *Trichoderma harzianum* (2×10^7 conídios/g).

Método de aplicação: alcachofra: 1,5 a 2,75 kg/ha, iniciar a aplicação 15 dias após o transplante e repetir após 30 dias. Para milho: 1,5 a 2 kg/ha, iniciar a aplicação nas primeiras etapas fenológicas do cultivo ou na avaliação prévia ao início da infestação.

Registro e comercialização do produto: Peru (SENASA PBUA 162) (Peru, 2019).

Empresa produtora: JH BIOTECH INC. 4951, Olivas Park Drive Ventura, CA 93003, USA (Peru, 2019; Tricox, 2011).

Trichoderma harzianum e *Trichoderma koningiopsis*

TRICOTOP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma koningiopsis*.

Efeitos e Alvos: promotor de crescimento de hortaliças, ornamentais, soja e frutas. Indicado para o controle de *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. e *Pythium* spp.

Modo de ação: promoção de crescimento, competição e antibiose.

Características do agente de controle biológico: é um promotor de crescimento radicular, secreta fito hormônios que promovem o desenvolvimento e sanidade das raízes, aumenta o volume radicular e melhora a absorção de nutrientes e água.

Formulação: pó-molhável contendo $1,2 \times 10^{12}$ conídios/g.

Método de aplicação: tombamento: 5 g/m². Tratamento de sementes: hortaliças, ornamentais, soja e frutas - 50 g/ha. Para tratamento de sulco: 80 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 2068).

Empresa produtora: BioTop - Cochabamba, Bolívia. www.biotopbolivia.org Fundación Proinpa - Avenida Menezes, S/N, Km 04, Cochabamba, Bolívia (Ortuño et al., 2011; Tricotop..., 2012).

Trichoderma harzianum e *Trichoderma polysporum*

BINAB T PELLET GR

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma polysporum*.

Doenças e patógenos visados: podridão do tronco (*Chondrostereum purpureum*) em amêndoa, cereja, ameixa, damasco, maçã, pera, pêsego e nectarina. Controle de podridões em uva causadas por *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp. *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium roseum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium moniliforme*, *Phomopsis mali*, *Phomopsis viticola*, *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium*.

Modo de ação: competição, antibiose, parasitismo e indução de resistência.

Formulação: granulado em pellets com concentração de 2×10^8 UFC/g.

Método de aplicação: um pélete é instalado para cada 7 - 10 cm de perímetro de tronco ou galho, a uma profundidade de 3 cm, além de um pellet que deve atingir a medula. Para árvores com a doença mais avançada, aumentar a dose em 50%. O diâmetro da perfuração deve ser ligeiramente maior que o tamanho do pellet para permitir sua subsequente expansão. A aplicação do produto é segura e eficaz sob quaisquer condições meteorológicas, de temperatura, vento e horário. Tratamento de tronco, para árvores jovens um pélete cada 10 cm de perímetro de tronco. Para árvores adultas um pélete cada 7 cm de perímetro de tronco.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2708).

Empresa produtora: BINAB Bio-Innovation AB, Florettgatan 5 SE-254 67 Helsingborg, Suécia (Binab..., 2018).

BINAB-T WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma polysporum*.

Doenças e patógenos visados: murcha vascular, podridão do tronco e raiz causadas por *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium roseum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium moniliforme*, *Botrytis* sp., *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phomopsis mali*, *Phomopsis viticola*, *Phomopsis vaccini*, *Phomopsis obscurans*, *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium* sp., *Heterobasidium* sp., *Chondrostereum purpureum*, *Botrytis* sp., *Pythium* sp., *Armillaria mellea* e *Lentinus* sp. nas cultura de tomate, melão, melancia, batata, alface, espinafre,

pêssego, nectarina, ameixa, amêndoa, maçã, pera, uva, morango, mirtilo, framboesa e frutas vermelhas.

Modo de ação: competição, antibiose, indução de resistência e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^5 UFC/g de produto.

Método de aplicação: tratamento do tronco utilizando 5 - 17 g/L de água. Pintar as feridas e/o cortes de podas uma a duas vezes na temporada. Patógenos de solo: utilizar a dosagem de 50 a 100 g/m³ de solo ou 0,1 - 0,2 g/planta. Repetir a cada quatro semanas, se for necessário com no máximo a cada quatro semanas. Patógeno da parte aérea: utilizar a dosagem de 0,25 - 0,5 kg/ha, desde a floração e repetir a cada 15 dias com no máximo de 5 aplicações por temporada.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2102).

Empresa produtora: BINAB Bio-Innovation AB, Florettgatan 5 SE-254 67 Helsingborg, Suécia. Agro Connexion. Santiago, Chile (Binab..., 2018; Chile, 2019).

BINAB (BINAB T PELLETS, BINAB TF WP, BINAB T WG, BINAB T VECTOR)

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma polysporum*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium roseum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium moniliforme*, *Botrytis* sp., *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phomopsis mali*, *Phomopsis viticola*, *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium* sp., *Heterobasidium* sp., *Chondrostereum purpureum*, *Armillaria mellea*, *Lentinus* sp., *Phomopsis vaccini* e *Phomopsis obscurans* em frutíferas.

Modo de ação: parasitismo e colonização do hospedeiro.

Formulações disponíveis: pellets e pó-molhável contendo *Trichoderma polysporum* (IMI 206039) 32% p/p (320 g/kg), *Trichoderma harzianum* (IMI 206040) 32% p/p (320 g/kg) e co-formulantes c.s.p.c. 100% p/p (1 kg). Contém um mínimo de 100.000 UFC/g. Formulação dos produtos Binab Bär e Binab Vector não informado.

Métodos de aplicação: usado em feridas e cortes de poda em tomate, melão, nectarina, ameixa, amendoeira, pera e videira aplicando 5 - 17 g/L de água. Binab também pode ser usado para o controle de patógenos de solo na quantidade de 50 a 100 g/m³ de solo sendo 0,1 - 0,2 g/planta para videira, pessegueiro, nectarina, morango, framboesa e mirtilo.

Registro e comercialização do produto: Binab T Pellets e Binab TF WP são comercializados na Suécia, Dinamarca, EUA e no Chile (importado pela Agro-Connexion). Na Alemanha o produto é registrado como biofortificante. Binab T Vector é comercializado na Suécia, Dinamarca e EUA.

Empresa produtora: Binab Bio-Innovation AB: <http://binab.se/>. Suécia (Binab..., 2018).

Trichoderma harzianum e *Trichoderma virens*

ROOTSHIELD PLUS WP; ROOTSHIELD PLUS GRANULES

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* T-22 e *Trichoderma virens* G-41.

Doenças e patógenos visados: podridões causadas por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Thielaviopsis*, *Phytophthora* e *Cylindrocladium* nas culturas de amora, mirtilo, groselha, framboesa, morango, alho, alho-poró, cebola, ornamentais de bulbo, laranja, toranja, limas, pepino, melão, abóbora, flores e plantas ornamentais, berinjela, tomate, pimenta, ervas, especiarias e menta, culturas hidropônicas (pepino, tomate, alface, ervas e especiarias), rúcula, aipo, endívia, alface, couve, acelga, mostarda, repolho, pera, marmelo, damasco, cereja, pêsego, ameixa, nectarina, amêndoa, nozes, castanha, macadâmia, pistache, batata, batata doce, inhame, gengibre e em viveiro (maple, carvalho, uva, pinus, etc.). O produto RootShield Plus Granules também é recomendado para feijão, soja, lentilha, ervilha, algodão, canola, girassol, trigo, milho e aspargo.

Modo de ação: parasitismo, antibiose, competição, solubilização de nutrientes inorgânicos para a absorção radicular, indução de resistência e inativação de enzimas do patógeno envolvidas no processo de infecção (Rootshieldplus, 2018).

Características do agente de controle biológico: protege a planta contra doenças radiculares, durante 10 a 12 semanas, após sua aplicação. O fungo cresce em pH de 4 a 8 e temperatura de 9 °C a 36 °C.

Formulações disponíveis: RootShield Plus WP é comercializado em formulação pó-molhável contendo *Trichoderma harzianum* T-22 na concentração de 1×10^7 UFC/g, *Trichoderma virens* G-41 na concentração de $5,3 \times 10^6$ UFC/g. Recomenda-se armazenar o produto em condição refrigerada. A vida de prateleira é de seis meses entre 10 a 25 °C, nove meses entre 0 a 10 °C e 12 meses a 0 °C. RootShield Plus Granules é formulado em grânulos contendo as mesmas concentrações do RootShield Plus WP.

Método de aplicação: RootshieldWP é um fungicida biológico preventivo para o controle de doenças de plantas. O produto é recomendado para tratamento de sementes, órgão de propagação, no solo e pulverizado nas plantas. Pode ser aplicado sozinho e/ou em mistura de tanque. O produto RootShield Plus Granules pode ser aplicado em diferentes tipos de solo, em mistura à base de turfa, casca de coco, bem como substrato utilizado em cultivo hidropônico. Também, pode ser aplicado na mistura e rotação com alguns fungicidas, inseticidas, fertilizantes.

Registro e comercialização do produto: União Europeia, nos EUA e no Canadá. O produto é certificado pela More Profitable Sustainability -MSP e Ecocert no Canadá e pela Organic Materials Review Institute - OMRI nos Estados Unidos.

Empresa produtora: BioWorks, Inc. 100 Rawson Road Suite 205, Victor, NY 14564, USA (Rootshield-plus..., 2018a, 2018b).

Trichoderma harzianum e *Trichoderma viride*

FERTIMAX

Princípio ativo: *Trichoderma viride* e *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia homoeocarpa* e *Ustilago tritici*.

Modo de ação: parasitismo, antibiose e competição.

Características do agente de controle biológico: secreta as enzimas celulase e quitinase, destrói os patógenos fúngicos, secretando substâncias tóxicas, como a glioxina, a viridina e a tricodermina.

Formulação e vida de prateleira: líquida solúvel contendo 2×10^9 UFC/ml. Vida de prateleira: 2 anos.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Skymax Crop Science Ltd. Índia (Fertimax..., 2019).

POABS GREEN

Princípio ativo: *Trichoderma viride* e *Trichoderma harzianum*.

Doenças e patógenos visados: *Phytophthora capsici* em pimenta, *Pythium* sp., *Pythium aphanidermatum*, *Pythium vexans*, *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani* em gengibre. *Rosellinia arcuata* em chá. Nematoides da raiz da maioria das culturas.

Modo de ação: competição.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Poabs Biotech. Índia (Poabs..., 2019).

RADIX

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae*, *Thielaviopsis basicola* e *Phytophthora capsici* em flores, plantas ornamentais e hortícolas.

Modo de ação: competição por espaço e nutrição com patógenos do solo e pode agir por meio de enzimas liberadas atacando as paredes celulares dos parasitas.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma harzianum* ICC 012 na concentração de 5×10^7 UFC/g e *Trichoderma viride* ICC 080 na concentração de 5×10^7 UFC/g.

Métodos de aplicação: é indicado diluir o produto 24 horas antes tratamento, na proporção de menos 1 kg/10 L de água para estimular a germinação de conídios. Aplicar o produto sozinho e 10 dias antes da aplicação de outros produtos. Pode ser utilizado em fertirrigação. Armazenamento em temperaturas inferior a 30 °C, em local seco e não expostos a luz.

Registro e comercialização do produto: Itália.

Empresa produtora: Certis Europe, Itália (Radix..., 2012).

TRICH-A-SOIL

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo, como *Fusarium* sp. e *Pythium spinosum*.

Modo de ação: competição.

Características do produto: aplicar no sulco de semeadura próximo das sementes para garantir a atividade biológica do ingrediente. Sensível às aplicações conjuntas com fungicidas. Assim, é essencial reaplicação do produto após aplicações de fungicidas químicos.

Formulação: grânulo dispersível contendo 5×10^{10} UFC/g.

Métodos de aplicação: mudas: 20 g/100 m² na semeadura, na emergência e uma semana antes de transplantar. Campo: 1,25 kg/ha no plantio.

Registro e comercialização do produto: Austrália.

Empresa produtora: Organic Crop Protectants Pty Ltd. Manufactured by Metcalf Biotechnologies 211 Wyre Forest Road, Molesworth Tasmania, Austrália 7140. Unit 1/61, Turrella St, TURRELLA NSW 2205. www.ocp.com.au (Trich-a-Soil..., 2012).

VALERY PLUS

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis cinerea* em videira.

Modo de ação: parasitismo, antibiose e competição. A aplicação deve ser dirigida na região onde está afetada pela doença.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma harzianum* ($2,3 \times 10^9$ UFC/g) e *Trichoderma viride* ($2,3 \times 10^9$ UFC/g).

Método de aplicação: tratamento foliar com 0,5 a 1 kg/ha. Se recomenda aplicar no início do aparecimento da doença, ou quando as condições climáticas forem favoráveis para o desenvolvimento da doença, preferencialmente de forma preventiva.

Registro e comercialização do produto: Peru (SENASA PBUA 030).

Empresa produtora: Agrobioticos. Lima - Peru. <http://agrobioticos.com/productos-2/valery-plus/> (Peru, 2019).

Trichoderma harzianum, Trichoderma lignorum e Trichoderma koningii

NUTRI-LIFE TRICHO-SHIELD

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum, Trichoderma lignorum e Trichoderma koningii*.

Indicação: Promotor de crescimento de plantas e raízes.

Modo de ação: promoção de crescimento associada aos metabolitos produzidos pelos *Trichoderma*.

Características do produto: este produto requer peneiramento quando aplicado com equipamento de pulverização. Antes da aplicação, misture o produto com água para fazer uma pasta. Esperar uma hora, em seguida, adicionar a fertirrigação ou tanque de pulverização.

Formulação: pó-molhável baseado em talco.

Métodos de aplicação: aplicação foliar: 1 kg/ha ou 5 g/L de água para pulverização localizada. Aplicação no solo em culturas anuais: 1 - 2 kg/ha. Aplicar com a primeira fertirrigação. Repetir após quatro semanas. Culturas arbóreas: 1 kg/ha ou 5 g/L de água no início da primavera. Tratamento de mudas: mergulhar as plântulas numa suspensão 5 g/L de água. Tratamento de sementes: hortaliças - 5 g/kg de semente. Estacas: 10 g/L de água para imersão.

Registro e comercialização do produto: Austrália. Australian Certified Organic (ACO) Registered Farm Input 456AI.

Empresa produtora: Biological solutions Nutri-Tech Solutions P/L (NTS) 7 Harvest Road. Yandina. Queensland 4561, Austrália (Nutri-Life..., 2017b).

Trichoderma harzianum, Trichoderma virens e Trichoderma parceramosum

TRICHONATIVA

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum, Trichoderma virens e Trichoderma parceramosum*.

Doenças e patógenos visados: mofo cinzento, podridão de frutos e sarna da macieira (*Botrytis cinerea, Alternaria alternata, Venturia inaequalis*) em maçã; podridões de raízes e tronco causadas por *Phytophthora fragariae, Phytophthora citricola, Armillaria mellea, Phytophthora cactorum, Phytophthora dreschleri, Phytophthora megasperma, Phytophthora citrophthora, Phytophthora cinnamomi, Phytophthora nicotianae, Phytophthora cryptogea*

nas culturas de framboesa, mirtilo, morango, maçã, pera, cereja, pêssego, nós avelã, abacate, oliveira, laranja, tangerina, limoeiro e pomelo; mofo cinzento causado por *Botrytis cinerea* em cereja, uva, framboesa, mirtilo, morango, romã e quivi; podridão de fruto (*Fusicoccum* sp.) em mirtilo; podridões de frutos causadas por *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora cryptogea* em mamão; e murcha de *Verticillium*, mofo branco e podridão de tronco causadas por *Verticillium albo-atrum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Chondrostereum purpureum* em kiwi.

Modo de ação: competição, antibiose e parasitismo. Apresenta efeito estimulante de crescimento.

Formulação: suspensão concentrada contendo 1×10^9 conídios/mL.

Método de aplicação: aplicação foliar na dosagem de 1,5 - 2 L/ha. Aplicar na brotação e pós-colheita, através de irrigação ou aspersão no solo (2 aplicações na temporada). Utilizar a menor dose em plantações sem sintomas e a maior em plantações com sintomas. Tratamento de mudas na dosagem de 5 mL/L de água, realizar a imersão da totalidade das raízes no momento do transplante por dois minutos. Aplicações curativas: Injeção ao solo com 5 mL/L, com volume suficiente de mistura para cobrir o volume das raízes. Tratamento de solo na dosagem de 1,5L/ha, realizar a aplicação ao solo por irrigação ou via “drench” no pico de crescimento das raízes e em plena temporada (máximo 3 aplicações por temporada). Tratamento de flores e pré-colheita na dosagem de 2 L/ha (150 mL/100L de água), realizar a aplicação foliar com 50% da floração, frutos e em pré-colheita (1 ou 2 dias antes de colheita). Utilizar a menor dose com calda de até 1000 L/ha e dose maior com caldas maiores. Se recomenda no máximo 3 aplicações por temporada.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2587).

Empresa produtora: Bio Insumos Nativa SPA. Parcela Antilhue, lote 4 B2, Maule, Talca, Chile. Martinez & Valdivieso, Chile (Chile, 2019).

Trichoderma harzianum, *Trichoderma viride* e *Trichoderma longibrachiatum*

3 TAC

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiatum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, oídio, mofo cinzento, mofo branco, míldio, murchas, podridões radiculares e manchas foliares causadas por *Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Sclerotinia*, *Erysiphe* sp., *Sclerotinia* sp., *Bremis* sp., *Phytophthora* sp., *Septoria* sp., *Cercospora* sp., de *Leveillula taurica*, *Stemphylium versicarium*, *Cercospora*

asparagi em alface, almacha, uva, quivi, tomate, framboesa, morango, cereja, ameixa, maçã, pera, cebola e mirtilo.

Modo de ação: competição.

Características do agente de controle biológico: fungicida biológico, formulado a partir de conídios de *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiatum*.

Formulação: pó-molhável contendo $2,5 \times 10^3$ UFC/g.

Método de aplicação: aplicação foliar na dosagem de 1 - 2 kg/ha, aplicar a cada 20 dias com no máximo de quatro aplicações por temporada desde a floração até colheita. Calda de 1.000 - 1.500 L/ha. Usar a maior dose em condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença. Aplicação de solo na dosagem de 1 - 2 kg/ha em intervalos de 20 dias em qualquer época do ano. Calda 600 L/ha. Usa a maior dose com maior pressão da doença. Para aplicação foliar em alcachofra, aspargo, pimenta e tomate: 350 g/100 L. Para batata e uva 1000 g/100 L.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2602) e Peru (SENASA PBUA 030).

Empresa produtora: Pinturas Renner S.A. Av. Las Américas 221 Cerrillos, Santiago, Chile. Avance Biotechnologies Chile S.A., Calle Nueva 5367, Conchalí, Santiago de Chile (Peru, 2019).

3 TAC-I/BETA

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiatum*.

Doenças e patógenos visados: bacterioses, mofo cinzento, tombamento, mofo branco, oídio, míldio e manchas foliares causadas por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Pythium* sp., *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia minor*, *S. sclerotiorum*, *Erysiphe* sp., *Bremis* sp., *Septoria lactucae* e *Cercospora longissima* em cereja, noz, uva, kiwi, maçã, pera, tomate, cebola, framboesa, mirtilo, morango e alface.

Modo de ação: competição por espaço e nutrientes. Apresenta também ação como um estimulante de crescimento.

Formulação: pó-molhável na concentração de 1×10^8 conídios/g.

Método de aplicação: aplicação foliar: na dosagem de 1 - 2 kg/ha a cada 20 dias com no máximo de quatro aplicações por temporada desde a floração até colheita. Calda de 1.000 - 1.500 L/ha. Usar a maior dose em condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença. Aplicação de solo: 1 - 2 kg/ha periodicamente com intervalos de 20 dias em qualquer época do ano. Calda 600 L/ha. Usar a maior dose com maior pressão da doença.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2795).

Empresa produtora: Avance Biotechnologies, Chile S.A. Calle Nueva 5367, Conchalí, Santiago, Chile (Tac-I-Beta..., 2017).

3 TAEX

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiatum*.

Doenças e patógenos visados: podridões do tronco causadas por *Chondrostereum*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Heterobasidium*, *Alternaria alternata*, *Penicillium*, *Fusicocum*, *Fomitiporella*, *Gloephylium coriolus*, *Aspergillus* em maçã, pera, pêssego, cereja, oliveira, quivi, mirtilo, uva e pinus.

Modo de ação: competição.

Formulação: pasta contendo 25×10^3 UFC/g.

Método de aplicação: tratamento de troncos e cortes: realizar a aplicação imediatamente depois da poda, pincelar até cobrir a zona de corte. Realizar no máximo duas aplicações por temporada.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2664) e Peru (SENASA PBUA 188).

Empresa produtora: Pinturas Renner S.A. Av. Las Américas 221 Cerrillos, Santiago, Chile. Avance Biotechnologies Chile S.A., Calle Nueva 5367, Conchalí, Santiago de Chile (Chile, 2019; Peru, 2019).

TRICHONATIVA HORTALIZAS

Ingrediente ativo: *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiatum*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, mofo branco e mofo cinzento causados por *Phytophthora capsici*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* spp., *Botrytis cinerea* em Pimentão, pimenta, brócolis, repolho, couve-flor, cravo, tomate, alface, leucadedron, protea, beterraba e pinus.

Modo de ação: competição, antibiose e parasitismo de fungos fitopatogênicos.

Formulação: suspensão concentrada contendo 1×10^9 conídios/mL.

Método de aplicação: pimentão e pimentas: 0,1 L/ha. Aplicar na semeadura, transplante e 10 dias após o transplante por meio de irrigação ou aspersão no solo com calda variando de 200 a 600 L/ha, segundo o tamanho das plantas. Para brássicas: 5 mL/L de água. Aplicar a cada 20 dias, por meio de irrigação ou pulverização do substrato. Aplicação na formação da cabeça e corte da cabeça em repolho, para sementes com calda de 200 a 600 L/ha, segundo o tamanho das plantas. Para alface: 1 L/ha no transplante,

aplicação por irrigação. Para apodrecimento cinzento aplicar via foliar a cada 15 dias, com calda de 200 a 400 L/ha.

Registro e comercialização do produto: Chile (SAG 2859).

Empresa produtora: Bio Insumos Nativa SPA. Parcela Antilhue, lote 4 B2, Maule, Talca, Chile (Chile, 2019).

Trichoderma harzianum, *Trichoderma viride* e *Trichoderma koningii*

FITOTRIPEN WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii* e *Trichoderma viride*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, murcha de *Phytophthora* e murcha de *Fusarium* causados por *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp. e *Fusarium* spp. em crisântemo, abacate, tomilho, alecrim, baunilha, estragão, orégano, café, maracujá, tomate, alho, pimentão e berinjela.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável formulado a partir de conídios de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viride*. Concentração de 1×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: aplicar no solo a dose de 50 g/canteiro, ou foliar na dosagem de 1 g/L, a cada 12 semanas dentro do programa de aplicação. Para a cultura do arroz aplicar a dose de 250 - 400 g/ha. Tratamento de sementes: 250 - 500 g/t de sementes ou 2 a 3 g/L para aplicar sobre sementes pré-germinadas.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 4658).

Empresa produtora: Natural Control S.A. - Kilometro 3 Vereda San Nicolás-La Ceja, Rionegro, Departamento Antioquia - Colômbia (Fitotripen..., 2019; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

TRIBIOL WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* e *Trichoderma koningii*.

Doenças e patógenos visados: tombamento, causado por *Rhizoctonia solani*, em tomate.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 5×10^9 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: aplicação no solo deve ser de forma preventiva em sementeiras e em diferentes etapas dos cultivos, reduzindo o aparecimento de doenças provocadas por fungos na grande maioria dos cultivos.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 7614).

Empresa produtora: Bioprotección S.A.S - Cenicafe La Granja, Chinchiná, Caldas, Colômbia ((Instituto Colombiano Agropecuário, 2018; Tribiol..., 2019).

Trichoderma harzianum, Trichoderma viride, Trichoderma koningii e Trichoderma polysporum

CUSTOM GP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum, Trichoderma viride, Trichoderma koningii e Trichoderma polysporum.*

Indicação de uso: probiótico de solo.

Modo de ação: promoção de crescimento.

Formulações: tablete efervescente ou líquido concentrado.

Método de aplicação: tratamento de semente, raiz e aplicação foliar.

Registro e comercialização do produto: EUA.

Empresa produtora: Custom Biologicals Inc. Deerfield Beach, Flórida, EUA (Custom, 2018).

Trichoderma spp. em mistura com outros fungos

SAFERSOIL WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma asperellum, Trichoderma atroviride, Trichoderma harzianum e Paecilomyces lilacinus.*

Doenças e patógenos visados: tombamento e nematoides de galhas, causados por *Rhizoctonia solani* e *Meloidogyne* spp. em tomate e crisântemo.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável contendo 5×10^8 conídios/g de *Trichoderma asperellum, Trichoderma atroviride* e *Trichoderma harzianum* e 5×10^8 conídios/g de *Paecilomyces lilacinus.*

Método de aplicação: aplicar nos cultivos de flores, frutas, tomate, banana, batata e café nas doses de 1 g/L de água ou 20 g/canteiro de 36 m² ou 0,5 a 1 kg/ha via “drench” direcionado ao solo.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 9134).

Empresa produtora: Safer Agrobiológicos S.A.S - Cra. 50c 10 Sur-185, Medellín, Antioquia, Colômbia. (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018; Safersoil..., 2019).

SHAKTI

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* e *Paecilomyces lilacinus*.

Doenças e patógenos visados: doenças radiculares como murchas, tombamento, *Ganoderma* sp., podridões radiculares em cana-de-açúcar, chá, café, gramados, tomates, pimentão, cebola, alho, repolho. *Paecilomyces lilacinus* controla nematoides na maioria das culturas.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes: 4 - 5 g/10 mL de água/kg de semente.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Nivshakti Bioenergy Pvt Ltd. Índia (Shakti..., 2019).

TROMBO WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Indicação de uso: inóculo microbiano para acelerar a compostagem.

Características do produto: contém cepas de *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichoderma harzianum* que aceleram os processos de decomposição da matéria orgânica e regulam a atividade de organismos patogênicos.

Formulação: pó-molhável na concentração de *Trichoderma harzianum* 1×10^8 UFC/g e *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^8 UFC/g de produto.

Método de aplicação: em resíduos orgânicos de colheita: 2,5 - 5 g/L água. Em compostagem: 120 g/t.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 6186).

Empresa produtora: Bio-Crop Ltda. Carrera 24 n 21-31 Palmira, Departamento Valle, Colômbia (Trombo..., 2011; Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

TROPIMEZCLA WP

Ingrediente ativo: *Trichoderma* spp., *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Doenças e patógenos visados: mancha de alternaria (*Alternaria* spp.) em cebola.

Modo de ação: competição por nutrientes, antibiose e parasitismo.

Formulação: pó-molhável formulado a partir de conídios de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma* spp., *Saccharomyces cerevisiae* contendo 1×10^8 conídios viáveis/g.

Método de aplicação: em sementeiras e campo: 2 - 4 g/L. Cultivos estabelecidos: 1 kg/ha. Pode-se misturar com adubo orgânico compostado.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 6113).

Empresa produtora: Soluciones Microbianas del Tropico S.A.S - km 2 via, Palestina, Parque Industrial las Delicias, Bodega 15., Chinchiná, Caldas, Colômbia. INVESA - Envigado, Colômbia. <https://www.invesa.com/agro/tropimezcla-wp/>. Acesso em: 28 fev. 2019 (Instituto Colombiano Agropecuário, 2018).

Trichoderma spp. em mistura com bactérias

ANNAPURNA

Princípio ativo: *Trichoderma* sp., *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*; bactérias solubilizadoras de fosfato; bactérias mobilizadoras de potássio e *Pseudomonas*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo.

Modo de ação: promoção de crescimento.

Características do agente de controle biológico: trata-se de um adubo orgânico à base de fibra de coco, torta de nim, torta de mamona, torta de pongâmia, vermicomposto e enriquecido com os vários microrganismos.

Formulação: pó-molhável.

Métodos de aplicação: 90 - 120 kg/ha

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: Multiplex Group of Companies, Índia (Annapurna, 2018).

ANOKA

Princípio ativo: *Trichoderma viride* e *Pseudomonas fluorescens*.

Doenças e patógenos visados: podridão da raiz (*Pythium* spp.), podridão do colo (*Phytophthora*, *Rhizoctonia*), murcha de Fusarium (*Fusarium* spp.) e doenças bacterianas.

Modo de ação: competição por espaço e nutrientes, parasitismo e promoção de crescimento.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 10⁶ UFC/g. Vida de prateleira: 12 meses.

Métodos de aplicação: pulverização: 5 g/L de água. Tratamento de sementes: 10 g/kg de semente (adicionar pouca água, fazer uma pasta e misturar com as sementes). Para tubérculos e mudas: 500 g/50 L de água e deixe mergulhado por 5 minutos.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: K N Bio Sciences Pvt. Ltd., Índia (Anoka..., 2018).

BIOTAMAX

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma koningii* e *Trichoderma polysporum*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* e *Paenibacillus polymyxa*.

Indicação de uso: inoculante e biofertilizante.

Modo de ação: os microrganismos produzem hormônios vegetais que estimulando o crescimento do sistema radicular da planta.

Formulação: tablete efervescente.

Método de aplicação: tratamento de semente e no solo: 1 tablete/galão de água

Registro e comercialização do produto: EUA.

Empresa produtora: Custom Biologicals Inc. Deerfield Beach, Flórida, EUA (Custom, 2018).

BIOTAGREEN

Princípio ativo: quatro espécies de *Trichoderma*, seis espécies de bactérias e uma espécie de bactéria fixadora de nitrogênio.

Uso: probiótico para gramados de golf.

Modo de ação: solubilização de nutrientes.

Formulação e vida de prateleira: tablete efervescente. Validade de três anos.

Método de aplicação: diretamente na grama.

Registro e comercialização do produto: EUA.

Empresa produtora: Custom Biologicals Inc. Os produtos são fabricados e distribuídos nas instalações em Deerfield Beach, Flórida, EUA (Biotagreen..., 2013).

BIO EFFEKT

Princípio ativo: *Trichoderma viride*, *Trichoderma lignorum* e *Bacillus subtilis*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Sclerotium* spp., *Alternaria* spp., *Verticillium* spp. e *Phytophthora* spp.

Modo de ação: utilizado para decomposição de restos culturais e controle de fitopatógenos. Tanto o *Trichoderma lignorum* quanto o *Trichoderma viride* atuam por competição, parasitismo e antibiose.

Formulação e vida de prateleira: líquida contendo 2×10^9 UFC/mL dos microrganismos. Validade de até 6 meses.

Método de aplicação: cereais e leguminosas (1,5 - 2,5 L/ha); milho, girassol e colza (2,0 - 3,0 L/ha); beterraba-sacarina (2,0 - 2,5 L/ha) e hortaliças (4,0 - 5,0 L/ha) com calda de 300 L/ha, para tratamento de resíduos vegetais com incorporação do solo ou 400 L/ha, com

tratamento do resíduo vegetal sem incorporação do solo. Frutíferas e videiras (4,0 - 5,0 L/ha) para o tratamento de folhas caídas no outono, na forma de prevenção do desenvolvimento de doenças (calda de 400 - 600 L/ha).

Registro e comercialização do produto: Rússia.

Empresa produtora: Biona (Биона). Escritório Central em Belgorod: 308015, Federação Russa, Belgorod, ul. Chicherina, 3B. 308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Чичерина, 3Б, Rússia (Bioeffekt..., 2018).

BIO VAM

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii* *Athrobacter glovirormis*, *Azobacter chroococcum*, *Azobobacter vinelandii*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas alcaligenes* e *Pseudomonas putida*.

Modo de ação: aumenta o vigor e a viabilidade das plantas, estimulam que as plantas resistam às doenças fúngicas e insetos destrutivos. Aumenta a absorção de água e o fluxo de nutrientes minerais nas raízes.

Formulação: mínimo de 1×10^4 células/mL.

Método de aplicação: tratamento de raízes.

Registro e comercialização do produto: EUA e Canadá.

Empresa produtora: T&J Enterprises. Thomas Giannou 2328 W. Providence Ave. Spokane, Washington 9905 USA (BIO VAM, 2018).

BIOZERA

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*.

Efeitos e Alvos: promotor de crescimento de quinoa, gergelim, amaranto, chia, milho, frutas, hortaliças, melancia e feijão.

Modo de ação: promotor de crescimento.

Características do produto: é um promotor de crescimento radicular que secreta fito hormônios e promove o desenvolvimento das plantas.

Formulação: pó-molhável contendo $1,5 \times 10^{10}$ UFC/g de *Trichoderma* e 3×10^7 UFC/g de *Bacillus*.

Método de aplicação: tratamento de sementes: 200 g/3 kg de sementes de quinoa, gergelim, amaranto e chia. Para milho: 600 a 800 g/50 kg de sementes. Hortaliças: utilizar 10 L/200 L de água por meio de aplicação foliar 15 a 30 dias após o transplântio das mudas. Em batata utilizar 10 L/ha por meio de aplicação foliar, aos 15 a 30 dias depois da emergência das plantas.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 3578).

Empresa produtora: Fundación Proinpa. Av. Menezes, s/n km 04, Cochabamba, Bolívia. Biotop. Av. Menezes, s/n km 04, Cochabamba, Bolívia (Biozera..., 2018; Ortuño et al., 2011).

BIOZERA - L

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*.

Indicação de uso: promotor de crescimento de quinoa, gergelim, amaranto, chia, milho, frutas, hortaliças, melancia e feijão.

Modo de ação: promoção de crescimento.

Características do produto: é um promotor de crescimento radicular, secreta fito hormônios, que promovem o desenvolvimento de raízes, aumenta o volume radicular, melhora a absorção de nutrientes e água.

Formulação: concentrado emulsionável contendo *Trichoderma harzianum* na concentração de 1×10^{10} UFC/g e *Bacillus subtilis* na concentração de $1,5 \times 10^{10}$ UFC/g.

Método de aplicação: utilizar no momento da semeadura, via aplicação no sulco de plantio. Dosagem 500 mL/ha para as culturas de gergelim, chia, milho, feijão. Para frutas e hortaliças utilizar a dosagem de 1 L/ha.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 3516).

Empresa produtora: Fundación Proinpa. Av. Menezes, s/n km 04, Cochabamba, Bolívia (Ortuño et al., 2011).

COMPETE PLUS

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e *Azotobacter chroococcum*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo. Melhora a rizosfera e o uso eficiente de minerais, degrada matéria orgânica, aumenta a tolerância a estresse abiótico e colabora na fixação de nitrogênio.

Modo de ação: promoção de crescimento.

Formulação: é uma mistura de *Bacillus amyloliquefaciens* (2×10^6 UFC/g); *Bacillus pumilus* (2×10^6 UFC/g); *Bacillus subtilis* (1×10^6 UFC/g); *Bacillus licheniformis* (1×10^6 UFC/g); *Azotobacter chroococcum* (2×10^6 UFC/g); *Trichoderma harzianum* (2×10^6 UFC/g) e substâncias fúlvicas/húmicas (14,75%).

Métodos de aplicação: em solo em casa de vegetação (2 kg/ha) e viveiros (2 kg/ha). A recomendação é que produto seja diluído em 400 a 1000 litros de água/hectare e aplicado dentro 4 a 6 horas após a mistura. Diferentes doses podem ser aplicadas para a recuperação de campos em condições pobres.

Registro e comercialização do produto: Holanda, Bélgica, Dinamarca, Alemanha, Itália, Islândia, Espanha, Reino Unido e Noruega.

Empresa produtora: Plant Health Cure B.V. - P.O. Box 103 5060 AC Oisterwijk. 013 - 7200 300. The Netherlands (Compete-plus..., 2018).

PHC BIOPAK-F

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Streptomyces griseoviridis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus azotofixans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa* e *Bacillus subtilis*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo como *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium* e outros.

Modo de ação: os microrganismos selecionados facilitam a absorção de nutrientes pela raiz, fixando o nitrogênio atmosférico e disponibilizando P, K e Ca. *Trichoderma harzianum* atua por competição e parasitismo.

Formulação: é formulado com extrato solúvel de alga marinha (*Ascophyllum nodosum*), ácido húmico, maltodextrina, extrato de levedura, inertes e organismos benéficos microencapsulados nas concentrações de: *Streptomyces griseoviridis* - 10^6 UFC/g, *Bacillus pumilus* - $6,5 \times 10^7$ UFC/g, *Bacillus azotofixans* - $1,5 \times 10^7$ UFC/g, *Bacillus licheniformis* - $6,5 \times 10^7$ UFC/g, *Bacillus megaterium* - $6,5 \times 10^7$ UFC/g, *Bacillus polymyxa* - $1,5 \times 10^7$ UFC/g e *Bacillus subtilis* - $6,5 \times 10^7$ UFC/g.

Método de aplicação: tratamento de semente, fertirrigação e pulverização.

Registro e comercialização do produto: EUA e México.

Empresa produtora: Plant Health Care de México, S. de R.L. de C.V. Av. Ceylan, 959, Bodega, 26. Col. Industrial Vallejo. Cidade do México, México 02300 (PHC, 2018).

SHOCKER

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum* CPQBA 040-11DRM09, *Bacillus amyloliquefaciens* CPQBA 040-11DRM01 e CPQBA 040-11DRM04

Doenças e patógenos visados: *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Modo de ação: antibiose, antagonismo, parasitismo e competição.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo *Trichoderma harzianum* (1×10^7 UFC/g) e *Bacillus amyloliquefaciens* (1×10^7 UFC/g). Validade de 180 dias em temperatura ambiente.

Método de aplicação: para *Rhizoctonia*: 90 - 250 g/100 kg de sementes. Para *Sclerotinia*: 300 - 600 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Brasil (Mapa 33918).

Empresa produtora: Agrivalle Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agrícolas Ltda. Av. Tranquilo Giannini, 1090; 13329-000 Salto, SP, Brasil (Agrofit, c2003).

SUBTITRICO

Princípio ativo: *Trichoderma* e bactéria.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, etc.

Formulações disponíveis: líquida e pó.

Método de aplicação: recomendam-se no mínimo três aplicações, sendo preventiva (1 - 2 L/ha) e corretiva (2 - 3 L/ha). Recomendado para hortaliças, frutas, legumes e plantas ornamentais.

Registro e comercialização do produto: EUA e México.

Empresa produtora: Biotecnologia Agroindustrial S.A. de C.V. Norte Doce 230 3ra etapa Cd. Industrial. Morelia, Michoacan 58200, México (Subtitricho..., 2019).

TNC Tricorr

Princípio ativo: *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma reesei*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus licheniformis*.

Doenças e patógenos visados: *Botrytis* e *Pythium* e *Fusarium*.

Modo de ação: estimula a germinação de sementes. Induz resistência, melhora o crescimento e o rendimento.

Formulação: pó-molhável contendo 1×10^{11} UFC/kg de *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma reesei*, e 4×10^{11} UFC/kg de *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus licheniformis*.

Métodos de aplicação: misturar 1 g/5 L de substrato de cultivo; 10 g/50 L de fibra de coco e 200 g/m³ de substrato.

Registro e comercialização do produto: Reino Unido.

Empresa produtora: The Nutrient Company. Reino Unido (Tricorr, 2018).

TRICOBAL

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus amyloliquefaciens*.

Efeitos e Alvos: promotor de crescimento de quinoa, milho, gergelim, feijão e hortaliças.

Modo de ação: promoção de crescimento.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma koningiopsis* (1×10^{12} conídios/g) e *Bacillus subtilis* (4×10^9 UFC/g).

Método de aplicação: tratamento de solo: 2 kg/ha. Tratamento de semente: fazer uma pasta em água na proporção 1:1 e aplicar nas sementes.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 2106).

Empresa produtora: Fundación Proinpa. Av. Menezes, S/N, Km 04, Cochabamba, Bolívia (Ortuño et al., 2011; Tricobal..., 2019).

TRICOBAL L

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis* e *Bacillus subtilis*.

Efeitos e Alvos: promotor de crescimento de soja e milho.

Modo de ação: promoção de crescimento.

Formulação: emulsão contendo *Trichoderma harzianum* ($1,2 \times 10^9$ UFC/mL), *Trichoderma koningiopsis* ($1,2 \times 10^9$ UFC/mL) e *Bacillus subtilis* ($1,5 \times 10^{10}$ UFC/mL).

Método de aplicação: para a cultura da soja: 200 mL/100kg de sementes. Para a cultura do milho: 100 mL/20 kg de sementes.

Registro e comercialização do produto: Bolívia (SENASAG 3621).

Empresa produtora: Fundación Proinpa. Av. Menezes, S/N, Km04, Cochabamba, Bolívia (Ortuño et al., 2011; Tricobal..., 2019).

TRICONOVA

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis* e *Bacillus subtilis*.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium oxysporum* e *Botrytis cinerea*.

Modo de ação: antibiose, antagonismo, parasitismo e competição.

Formulação: concentrado solúvel contendo *Trichoderma harzianum* (4×10^{12} conídios viáveis/g), *Trichoderma koningiopsis* (1×10^{12} conídios /g) e *Bacillus subtilis* (4×10^8 UFC/g).

Método de aplicação: para as culturas de quinoa e cebola: 0,5 a 0,75 L/ha. Para abacate e citros: 0,5 L/ha. A época e frequência da aplicação é condicionada à severidade da doença. Por ser um produto biológico, utilizar de forma preventiva.

Registro e comercialização do produto: Peru (SENASA PBUA 0307).

Empresa produtora: Novagri S.A.C. Arequipa, Peru (Peru, 2019).

Trichoderma spp. em mistura com outros fungos e bactérias

BIOFIT RUT

Ingrediente ativo: *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Penicillium billai*, *Paecilomyces lilacinus* e *Azospirillum brasiliense*.

Modo de ação: solubilização de fosfato e fixador de nitrogênio.

Características do agente de controle biológico: inoculante biológico.

Formulação: pó-molhável contendo esporos de *Bacillus subtilis* ($1,25 \times 10^5$ UFC/g), *Penicillium billai* e *Paecilomyces lilacinus* ($1,25 \times 10^7$ UFC/g), *Trichoderma harzianum* ($1,35 \times 10^5$ UFC/g) e *Azospirillum brasilense* ($1,25 \times 10^5$ UFC/g).

Método de aplicação: aplicar no sistema de irrigação a cada duas semanas, iniciando no transplante até a floração ou formação de frutos. Dose de 2 a 4 kg/ha.

Registro e comercialização do produto: Colômbia (ICA 11161), México e EUA.

Empresa produtora: Soluciones Microbianas del Tropic. km 2 via Palestina, Parque Industrial las Delicias, Bodega 15, Chinchiná, Caldas, Colômbia. Innovak Global. <http://www.innovakglobal.com/productos/agrobiologicos/biofit-rtu/>. Chihuahua, Mexico (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

MICOSAT F

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* TH01, *Pochonia chlamydosporia* PC 50, *Agrobacterium radiobacter* AR 39, *Bacillus subtilis* BA 41 e *Streptomyces* spp. SB 14.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo, melhora o desenvolvimento radicular e induz a resistência.

Modo de ação: desenvolvimento das raízes e aumento nas defesas naturais da planta, menor suscetibilidade a patógenos.

Formulações disponíveis: granulos, WP e pó na concentração de $12,4 \times 10^7$ UFC/g.

Métodos de aplicação: tratamento de sementes, pulverização foliar e distribuição no solo.

Registro e comercialização do produto: Itália e Holanda.

Empresa produtora: C.C.S. AOSTA Quart (AO). Frazione Olleyes 9, 11020, Itália (Micosat..., 2018).

OREGONISM XL

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Glomus aggregatum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Pisolithus tinctorius*, *Scleroderma cepa*, *Scleroderma citrinum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus azotoformans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Paenibacillus durum*, *Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas aureofaciens* e *Pseudomonas fluorescens*.

Modo de ação: aumenta a absorção de nutrientes, estimula o sistema radicular e ajuda a planta a resistir ao estresse.

Método de aplicação: pode ser aplicado no tratamento de mudas e estacas, no substrato de plantio e via irrigação.

Registro e comercialização do produto: EUA.

Empresas produtoras: Aurora Innovations. PO Box 22041, Eugene, OR 97402, USA (Oregonism..., 2019).

Trichoderma spp. em mistura com micorrizas e bactérias

AYUSH

Princípio ativo: *Trichoderma viride*, *Pseudomonas fluorescens* e micorrizas.

Doenças e patógenos visados: sigatoka, mal do Panamá, nematoides na cultura da banana, podridão de tubérculos, podridão de raiz, podridão de caule e ferrugem.

Modo de ação: promove crescimento de plantas.

Métodos de aplicação: semeadura: 1 kg/100 kg de vermicomposto e adicionar 19 kg de composto de nim; misturar e manter por uma semana na sombra, em seguida, aplicar na zona radicular dos tubérculos. Para aplicar na zona radicular (via “drench”): 1 kg/200 L de água e adicionar 500 g de nim, 5 kg de composto de amendoim, 1 kg de açúcar mascavo, 3 L de urina de vaca, 5 kg de esterco de vaca. Manter a mistura por 24 horas, misturando por 3 - 4 vezes.

Registro e comercialização do produto: Índia.

Empresa produtora: K. N. Bio Sciences. Índia. <http://www.knbiosciences.com/ayush-agriculture>. Acesso em 08/03/2019.

BACTIVA

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, *Gliocladium virens*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens* e *Ascophyllum nodosum*.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes de solo, como *Pythium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* e *Verticillium* em cultivo de algodão, grãos, cana-de-açúcar, hortaliças e em viveiros florestais.

Modo de ação: *Trichoderma* spp. atua por competição da região da rizosfera, parasitismo e antibiose. As bactérias estimulam o crescimento do sistema radicular pela produção de hormônios e solubilização do fosfato.

Formulação e vida de prateleira: pó-molhável contendo 1% de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride* e *Gliocladium virens*, na concentração de 1×10^8

UFC/g; 2% de *Bacillus polymyxa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* e *Pseudomonas fluorescens*, na concentração de 1×10^8 UFC/g; 10% de *Ascophyllum nodosum*; 20% de ácido fúlvico e 67% de caulim. A vida de prateleira é de 18 meses.

Método de aplicação: pulverização e no sistema de irrigação.

Registro e comercialização do produto: América Central e do Norte e Europa.

Empresa produtora: Tecnologias Naturales Internacional S.A. Av. Tecnológico 709, Col. Cd. Industrial. C.P. 38010 Celaya, Gto. México (Bactiva..., 2018).

BIOCULT MYCORRHIZA WS

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum* e *Scutellospora dipurpurens*.

Uso recomendado: bioestimulante para árvores, videiras, vegetais, cana-de-açúcar e flores.

Modo de ação: promoção de crescimento, competição por espaço e por nutrientes, parasitismo de patógenos e indução de resistência.

Formulação e vida de prateleira: pó para preparação de pasta em água (WS) contendo 10^8 UFC/g. O produto pode ser armazenado em temperatura ambiente por até seis meses e por um ano entre 5 e 10 °C.

Métodos de aplicação: misturar 200 g/10 L de água. Aplicar por meio de irrigação. Aplicação em campo: 200 g/ha. Tratamento de semente: 200 g/ha.

Registro e comercialização do produto: Zâmbia, Malawi, Namíbia e Zimbábue.

Empresa produtora: Biocult, NuLandis. Zâmbia (Biocult..., 2018).

BIOPANTGUARD

Princípio ativo: *Trichoderma* spp., micorrizas, bactérias e produtos fermentados.

Doenças e patógenos visados: *Fusarium*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Botrytis*, *Pythium* e *Rhizoctonia*.

Modo de ação: indução de resistência a patógenos e promoção de crescimento.

Características do agente de controle biológico: contém mistura de micélio de fungo benéficos para as culturas, com base em várias espécies, incluindo *Trichoderma* spp. e enzimas com atividade estimulante, como quitinase, glucanase e xilanase.

Formulação: matriz orgânica contém 3% de matéria vegetal simples não compostada. A este material são incorporados conídios e micélio de *Trichoderma* na concentração de 10^7 UFC/mL; 1 g/L de enzimas; 0,5% de bactérias da rizosfera; 0,5%; 1% de micorriza; 1 L de água e glicerol como conservante.

Métodos de aplicação: é recomendado para o tratamento de sementes, plantas e frutos. O produto pode ser usado na pulverização da parte aérea, imersão de mudas ou sementes para

semeadura ou transplante, misturado com água de irrigação, misturado com solo e substratos para canteiros e viveiros. O produto é compatível com a maioria dos sistemas aplicação de tratamentos fitossanitários ou de fertilização

Registro e comercialização do produto: Itália.

Empresa produtora: S.A.I.P.A.N. srl – via L. Angelloni, 3, 84013 Cava de Tirreni (Sa), Itália (Bioplantguard..., 2018).

CONDOR

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride*, *Glomus* spp. e bactérias da rizosfera.

Doenças e patógenos visados: *Alternaria*, *Armillaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pyrenochaeta*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Xanthomonas*, etc.

Modo de ação: indução de resistência a fitopatógenos.

Características do agente de controle biológico: o produto tem em sua composição fungos micorrízicos e *Trichoderma atroviride*. O isolado de *Trichoderma* coloniza a rizosfera das plantas o que favorece a proteção contra patógenos.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma atroviride* 1×10^9 conídios/g; *Glomus* spp. 10 esporos/g; bactérias da rizosfera 1×10^7 UFC/g e 7% de uma matriz orgânica.

Métodos de aplicação: é recomendado para horticultura, pomares e árvores. É aconselhável realizar os tratamentos com antecedência e repetir 30 a 15 dias (a partir de pré-semeadura ou pré-transplante) e no aparecimento dos primeiros sintomas.

Registro e comercialização do produto: Reino Unido.

Empresa produtora: Italtollina S.p.a. Località Casalmenini, 10, 37010, Rivoli Veronese (VR) Italtollina USA, Inc., 1800 Purdue Pkwy., Anderson, IN 46016 (Condor, 2018).

GREAT WHITE PREMIUM MYCORRHIZE

Princípio ativo: *Trichoderma koningii*, *Trichoderma harzianum*, fungos micorrízicos e bactérias.

Indicação de uso: promotor de crescimento.

Modo de ação: promoção de crescimento de plantas e raízes.

Formulações disponíveis e vida de prateleira: contém os seguintes fungos endomicorrízicos: *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus etunicatum*, *Glomus clarum*, *Glomus monosporum*, *Paraglomus brazilianum*, *Glomus deserticola*, *Gigaspora margarita*; e os seguinte ectomicorrízicos: *Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon luteolus*, *Rhizopogon fulvigleba*, *Rhizopogon villosulus*, *Rhizopogon amylopogon*, *Scleroderma citrinum* e *Scleroderma* sp. Também contém as seguintes bactérias: *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus azotoformans*,

Bacillus megaterium, *Bacillus coagulans*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Paenibacillus durum*, *Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas aureofaciens* e *Pseudomonas fluorescens* na concentração de $5,25 \times 10^5$ UFC/g. Contém *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma koningii* ($1,87 \times 10^5$ UFC/g) e *Trichoderma harzianum* ($1,25 \times 10^5$ UFC/g).

Métodos de aplicação: tratamentos de sementes, estacas, em sistemas hidropônicos e em vasos.

Registro e comercialização do produto: Reino Unido.

Empresa produtora: Plant Success. Reino Unido (Plant Success..., 2018).

MICOSAT F TAB PLUS WP

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum* TH01, *Trichoderma viride* TV03, *Bacillus subtilis* BA41, *Streptomyces* sp. SB19, *Glomus coronatum* GU53, *Glomus caledonium* GM24, *Glomus mosseae* GP11 e *Glomus viscosum* GC 41 e *Rhizophagus irregularis* RI31.

Doenças e patógenos visados: patógenos habitantes do solo, nematoides fitopatogênicos e insetos.

Modo de ação: indução de resistência a bactérias, fungos fitopatogênicos habitantes do solo, insetos e nematoides.

Formulações disponíveis: granulada e pó-molhável.

Métodos de aplicação: aplicado preventivamente. Tratamento de sementes, pulverização foliar e distribuição no solo e fertirrigação. Dose de 2 kg/ha.

Registro e comercialização do produto: Itália e Holanda.

Empresa produtora: C.C.S. AOSTA Quart (AO). Frazione Olleyes 9, 11020, Itália (Micosat..., 2017).

MICOVER GOLD e MICOVER PLUS

Princípio ativo: *Trichoderma harzianum*, *Glomus* spp. e *Pseudomonas* spp.

Doenças e patógenos visados: patógenos de solo (*Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma*, *Sclerotinia*, *Verticillium*, *Armillaria mellea*) em tomate, berinjela, abobrinha, batatas, melão e outras cucurbitáceas, cebola, alho, aipo, ervilhas, manjeriço e outras ervas, flores, gramados, trigo, cevada, milho, árvores frutíferas e ornamentais.

Modo de ação: colonização da rizosfera e promoção do desenvolvimento da raiz proporcionando o aumento de absorção de nutrientes e indução resistência a estresses bióticos e abióticos.

Formulações disponíveis: Micover Gold: microgrânulos contendo *Trichoderma harzianum* $5,0 \times 10^7$ CFU/g, *Glomus* spp. 1,4 propágulos/g, *Pseudomonas* spp. $1,0 \times 10^8$

CFU/g. Micover Plus: Formulado como pó molhável contendo *Glomus* spp. 16,0 propágulos/g, *Trichoderma harzianum* $2,6 \times 10^7$ CFU/g e *Pseudomonas* spp. $1,0 \times 10^8$.

Métodos de aplicação: Micover Gold deve ser aplicado durante a semeadura, transplante ou incorporado ao solo. Micover Plus pode ser aplicado durante a semeadura, transplante ou distribuído como uma solução aquosa para pulverizar, com uma barra de pulverização, no substrato de mudas ou vasos.

Registro e comercialização do produto: Itália.

Empresa produtora: Agrifutur. Itália (Agrifutur, 2019).

NUTRI-LIFE PLATFORM

Princípio ativo: *Trichoderma* spp., *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum*, *Glomus agregado*, *Glomus mosseae*, *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. e *Streptomyces cellulosa*.

Indicação: promoção de crescimento, solubilização e nutrientes e fixação de nitrogênio.

Características do produto: agitação constante é necessária durante a aplicação. Não usar filtros ou bicos finos.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma* na concentração de 2×10^9 UFC/g.

Métodos de aplicação: tratamento de semente: 1 - 1,6 kg/tonelada de semente. Tratamento de mudas: 400 g/100 L de água para mergulhar as mudas. Viveiros: mergulhar as plântulas na suspensão. Também aplicar nos vasos antes do plantio de mudas. Recomendação de 1 kg/m³ de solo. Recomendado para plantas ornamentais, frutíferas, hortaliças, legumes, cereais e outras culturas.

Registro e comercialização do produto: Austrália e África do Sul. Australian Certified Organic (ACO) Registered Farm Input 456AI.

Empresa produtora: Nutri-Tech Solutions P/L (NTS) 7 Harvest Road. Yandina. Queensland 4561, Austrália (Nutri-Life..., 2017a).

TEAM Horto

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride* MUCL45632, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* e bactérias.

Indicação: melhora o desenvolvimento das plantas e aumenta a produção, a qualidade dos frutos e a resistência das culturas às restrições climáticas

Formulação: pastilha contendo $4,5 \times 10^5$ UFC/pastilha; 54 propágulos/pastilha de *Glomus mosseae*; 54 propágulos/pastilha de *Glomus intraradices* com um total de 10^8 propágulos/pastilha e bactérias da rizosfera $4,5 \times 10^5$ UFC/pastilha. Nutrientes: Ntotal=13%; P₂O₅=8%; K₂O=4,5%.

Métodos de aplicação: colocar a pastilha o mais próximo da raiz.

Registro e comercialização do produto: Itália.

Empresa produtora: Italtpollina. Itália (Team..., 2019).

TIFI

Princípio ativo: *Trichoderma atroviride* MUCL45632, *Glomus* spp. e bactérias.

Doenças e patógenos visados: *Armillaria*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Phytophthora* e *Botrytis*.

Modo de ação: competição, parasitismo e promoção de crescimento.

Formulação: pó-molhável contendo *Trichoderma atroviride* MUCL45632 na concentração de 2×10^8 UFC/g, *Glomus* spp. 10 propágulos/g e bactérias da rizosfera na concentração de 0,01%.

Métodos de aplicação: aplicação por contato com a raiz, sementes, mudas e legumes em campo ou cultivo protegido, árvores ornamentais e gramado.

Registro e comercialização do produto: França.

Empresa produtora: Italtpollina France. Les Espaces de Sophia, 80, route des Lucioles, 06560 Valbonne, França (Tifi, 2018).

TNC MICORR (MAX E HIDRO)

Princípio ativo: *Trichoderma* spp., micorrizas e bactérias benéficas.

Modo de ação: promoção de crescimento e indução de resistência.

Formulação: *Trichoderma* spp. (*Trichoderma hamatum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* - $1,3 \times 10^8$ UFC/kg), fungos endomicorrízicos (*Glomus clarum*, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus deserticola*, *Glomus monosporus*, *Glomus brasilianum*, *Glomus aggregatum*, *Gigaspora margareta* - $1,2 \times 10^4$ UFC/kg), fungos ectomicorrízicos (*Rhizopogon amylopogon*, *Rhizopogon fulvigleba*, *Rhizopogon rubescans*, *Rhizopogon villosuli*, *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius*, *Scleroderma* spp. - 5×10^7 esporos/kg e bactérias benéficas (*Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* - $1,2 \times 10^9$ UFC/kg e *Bacillus brevis*, *Bacillus cirulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus halodenitrificans*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus polymyxa* - 7×10^8 UFC/kg).

Métodos de aplicação: no transplante de mudas, tratamento de estacas e sementes e nos casos de plantas de raiz nua aplicar diretamente nas raízes no sulco de plantio.

Registro e comercialização do produto: Reino Unido.

Empresa produtora: The Nutrient Company, Reino Unido (Tnc-micorr..., 2018a, 2018b).

Referências

- AGRIANCE. **Fungicide**. c2014. Disponível em: <<http://www.agriance.com/products/crop-protection/fungicide/>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- AGRIFUTUR: coltiva a vida. Alfianello, It: Agrifutur, [2019]. Disponível em: <<http://www.agrifutur.com/>>. Acesso em: 25 fev. 2019.
- AGRODERMA: we solve innovating. Morelos: Grindag, 2018. Disponível em: <<https://gruindag.com/en/product/agroderma-mexico-2/>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponível em: <http://agrofit.agri cultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 3 mar. 2019.
- ANKOOR: Trichoderma viride biofungicide, [2019]. Disponível em: <<http://www.tendersips.com/products>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- ANNAPURNA: enriched organic manure for all crops. Bangalore: Multiplex Group, [2018]. Disponível em: <<https://www.multiplexgroup.com/produt-details.php?id=120>>. Acesso em: 17 dez. 2018.
- ANOKA: Consortium of Tricho & Pseudomonas. Hyderabad: KN Biosciences, [2018]. Disponível em: <<http://www.knbiosciences.com/anoka-consortium-of-tricho-pseudomonas-agriculture>>. Acesso em: 17 dez. 2018.
- ARGENTINA. Ministerio de Producción y Trabajo. **Formulários web**. Buenos Aires, 2019a. Disponível em: <<https://www.argentina.gob.ar/files/formuladoswebene2019xls>>. Acesso em: 5 mar. 2019.
- ARGENTINA. Ministerio de Producción y Trabajo. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. **Registro nacional de terapéutica vegetal**. Buenos Aires, [2019b]. Disponível em: <<https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/productos-veterinarios-fitosanitarios-y-fertilizantes/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal>>. Acesso em: 5 mar. 2019.
- ARORA, N.; MEHNAZ, S.; BALESTRINI, R. **Bioformulations**: for sustainable agriculture. New Delhi: Springer, 2016. 299 p.
- ASPERELLO T34 BIOCONTROL. Westerlo: Biobest, [2019]. Disponível em: <www.biocontroltech.com; <https://www.biobestgroup.com/fr/biobest/products/lutte-biologique-contre-les-maladies-14869/biofungicides-14875/asperello-t34-biocontrol-16840/>>. Acesso em 3 mar. 2019.
- ASTHA TV (Trichoderma viride). Kolkata: Lila Agrotech, [2019]. Disponível em: <<http://www.lilaagrotech.com/product/astha-tv-trichoderma-viride/>>. Acesso em: 1 mar. 2019.
- BACTIVA. **Celaya**: Tecnologias naturales Internacional, [2018]. Disponível em: <<http://www.bactiva.com/vistas/bactiva.php>>. Acesso em: 17 dez. 2018.
- BERTSCH, C.; RAMÍREZ-SUERO, M.; MAGNIN-ROBERT, M.; LARIGNON, P.; CHONG, J.; ABOU-MANSOUR, E.; SPAGNOLO, A.; CLÉMENT, C.; FONTAINE, F. Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. **Plant Pathology**, v. 62, n. 2, p. 243-265, 2013.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CORRÊA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JUNIOR, T. J.; CORREA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. Bioprotectores comerciais para o controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 17, p. 111-147, 2009.
- BHOOMIKA 1% WP. Hyderabad: Varsha Bioscience and Technology, [2019]. Disponível em: <<http://www.varshabioscience.com/products/biofertilizer-manufacturer.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019
- BINAB. Santiago: Agroconexions, [2018]. Disponível em: <https://www.agroconexion.cl/sites/default/files/Ficha%20tecnica%20Binab-T%20WP%20y%20Peller%20Gr_0.pdf>. Acesso em: 15 set. 2018.
- BIO PLUS-TRICHO (Trichoderma viride). Trivandrum: Deepa Farm Inputs private, [2019]. Disponível em: <<https://www.indiamart.com/proddetail/bio-plus-tricho-trichoderma-viride-10740594848.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- BIO PROTECTOR: Trichoderma viride. Chennai: Mani Dharma Biotech, [2018]. Disponível em: <<http://www.manidharmabiotech.com/bio-control-agents.html#trichoderma-viride>>. Acesso em: 5 dez. 2018.

- BIO VAM. Spokane: T&J Enterprises, [2018]. Disponível em: <<https://tandjenterprises.com/biovam-one-quart-label.htm>>. Acesso em: 5 nov. 2018.
- BIO-CURE. Coimbatore: T. Stanes & Company, [2019]. Disponível em: <<http://www.tstanes.com/products-bio-cure-f.html>>. Acesso em: 3 fev. 2019.
- BIO-IMPILLO: a brownish watery liquid with an earthy smell. Somerset Mall: Agroorganics, [2019]. Disponível em: <<http://www.agro-organics.co.za/bio-impilo/>>. Acesso em: 1 mar. 2019.
- BIO-TRICHO. Cape Town: Agro-organics, [2018]. Disponível em: <<http://www.agro-organics.co.za/bio-tricho/>>. Acesso em: 17 dez. 2018.
- BIOBEN: fungicida biológico. Ciudad de México: Altiaira, [2018]. Disponível em: <<https://altiaira.mx/producto/bioben/>>. Acesso em: 8 set. 2018.
- BIOCULT: Mycorrhiza WS. Somerset West: Biocult, [2018]. Disponível em: <<https://nulandis.com/sites/default/files/downloads/Biocult%20Mycorrhiza%20WS%20-%20Damara%20-%20Zambia.pdf>>. Acesso em: 8 set. 2018.
- BODERMA. Antioquia: Ideas Biologicas, 2017. Disponível em: <<https://www.ideasbiologicas.com/images/pdf/ficha-tecnica-bioderma-controlador-plagas-cultivos.pdf>>. Acesso em: 2 mar. 2019.
- BIOEFFEKT. Belgorod: Biona, [2018]. Disponível em: <<http://bionagroup.ru/pochvennyy/pochvennyy-fungitsid-effekt-bio/>>. Acesso em: 5 nov. 2018.
- BIOFLOWER Trichoderma. Muchamiel: Planeta Huerto, c2019. Disponível em: <https://www.planetahuerto.pt/venda-bioflower-trichoderma_01294>. Acesso em: 24 set. 2018.
- BIOFUNGO. Villavicencio: Orius Biotech, 2017. Disponível em: <<http://www.oriusbiotech.com/documentos/48-biofungo-wp-ficha-tecnica.pdf>>. Acesso em: 29 set. 2018.
- BIOHARZ: Trichoderma harzianum, Effective Control Of Seed & Soil Borne Diseases. Gurugram: International Panaacea, [2018]. Disponível em: <<https://www.iplbiologicals.com/trichoderma-harzianum/>>. Acesso em: 17 set. 2018.
- BIOHIT. Indore: Indore Biotech Inputs and Research, [2019]. Disponível em: <<http://indorebiotech.com/biofungicide-biohit.php>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- BIOPLANTGUARD: prodotto destinato al trattamento di semi, piante, vivai, impianti in pieno campo e sotto serra. Cava de Tirreni: Saipan, [2018]. Disponível em: <http://www.saipansrl.it/wp-content/uploads/2014/07/bioplantguard_tecnica.pdf>. Acesso em: 17 set. 2018.
- BIOPONIC MIX BM. Ávila: Eurogrow, [2019]. Disponível em: <<https://eurogrow.es/ghe-general-hydroponics/664-mezcla-de-microorganismos-ghe-bioponic-25g.html>>. Acesso em: 9 mar. 2019.
- BIOSHIELD. New Delhi: Ambika Biotech, [2019]. Disponível em: <<http://www.esuppliersindia.com/ambika-biotech/bio-shield-trichoderma-viride-pr2302817-sFP-swf.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- BIOSPARK Trichoderma. Laguna: Biospark, [2019]. Disponível em: <<http://www.biosparkph.com/annual-product-revenue-goal>>. Acesso em: 6 mar. 2019.
- BIOAGREEN: probiotic for golf courses. Deerfield Beach: Custom Biologicals, 2013. Disponível em: <<http://living-soils.com/biota-green-probiotic-for-golf-greens/>>. Acesso em: 25 fev. 2019.
- BIO TAM: biorational fungicide. Morrisville: Isagro, [2018]. Disponível em: <<http://www.isagro-usa.com/bio-tam.html>>. Acesso em: set. 2018.
- BIO TECH INTERNATIONAL. Biofungicides. Disponível em: <<https://www.biotech-int.com/biofungicides.html>>. Acesso em: 7 fev. 2018.
- BIOTEN: Agrofarmaco biologico per la prevenzione delle malattie fungine del terreno che attaccano i tappeti erbosi. Treviso: ICL, 2015. Disponível em: <https://landscaperpro.it/wp-content/uploads/2016/05/2015-TU-Bioten_16.pdf>. Acesso: 17 set. 2018.
- BIOTRICO-H: Trichoderma harzianum: fungicida biológico, polvo humectante. El Rancito: Sagana Agrobiológicos, [2018]. Disponível em: <<http://saganaagrobiologicos.com/productos/>>. Acesso em: 17 set. 2018.
- BIOZERA: promotor de crecimiento, biofertilizante y biofungicida. Cochabamba: Biotop, [2018]. Disponível em: <<http://www.biotopbolivia.org/bt/index.php/en/biozera>>. Acesso em: 17 dez. 2018.

- BISSETT, J.; GAMNS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. Accepted Trichoderma names in the year 2015. *IMA Fungus*, v. 6, p. 263-295, 2015.
- BLINDER: ficha técnica. Medellín: Mycos International, 2016. Disponível em: <http://www.quimicosoma.com/archivos/FT_BLIN- DER_SC.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2019.
- BOLÍVIA. Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras. Serviço Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidade Alimentaria. *El gran Paitití*. [c2011]. Disponível em: <<http://190.129.48.189/egg/productosAgroquimicos.html>>. Acesso em: 15 nov. 2018.
- CHILE. Ministerio de Agricultura. Servicio Agrícola y Ganadero. *Lista de plaguicidas com autorización vigente*. Santiago, 2019. Disponível em: <www.sag.gob.cl/content/lista-de-plaguicidas-autorizados-0>. Acesso em: 27 fev. 2019.
- CHINABIOWORKS: Trichoderma harzianum: biological fungicide. Beijing: CowayBio, [2018]. Disponível em: <http://www.china-bioworks.com/en/index.php?optionid=994&auto_id=109>. Acesso em: 22 nov. 2018.
- COIMBATORE: Trichoderme viride antagonistic fungus. Ooty: GreenMax Agrotech, [2018]. Disponível em: <<http://www.greenmaxagrotech.com/trichoderma-viride.html>>. Acesso em: 3 dez. 2018.
- COMMANDER: biofungicide (Trichoderma harzianum) 1.0 WP. Índia: H. T. C. Impex Private, [2019]. Disponível em: <<https://www.indiamart.com/proddetail/bio-fungicide-2562795488.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- COMPETE-PLUS: rhizosphere inoculant. Oisterwijk: Plant Health Cure, 2018. Disponível em: <https://phc.eu/en/products/amfileringat/file/download/file_id/97>. Acesso em: 20 set. 2018.
- CONDOR: micronized powder - Trichoderma atroviride. Rivoli Veronese: Italtollina, [2018]. Disponível em: <<https://italpollina.com/INT/products/beneficial-microbials/condor-88.html>>. Acesso em: 20 set. 2018.
- CONTEGO TR: plant protection & Nutrition, 2013. Disponível em: <http://www.biosolutions.co.nz/uploads/2/1/4/8/21483126/contegotrlabela5_print.pdf>. Acesso em: 26 out. 2018.
- CUSTOM. Deerfield Beach: Custom Biologicals, [2018]. Disponível em: <<http://living-soils.com/>>. Acesso em: 15 dez. 2018.
- ECO-77: aerial biofungicide. KwaZulu-Natal: Plant Health products, [2018]. Disponível em: <<https://plant-health.co.za/eco-77-t77/>>. Acesso em: 17 dez. 2018.
- ECO-T: biofungicide and biostimulant. KwaZulu-Natal: Plant Health products, [2018]. Disponível em: <<https://plant-health.co.za/eco-t/>>. Acesso em: 22 nov. 2018.
- ECODERMA: Trichoderma viride. Bangalore, Margo, [2019]. Disponível em: <<http://www.pjmargo.com/?product=ecoderma>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- ECOGOLD TRICHA. Mumbai: Metro Exporters PVT, [2019]. Disponível em: <http://www.metroexporters.com/images/pdf/Metro_Exporters_Ecogold.pdf>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- ECOHOPE: agricultural chemicals. Tokyo: Kumiai, [2019]. Disponível em: <<https://www.kumiai-chem.co.jp/english/products/index.html>>. Acesso em: 16 fev. 2019.
- ECOSOM TH. Hyderabad: Agrilife, [2019]. Disponível em: <<https://www.kisanestore.com/agrilife-ecosom-th-1kg>>. Acesso em: 7 mar. 2019.
- EMRALD: biofertilizer. Chennai: Emrad Bio, [2019]. Disponível em: <<http://www.emrald-bio.com/en/products/>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- ENPRO-DERMA: biopesticide. Nashik: Enpro Bio Sciences, [2018]. Disponível em: <<https://www.indiamart.com/proddetail/enpro-derma-trichoderma-viride-bio-control-agent-1242362797.html>>. Acesso em: 3 dez. 2018.
- ESQUIVE WP. Beaucoüzé: Agrauxine, [2018]. Disponível em: <<https://www.agrauxine.com/en/biocontrol/esquive-wp/>>. Acesso em: 21 set. 2018.
- EXCALIBUR: micro encapsulated inoculant. Van Wert: Advanced Biological Marketing, [2018]. Disponível em: <<http://www.abm1st.com/wp-content/uploads/bsk-pdf-manager/2018/01/Excalibur-Gold-PB-4x7-Pouch-Label.pdf>>. Acesso em: 21 set. 2018.
- FERTIMAX (Trichoderma viride / Trichoderma harzianum). Gujarat: Skymax Crop Science, [2019]. Disponível em: <<https://in90068288.fm.alibaba.com/product/118836625-103193357/FERTIMAX.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

- FITOTRIPEN: agente microbial antagonista de fitopatógenos: polvo mojable. La Ceja: Natural Control, [2019]. Disponível em: <<https://naturalcontrol.com.co/wp-content/uploads/2015/10/ficha-tecnica-fitotripen.pdf>>. Acesso em: 28 fev. 2019.
- FRACETO, L. F.; MARUYAMA, C. R.; GUILGER, M.; MISHRA, S.; KESWANI, C.; SINGH, H. B.; LIMA, R. *Trichoderma harzianum*-based novel formulations: potential applications for management of next-gen agricultural challenges. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 93, p. 2056-2063, 2018.
- FRAGATA: fungicida biológico: polvo humectable. Chihuahua: Química Agronómica de Mexico, 2016. Disponível em: <<http://www.qam.com.mx/site2/index.php/product/fragata/>>. Acesso em: set. 2018.
- FUNGISTOP. [Belgorod: Biona, 2018]. Disponível em: <<http://bionagroup.ru/plants/biofun/biologicheskij-fungitsid-fungistop/>>. Acesso em 7 dez. 2018.
- GLIOCLADIN SK. Moscou: Agrobiotecnologia LLC, [2018a]. Disponível em: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/gliocladin-sk-5-l.html>>. Acesso em: 21 out. 2018.
- GLIOCLADIN SP. Moscou: Agrobiotecnologia LLC, [2018b]. Disponível em: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/gliocladin-sp-60-g.html>>. Acesso em: 21 out. 2018.
- GLIOCLADIN TAB. Moscou: Agrobiotecnologia LLC, [2018c]. Disponível em: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/gliocladin-tab-100-tab.html>>. Acesso em: 21 out. 2018.
- GROW-BOOST. Halstead: Fragonfli, [2019]. Disponível em: <<https://www.harrodhorticultural.com/grow-boost-organic-plant-strengthen-erp8451.html#product-tabs>>. Acesso em: 6 mar. 2019.
- HARZINA GOLD. West bengal: Super Agro, [2019]. Disponível em: <<https://www.indiamart.com/proddetail/harzina-gold-1987558073.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- HARZTOP. Los Canteros: Biogram, 2014. Disponível em: <<http://www.chemiesa.com/wp-content/uploads/2015/04/Ficha-Tecnica-Harztop.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2019.
- HASIRU FRESH. Chikmagalore: Hasiru Organics, [2019a]. Disponível em: <<http://hasiruorganics.com/hasiru-fresh-trichoderma-har-zianum-2/>>. Acesso em: 3 mar. 2019.
- HASIRU LIQUID. Chikmagalore: Hasiru Organics, [2019b]. Disponível em: <<http://hasiruorganics.com/hasiru-liquid-trichoderma/>>. Acesso em: 1 mar. 2019.
- ICB NUTRISOLO TRICHODERMA. Porto Alegre: ICB Bioagritec, [2019]. Disponível em: <<http://www.icb.bio.br/icb-nutrisolo-trichoderma/>>. Acesso em: 9 mar. 2019.
- INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. **Productos registrados bioinsumos**: diciembre 30 de 2018. Disponível em: <<https://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dccc8132/productos-bioinsumos-mayo-13-de-2008.aspx>>. Acesso em: 1 mar. 2019.
- KIWIVAX: reduces psa-V symptoms in kiwifruit vines by increasing resistance to disease. Lincoln: Agrimm, 2017. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Kiwivax-Label-1kg-with-registration-1.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.
- KRISHIBIO NIDAN. Indore: Krishi Bio Products and Research, [2018]. Disponível em: <http://krishibio.com/?page_id=352>. Acesso em: 7 dez. 2018.
- LABRADOR: trichoderma harzianum 1.40% PH. Torreón: Agroquímicos Versa, [2018]. Disponível em: <https://www.terralia.com/agroquimicos_de_mexico/view_trademark?trademark_id=10616>. Acesso em: set. 2018.
- LETTUCEMATE WP: rootzone drench. Lincoln: Agrimm, c2016. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Lettuce-mate-Label-200g.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.
- MAZAO SUSTAIN. Thika: Real IPM, [2019]. Disponível em: <<https://realipm.com/products/real-trichoderma-bio-fertiliser/>>. Acesso em: 2 mar. 2019.
- MICOSAT F TAB PLUS WP. Quart: CCS Aosta, 2017. Disponível em: <http://www.micosat.it/wp-content/uploads/2016/12/21_SC_TC_MICOSAT-F-TAB-PLUS-WP-CONV_10-11-14.pdf>. Acesso em: 22 set. 2018.
- MICOSAT F. Quart: CCS Aosta, [2018]. Disponível em: <http://www.micosat.it/wp-content/uploads/2016/12/21_SC_TC_MICOSAT-F-TAB-PLUS-WP-CONV_10-11-14.pdf>. Acesso em: 22 set. 2018.

- MONITOR WATER SOLUBLE. Baroda: Agriland Biotech, 2016. Disponível em: <<http://www.agrilandbiotech.in/products/biological-fungicides/1>>. Acesso em: 7 dez. 2018.
- NAGAYAMA, K.; WATANABE, S.; KUMAKURA, K.; ICHIKAWA, T.; MAKINO, T. Development and commercialization of *Trichoderma asperellum* SKT-1 (Ecohope®), a microbial pesticide. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, n. 2, p. 141-142, 2007.
- NATUCONTROL: fungicida biológico. Las Fuentes: Biokrone, [2019]. Disponível em: <<http://www.biokrone.com/natucontrol.php>>. Acesso em: 25 fev. 2019.
- NICODERMA: *Trichoderma viride* 1% w.p. Dakor: Nico Orgo manures, 2015. Disponível em: <<http://www.neemnico.com/product/nicoderma-trichoderma-1-w-p/>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- NISARGA: *Trichoderma viride* 1% w.p. Bangalore: Multiplex Group, [2019]. Disponível em: <<http://www.multiplexgroup.com/product/nisarga/>>. Acesso em: 1 mar. 2019.
- NUTRI-LIFE PLATFORM. Yandina: Nutri-Tech Solutions, 2017a. Disponível em: <<http://www.nutri-tech.com.au/factsheets/platform.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2018.
- NUTRI-LIFE TRICHO_SHIELDTM. Yandina: Nutri-Tech Solutions, 2017b. Disponível em: <<http://www.nutri-tech.com.au/factsheets/tricho-shield.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2018.
- OREGONISM XL. Eugene: Aurora Innovations, [2019]. Disponível em: <<http://aurorainnovations.com/oregonism-xl.html>>. Acesso em: 7 mar. 2019.
- ORGAMICA F. Kazan: Bionovatic, [2018]. Disponível em: <<http://www.bionovatic.ru/products/biofungitsidy/orgamica-f/>>. Acesso em: 21 out. 2018.
- ORGANIT STERN. Kazan: Bionovatic, [2018]. Disponível em: <<http://www.bionovatic.ru/products/produkty-vosstanovleniya-pochvy/organit-stern/>>. Acesso em: 21 out. 2018.
- ORTUÑO, N.; NAVIA, O.; MENECEs, E.; BARJA, D.; VILLCA, S.; PLATA, G.; CLAROS, M.; GUTIÉRREZ, C.; ARANDIA, W.; CRESPO, L. **Catálogo de bioinsumos**. Quillacollo: Fundación Proinpa, [2011]. Disponível em: <<https://www.proinpa.org/tic/pdf/Bioinsumos/Varios%20Bioinsumos/Catalogo%20de%20bioinsumos.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2019.
- PARAGUAI. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Servicio Nacional de Calidad y Sanidad vegetal. **Prod_Agro. Asuncion**, [2019]. Disponível em: <http://secure.senave.gov.py:8443/registros/servlet/prod_agro>. Acesso em: 2 mar. 2019.
- PAULITZ, T. C.; BÉLANGER, R. R. Biological control in greenhouse systems. **Annual Review of Phytopathology**. v. 39, p. 103-133, 2001.
- PEAK TRICO-H: *Trichoderma Harzianum* (Liquid bio-fungicide). West Bengal: Peak Group, [2019b]. Disponível em: <http://peakgroupindia.com/products/trico_h.html>. Acesso em: 8 de mar. 2019.
- PEAK TRICO: *Trichoderma viride* (liquid bio-fungicide). West Bengal: Peak Group, [2019a]. Disponível em: <<http://peakgroupindia.com/products/trico.html>>. Acesso em: 8 de mar. 2019.
- PERU. Ministerio de Agricultura. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. **Consultas del registro de plaguicidas**. Lima, [2019]. Disponível em: <https://servicios.senasa.gob.pe/SIGIAWeb/sigia_consulta_producto.html>. Acesso em: 5 mar. 2019.
- PHC. Ciudad de México: Plant Health Care de México, [2018]. Disponível em: <<http://www.phcmexico.com.mx/phcbiopesticidas.html>>. Acesso em: 25 set. 2018.
- PLANT HELPER. Fresno: AmPac Biotech, [2018]. Disponível em: <<http://www.ampacbiotech.net/>>. Acesso em: 22 set. 2018.
- PLANT SUCCESS. Reino Unido: Plant Success, [2018]. Disponível em: <https://www.plant-success.com/wp-content/uploads/Plant_Success-How_To_Use.pdf>. Acesso em: 22 set. 2018.
- PLANT-BOOST: *Trichoderma harzianum*. Halstead: Dragonfli, 2019. Disponível em: <<https://www.dragonfli.co.uk/products/plant-boost-trichoderma-harzianum>>. Acesso em: 6 mar. 2019.
- PLANTMATE FOLIAR PLANTZONE BUSTER WP. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp-content/uploads/Plantmate-Foliar-500g-11494.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

- PLANTMATE GRANULAR: rootzone starter granule. Lincoln: Agrimm, 2014. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Plantmate-Granular-25kg.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.
- POABS green power guard. Tiruvalla: Poabs Biotech, [2019]. Disponível em: <<http://poabsbiotech.com/soilguard.html>>. Acesso em 08/03/2019.
- PRABHA DERMA: Trichoderme viride 1.0% WP. Karnal: Prabhat, [2019]. Disponível em: <<http://www.prabhatagri.com/product/2018-05-04-12-28-49/prabha-derma>>. Acesso em: 1 mar. 2019.
- PRESTOP: biological fungicide. [Espoo: Verdera, 2007.] Disponível em: <http://verdera.fi/index.php/download_file/313/>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- PRQECTOR: agente microbiano para control de enfermedades: polvo mojable de uso agrícola. Palmira: Bio_Crop, 2011. Disponível em: <http://bio-crop.com/wp-content/uploads/2016/06/PROTECTOR-Ficha_Tecnica-BIO-CROP.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2019.
- RADIX: agrofármaco biológico contro i funghi del terreno. Saronno: Certis, [2012]. Disponível em: <https://www.certiseurope.it/uploads/media/RADIX_2012.pdf>. Acesso em: 22 set. 2018.
- REMEDIER: eco-friendly solution against soil-borne diseases Milan: Isagro, 2017. Disponível em: <<https://www.isagro.com/static/upload/31-31-remedier.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- RIZODERMA: líquido (AL): bio-contorlador fúngico. Buenos Aires: Microbiologia Agrícola, 2016. Disponível em: <https://www.rizobacter.com/sites/default/files/2018-10/38004-rizoderma-trigo-y-soja-marbete_0.pdf>. Acesso em 15 nov. 2018.
- ROOT GUARDIAN. Lawrenceburg: Garden Alive, 2019. Disponível em: <www.gardensalive.com>. Acesso em: 9 mar. 2019.
- ROOTGARD SP. Nairobi: Juano SPS, 2019. Disponível em: <<http://shambaza.com/listing/rootgard-sp.html>>. Nulandis. <https://nulandis.com/product/bioculc-rootguard>. Acesso em: 26 fev. 2019.
- ROOTSHIELD AG. Victor, NY: Bioworks, [2018a]. Disponível em: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-ag.php>>. Acesso em: 25 set. 2018.
- ROOTSHIELD GRANULES. Victor, NY: Bioworks, [2018b]. Disponível em: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-granules.php>>. Acesso em: 25 set. 2018.
- ROOTSHIELD WP. Victor, NY: Bioworks, [2018c]. Disponível em: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-wp.php>>. Acesso em: 25 set. 2018.
- ROOTSHIELD-PLUS GRANULES. Victor, NY: Bioworks, [2018a]. Disponível em: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-plus-granules.php>>. Acesso em: 25 set. 2018.
- ROOTSHIELD-PLUS WP. Victor, NY: Bioworks, [2018b]. Disponível em: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-plus-granules.php>>. Acesso em: 25 set. 2018.
- SAFERSOIL WP. Medellín: Safer Agrobiológicos, [2019]. Disponível em: <<http://safer.com.co/wp-content/uploads/2017/05/FT-Safersoil-WP.pdf>>. Acesso em: 28 fev. 2019.
- SANJEEVNI: Trichoderma viride. Gurugram: International Panaacea, [2018]. Disponível em: <<https://www.iplbiologicals.com/trichoderma-viride-2/#>>. Acesso em: 5 dez. 2018.
- SARDAR ECO GREEN. Vadodara: Gujrat State Fertilizers & Chemicals, [2018]. Disponível em: <https://www.gsfclimited.com/sardar_eco_green.asp?mnuid=3>. Acesso em 25 de set. 2018.
- SENTINEL BIO-FUNGICIDE: natural Botrytis bio-fungicide WP. Lincoln: Agrimm, 1997. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Sentinel-200g.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.
- SHAKTI AG. Kolkata: Nivshakti Bioenergy Pvt, 2019. Disponível em: <<http://www.shaktibiotech.in/shakti-ag/>>. Acesso em: 8 mar. 2019.
- SOILGARD MICROBIAL FUNGICIDE. Guilford Road: Certis USA, [2019]. Disponível em: <http://certisusa.com/pest_management_products/biofungicides/soilgard_12g_microbial_fungicide.htm>. Acesso em: 5 mar. 2019.
- STERNIFAG: Trichoderma harzianum VKM F-4099D. Moscow: Agrobiotechnology LLC, [2018]. Disponível em: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/sternifag-sp-400-g.html>>. Acesso em: 17 out. 2018.

SUBTITRICO: bacteria y hongo fungicida. Morelia: Biotecnología Agroindustrial, [2019]. Disponível em: <<http://www.btagroindustrial.com/subtricho.html>>. Acesso em: 25 fev. 2019.

T-22-HC: root disease control: biological fungicide. Victor, NY: Bioworks, [2018]. Disponível em: <<http://www.bioworksin.com/products/ag/t-22.php>>. Acesso em: 25 set. 2018.

T34 BIOCONTROL. Madrid: biocontrol Technologies, [2019]. Disponível em: <http://biocontroltech.com/wp-content/uploads/2018/10/t34_IBMA_pdf.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2019.

T34 BIOCONTROL. Santarém: IQV Agro Portugal, [2017]. Disponível em: <<http://iqvagro.pt/itech/T34%20BIOCONTROL.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

TAC-I-BETA: bactericida/fungicida biológico polvo mojable (WP). Santiago: Avance Biotechnologies, [2017]. Disponível em: <https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/3_tac_i_beta_02-01-2018.pdf>. Acesso em: 1 mar. 2019.

TEAM HORTO. Rivoli Veronese: Itapollina, [2019]. Disponível em: <<https://italpollina.com/FR/products/micro-organismes/team-micoriza-plus-193.html>>. Acesso em: 12 mar. 2019.

TENET BIO-FUNGICIDADE GRANULE. Lincoln: Agrimm, 2013. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp-content/uploads/Tenet-Label.pdf>>. Acesso em: 14 fev. 2019.

TENET-WP. Morrisville: Isagro, 2018. Disponível em: <<http://www.isagro-usa.com/assets/tenet-wp-label.pdf>>. Acesso em: 5 mar. 2019.

TIFI. RIVOLI VERONESE: Itapollina, [2018]. Disponível em: <<https://italpollina.com/FR/products/micro-organismes/tifi-175.html>>. Acesso em: 23 set. 2018.

TIFI-POLVO: fungicida biológico polvo mojable (WP). Tarragona: Agrotecnologías Naturales, [2018]. Disponível em: <http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/resol_mod_uso_tifi_polvo_bioquimica_de_productos_naturales_ltda.__anexo_etiqueta.pdf>. Acesso em 15 fev. 2019.

TNC-MICORR HYDRO. ROCHDALE: The Nutrient Company, [2018a]. Disponível em: <<https://www.thenutrientcompany.com/product/tnc-mycorrhhydro/>>. Acesso em: 23 set. 2018.

TNC-MICORR MAX. Rochdale: The Nutrient Company, [2018b]. Disponível em: <<https://www.thenutrientcompany.com/product/tnc-mycormmax/>>. Acesso em: 23 set. 2018.

TRI-CURE WP: biological fungicide. Delmas: MBFi, [2016]. Disponível em: <<http://www.mbf.co.za/productfiles/downloads/Tri-Cure-WP/MSDS-For-Bio-chem-Tri-Cure-WP.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2018.

TRIANUM. The Netherlands: Koppert B. V., [2018]. Disponível em: <<https://www.koppert.com/products/products-pests-diseases/trianum-g/>>. Acesso em: 23 set. 2018.

TRIBIOL WP. La Granja Chinchina, Bioprotección, [2019]. Disponível em: <<https://agroactivocol.com/producto/trichoderma-tribiol/>>. Acesso em: 26 fev. 2019.

TRICAF: Trichoderma harzianum controlador biológico. Lima: Agroindustrial Limsa, [2017]. Disponível em: <<http://www.limsa.pe/Productos-Agricolas/TRICAF-Trichoderma-harzianum>>. Acesso em: 26 fev. 2019.

TRICH-A-SOIL. Turrella: Organic Crop Protectants Pty, [2012]. Disponível em: <http://ocp.com.au/wpcontent/uploads/2014/07/OCP114_Trich+A+Soil+label_Back_FA.pdf>. Acesso em: 08/03/2019.

TRICHO-GUARD. Pune: Ajay Bio-Tech, [2019]. Disponível em: <http://www.ajaybio.in/Ajaysite/product_biopesticides.html>. Acesso em: 1 mar. 2019.

TRICHO-SHIELD COMBAT. Pune: Kan Biosys, [2018]. Disponível em: <<http://kanbiosys.com/pest-and-disease-management>>. Acesso em: 7 dez. 2018.

TRICHOBIO: biofungicida y promotr de enraizamiento. Santa Cruz, Bolívia: Biosae, [2018]. Disponível em: <<https://biosae.com.bo/productos/Trichoderma#lg=1&slide=0>>. Acesso em: 24 set. 2018.

TRICHOD WP. Villavicencio: Orius Biotech, [2017]. Disponível em: <http://www.oriusbiotech.com/documentos/Ttricho-d-ficha_tecnica.pdf>. Acesso em: set. 2018.

TRICHODERMA BIO-FUNGICIDE. Gondia: Ruchi, [2018]. Disponível em: <<http://www.ruchibiochem.com/trichoderma-viride-fungicide.htm>>. Acesso em: 7 dez. 2018.

TRICHODERMA-PASTA: fungicida biológico. Colina: ITAS, [2014]. Disponível em: <<http://itas.cl/wp/wp-content/uploads/2014/06/Trichoderma-Pasta-final.pdf>>. Acesso em: 26 fev. 2019.

TRICHODERMA-SUSPENSION: fungicida natural. Colina: ITAS, [2014]. Disponível em: <<http://itas.cl/wp/wp-content/uploads/2014/06/Trichoderma-Suspension-final.pdf>>. Acesso em: 26 fev. 2019.

TRICHODRY NURSERY. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Trichodry-Nursery-25kg-label.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

TRICHOFLOW NURSERY. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Trichoflow-Nursery-500g-portrait.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

TRICHOGEL GL. Chinchiná: Soluciones Microbianas del Tropicó, [2019]. Disponível em: <<https://www.coursehero.com/file/31855642/FICHA-T%C3%89CNICA-TRICHOGEL-GLpdf/>>. Acesso em: 1 mar. 2019.

TRICHOGOLD BIOPESTICIDE. Vijayawada: Agrigold Organics, [2019]. Disponível em: <<https://www.indiamart.com/proddetail/trichogold-biopesticides-2214326097.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

TRICHOHAR WP: fungicida agrícola. Lima: Grupo Andina, [2019]. Disponível em: <<http://www.grupoandina.com.pe/en/productos/trichohar/>>. Acesso em: 2 mar. 2019.

TRICHOINPRO WP. Villavicencio: Inproarroz, 2019. Disponível em: <<http://www.inproarroz.com/seccion.php?s=portafolio&idcat=1>>. Acesso em: 22 fev. 2019.

TRICHOLIFE: *Trichoderma viride*. Baroda: Gujarat Life Sciences, 2018. Acesso em: 2 mar. 2019. Disponível em: <<http://www.glsbiotech.com/productdetails.aspx?id=12&rflg=2>>. Acesso em: 25 set. 2018.

TRICHOMAX. Trujillo: Solagro, [2018]. Disponível em: <<https://solagro.com.pe/wp-content/uploads/2018/04/1-FT-TRICHOMAX-SENASA.pdf>>. Acesso em: 6 mar. 2019.

TRICHOPEL NURSERY FIELD. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Agrimm-Trichopel-Nursery-Field-2kg.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

TRICHOPLUS JCO. Barreiras: JCO fertilizantes, [2019]. Disponível em: <<http://jcofertilizantes.com.br/produtos/trichoplus/>>. Acesso em: 9 mar. 2019.

TRICHOPLUS. Durban: BASF South Africa, [2018]. Disponível em: <<https://www.agro.basf.co.za/af/Produkte/Overview/TrichoPlus%C2%AE.html>>. África do Sul>. Acesso em: 15 dez. 2018.

TRICHOR: fungicida microbial. Chilchota: Biologa Agriculture For Health, [2019]. Disponível em: <<http://www.biologa.mx/bio/trichor/>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

TRICHORICH. *Trichoderma viride* 1,00% w.p. Hyderabad: Prathibha Biotech, [2019]. Disponível em: <<http://prathibhabiotech.com/bio-fungicides/>>. Acesso em: 9 mar. 2019.

TRICHOSIL: hongo fungicida. Lima: Silvestre Protección Vegetal, [2014]. Disponível em: <http://www.silvestre.com.pe/site/images/Fichas_Tecnicas/FT_TRICHOSIL_50_WP_06.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2019.

TRICHOSOIL. Montevidéu: Lage y Cia, [2018]. Disponível em: <<http://www.lageycia.com/pt/producto.php/32>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

TRICHOSTAR. Kolkata: Super Agro Pvt, [2019]. Disponível em: <<https://www.indiamart.com/proddetail/trichostar-1987557497.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

TRICHOSYM. Commune de Mejjat: Éléphant Vert Maroc, [2018]. Disponível em: http://www.agrimaroc.ma/wp-content/uploads/Fiches_techniques_ELEPHANT_VERT.pdf. Acesso em: 26 out. 2018.

TRICHOTEC WP. Naivasha: Dudutech, [2019]. Disponível em: <http://www.dudutech.com/wp-content/uploads/sites/2/2014/04/WEB_2016-TRICHOTECH_A4-Product-flyer-General.pdf>. Acesso em: 21 fev. 2019.

TRICHOTROPICO WP. Chinchiná: Soluciones Microbianas del Tropicó, [2013]. Disponível em: <http://smdeltropico.com/fichas-tecnicas/FICHA_TECNICA_TRICHOTROPICO.pdf>. Acesso em: 1 mar. 2019.

TRICOBAL: promotor de crecimiento, biofertilizante y biofungicida. Cochabamba: Biotop, [2019]. Disponível em: <<http://www.biotopbolivia.org/bt/index.php/en/biofungicida>>. Acesso em: 26 fev. 2019.

TRICODAMP. Santa Cruz, Bolívia: Probiotec, [2019]. Acesso em: 2 mar. 2019. Disponível em: <<http://www.probiotec.org/index.php/tricodamp>>. Acesso em: 9 mar. 2019.

TRICONE V. Coimbatore: Neuscire Biolab, [2019]. Disponível em: <<https://www.indiamart.com/prakriti-biotechthiruvananthapuram/plant-growth-promoters.html>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

TRICORR. Rochdale: The Nutrient Company, [2018]. Disponível em: <<https://www.thenutrientcompany.com/product/tnc-tricorrp5/>>. Acesso em: 23 set. 2018.

TRICOTOP: biofungicida y promotor de crecimiento. Cochabamba: Biotop, 2012. Disponível em: <https://www.proinpa.org/tic/pdf/Bioinsumos/Biofungicida/Tricotop_volante.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2019.

TRICOX. Ventura: JH Biotech, 2011. Disponível em: <http://www.silvestre.com.pe/site/images/Hojas_de_Seguridad/TRICOXHS_JH_BIOTECH.pdf>. Acesso em: 1 mar. 2019.

TRIECO: Trichoderma viride: bio-fungicide. Mumbai: Ecosense, [2019]. Disponível em: <<http://www.eecosense.com/about.html>>. Índia. Acesso em: 1 mar. 2019.

TRIFESOL. Ibagué: Biocultivos, [2019]. Disponível em: <<https://www.biocultivos.com.co/producto-trifisol/>>. Acesso em: 1 mar. 2019.

TRIHOTCIN SP. Moscow: Agrobiotecnologia LLC, [2018]. Disponível em: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/trihotcin-sp-30-g.html>>. Acesso em: 17 out. 2018.

TRIKHODERMIN. Nizhny Novgorod: Biobauer, [2018]. Disponível em: <<http://www.biobauer.ru/trikhodermin>>. Acesso em: 17 out. 2018.

TRIXOCZIN SP. Moscow: Agrobiotecnologia LLC, [2018]. Disponível em: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/trioxozin-sp.html>>. Acesso em: 17 out. 2018.

TROMBO WP: inoculante biológico para compostaje. Palmira: Bio-Crop, 2011. Disponível em: <<http://bio-crop.com/wp-content/uploads/2016/06/TROMBO-Ficha-Tecnica-BIO-CROP.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2019.

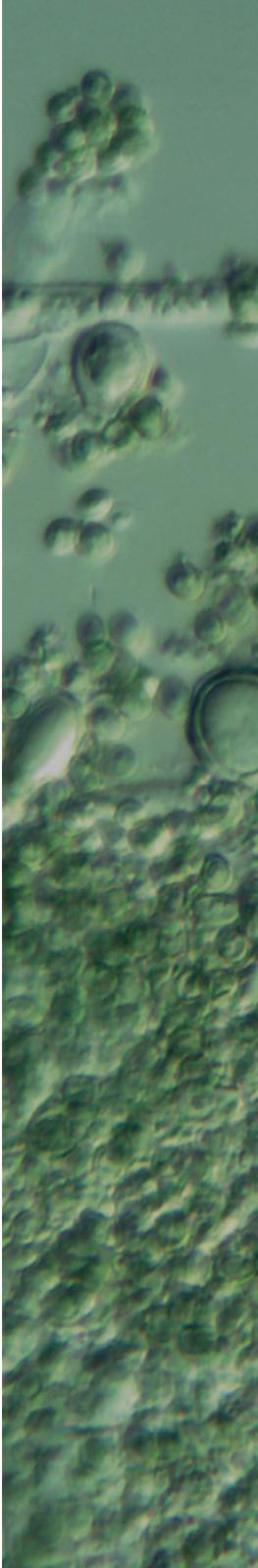
TUSAL WP. Sevilla: New BioTechnic, [2018]. Disponível em: <<http://nbt.es/product/tusal/>>. Acesso em: 24 set. 2018.

UNITE NATURAL PROTECTANT BIO-FUNGICIDE WP. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Agrimm-Unite-1.5kg-2015.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

VINEVAX: wound dressing. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponível em: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Agrimm-Vinevax-PWD-100g.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, M.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. Trichoderma-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.

YASH DERMA. Allahabad: Yash Krishi Takniki Evam Vigyan Kendra, 2018. Disponível em: <<http://www.yashkrishi.com/yash-derma>>. Acesso em: 25 set. 2018.



PARTE II
TAXONOMIA E FISILOGIA

O gênero *Trichoderma*

Lucas Magalhães de Abreu
Ludwig Heinrich Pfënnig

O que é *Trichoderma*?

Para quem estuda fungos habitantes do solo, tanto em regiões de clima temperado como de clima tropical, é fácil encontrar representantes do gênero *Trichoderma* associados à fração orgânica e à rizosfera das plantas. Madeira em decomposição e fungos formadores de corpos de frutificação macroscópicos, como cogumelos e orelhas-de-pau, também são substratos comumente colonizados por *Trichoderma*. Desde a consolidação do conceito do gênero *Trichoderma*, no início do século 20, até o final da década de 1960, a única espécie reconhecida era *T. viride* (Samuels, 2006). Esse nome remete à característica marcante de produção de colônias com micélio branco e crescimento rápido, recobertas por massas de conídios de coloração verde, fenótipo que permite o fácil reconhecimento de *Trichoderma* tanto em placas de Petri como em substrato natural (Figura 1).

Trichoderma pertence à classe Sordariomycetes do filo Ascomycota e, portanto, nas espécies onde a fase sexuada é conhecida, esta é caracterizada pela formação de corpos de frutificação do tipo peritécio, formados em estromas de coloração verde, amarelada, creme ou marrom, produzidos sobre o substrato colonizado. Nos peritécios são formados ascos cilíndricos contendo oito ascósporos bicelulares, que se fragmentam em 16 esporos esverdeados ou hialinos (Jaklitsch, 2009). Na fase assexuada, são formados, a partir do micélio vegetativo, conidióforos com um eixo central e ramificações laterais, que terminam em espirais divergentes de células conidiogênicas do tipo fiálide, com formato de garrafa ou alongadas. Na ponta das fiáldes são produzidos os típicos conídios unicelulares, esféricos, ovais ou alongados, de cor verde na maior parte das espécies. Os conidióforos são comumente agregados em pústulas ou

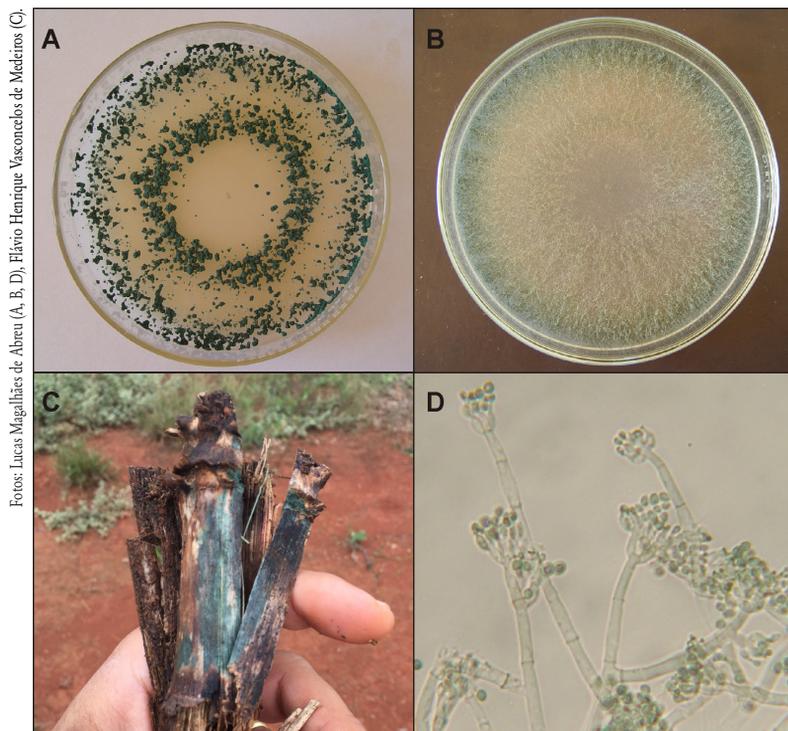


Figura 1. Morfologia típica de *Trichoderma*: a, b. Colônias de *Trichoderma* em meio de cultura; c. *Trichoderma* em substrato natural; d. Conidióforo com fíalides peniciladas e conídios de *T. virens*.

‘tufos’ espalhados pela colônia. Bonitas fotografias, em alta resolução, de estruturas sexuadas e assexuadas de dezenas de espécies de *Trichoderma* podem ser encontradas em monografias recentes do gênero publicadas por Jaklitsch e colaboradores (Jaklitsch, 2009, 2011, Jaklitsch; Voglmay, 2015).

Uma prática peculiar à micologia era a utilização de uma dupla nomenclatura para designar os gêneros de ascomicetos de acordo com o tipo reprodução observado, onde um nome era dado à fase assexuada, também chamada de anamórfica ou imperfeita, e outro nome à fase sexuada, teleomórfica ou perfeita. Este sistema era útil pois as diferentes fases do ciclo de vida dos fungos tendem a ocorrer em épocas e locais distintos, o que dificultava o reconhecimento. Dessa forma, o nome *Trichoderma* era aplicado à fase assexuada, geralmente estudada em colônias em placa de Petri, e o nome *Hypocrea* usado para a fase sexuada, raramente formada em cultura pura, mas encontrada na natureza sobre fungos macroscópicos e madeira em decomposição. Com a adoção da análise de seqüências de genes e inferências filogenéticas para o

estudo das relações de parentesco e definição de espécies de fungos, a partir do final da década de 1990, a conexão entre as fases sexuada e assexuada de um mesmo organismo ficou mais clara, sendo possível a identificação independentemente da fase do ciclo reprodutivo observada. Assim, em uma árvore filogenética eram observados agrupamentos ou clados contendo tanto isolados de *Trichoderma* quanto de *Hypocrea*, sem distinção genética, comprovando que estes pertenciam à mesma espécie (Chaverri; Samuels, 2003; Kuhls et al., 1997). Como consequência do uso da filogenia molecular para definição de espécies, a prática de dupla nomenclatura passou a ser obsoleta e foi abandonada em 2013, quando todas as espécies de fungos passaram a receber apenas um nome. O nome da fase assexuada *Trichoderma* foi mantido, enquanto o nome da fase sexuada, *Hypocrea*, tornou-se obsoleto (Rossmann et al., 2013). Uma lista dos nomes válidos no gênero *Trichoderma* pode ser consultada em Bisset et al. (2015). Neste capítulo, nós abordaremos, de forma resumida, a complexa e dinâmica taxonomia de *Trichoderma* e as estratégias úteis para a identificação de espécies, e discutiremos aspectos da biologia e utilização de alguns grupos de espécie de interesse.

Origem, diversificação ecológica e utilização de *Trichoderma*

Mais de 250 espécies de *Trichoderma* são aceitas atualmente e podem ser identificadas por meio de filogenia molecular. A maioria dessas não é habitante do solo ou possui ampla distribuição geográfica, mas sim possui distribuição restrita e é composta por parasitas de fungos macroscópicos e apodrecedores de madeira em florestas tropicais e temperadas (Druzhinina et al., 2011). Tal constatação sugere que a capacidade de parasitar outros fungos e se nutrir de biomassa morta de fungos represente uma característica ancestral no gênero, e compartilhada pela maioria das espécies (Kubicek et al., 2011). Porém, uma clara diversificação fisiológica ocorreu durante a evolução das espécies de *Trichoderma*, e a capacidade de degradar materiais lignocelulósicos pode ter surgido após mudanças de hospedeiro ou ‘host jumps’ de basidiocarpos de fungos apodrecedores de madeira para a própria madeira. A ocorrência de host jumps de apodrecedores de madeira para micoparasitas também parece ter ocorrido durante a evolução do gênero (Druzhinina et al., 2011; Chaverri; Samuels, 2013). Fungos decompositores de madeira da espécie *T. reesei* são utilizados, desde a metade do século XX, para a produção em grande escala de enzimas celulolíticas aplicadas nas indústrias de vestuário, alimentos e bioenergia (Schuster; Schmoll, 2010).

Já a colonização do ambiente solo parece ser mais restrita a algumas dezenas de espécies ‘oportunistas ambientais’, altamente adaptadas à vida e competição no solo e rizosfera e distribuídas em todo o planeta (Druzhinina et al., 2011). As espécies de *Trichoderma* consideradas oportunistas ambientais são caracterizadas por alguns fenótipos em comum, como ampla distribuição geográfica, crescimento rápido e colonização agressiva dos nichos no solo e na

rizosfera, alta capacidade de parasitar ou preda outros fungos e, no caso de várias espécies, capacidade de estabelecer interações benéficas com as plantas, resultando em promoção de crescimento e indução de resistência a doenças e estresses abióticos (Harman et al., 2004). Dessa maneira, a maioria das formas de *Trichoderma* rotineiramente isoladas, testadas e selecionadas para o controle biológico de doenças e promoção de crescimento, em várias partes do mundo, pertencem a um grupo delimitado de espécies (Woo et al., 2014).

Isolados de espécies como *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum lato sensu* e *T. virens*, com ampla distribuição no solo e capacidade de hiperparasitar fungos fitopatogênicos e/ou estabelecer interações benéficas na rizosfera de plantas cultivadas, são utilizados em tratamento de sementes ou aplicados em vastas áreas de cultivo para o controle biológico de doenças de plantas e promoção do crescimento vegetal (Woo et al., 2014). O Brasil é destaque na pesquisa e uso comercial de *Trichoderma* como ferramenta biológica para o manejo de doenças e incremento da produtividade agrícola (Carvalho et al., 2014, Lopes et al., 2012, Pomela; Ribeiro 2009). Dentro deste contexto, o conhecimento básico sobre a biologia e taxonomia desses fungos é essencial para o sucesso na seleção de isolados eficientes e na utilização segura de *Trichoderma*, haja visto que, dentro da grande plasticidade fenotípica do gênero, algumas poucas espécies são capazes de crescer e esporular a até 40 °C de iniciar infecções oportunistas em indivíduos com imunossupressão (Druzhinina et al., 2008).

Outro habitat onde predominam espécies de *Trichoderma* é o interior do caule de plantas, principalmente árvores em ambiente natural, fato só descoberto e estudado após o trabalho pioneiro de Evans et al. (2003). Nos últimos anos, várias espécies tipicamente endofíticas foram descritas, principalmente a partir de plantas tropicais e, a despeito da comprovação do potencial de algumas destas em antagonizar patógenos *in vitro*, pouco se sabe sobre as interações entre plantas e *Trichoderma* endofíticos na natureza (Chaverri; Samuels, 2013).

Isolamento e caracterização morfológica

Isolados de *Trichoderma* podem ser facilmente recuperados de solos com razoável teor de matéria orgânica. Quando se estuda a diversidade de fungos em solo, a presença de *Trichoderma* pode ser até um fator negativo, pois seu crescimento rápido e esporulação maciça na placa dificultam ou suprimem o aparecimento de outras espécies, de crescimento mais lento, mas igualmente importantes para o funcionamento do ecossistema solo. O método mais comumente empregado para o isolamento de fungos de solo é o da diluição seriada, procedimento que favorece o isolamento de esporos, em detrimento aos fungos que estejam crescendo ativamente como micélio nas partículas de solo. Procedimentos adequados para o isolamento de fungos habitantes do solo, inclusive de espécies de *Trichoderma*, foram descritos em detalhe por Pfenning e Abreu (2008) e se baseiam na lavagem e filtração de partículas de solo, que são

plaqueadas em meio apropriado. A filtração de partículas também pode ser empregada no isolamento de *Trichoderma* a partir de amostras de serrapilheira (López-Quintero et al., 2013).

O isolamento direto, a partir de estruturas reprodutivas produzidas sobre o substrato colonizado, é o procedimento adequado para o isolamento de *Trichoderma* crescendo sobre madeira morta e basidiocarpos. Este é o método mais usado para o estudo da morfologia da fase sexuada pois, embora existam tanto espécies heterotáticas como homotáticas ou autoférteis de *Trichoderma*, estímulos específicos são necessários para a indução da formação de peritécios, sendo a fase sexuada raramente formada em cultura pura (Samuels, 2006). A fase sexuada de *T. reesei* foi induzida *in vitro*, através do cruzamento de indivíduos de tipos sexuais ou mating types opostos (Seidl et al., 2009).

Espécies de *Trichoderma* também são encontradas como endófitos, ocorrendo preferencialmente em caules e troncos de plantas lenhosas. O isolamento a partir desses substratos pode ser feito com pequenas incisões na casca, amostragem do tecido interno com auxílio de bisturi ou pinça flambados e transferência direta de fragmentos para placas de Petri com meio de cultura (Evans et al., 2003). Meios de cultura comuns para o crescimento, caracterização, manutenção ou multiplicação de isolados de *Trichoderma* são de aveia (OA - oatmeal agar), batata-dextrose (PDA - potato dextrose agar), extrato de malte (MA2 - 2% malt extract agar) e meio sintético pobre (SNA - Spezieller Nährstoffarmer agar).

Isolados de *Trichoderma* podem ser reconhecidos facilmente pelo micélio branco, algodonoso, de crescimento rápido em meio de cultura. A temperatura ótima de crescimento varia entre 25 °C e 30 °C para a maioria das espécies. Já após 48 horas de cultivo, podem aparecer pústulas ou círculos verdes, formados pela produção abundante de esporos subhialinos, que adquirem a cor verde em massa e dão um aspecto granular ou pulverulento à colônia. Para a confecção de lâminas, é indicado o uso de colônias novas, com dois a três dias, e amostragem próxima às margens da colônia, evitando que o excesso de conídios atrapalhe a observação detalhada dos conidióforos.

Quando observados em microscópio, os conidióforos típicos de *Trichoderma* são arrançados em uma arquitetura mais ou menos piramidal, com diferentes padrões de ramificação (Figura 2). Prolongamentos estéreis dos conidióforos são produzidos em certas espécies, e.g. *T. hamatum*. As fiálides são marcadores morfológicos importantes, sendo caracterizadas pela sua forma, que pode ser oval a subglobosa, ou cilíndrica a alongada, seu número e sua disposição espacial ao longo do conidióforo. As fiálides tipicamente se divergem a partir da base, mas são agregadas em estruturas peniciladas em *T. virens*. Os conídios se acumulam em massas compactas ou são embebidos em gotas cristalinas sobre as fiálides, como em *T. virens*. Individualmente, os conídios são unicelulares, subhialinos, em diferentes tons de verde, com superfície lisa a finamente ou muito rugosa, com poucos micrômetros de tamanho e forma esférica,

oval ou alongada. Algumas espécies, como por exemplo, *T. polysporum*, produzem conídios completamente hialinos, que em massa assumem a cor branca. Clamidósporos hialinos e intercalares são comumente produzidos, sendo abundantes em espécies como *T. asperellum* e *T. virens*. Este conjunto de características pode ser usado para o agrupamento das formas em 'morfo-tipos' ou espécies morfológicas, que foram a base da classificação até o advento da filogenia molecular (Domsch et al., 2007).

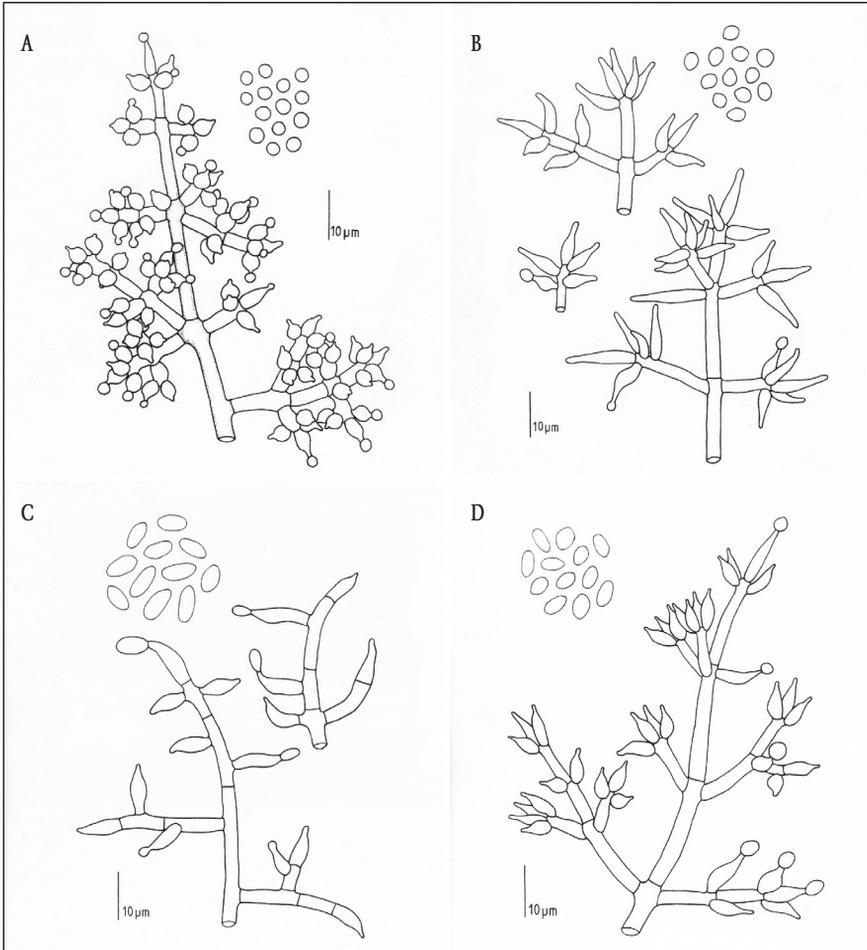


Figura 2. Morfologia dos conidióforos. A. *Trichoderma inhamatum*; B. *T. harzianum*; C. *T. longibrachiatum*; d. *T. koningii*.

Fonte: Ludwig Heinrich Pfenning

Sistemática do gênero *Trichoderma*

Desde o final do século XIX, o nome *Trichoderma viride* era aplicado a todos os fungos formadores de colônias com aparência típica do gênero, independentemente se estes eram isolados de amostras de solo e restos vegetais ou obtidos de ascósporos isolados de peritécios de diferentes espécies de *Hypocrea*. Esta situação era bem diferente daquela de outros gêneros de maior importância, como *Fusarium*, onde dezenas espécies e formas já eram descritas na década de 1930. A simplicidade taxonômica em *Trichoderma* era produto do pequeno interesse no gênero fora da disciplina de micologia e do consenso geral de que, microscopicamente, todos os isolados possuíam ‘a mesma cara’ (Samuels, 2006). Esta situação durou até o fim da década de 1960, quando o gênero foi classificado em nove ‘agregados de espécies’, reconhecidos por diferenças morfológicas da fase assexuada em cultura pura (Rifai, 1969). O termo ‘agregados’ foi justamente usado para indicar que espécies com biologia e morfologia da fase sexuada distintas podiam compartilhar a mesma morfologia na fase assexuada. Devido à sua relativa simplicidade, o sistema taxonômico com nove ‘espécies’ foi amplamente adotado (Domsch et al., 2007) e ainda é utilizado para a caracterização de *Trichoderma* em morfotipos, embora este não possua utilidade taxonômica. O esquema taxonômico foi expandido no início da década de 1990 e alguns agregados de espécie foram formalizados em cinco Seções dentro do gênero; características da fase sexuada também foram consideradas nas descrições morfológicas e o número de espécies aumentado para aproximadamente 30 (Bissett, 1991; Druzhinina; Kubicek, 2005).

Com a adoção da filogenia molecular para estudo sistemático e taxonômico do gênero, o número de espécies descritas aumentou consideravelmente a partir dos anos 2000, demonstrando que a aparente simplicidade morfológica de *Trichoderma* esconde uma grande diversidade de linhagens filogenéticas, que divergiram há milhões de anos e deram origem a centenas de espécies adaptadas à colonização dos mais diferentes substratos e habitats na Terra (Druzhinina et al., 2011). O número de espécies definidas com base em filogenia molecular chegou a 100 em 2006 (Druzhinina et al., 2006) e atualmente se aproxima de 300 (Bissett et al., 2015; Plessis et al., 2018; Qin; Zhuang, 2016).

Frente à proliferação de espécies descritas nos últimos anos, o conceito de Seções perdeu a utilidade. Atualmente, as espécies *Trichoderma* são informalmente classificadas em grupos monofiléticos ou clados bem definidos dentro da filogenia do gênero e nomeados de acordo com a espécie mais conhecida em cada clado. O tamanho, os limites e a nomenclatura desses clados podem variar entre os autores e de acordo com o foco em diferente grupos taxonômicos (Chaverri; Samuels, 2003; Montoya et al., 2016). Em uma árvore filogenética publicada com 228 espécies de *Trichoderma*, construída com sequências do gene *rpb2*, dez grandes clados foram delimitados dentro do gênero (Jaklitsch; Voglmayr, 2015). Nomes comuns aos pesqui-

sadores da área de controle biológico como *T. harzianum* e *T. viride*, como tradicionalmente definidos, não correspondem a duas espécies mas a dois clados, Harzianum e Viride, compostos por dezenas de espécies filogenéticas (Chaverri et al., 2015; Jaklitsch; Voglmayr, 2015).

Um resultado direto das mudanças recentes na taxonomia é a constatação de que a maioria das nomes aplicados a isolados de *Trichoderma* até recentemente, baseados em grande parte em morfologia, não estão corretos (Druzhinina; Kubicek, 2005). Esta situação pode gerar dúvida principalmente entre os usuários do sistema taxonômico, como pesquisadores e profissionais da indústria, que utilizam *Trichoderma* em processos biotecnológicos e no controle biológico de doenças de plantas, e que se vêem obrigados a lidar com vários nomes possíveis de aplicação para os isolados com os quais lidam há anos. Por outro lado, desde que aplicados corretamente, os métodos de identificação molecular e análises filogenéticas podem ser usados por aqueles sem treinamento formal em micologia, mas com conhecimentos básicos em biologia molecular e bioinformática, habilidades bem mais comuns na atualidade.

Reconhecimento e diversidade de espécies filogenéticas em *Trichoderma*

A definição de espécies filogenéticas em fungos é feita a partir da geração e análise de árvores filogenéticas, construídas com seqüências parciais de genes compartilhados e relativamente conservados entre todos os organismos comparados. Nesse contexto, pode se definir uma espécie filogenética como o menor grupo monofilético (agrupamento formado por um nó interno e as seqüências que dele derivam) caracterizado por um conjunto fixo de polimorfismos de DNA dentro da região sequenciada. Na prática, a identificação do nó que delimita espécies filogenéticas próximas nem sempre é clara, e a saída encontrada é a utilização de seqüências de vários genes independentes no genoma, analisados em combinação para a definição dos limites entre espécies, em um procedimento designado de concordância de genealogia de genes, ou análises de multi-loci (Taylor et al., 2000; Druzhinina; Kubicek, 2005).

A seqüência dos espaçadores internos transcritos 1 e 2 e da região 5.8S ou seqüência ITS, compreendida entre as regiões codificadoras das subunidades 18S e 28S do RNA ribossômico, é de fácil amplificação e foi empregada nos primeiros estudos de filogenia e caracterização molecular de fungos, incluindo *Trichoderma* (Kindermann et al., 1998; Kuhls et al., 1997). Esta região, no entanto, é muito conservada e não oferece resolução suficiente para a delimitação de espécies muito próximas de *Trichoderma* e outros ascomicetos, embora seja considerada a região código de barras universal para identificação de fungos (Schoch et al., 2012). Um projeto foi implementado, em 2005, por pesquisadores austríacos em colaboração com Subcomissão Internacional de Taxonomia de *Trichoderma* e *Hypocrea* (ISTH), visando à elaboração e manutenção de um banco de dados dedicado de seqüências de ITS de isolados de referência de todas as espécies descritas, que à época chegava a 100 (Druzhinina et al., 2005). O banco

de dados ainda pode ser acessado via a ferramenta de busca gratuita TrichOKey (<http://www.isth.info/tools/morphkey/index.php>); porém, a última atualização do banco parece ter sido feita em 2006 e, mesmo nessa época, já era reconhecido que espécies filogenéticas distintas pertencentes a grupos de espécies de importância, como aquelas dos clados Viride e Hamatum, não podiam ser separadas apenas por ITS (Druzhinina et al., 2006). Genes codificadores de proteínas e enzimas com funções conservadas em eucariotos contém mais polimorfismos, principalmente nas regiões de íntrons, e oferecem melhor resolução para a delimitação das espécies.

Resultados de testes empíricos, realizados nas duas últimas décadas, permitiram a definição de um conjunto de genes codificadores de proteína úteis para taxonomia de fungos e que inclui, no caso de *Trichoderma*, sequências parciais dos genes alfa-actina (*act*), calmodulina (*cal*), endoquitinase CHI18-5 (*chi18-5*), fator de alongação 1-alfa (*tef1*) e segunda maior subunidade da RNA polimerase II (*rpb2*). Sequências de primers para a amplificação desses genes a partir de isolados de *Trichoderma* podem ser encontrados em Samuels et al. (2012).

Após a definição de espécies filogenéticas por meio de análise multi-loci, é possível fazer o raciocínio inverso e verificar se existe, entre os genes usados para filogenia, algum que seja capaz de delimitar todas ou a maioria das espécies que foram identificadas na análise conjunta de vários genes. Este gene pode então ser adotado como código de barras para a identificação molecular de isolados, através da comparação com sequências de referência de espécies já conhecidas e disponíveis em bancos de dados públicos, como o GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). O código de barras para identificação de *Trichoderma* é *tef1*, seguido de perto por *rpb2*, com resolução semelhante (Chaverri et al., 2015; Jaklitsch; Voglmayr 2015).

Quanto ao uso prático de sequências de DNA para identificação molecular de *Trichoderma*, é sugerida a comparação com banco de dados GenBank do National Center for Biotechnology Information, através da ferramenta BLAST, (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), e a utilização de sequências de *tef1* ou *rpb2*. Para a correta identificação, o usuário deve basear-se na comparação com sequências de referência, oriundas de isolados usados em trabalhos publicados com a taxonomia do gênero. Este aspecto é crucial, já que há milhões de sequências no GenBank e o nome de uma espécie atribuída a uma sequência de DNA é de exclusiva responsabilidade do autor do depósito, não havendo garantias que este esteja correto.

Uma questão sobre a identificação molecular é procedimento a ser adotado quando não é possível obter 100% identidade da sequência de interesse com alguma sequência de referência no banco de dados. Valores de identidade na casa de 99% para *tef1* e *rpb2*, e correspondentes a um único nome no banco de dados, ainda podem ser considerados como uma identificação positiva. Já no caso de valores inferiores a 99% de identidade (considerando que haja uma boa cobertura da sequência alvo e valor estimado do parâmetro *E-value* próximo a zero), e quando

o pesquisador quiser ter uma confirmação mais robusta da identificação, o sugerido é a composição de um alinhamento múltiplo com sequências de *tefl* e/ou *rpb2* dos isolados a serem identificados e de isolados de referências de espécies próximas àquelas obtidas no resultado do genbank, seguida da realização de análises filogenéticas com protocolos comumente usados na taxonomia de *Trichoderma* (Chaverri et al., 2015). A região *rpb2* não possui íntrons na extensão geralmente sequenciada, sendo facilmente alinhada e, portanto, usada para inferir filogenias globais, com espécies dos diferentes clados em uma árvore. Já *tefl* possui melhor resolução para separação espécies muito próximas, mas não é uma região facilmente alinhada quando espécies muito divergentes são inseridas em uma mesma análise (Jaklitsch; Voglmayr, 2015).

Embora o critério da filogenia molecular prevaleça na delimitação de espécies, a prática taxonômica atual tenta ser polifásica, prevendo a avaliação conjunta de caracteres morfológicos, produção de metabólitos específicos e aspectos da biogeografia para o reconhecimento de espécies de *Trichoderma* (Chaverri et al., 2015). Abordagens quimiotaxonômicas envolvem a obtenção e comparação de perfis de metabólitos secundários ou proteínas de baixo peso molecular, como hidrofobinas, produzidos por isolados de diferentes espécies (Neuhof et al., 2007, Samuels et al., 2010). Peptaibols são oligopeptídeos lineares bioativos, que contém aminoácidos não proteinogênicos, como o ácido aminoisobutírico. Centenas de variantes destas substâncias são produzidas por espécies de *Trichoderma*, e perfis de produção de peptaibols são úteis para a caracterização quimiotaxonômica (Degenkolb et al., 2008). A atividade antifúngica dos peptaibols pode estar relacionada à desestruturação da membrana plasmática e consequente perda de turgor das células afetadas. Produtos para controle biológico formulados à base de conídios de espécies *Trichoderma* do clado Harzianum são naturalmente enriquecidos em peptaibols (Degenkolb et al., 2015). A produção de micotoxinas da família dos tricotecenos é conhecida entre espécies do clado Brevicompectum, mas estas espécies não são comumente usadas em programas de controle biológico (Degenkolb et al., 2008).

Uma filogenia simplificada do gênero *Trichoderma*, baseada em sequências da região *rpb2*, é apresentada na Figura 3 e contém clados com representantes de espécies comumente isoladas do solo e restos vegetais, bem como aquelas frequentemente empregadas no controle biológico de doenças de plantas. Uma discussão sucinta a respeito de espécies de interesse dentro de alguns clados é apresentada a seguir.

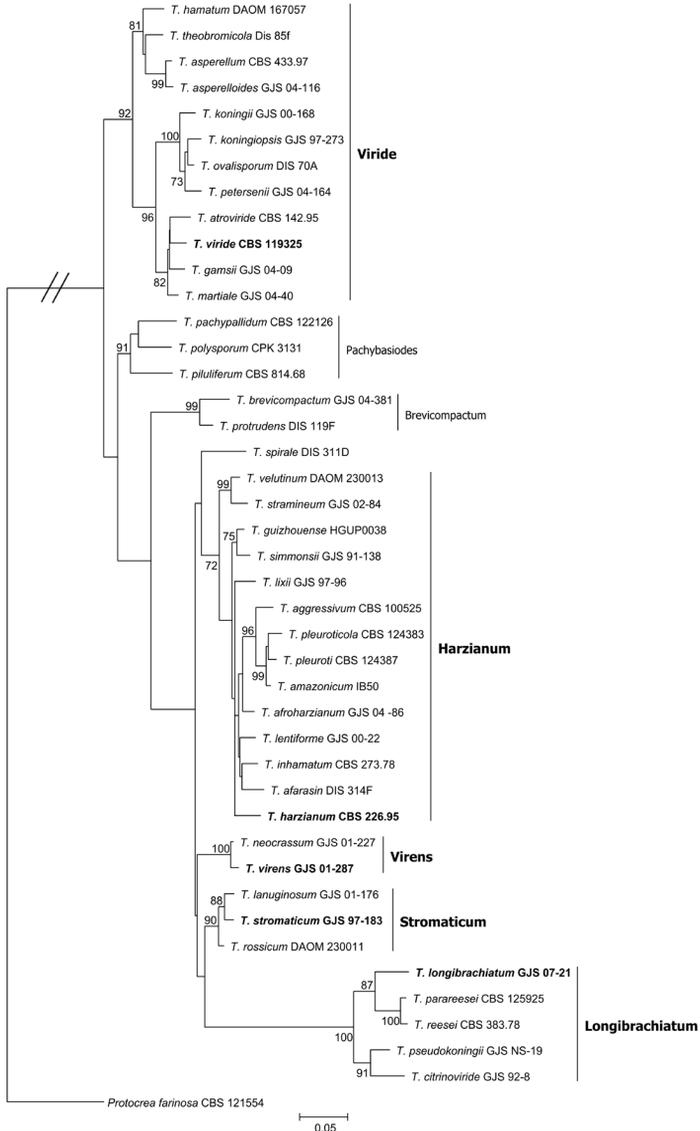


Figura 3. Árvore filogenética de Máxima Verossimilhança com seqüências parciais de *rpb2* de isolados representativos de *Trichoderma* spp. Valores de suporte de ramos superiores a 70%, determinados por pseudo-repetições de bootstrap, estão indicados nos nós. O isolado de *Protocrea farinosa* CBS 121554 foi usado como grupo externo. A árvore foi gerada pelo programa RaxML v.8, como implementado no portal CIPRES (<https://www.phylo.org/>).

Fonte: Lucas Magalhães de Abreu

Clado Harzianum

Trichoderma harzianum é a ‘morfo-espécie’ mais comumente empregada no controle biológico de doenças de plantas no mundo (Woo et al., 2014), e prevalente em levantamentos de diversidade de espécies no solo e restos vegetais em várias regiões geográficas (Domsch et al., 2007). No entanto, o conceito desta espécie, como tradicionalmente definido, engloba uma variedade de espécies filogenéticas, algumas realmente cosmopolitas e várias com distribuição mais restrita, que compõem o clado Harzianum (Chaverri et al., 2015). Dessa forma, muitos dos isolados identificados como *T. harzianum* na literatura podem ser melhor caracterizados como *T. harzianum lato sensu*, ou seja, em senso amplo, utilizando o jargão da taxonomia.

O clado Harzianum contém populações recombinantes, i.e. espécies biológicas, bem como populações claramente clonais, além de algumas linhagens filogenéticas solitárias que se divergem das demais, o que torna difícil a aplicação de um único conceito para definição de espécies (Druzhinina et al., 2011). Uma revisão taxonômica recente do clado Harzianum propôs o reconhecimento de dezenas de espécies, delimitadas de acordo com o critério de concordância de genealogia de genes (Chaverri et al., 2015), e novas adições foram descritas desde então (Jaklitsch; Voglmayr, 2015; Montoya et al., 2016). O grupo monofilético que contém o material biológico usado como neótipo da espécie (Gams; Meyer, 1998) manteve o nome *T. harzianum stricto sensu* (em senso estrito), e outros nomes foram atribuídos às espécies filogenéticas restantes.

Em uma amostragem com quase duzentos isolados do clado Harzianum, oriundos de vários substratos e regiões, alguns padrões biogeográficos foram identificados (Chaverri et al. 2015). *Trichoderma harzianum stricto sensu* é uma espécie pouco comum e com distribuição predominante no hemisfério norte. Já as espécies *T. afroharzianum* e *T. guizhouense* possuem distribuição cosmopolita e predominância em solos. *Trichoderma afarasin* e *T. lentiforme* ocorrem comumente como endófitos, mas também como habitantes do solo, na África e América tropical, respectivamente. Algumas espécies são aparentemente endófitas, enquanto outras são predominantemente micoparasitas, incluindo espécies como *T. pleurotum* e *T. aggressivum*, isoladas como parasitas agressivos em sistemas de produção de cogumelos comestíveis. Estes padrões de distribuição podem ser levados em conta na busca por isolados de *T. harzianum lato sensu* para o controle biológico, com a ampliação da amostragem para outros substratos, não somente o solo, além da amostragem em regiões geográficas distintas.

Isolados que compõem dois produtos de controle biológico vendidos na Europa e EUA foram re-identificados como *T. afroharzianum*, incluindo o famoso isolado T-22, desenvolvido a partir de fusão de protoplastos e amplamente comercializado para o biocontrole promoção de crescimento vegetal (Harman, 2000; Harman et al., 2010). Isolados de três outros produtos disponíveis no hemisfério norte foram re-identificados como pertencentes a duas espécies do

clado Harzinaum: *T. guizhouense* e *T. simonsii* (Chaverri et al., 2015). Biofungicidas formulados com isolados de *T. harzianum lato sensu* são comercializados no Brasil.

Clado Virens

A espécie cosmopolita *T. virens*, e poucas espécies relacionadas, formam o clado Virens, que é filogeneticamente próximo ao clado Harzianum. Antes classificada no gênero *Gliocladium*, a espécie *T. virens* possui uma morfologia de fácil diagnose, caracterizada pela produção de conidióforos com fiáldes agregadas de forma convergente, adquirindo um aspecto penicilado, diferente do padrão divergente típico em *Trichoderma* (Figura 1d). Os conídios são verdes, mas comumente imersos em gotas cristalinas e não agregados em massa. Habitante comum dos solos, *T. virens* também ocorre em ninhos de formigas cortadeiras no Brasil (Montoya et al., 2016). Isolados de *T. virens* são antagonistas de outros fungos e utilizados há décadas no controle biológico de doenças causadas por patógenos do solo, incluindo principalmente fungos e oomicetos (Howell, 2006). Estes atuam por diferentes modos de ação, com destaque para a antibiose, exercida com a excreção de enzimas líticas e metabólitos secundários da família das dicetopiperazinas, especialmente gliotoxina e glioviridina (Atanasova et al., 2013; Howell, 2003).

Clado Stromaticum

Trichoderma stromaticum é uma espécie de ocorrência restrita à América tropical, associada ao cacau e parasita de *Moniliophthora perniciosa*, patógeno da vassoura-de-bruxa do cacau (Samuels et al., 2000). O fungo é geralmente encontrado sobre ramos e vassouras mortas, frutos mumificados e folheto, bem como crescendo sobre o micélio e basidiocarpos de *M. perniciosa*. *T. stromaticum* também pode ocorrer sobre frutos de cacau parasitados por *M. roreri*, patógeno da moníliase (Samuels et al., 2012). As descrições das fases assexuada e sexuada de *T. stromaticum* foram feitas a partir de materiais isolados de regiões produtoras de cacau no Brasil (Samuels et al., 2000, Bezerra et al., 2003), e o uso desta espécie para o manejo da vassoura-de-bruxa foi implementado em campos de produção da Bahia na década de 90. *Trichoderma stromaticum* e algumas espécies próximas formam o clado Stromaticum. Porém, a despeito da proximidade filogenética, nenhuma outra espécie deste clado parece ser comum em regiões neotropicais (Samuels et al., 2012).

Clado Viride (incluindo Clados Hamatum e Koningii)

A espécie *T. viride stricto sensu* está inserida em um grande clado composto por dezenas de espécies com diferentes padrões de morfologia, incluindo o padrão viride - com conidióforos piramidais, conídios globosos e de parede rugosa, o padrão koningii - com conídios

oblongos a elipsoidais, e o padrão hamatum - com fiálides subglobosas em agregados compactos e conidióforos com terminações estéreis alongadas. Devido ao grande número de espécies filogenéticas presentes no clado Viride, este pode ser separado em diferentes subclados, cada qual com dezenas de espécies, como os subclados Viride, Viridescens, Koningii e Hamatum (Jaklitsch et al., 2006, Samuels et al., 2006, Jaklitsch et al., 2013). *Trichoderma atroviride* é uma espécie situada entre os subclados Viride e Koningii e usada como modelo no estudo genômico do fenótipo de micoparasitismo (Atanasova et al., 2013). A maior parte da diversidade de espécies descrita nos subclados Viride, Viridescens e Koningii vem de coletas realizadas Europa e EUA, sendo então consideradas comuns no hemisfério norte. Uma das exceções a este padrão é *T. koningiopsis*, que possui ampla distribuição e prevalência nos trópicos, onde é encontrada em amostras de solo, serrapilheira e como endófitos. *T. ovalisporum* é outra espécie do subclado Koningii com ocorrência neotropical e hábito tipicamente endofítico (Samuels et al., 2006). Isolados de *T. koningiopsis* e *T. ovalisporum*, obtidos como endófitos de cacauzeiros, são antagonistas de *M. royeri*, com potencial para o biocontrole da monilíase (Holmes et al., 2004).

Agrupadas no subclado Hamatum estão as espécies *T. asperellum* e *T. asperelloides*, duas espécies filogenéticas irmãs, com a mesma morfologia, mas padrões moleculares e fisiológicos distintos (Samuels et al., 2010). Isolados de *T. asperellum* e *T. asperelloides* são habitantes comuns do solo no neotrópico (Hoyos-Carvajal et al., 2009), micoparasitas agressivos, e podem induzir resistência sistêmica em plantas (Shoresh et al., 2005), com isolados utilizados no controle biológico de doenças (Samuels et al., 2010), incluindo biofungicidas comercializados no Brasil (Woo et al., 2014).

Clado Longibrachiatum

Espécies do clado Longibrachiatum formam um grupo compacto dentro da filogenia do gênero e compartilham características morfológicas que incluem a formação de conidióforos com ramificações esparsas e disposição irregular de fiálides ao longo do eixo principal e ramificações. *Trichoderma reesei* é uma espécie saprofítica com grande capacidade de degradação de substratos celulósicos. Um isolado desta espécie é amplamente empregado para a produção de enzimas celulolíticas, em escala industrial, desde a metade do século XX (Martinez et al., 2008; Bischof et al., 2016). As espécies deste clado são mesofílicas, capazes de crescer rapidamente e esporular mesmo a 40 °C. Devido a essa característica, isolados de algumas espécies deste clado podem iniciar infecções oportunistas em indivíduos com imunossupressão, com destaque para *T. bissettii*, *T. citrinoviride* e *T. longibrachiatum stricto sensu* (Druzhinina et al., 2008, Sandoval-Denis et al., 2014).

Referências

- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 121, 2013.
- BEZERRA, J. L.; COSTA, J. C. B.; BASTOS, C. N.; FALEIRO, F. G. *Hypocrea stromatica*, teleomorfo de *Trichoderma stromaticum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 408-412, 2003.
- BISCHOF, R. H.; RAMONI, J.; SEIBOTH, B. Cellulases and beyond: the first 70 years of the enzyme producer *Trichoderma reesei*. **Microbial Cell Factories**, v. 15, n. 1, p. 106, 2016.
- BISSETT, J. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. **Canadian Journal of Botany**, v. 69, n. 11, p. 2357-2372, 1991.
- BISSETT, J.; GAMS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. J. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. **IMA Fungus**, v. 6, n. 2, p. 263-295, 2015.
- CARVALHO, D. D.; LOBO JUNIOR, M.; MARTINS, I.; INGLIS, P. W.; MELLO, S. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 5, p. 384-391, 2014.
- CHAVERRI, P.; SAMUELS, G. J. *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): species with green ascospores. Utrecht: The Netherlands An institute of the Royal Netherlands; Academy of Arts and Sciences; Central Bureau voor Schimmelcultures, 2003. (Studies in Mycology, 48).
- CHAVERRI, P.; SAMUELS, G. J. Evolution of habitat preference and nutrition mode in a cosmopolitan fungal genus with evidence of interkingdom host jumps and major shifts in ecology. **Evolution**, v. 67, n. 10, p. 2823-2837, 2013.
- CHAVERRI, P.; BRANCO-ROCHA, F.; JAKLITSCH, W.; GAZIS, R.; DEGENKOLB, T.; SAMUELS, G. J. Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains. **Mycologia**, v. 107, n. 3, p. 558-590, 2015.
- DEGENKOLB, T.; DIECKMANN, R.; NIELSEN, K. F.; GRÄFENHAN, T.; THEIS, C.; ZAFARI, D.; THRANE, U. The *Trichoderma brevicompactum* clade: a separate lineage with new species, new peptaibiotics, and mycotoxins. **Mycological Progress**, v. 7, n. 3, p. 177-219, 2008.
- DEGENKOLB, T.; FOG NIELSEN, K.; DIECKMANN, R.; BRANCO ROCHA, F.; CHAVERRI, P.; SAMUELS, G. J.; BRÜCKNER, H. Peptaibol, secondary metabolite, and hydrophobin pattern of commercial biocontrol agents formulated with species of the *Trichoderma harzianum* complex. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, n. 4, p. 662-684, 2015.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. 2nd ed. Eching: IHW Verlag, 2007. 672 p.
- DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KOMO, M.; BISSETT, J.; SZAKACS, G.; KUBICEK, C. P. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 42, n. 10, p. 813-828, 2005.
- DRUZHININA, I.; KUBICEK, C. P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters. **Journal of Zhejiang University. Science. B**, v. 6, n. 2, p. 100, 2005.
- DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. **Mycoscience**, v. 47, n. 2, p. 55, 2006.
- DRUZHININA, I. S.; KOMO-ZELAZOWSKA, M.; KREDICS, L.; HATVANI, L.; ANTAL, Z.; BELAYNEH, T.; KUBICEK, C. P. Alternative reproductive strategies of *Hypocrea orientalis* and genetically close but clonal *Trichoderma longibrachiatum*, both capable of causing invasive mycoses of humans. **Microbiology**, v. 154, n. 11, p. 3447-3459, 2008.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749, 2011.
- EVANS, H. C.; HOLMES, K. A.; THOMAS, S. E. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. **Mycological Progress**, v. 2, n. 2, p. 149-160, 2003.
- GAMS, W.; MEYER, W. What exactly is *Trichoderma harzianum*? **Mycologia**, v. 90, n. 5, p. 904-915, 1998.

- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43, 2004.
- HARMAN, G. E.; OBREGÓN, M. A.; SAMUELS, G. J.; LORITO, M. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed world. **Plant Disease**, v. 94, n. 8, p. 928-939, 2010.
- HOLMES, K. A.; SCHROERS, H. J.; THOMAS, S. E.; EVANS, H. C.; SAMUELS, G. J. Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin of South America. **Mycological Progress**, v. 3, n. 3, p. 199-210, 2004.
- HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.
- HOWELL, C. R. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 178-180, 2006.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 9, p. 615-631, 2009.
- JAKLITSCH, W. M.; SAMUELS, G. J.; DODD, S. L.; LU, B. S.; DRUZHININA, I. S. *Hypocrea rufa*/*Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. **Studies in Mycology**, v. 56, p. 135-177, 2006.
- JAKLITSCH, W. M. European species of *Hypocrea* Part I. The green-spored species. **Studies in Mycology**, v. 63, p. 1-91, 2009.
- JAKLITSCH, W. M. European species of *Hypocrea* part II: species with hyaline ascospores. **Fungal Diversity**, v. 48, n. 1, p. 1-250, 2011.
- JAKLITSCH, W. M.; SAMUELS, G. J.; ISMAEL, A.; VOGLMAYR, H. Disentangling the *Trichoderma viridescens* complex. **Persoonia**, v. 31, p. 112-146, 2013.
- JAKLITSCH, W. M.; VOGLMAYR, H. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. **Studies in Mycology**, v. 80, p. 1-87, 2015.
- KINDERMANN, J.; EL-AYOUFI, Y.; SAMUELS, G. J.; KUBICEK, C. P. Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the Internal Transcribed Spacer region 1 of the rDNA Cluster. **Fungal Genetics and Biology**, v. 24, n. 3, p. 298-309, 1998.
- KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; MARTINEZ, D. A.; DRUZHININA, I. S.; THON, M.; MUKHERJEE, M. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, R40, 2011.
- KUHL, K.; LIECKFELDT, E.; SAMUELS, G. J.; MEYER, W.; KUBICEK, C. P.; BÖRNER, T. Revision of *Trichoderma* sect. *Longibrachium* including related teleomorphs based on analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. **Mycologia**, v. 89, n. 3, p. 442-460, 1997.
- LOPES, F. A. C.; STEINDORFF, A. S.; GERALDINE, A. M.; BRANDÃO, R. S.; MONTEIRO, V. N.; JÚNIOR, M. L.; SILVA, R. N. Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fungal Biology**, v. 116, n. 7, p. 815-824, 2012.
- LÓPEZ-QUINTERO, C. A.; ATANASOVA, L.; FRANCO-MOLANO, A. E.; GAMS, W.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; THEELEN, B.; DRUZHININA, I. DNA barcoding survey of *Trichoderma* diversity in soil and litter of the Colombian lowland Amazonian rainforest reveals *Trichoderma strigosellum* sp. nov. and other species. **Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 104, n. 5, p. 657-674, 2013.
- MARTINEZ, D.; BERKA, R. M.; HENRISSAT, B.; SALOHEIMO, M.; ARVAS, M.; BAKER, S. E.; DANCHIN, E. G. Genome sequencing and analysis of the biomass-degrading fungus *Trichoderma reesei* (syn. *Hypocrea jecorina*). **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 5, p. 553, 2008.
- MONTOYA, Q. V.; MEIRELLES, L. A.; CHAVERRI, P.; RODRIGUES, A. Unraveling *Trichoderma* species in the attine ant environment: description of three new taxa. **Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 109, n. 5, p. 633-651, 2016.

- NEUHOF, T.; DIECKMANN, R.; DRUZHININA, I. S.; KUBICEK, C. P.; NAKARI SETĀLĀ, T.; PENTTILĀ, M.; VON DÖHREN, H. Direct identification of hydrophobins and their processing in *Trichoderma* using intact cell MALDI TOF MS. **The FEBS Journal**, v. 274, n. 3, p. 841-852, 2007.
- PFFENNING, L. H.; ABREU, L. M. Methods for the assessment of soil fungi. Chap. 8. In: MOREIRA, F. M. S.; HUISING, E. J.; BIGNELL, D. E. (Ed.). **A handbook of tropical soil biology: sampling & characterization of below-ground biodiversity**. London: Earthscan, 2008.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas-uma visão empresarial. **Biocontrole de Doenças de Plantas**, v. 239, 2009.
- PLESSIS, I. L.; DRUZHININA, I. S.; ATANASOVA, L.; YARDEN, O.; JACOBS, K. The diversity of *Trichoderma* species from soil in South Africa, with five new additions. **Mycologia**, v. 110, n. 3, p. 559-583, 2018.
- QIN, W. T.; ZHUANG, W. Y. Seven wood-inhabiting new species of the genus *Trichoderma* (Fungi, Ascomycota) in Viride clade. **Scientific Reports**, v. 6, p. 27074, 2016.
- RIFAI, M. A. A revision of the genus *Trichoderma*. **Mycological Papers**, v. 116, p. 1-56, 1969.
- ROSSMAN, A. Y.; SEIFERT, K. A.; SAMUELS, G. J.; MINNIS, A. M.; SCHROERS, H. J.; LOMBARD, L.; GEISER, D. M. Genera in Bionectriaceae, Hypocreaceae, and Nectriaceae (Hypocreales) proposed for acceptance or rejection. **IMA Fungus**, v. 4, n. 1, p. 41-51, 2013.
- SAMUELS, G. J.; PARDO-SCHULTHEISS, R.; HEBBAR, K. P.; LUMSDEN, R. D.; BASTOS, C. N.; COSTA, J. C.; BEZERRA, J. L. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. **Mycological Research**, v. 104, n. 6, p. 760-764, 2000.
- SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.
- SAMUELS, G. J.; DODD, S. L.; LU, B. S.; PETRINI, O.; SCHROERS, H. J.; DRUZHININA, I. S. The *Trichoderma koningii* aggregate species. **Studies in Mycology**, v. 56, p. 67-133, 2006.
- SAMUELS, G. J.; ISMAIEL, A.; BON, M. C.; DE RESPINIS, S.; PETRINI, O. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. **Mycologia**, v. 102, n. 4, p. 944-966, 2010.
- SAMUELS, G. J.; ISMAIEL, A.; DE SOUZA, J.; CHAVERRI, P. *Trichoderma stromaticum* and its overseas relatives. **Mycological Progress**, v. 11, n. 1, p. 215-254, 2012.
- SANDOVAL-DENIS, M.; SUTTON, D. A.; CANO-LIRA, J. F.; GENÉ, J.; FOTHERGILL, A. W.; WIEDERHOLD, N. P.; GUARRO, J. Phylogeny of the clinically relevant species of the emerging fungus *Trichoderma* and their antifungal susceptibilities. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, p. 2112-2125, 2014.
- SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; HUHNDOERF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J. L.; LEVESQUE, C. A. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787-799, 2010.
- SEIDL, V.; SEIBEL, C.; KUBICEK, C. P.; SCHMOLL, M. Sexual development in the industrial workhorse *Trichoderma reesei*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 33, p. 13909-13914, 2009.
- SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.
- TAYLOR, J. W.; JACOBSON, D. J.; KROKEN, S.; KASUGA, T.; GEISER, D. M.; HIBBETT, D. S.; FISHER, M. C. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v. 31, n. 1, p. 21-32, 2000.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, 2014.

Trichoderma e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas

Enrique Monte

Wagner Bettiol

Rosa Hermosa

Introdução

Trichoderma é um gênero de fungos anamorfos (aqueles cuja reprodução sexual não é conhecida) que foi descrito há 225 anos para classificar um fungo decompositor de madeira que produzia massas de esporos verdes nos extremos das hifas foi denominado *Trichoderma viride*. Quase 70 anos depois foi comprovado que *T. viride* era a forma assexual do ascomiceto *Hypocrea rufa*. Atualmente, a taxonomia admite o nome “*Trichoderma*” para todos os fungos que possuem as características do gênero, apresentando ou não reprodução sexual dentro do gênero *Hypocrea*, e somente se utiliza o nome “*Hypocrea*” quando se observam ascósporos em uma cepa de *Trichoderma*.

Com os dados moleculares, que se dispõe, atualmente, para manejar a taxonomia de *Trichoderma*, o número de espécies passou de nove grupos de espécies estabelecidas, a partir de diferentes atributos morfológicos, para mais de 200 (Atanasova, 2014). Este número segue crescendo devido, principalmente, aos trabalhos desenvolvidos pela Subcomissão Internacional para a Taxonomia de *Trichoderma* e *Hypocrea* (ISTH), a qual tem desenvolvido métodos para uma identificação rápida e classificação molecular de novas espécies. Além de uma correta identificação das cepas de *Trichoderma* que são selecionadas como agentes de controle biológico de doenças de plantas (Hermosa et al., 2000), os métodos moleculares permitem realizar estudos de colonização de substratos e nichos ecológicos (como por exemplo: solos, madeiras, rizosfera, etc.) por meio de PCR a tempo real e marcadores de tipo SCAR (Rubio et al., 2005).

Em outros capítulos deste livro são descritas as principais características do gênero *Trichoderma* e discutido que algumas cepas deste fungo filamentosos são versáteis agentes de

controle biológico de doenças de plantas, aplicáveis de diversas maneiras na agricultura e que são eficazes frente a distintos tipos de patógenos, em numerosos cultivos e em diferentes partes da planta, além de agirem em condições ambientais e edáficas distintas. Neste capítulo serão abordados os conhecimentos detalhados das espécies de *Trichoderma* e seus mecanismos de ação, não somente como agentes de controle biológico, mas também como microrganismos simbiossiontes com plantas, constituindo em um modelo de estudo para aproximações moleculares mutualistas entre fungos e plantas, que permitem aos fungos se alimentarem e crescerem e às plantas se desenvolverem e se defenderem frente ao ataque de patógenos e situações de estresses abióticos e bióticos.

Por que *Trichoderma* é tão singular?

Esta pergunta pode ser respondida afirmando que a principal característica das espécies de *Trichoderma* é que são dotadas de grande oportunismo, apresentando alta capacidade de colonizar a rizosfera das plantas e muitos substratos com diferentes características, em ambientes tão distintos como os da Antártida, do Caribe, da Amazônia ou do Saara. A maioria das cepas de *Trichoderma* vive em climas temperados e solos ácidos. Entretanto, podem produzir estruturas de resistência, clamidósporos e microescleródios, e com isto são capazes de sobreviverem em condições muito adversas. Além disso, têm sido obtidas cepas de *Trichoderma* com potencial de biocontrole de fitopatógenos que crescem em altas temperaturas, solos salinos ou alcalinos e sob condições de baixa umidade.

Os fungos se alimentam absorvendo nutrientes por meio de suas hifas. Assim, para poder atravessar a parede celular e utilizar os componentes como nutrientes, os substratos de alto peso molecular necessitam ser hidrolisados a moléculas menores. Para isto, os fungos liberam enzimas extracelulares que, quanto mais diversas e numerosas, proporcionarão maiores vantagens para viverem em ambientes com diferentes condições. O sequenciamento e a comparação dos genomas de diferentes espécies de *Trichoderma* demonstraram que esses organismos possuem um elevado número de genes que codificam chaperonas (proteínas que reparam os danos celulares provocados pelo crescimento em condições adversas) e transportadores ABC (proteínas da membrana celular que facilitam a entrada de muitos nutrientes e precursores biossintéticos, que secretam metabólitos primários e secundários, e que eliminam substâncias tóxicas e agroquímicos absorvidos pelas células) que lhes proporcionam um amplo oportunismo ambiental. É especialmente relevante para as espécies de *Trichoderma* o fato de possuírem grande número, em qualidade e quantidade, de genes que codificam enzimas hidrolíticas, como por exemplo as glucanases, quitinases e proteases, de todo Reino Fungi. Esta característica, associada ao grande arsenal de metabólitos secundários produzidos, muitos deles

com atividade antibiótica, assinalam o micoparasitismo como a forma de vida ancestral deste gênero (Kubicek et al., 2011).

Em um evento evolutivo posterior, as espécies de *Trichoderma* que parasitavam as hifas de fungos decompositores de madeira obtiveram, por transferência horizontal de genes, a capacidade de degradar a matéria orgânica vegetal (Druzhinina et al., 2018), adquirindo desta forma as enzimas necessárias para alterar o seu estilo de vida em direção a colonização da rizosfera, o endofitismo e a relação benéfica e estável com as plantas.

O micoparasitismo de *Trichoderma*

Uma das características mais relevantes do gênero *Trichoderma* é a sua capacidade para parasitar fungos. A habilidade de *T. virens* para enrolar, penetrar e destruir o conteúdo citoplasmático de *Rhizoctonia solani* é conhecida há muito tempo (Weindling, 1932). Igualmente é conhecido que metabólitos produzidos por *T. virens* são capazes de inibir o crescimento de *R. solani* e *Monilinia fructicola* (Weindling, 1934).

Estudos ecofisiológicos demonstraram que, em maior ou menor escala, todas as espécies de *Trichoderma* são eficazes parasitas de fungos fitopatogênicos e de oomicetos (Druzhinina et al., 2018), como uma estratégia de nutrição biotrófica. Não obstante, as espécies de *Trichoderma* também são capazes de se alimentarem de biomassa de fungos e de oomicetos mortos, resultando ser mais adequado utilizar o termo micotrofia para definir este estilo de vida tão comum nas espécies de *Trichoderma*. Estudos de genômica comparada entre espécies de *Trichoderma* indicaram uma predisposição genética em direção da micotrofia (Kubicek et al., 2011). A associação de cepas de *Trichoderma* e *Hypocrea* com basidiomicetos que degradam madeira ou com fungos fitopatogênicos, crescendo e parasitando suas estruturas de repouso, como os escleródios, tem sido proposta como uma etapa prévia da colonização do material vegetal como nicho ecológico opcional. De fato, *T. reesei* produz enzimas celulolíticas e hemi-celulolíticas que tem permitido a esta espécie viver sobre material vegetal, pré-degradado por decompositores e patógenos fúngicos, mais do que a custa de outros fungos.

Apesar da amplitude do gênero, a maior parte dos estudos de micoparasitismo por *Trichoderma* foi realizada com poucas espécies, como *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. atroviride* e *T. asperellum* (Figura 1).

Genes relacionados com o micoparasitismo respondem transcricionalmente ao fitopatogêno e foram identificadas enzimas que degradam a parede celular (Cell Wall Degrading Enzyme - CWDE), como quitinases e glucanases, expressas nas interações de *Trichoderma* spp. com fungos fitopatogênicos. *Trichoderma virens* e *T. atroviride* possuem o maior número de enzimas quitinolíticas (36 e 29, respectivamente) descritas em fungos (Kubicek et al., 2011). Possivelmente devido à sua redundância, a deleção de certos genes de quitinases em algumas

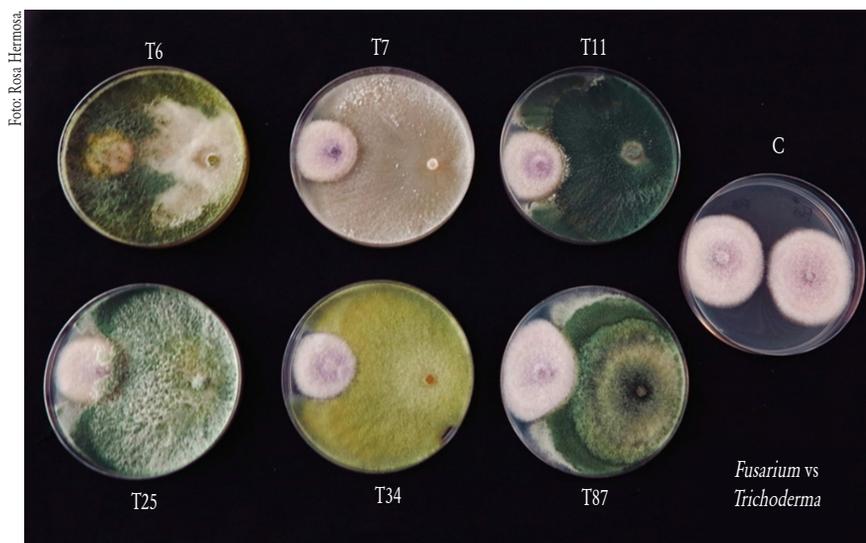


Figura 1. Cultivos pareados em placas de *Fusarium oxysporum* (esquerda) e *Trichoderma* spp. (direita) após 120 h de crescimento em meio batata-dextrose-ágar. T6=*Trichoderma parareesei*, T7=*Trichoderma hamatum*, T11=*Trichoderma atroviride*, T25=*Trichoderma asperellum*, T34=*Trichoderma harzianum* e T87=*Trichoderma virens*; C=testemunha.

espécies de *Trichoderma* não resultaram em perdas das habilidades micoparasíticas e de biocontrole (Harman et al., 2004). Outro polímero da parede celular fúngica é o glucano que, em função da sua composição, é hidrolizado por β -1,3-, β 1,6- ou α -1,3-glucanases secretadas por *Trichoderma*, e os genes que codificam β -1,3-glucanases também estão super representados (18) nos genomas de *T. virens* e de *T. atroviride* (Kubicek et al., 2011).

Muitos genes que codificam proteases e transportadores de oligopeptídeos se expressam antes e durante o contato com o patógeno em distintas espécies de *Trichoderma*. A maioria destas proteases, 33 subtilisinas presentes em *T. virens* e 36 em *T. atroviride*, pertencem à família subtilisina serina proteases, que aparecem sobre-representadas entre ESTs (expressed sequence tags - marcadores de sequência expressa) de *T. harzianum* obtidas em condições de micoparasitismo simulado (Suárez et al., 2007) e de *T. atroviride* em contato com *R. solani* e *S. sclerotiorum* (Seidl et al., 2009). A relação direta entre as proteases e a atividade micoparasítica foi demonstrada ao observar um incremento da capacidade de biocontrole em cepas de *T. atroviride* que sobre-expressavam a subtilisina Prb1 (Flores et al., 1997). Ainda que se trate de uma atividade menos conhecida, as proteases de *Trichoderma* também são capazes de desempenhar seu potencial de biocontrole de forma direta frente a nematoides (Suárez et al., 2004).

A diversidade das enzimas degradadoras da parede celular (CWDE) com estrutura e

propriedades cinéticas tão distintas (Sanz et al., 2004) permite evitar os sistemas de defesa dos patógenos alvos. As enzimas degradadoras da parede celular de distintas cepas de *Trichoderma* têm demonstrado sua eficácia inibindo a germinação de esporos, o crescimento de hifas e o desenvolvimento de estruturas de resistência como escleródios e clamidósporos de um amplo número de patógenos, como por exemplo: *Armillaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Monília*, *Monilinia*, *Nectria*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Pseudoperonospora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Ustilago*, *Venturia*, *Verticillium*, etc.; assim como de fungos que causam podridões de madeira e incluso vetores de doenças causadas por vírus como o protozoário *Polymyxa* (Monte, 2001). Ademais, como foi comprovado no controle de *Botrytis*, a aplicação combinada de quitinases e glucanases purificadas de *T. harzianum* podem ser tão eficazes como as doses efetivas da maioria dos fungicidas químicos (Monte, 2001).

A antibiose de *Trichoderma*

A produção de metabólitos secundários por cepas de *Trichoderma* também apresenta grande variedade e aplicação potencial, pois com vários milhares de compostos distribuídos em mais de 120 estruturas moleculares, constituem uma das fontes de maior diversidade metabólica do Reino Fungi (Hermosa et al., 2014). Entre os mais estudados estão os peptaiboles, pequenos peptídeos não ribossômicos (NRP), poliquetídios (PK), terpenos e pironas como a 6-pentil-2H-piran-2-ona (6-PP), responsável pela cor amarela e cheiro de coco de muitos cultivos de *Trichoderma*. Estudos de genômica comparada demonstraram que as espécies de *Trichoderma* têm as maiores reservas de *clusters* de genes relacionados com a biossíntese de metabólitos secundários e que *T. atroviride* e *T. virens* albergam mais genes de NRP sintetases e de PK sintases que nenhum outro fungo filamentoso (Kubicek et al., 2011; Mukherjee et al., 2012).

É conhecida a atividade antifúngica *in vitro* de muitos dos metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma* frente a *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Stachybotrys*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Gaeumannomyces* entre outros fungos e a *Phytophthora* e *Pythium* (Hermosa et al., 2014). Não obstante, são escassos os ensaios conduzidos para se conhecer a eficácia de biocontrole de uma doença de planta por um determinado metabólito em condições de campo (Keswani et al., 2014; Li et al., 2014).

Os metabólitos de *Trichoderma* contribuem com as enzimas degradadoras da parede celular no potencial de controle. Contudo, não parece ser rentável a produção de um determinado metabólito para sua aplicação direta em um cultivo agrícola. Alguns dos metabólitos são fitotóxicos, como o trichoteceno e a trichodermina, que por este fato impede o uso de *T. brevicompactum* como agente de controle biológico (Tijerino et al., 2011). A ação inseticida

de alguns metabólitos de *Trichoderma*, isoladamente ou combinados com proteases, foram testados frente a pulgões (Shakeri; Foster, 2007; Evidente et al., 2009) e foi descrita a capacidade entomopatogênica de NPR gliotoxina (Vargas et al., 2014). É interessante destacar o poder dissuasivo de alguns metabólitos de *Trichoderma* frente a insetos praga (Sabatini et al., 2012) e a possibilidade de abrir uma linha de pesquisa que explore os efeitos dos metabólitos de *Trichoderma* em atrair predadores e parasitoides dessas pragas (Contreras-Cornejo et al., 2018), de forma direta ou por meio da indução da produção de metabólitos com esses mesmos efeitos nas plantas. A atividade dos metabólitos de *Trichoderma*, aplicados isoladamente ou combinados com os microrganismos benéficos para as plantas, sem dúvida contribuirá para o desenvolvimento de uma nova geração de bioestimulantes e bioprotetores mais efetivos e ecologicamente amigáveis que os existentes atualmente no mercado (Marra et al., 2019).

A competição de *Trichoderma*

Competição é um comportamento desigual de dois ou mais organismos por um mesmo requerimento ou recurso, de maneira que a utilização deste por um deles reduz a quantidade disponível para os outros. Estes requerimentos ou recursos podem ser nutrientes, oxigênio, espaço físico, luz, etc.

A ubiquidade de *Trichoderma* em solos naturais e agrícolas, em todas as partes do mundo, é uma prova de que é um bom competidor por espaço e pelos recursos nutricionais. *Trichoderma* é encontrado em quase todos os solos e também em habitats naturais que contém grandes quantidades de matéria orgânica, onde se comporta como excelente decompositor de material vegetal e fúngico. Além disso, muitas espécies de *Trichoderma* mostram uma grande versatilidade metabólica que lhes permitem crescer utilizando uma ampla gama de fontes de carbono e de nitrogênio. Por outro lado, a capacidade para colonizar a rizosfera das plantas é um ponto chave neste processo uma vez que um agente de controle biológico que não apresente capacidade de crescer na rizosfera não poderá competir por espaço e nutrientes.

As plantas se defendem dos patógenos gerando condições adversas, como a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que dão lugar a um estresse oxidativo que dificulta o acesso dos fitopatógenos aos tecidos da planta hospedeira. Precisamente, uma característica que permite a *Trichoderma* competir na rizosfera é a sua elevada tolerância ao estresse oxidativo. Algumas cepas de *Trichoderma* apresentam a particularidade de suportar níveis de ROS que outros fungos não conseguem tolerar (Morán-Díez et al., 2010). A síntese de ROS é um dos principais eventos que se produz nas interações patogênicas em organismos eucariotas e as NADPH oxidases (fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida) estão implicadas na formação de ROS. As análises funcionais de um gene que codifica uma NADPH oxidase de *T. harzianum* demonstraram que *Trichoderma* induz em seu próprio benefício e, igual que

R. solani, tolera melhor que outros fungos o estresse oxidativo, uma vez que favorece o antagonismo frente a patógenos como *Pythium* (Montero-Barrientos et al., 2011). Por outro lado, em um projeto de alternativas ao brometo de metila em cultivos de morango, comprovamos que os primeiros colonizadores dos solos fumigados, quando todavia tinham um elevado potencial redox, foram cepas de *Trichoderma* que foram obtidas praticamente em cultivo puro, devido seguramente a sua melhor adaptação a um ambiente altamente oxidante.

Em sua relação simbiótica com as plantas, *Trichoderma* implanta mecanismos antioxidantes e induz nas raízes e na parte aérea da planta uma diminuição dos níveis de ROS quando são prejudiciais para a planta, fato que leva a uma melhor tolerância ao déficit hídrico e outros estresses abióticos (Mastouri et al., 2012). Os genomas de *Trichoderma* parecem desenhados para expressar seu grande oportunismo. Assim, o genoma de *T. virens* apresenta um elevado número de genes que codificam transportadores ABC implicados nos processos de detoxificação de compostos inibidores produzidos pela defesa da planta. Ruocco et al. (2009) demonstraram que a expressão de um gene que codifica um transportador ABC, em *T. atroviride*, é favorecida por metabólitos e micotoxinas produzidos por fungos fitopatogênicos. Além disso, demonstraram com a sua supressão a importância da detoxificação na ação de *Trichoderma* no controle de *Rhizoctonia* e *Pythium* (Ruocco et al., 2009). A posse de um tipo de chaperonas, conhecidas como proteínas heat shock (HSP), também permite a *Trichoderma* sobreviver na rizosfera sob condições edáficas e climáticas muito adversas, tolerando estresses térmicos por calor e frio, oxidativos, osmóticos e salinos (Montero-Barrientos et al., 2008).

Trichoderma pode produzir sideróforos que colaboram com a sua sobrevivência e melhora a sua competição na rizosfera em baixas concentrações de ferro (Mukherjee et al., 2012). Além de sideróforos, podem solubilizar fosfatos mediante processos de acidificação, redox, quelação e hidrólises (Li et al., 2015). Além disso, foi verificado que ocorreu aumento na expressão de genes de *T. reesei* relacionados com a aquisição de nutrientes quando está em contato com *R. solani* (Atanasova et al., 2013). Embora sejam conhecidos, há muito tempo, casos em que se discute a competição como responsável direta do efeito antagonístico de *Trichoderma* (Sivan; Chet, 1989), não é fácil determinar se a competição por si somente é suficiente para que *Trichoderma* exerça sua ação antagonista ou se por contrário, outros mecanismos como a antibiose ou o micoparasitismo preparam as condições para que a competição se leve a cabo de uma forma mais eficaz. Um método sensível para demonstrar a substituição de um patógeno por um agente de controle biológico consiste no uso de cepas de *Trichoderma* resistentes a um fungicida e cultivos de raízes em meios suplementados com este fungicida, onde somente crescerá a cepa de biocontrole. Entretanto, não devemos esquecer que uma cepa de *Trichoderma* que seja excelente colonizadora da rizosfera não tem por que ser necessariamente um bom agente de controle biológico.

A interação de *Trichoderma* com as plantas

Um atrativo de *Trichoderma* em comparação a outros agentes de biocontrole é a sua capacidade para promover o crescimento das plantas. Há 35 anos, Baker et al. (1984) descreveram o maior peso seco de folhas de rábano quando cultivado na presença de *Trichoderma*.

Estudos posteriores constataram que *Trichoderma* acelerava a germinação de sementes de pimentão e incrementava a altura de plantas de pepino, assim como o peso seco de plantas de pimentão, pepino e tomate com aplicação em concentração superior a 10^5 conídios/g de solo (Chang et al., 1986). Está bem documentado que *Trichoderma* promove o crescimento da parte aérea das plantas e que produz auxinas e metabólitos como 6PP que favorecem o desenvolvimento das raízes (Vinale et al., 2008; Contreras-Cornejo et al., 2009) e desta forma as raízes são mais profundas e vigorosas, proporcionando maior tolerância a seca (Harman, 2000). *Trichoderma* também incrementa a absorção e a solubilização de nutrientes (Yedidia et al., 2001) e favorece a aderência hidrofóbica e o desenvolvimento de pelos absorventes nas raízes laterais, com consequente aumento da superfície de absorção (Samolski et al., 2012).

Trichoderma também provoca uma diminuição dos níveis de etileno (ET) nas plantas, mediada pela enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase, resultando em maior crescimento das plantas. Esta enzima degrada o ACC, que é um precursor de ET, tendo sido comprovado que se expressa durante a interação de *T. atroviride* com plantas de tomate (Gravel et al., 2007) e de *T. asperellum* com raízes de colza (Viterbo et al., 2010). *Trichoderma* aumenta a massa seca e o conteúdo de amido e açúcares solúveis das plantas (Shoresh et al., 2010), o verdor das folhas (Harman, 2000) e a eficácia fotossintética (Vargas et al., 2009), estando esta última diretamente relacionada com a assimilação de nitrogênio (Domínguez et al., 2016).

Os efeitos de *Trichoderma* proporcionando maiores rendimentos nos cultivos tem colaborado com a proliferação de formulações comerciais que adotam esta via de registro que é mais flexível e barata, aproveitando das propriedades de *Trichoderma* como bioinoculante, agente fitofortificante ou condicionador das plantas (Woo; Pepe, 2018). Desta forma, evita submeter-se às normas muito mais severas, caras e lentas exigidas para registrar *Trichoderma* como agente de controle biológico, isto é, como biopesticida.

Devido principalmente à sua preferência nutricional, *Trichoderma* abunda mais na rizosfera das plantas do que nos solos não rizosféricos (Druzhinina et al., 2011). Apesar de mais de 90% das plantas terrestres serem colonizadas por fungos micorrízicos, suscetíveis de serem atacados por agentes micotróficos como *Trichoderma*, a realidade é que existem estudos a favor e contra a compatibilidade de *Trichoderma* com micorrizas arbusculares. Em estudos *in vivo*, foram demonstrados efeitos positivos para as plantas com a associação de micorrizas com *Trichoderma* (Chandanie et al., 2009; Buysens et al., 2016). As micorrizas podem inclusi-

ve servir de via de entrada de *Trichoderma* nas raízes (De Jaeger et al., 2010), sugerindo que a micotrofia tenha colaborado na evolução de *Trichoderma* ao endofitismo. São poucas as espécies de *Trichoderma* realmente endofíticas, sendo muito mais numerosas as que se comportam como endofitos facultativos (Bae et al., 2009).

O colonização é um processo que envolve o reconhecimento e aderência às raízes, a penetração na planta, e a resistência aos estresses oxidativo e nitrosativo e às enzimas e metabólitos tóxicos produzidos pela planta em resposta à invasão, incluso degradando ativamente compostos fenólicos dos exsudatos radiculares (Chen et al., 2011) ou suprimindo a biossíntese de fitoalexinas (Masunaka et al., 2011). Em *Trichoderma*, o processo de aderência à superfície da raiz pode estar mediado por pequenas proteínas hidrofóbicas da superfície externa da parede celular (hidrofobinas) e por proteínas do tipo expansina capazes de reconhecer a celulose e modificar a arquitetura da raiz da planta (Mendoza-Mendoza et al., 2018).

O estabelecimento de *Trichoderma* nos tecidos radiculares pode ser favorecido por atividades do tipo hemicelulase e poligalacturonase, esta última requerida por *T. harzianum* para a colonização ativa da raiz e a indução das defesas da planta frente ao ataque de um patógeno necrotrófico como *Botrytis cinerea* (Morán-Diez et al., 2009). Uma vez colonizada a raiz, o crescimento de *Trichoderma* se vê restringido aos espaços intercelulares do córtex e da epiderme já que a aposição de calose na parede celular impede o acesso de *Trichoderma* aos sistemas vasculares (Yedidia et al., 1999). Diferentes espécies de *Trichoderma* podem colonizar as raízes de muitas plantas e incluso viver endofiticamente, não somente sem causar danos se não protegendo as plantas frente a patógenos e estresses ambientais e incrementando o rendimento dos cultivos em diferentes sistemas produtivos (Druzhinina et al., 2011; Carrero-Carrón et al., 2018). O potencial de biocontrole de *Trichoderma* também pode ser estendido às plantas daninhas parasitas, uma vez que pode atuar como barreira fisiológica para prevenir a germinação de suas sementes, suprimindo sinais que estimulam o desenvolvimento de plantas daninhas, como ocorre com a degradação de estrigolactonas (Boari et al., 2016).

O diálogo de *Trichoderma* com as plantas modula os processos de sinalização mediados por fitohormônios (Hermosa et al., 2012). Durante o processo de colonização da raiz, um hormônio chave para o reforçar as paredes celulares é o ácido salicílico (SA), que restringe *Trichoderma* ao apoplasto (espaço extracelular constituído pelas paredes celulares e os espaços entre as células por onde circulam a água e os solutos), prevenindo assim sua chegada até o sistema vascular. A função principal do ácido salicílico na colonização por *Trichoderma* foi demonstrada com mutantes de *Arabidopsis* incapazes de sintetizar ácido salicílico, uma vez que as plantas que carecem deste fitohormônio não acumulam calose e permitem a disseminação vascular de *Trichoderma* até as partes aéreas, com o posterior colapso da planta (Alonso-Ramírez et al., 2014).

Trichoderma e a indução de defesas na planta

A enorme variedade de plantas hospedeiras de *Trichoderma* leva a pensar que não existe uma adaptação específica do fungo a um tipo de planta em particular, ainda que a comparação dos transcriptomas da cepa de *Trichoderma virens* Gv29-8 em tomate e milho sugira que o comportamento do fungo está condicionado por cada planta hospedeira (Morán-Diez et al., 2015). Também se sabe que os efeitos positivos de *Trichoderma* são extensíveis a muitas espécies de vegetais, pelo que também se pode pensar que, no diálogo molecular com a planta, é o *Trichoderma* quem marca uma pauta de comportamento, o que poderia ser chamado de “efeito *Trichoderma*”, cujos mecanismos estão começando a ser compreendidos (Hermosa et al., 2012, 2013).

Trichoderma estimula de forma sistêmica as defesas das plantas frente ao ataque de patógenos e condições edáficas e ambientais adversas, sem a necessidade de estabelecer contato direto com o invasor ou estar submetida a um estresse prévio. Os patógenos atacantes mais habituais controlados sistemicamente pelo efeito *Trichoderma* são fungos filamentosos, oomicetos e bactérias (Shoresh et al., 2010), apesar que também se veem ativadas as defesas frente a nematoides (Medeiros et al., 2017), insetos (Coppola et al., 2017) e vírus (Elsharkawy et al., 2013). Portanto, as plantas não percebem *Trichoderma* como um inimigo. Contudo, para alcançar a condição de “amigo” das plantas *Trichoderma* precisou desenvolver suas capacidades oportunistas, utilizar os exsudatos da raiz (Vargas et al., 2009) e superar as respostas iniciais de defesa das plantas (Morán-Diez et al., 2012).

As plantas são capazes de apresentar respostas imunológicas altamente específicas e manter uma memória duradoura frente ao ataque de patógenos. A primeira linha de defesa ativa se conhece como resposta imune inata, que entra em funcionamento quando moléculas dos atacantes, conhecidas como padrões moleculares associados a microrganismos (microbe associated molecular patterns - MAMP), que são evolutivamente muito conservadas (beta-glucanos e quitina da parede celular dos fungos, flagelina e peptídeo-glucano das bactérias, etc.), são detectadas por receptores denominados receptor de reconhecimento de padrões (pattern recognition receptors - PRR), que estão localizados na membrana celular de cada célula vegetal. Igualmente, os PRR também respondem a moléculas liberadas pela ação hidrolítica dos atacantes sobre os tecidos da planta (exemplos: oligômeros da parede celular e restos cuticulares), que são conhecidos como padrões moleculares associados ao dano (damage-associated molecular patterns - DAMP).

Quando se estimula um PRR se gera uma cascata de transdução de sinais que dá lugar a uma resposta imune conhecida como imunidade disparada por MAMPs (MAMP-triggered immunity - MTI). Como resultado, se produz a fortificação das paredes celulares da planta com a deposição de calose e de lignina; a produção de metabólitos secundários com ação antimicro-

bianas como as fitoalexinas; a acumulação de proteínas de defesa, conhecidas como proteínas relacionadas à patogênese (pathogenesis-related - PR), entre as quais se destacam as quitinases e as glucanases que hidrolisam a parede celular de fungos e oomicetos potencialmente invasores; e a acumulação de fitohormônios como ácido salicílico, etileno e ácido jasmônico (JA), consideradas protagonistas principais da resposta imune cujo sinal se transmite sistemicamente através das células vizinhas. A quantidade, composição e o momento em que a mistura de fitohormônios produzidos nas células vegetais variam de uma planta para outra e depende de seu estilo de vida e da estratégia empregada pelos atacantes (Pieterse et al., 2009). No caso de *Trichoderma*, a resposta imune, medida por estes fitohormônios, é dependente da cepa, sua concentração, a duração da interação e do estado de desenvolvimento e órgão da planta (Segarra et al., 2007).

Os patógenos que causam danos nas plantas são os que evoluíram para suprimir a defesa MTI. Eles liberam uma série de moléculas, conhecidas como “efetores”, que modulam a resposta imune inata e permitem a infecção ou a colonização endofítica (Lo Presti et al., 2015). Os genes que codificam moléculas efetoras obedecem a distintos padrões evolutivos e evidenciam a coevolução do patógeno com o seu respectivo hospedeiro (Franceschetti et al., 2017). As proteínas efetoras são secretadas no apoplasto ou no citoplasma da célula hospedeira. Os efetores também podem se translocar ao interior do núcleo celular, o que sugere que podem manipular a transcrição na célula hospedeira ou unir-se diretamente a componentes essenciais do núcleo em benefício do atacante que os há liberado (Rivas; Genin, 2011). Mais de 80 proteínas efetoras em fungos e oomicetos fitopatogênicos foram clonadas e caracterizadas (Selin et al., 2016).

Por sua vez, as plantas também evoluíram adquirindo a habilidade de reconhecer os efetores por meio de proteínas citoplasmáticas de resistência que contém repetições ricas em leucina (LRRs) e sítios de união a nucleotídeos (NBS), dando lugar a uma resposta imune adaptada (específica) conhecida como imunidade disparada por efetores (effector-triggered immunity - ETI). A coevolução entre atacantes e plantas tem gerado coleções de efetores microbianos intracelulares e proteínas NBS-LRR (também denominadas NLR) que os reconhecem. Assim, várias NLR estão super-representadas no proteoma de folhas de tomate em interação com *Trichoderma atroviride* (Marra et al., 2006). Por outro lado, se tem proposto que os receptores PRR, além de reconhecer MAMPs, também podem ser ativados pela ação dos efetores liberados no apoplasto (Win et al., 2012). A defesa frente aos colonizadores apoplásticos, como é o caso de *Trichoderma*, é do tipo ETI (porque é induzida por efetores), contudo também é do tipo MTI (já que, igual que os MAMPs, esses efetores são reconhecidos por receptores PRR da superfície celular). A defesa ETI se associa frequentemente com o desenvolvimento de uma resposta precoce, que gera estresses oxidativo e resposta de hipersensibilidade (HR), uma morte celular programada, localizada no sítio de infecção, que previne a disseminação do patógeno

dentro da planta. O fato de que algumas cepas de *Trichoderma* suportem melhor que outros fungos do solo ao estresse oxidativo, lhes dá vantagem na rizosfera das plantas, onde se produz a liberação de espécies reativas do oxigênio como consequência da ETI. Na maioria dos casos, a aparição de hipersensibilidade implica na ativação das defesas dependentes de ácido salicílico, que se conhecem como resistência sistêmica adquirida (SAR), e no caso particular de *Trichoderma* se necessita ácido salicílico para limitar sua presença no apoplasto da epiderme e do córtex, evitando que alcance os vasos vasculares (Alonso-Ramírez et al., 2014).

Os fitohormônios ácido jasmônico e etileno também são reguladores importantes do sistema imune das plantas, ativando o que se conhece como resistência sistêmica induzida (ISR), que está especialmente relacionada com a defesa que apresentam as plantas frente aos patógenos necrotróficos, microrganismos benéficos e insetos herbívoros (Pieterse et al., 2014). *Trichoderma* supera a defesa dependente de ácido salicílico por meio do incremento das respostas sensíveis a ácido jasmônico/etileno e auxina, que atuam como antagonistas do ácido salicílico (Brotman et al., 2013). Esta afirmação está apoiada na forte sub-regulação de genes relacionados com a resposta ao ácido salicílico observada depois de 4 h da inoculação de *T. harzianum* em plantas de *Arabidopsis*, seguida de um incremento na expressão de genes marcadores da resposta ao ácido salicílico e a sobre-regulação de genes relacionados com as respostas dependentes do ácido abscísico (ABA), depois de 48 h. Tudo indica que *Trichoderma* tem que fazer frente às defesas da planta desde os primeiros momentos da interação, quando a resposta inicial SAR (resistência sistêmica adquirida) não tenha ainda alcançado sua máxima intensidade, permitindo assim a colonização da epiderme e do córtex, e que a sub-regulação de genes relacionados com a resposta ao ácido salicílico seria suficiente para prevenir a disseminação indiscriminada do fungo na raiz.

A habilidade de ativar a resposta ISR (resistência sistêmica induzida) de forma independente ao ácido salicílico é uma característica comum dos microrganismos benéficos (Pieterse et al., 2014) que foi observada pela primeira vez em *T. asperellum* colonizando raízes de pepino, onde foi detectada ISR (resistência sistêmica induzida) dependente de JA/ET (ácido jasmônico/etileno) na parte aérea da planta em menos de 48 h (Shoresh et al., 2005). Não obstante, existem estudos que demonstram que o ácido salicílico atua como regulador da defesa ISR (resistência sistêmica induzida) ativada por *Trichoderma* (Morán-Díez et al., 2009; Salas-Marina et al., 2011; Mathys et al., 2012; Martínez-Medina et al., 2013). Também se tem observado que *Trichoderma* regula os níveis de etileno endógeno na planta (Viterbo et al., 2010) e que também produz os fitohormônios auxina (Contreras-Cornejo et al., 2009) e ácido salicílico (Pérez et al., 2015), que afetam o crescimento e as defesas da planta.

Um modelo explicativo do diálogo molecular entre *Trichoderma* e as plantas foi proposto. Neste modelo, no qual dependendo do momento e do resultado do estímulo provocado

por *Trichoderma*, a homeostase fitohormonal (com ácido salicílico, ácido jasmônico, etileno, ácido abscísico, giberilinas e auxinas como principais atores) controla por sua vez o desenvolvimento e as defesas da planta (Hermosa et al., 2012). Este modelo ajudaria a entender os mecanismos pelos que *Trichoderma* contribui para incrementar a capacidade de crescimento das plantas, a resistência às doenças e a tolerância aos estresses abióticos. No entanto, o diálogo que mantém *Trichoderma* com as plantas é dinâmico e a expressão dos genes que determinam as respostas SAR (resistência sistêmica adquirida) e ISR (resistência sistêmica induzida) se sobrepõe de maneira ondulatória, concordando com a habilidade de *Trichoderma* para crescer dentro e fora das raízes, provocando uma resposta sistêmica que a planta é capaz de recordar em presença de estresses bióticos e abióticos (Rubio et al., 2014). Ao longo do tempo, as mudanças causadas por *Trichoderma* no transcriptoma da planta vão sendo diminuídas ou, o que é a mesma coisa, a frequência e amplitude da resposta ondulatória se estende durante várias semanas até desaparecer. Assim, temos comprovado que somente alguns poucos genes de tomate, relacionados com o metabolismo e a defesa, modificaram seu perfil de expressão depois de três semanas da aplicação de *T. harzianum* nas raízes (Domínguez et al., 2016).

A indução das defesas sistêmicas frente aos estresses ambientais é possivelmente a característica menos estudada em *Trichoderma*. Recentemente, observamos que a aplicação de fertilizante nitrogenado e doses adequadas de *T. harzianum* apresentam efeito sinérgico, contudo é produzido um decaimento das plantas de tomate se aplicados conjuntamente em determinadas condições de estresse salino (Rubio et al., 2017). A relevância destes resultados é que se descreve que a super estimulação da planta por dupla fertilização com *Trichoderma* e fertilizantes nitrogenados, sob condições sub-ótimas para a planta, dá lugar a um desequilíbrio fitohormonal que provoca alterações fenotípicas indesejáveis. Portanto, independentemente de seu uso como agente de controle biológico ou como bioestimulante, resultará de vital importância ajustar as doses de *Trichoderma* aplicadas a cada planta em função das condições de cada cultivo.

Em um estudo realizado entre Brasil e Espanha, na Universidade de Salamanca, foi observado que plantas de tomate inoculadas com *Trichoderma* e infectadas com o nematoide das galhas *Meloidogyne javanica* expressam ondulatoriamente genes de defesa sistêmica, dependentes de ácido salicílico ou de ácido jasmônico, em função da fase do ciclo infectivo do nematoide (Medeiros et al., 2017). Neste mesmo estudo, também foi comprovado que a descendência de plantas de tomate submetidas ao “efeito *Trichoderma*” herdaram a resistência a patógenos e a promoção de crescimento de seus progenitores (Medeiros et al., 2017). O resultado final é indicativo de que *Trichoderma* reprograma as células de tomate podendo causar alterações epigenéticas nos nós que regulam as respostas transgeracionais da defesa e do crescimento da planta.

Considerações Finais

Trichoderma é um fungo oportunista que apresenta capacidade de colonizar substratos variados sob condições ambientais muito diversas, possui o maior número de enzimas hidrolíticas encontradas no Reino Fungi e possui também um sistema muito poderoso de reparação celular que lhe permite crescer em condições adversas. A exploração da capacidade de *Trichoderma* para atacar outros fungos tem permitido o desenvolvimento de numerosos agentes de controle biológico com demonstrada eficácia em distintos sistemas produtivos. Nos últimos anos são cada vez mais frequentes os estudos descrevendo que *Trichoderma* promove o crescimento das plantas e a germinação de sementes, que estimula sistemicamente as defesas das plantas frente aos patógenos e também frente a estresses ambientais. Tudo isto constitui o que pode ser chamado de “efeito *Trichoderma*”. Como resultado do diálogo de *Trichoderma* com as plantas entram em jogo distintos sistemas de regulação gênica que fazem com que a planta responda a este efeito, crescendo mais e melhor, adaptando-se às condições sub-ótimas de cultivo ou defendendo-se por meio de mecanismos de resistência sistêmica. A exploração eficiente das capacidades de biocontrole e de bio-estimulação de *Trichoderma* dependerá da nossa capacidade de selecionar as melhores cepas e estabelecer as melhores condições de uso. Finalmente, o “efeito *Trichoderma*” é suscetível de ser herdado, o que abre um enorme leque de possibilidades de aplicação deste fungo na produção de sementes e de mudas.

Referências

- ALONSO-RAMÍREZ, A.; POVEDA, J.; MARTÍN, I.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; NICOLÁS, C. Salicylic acid prevents *Trichoderma harzianum* from entering the vascular system of roots. **Molecular Plant Pathology**, v. 15, n. 8, p. 823-831, 2014.
- ATANASOVA, L. Ecophysiology of *Trichoderma* and *Gliocladium* in genome perspective. In: GUPTA, V. S.; SCHMOLL, M.; HERRE-RA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I., TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and biology of Trichoderma**. Boston: Elsevier, 2014. p. 25-40.
- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, p. 121, 2013.
- BAE, H.; SICHER, R. C.; KIM, M. S.; KIM, S-H.; STREM, M. D.; MELNICK, R. L.; BAILEY, B. A. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DJ5 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 11, p. 3279-3295, 2009.
- BAKER, R.; ELAD, Y.; CHET, I. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. **Phytopathology**, v. 74, n. 9, p. 1019-1021, 1984.
- BOARI, A.; CIASCA, B.; PINEDA-MARTOS, R.; LATTANZIO, V. M.; YONEYAMA, K.; VURRO, M. Parasitic weed management by using strigolactones-degrading fungi. **Pest Management Science**, v. 72, n. 11, p. 2043-2047, 2016.
- BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; CUADROS-INOSTROZA, A.; TAKAYUKI, T.; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VITERBO, A.; WILLMITZER, L. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLoS Pathogens**, v. 9, e1003221, 2013.

- BUYSENS, C.; CÉSAR, V.; FERRAIS, F.; DE BOULOIS, H. D.; DECLERCK, S. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizopagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 137-143, 2016.
- CARRERO-CARRÓN, I.; RUBIO, M. B.; NIÑO-SÁNCHEZ, J.; NAVAS, J. A.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Interactions between *Trichoderma harzianum* and defoliating *Verticillium dahliae* in resistant and susceptible wild olive clones. **Plant Pathology**, v. 67, n. 8, p. 1758-1767, 2018.
- CHANDANIE, W. A.; KUBOTA, M.; HYAKUMACHI, M. Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and plant growth-promoting fungi and their significance for enhancing plant growth and suppressing damping-off of cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Applied Soil Ecology**, v. 41, n. 3, p. 336-341, 2009.
- CHANG, Y.; CHANG, Y.; BAKER, R.; KLEIFELD, O.; CHET, I. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v. 70, n. 2, p. 145-148, 1986.
- CHEN, L.; YANG, X.; RAZA, W.; LI, J.; LIU, Y.; QIU, M.; ZHANG, F.; SHEN, Q. *Trichoderma harzianum* SQR-T037 rapidly degrades allelochemicals in rhizospheres of continuously cropped cucumbers. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 5, p. 1653-1663, 2011.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; DEL-VAL, E.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; ALARCÓN, A.; GONZÁLEZ-ESQUIVEL, C. E.; LARSEN, J. *Trichoderma atroviride*, a maize root associated fungus, increases the parasitism rate of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* by its natural enemy *Campoletis sonorensis*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 122, p. 196-202, 2018.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PANGO, C.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.
- COPPOLA, M.; CASCONI, P.; CHIUSANO, M. L.; COLANTUONO, C.; LORITO, M.; PENNACCHIO, F.; RAO, R.; WOO, S. L.; GUERRIERI, E.; DIGILIO, M. C. *Trichoderma harzianum* enhances tomato indirect defense against aphids. **Insect Science**, v. 24, n. 6, p. 1025-1033, 2017.
- DE JAEGER, N.; DECLERCK, S.; DE LA PROVIDENCIA I. E. Mycoparasitism of arbuscular mycorrhizal fungi: a pathway for the entry of saprotrophic fungi into roots. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 73, n. 2, p. 312-322, 2010.
- DOMÍNGUEZ, S.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; NICOLÁS, C.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase *amdS* gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1182, 2016.
- DRUZHININA, I. S.; CHENTHAMARA, K.; ZHANG, J.; ATANASOVA, L.; YANG, D.; MIAO, Y.; RAHIMI, M. J.; GRUJIC, M.; CAI, F.; POURMEHDI, S.; SALIM, K. A.; PRETZER, C.; KOPCHINSKY, A. G.; HENRISSAT, B.; KUO, A.; HUNDLEY, H.; WANG, M.; AERTS, A.; SALAMOV, A.; LIPZEN, A.; LABUTTI, K.; BARRY, K.; GRIGORIEV, I. V.; SHENG, Q.; KUBICEK, C. P. Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. **PLoS Genetics**, v. 14, n. 4, e1007322, 2018.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Natural Reviews. Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.
- ELSHARKAWY, M. M.; SHIMIZU, M.; TAKAHASHI, H.; OZAKI, K.; HYAKUMACHI, M. Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma asperellum* SKT-1. **Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 2, p. 193-200, 2013.
- EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A.; CIMMINO, A.; GANASSI, S.; ALTOMARE, C.; FAVILLA, M.; DE CRISTOFARO, A.; VITAGLIANO, S.; SABATINI, M. A. Bisorbicillinoids produced by the fungus *Trichoderma citrinoviride* affect feeding preference of the aphid *Schizaphis graminum*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 5, p. 533-541, 2009.
- FLORES, A.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A. Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene *prb1*. **Current Genetics**, v. 31, n. 1, p. 30-37, 1997.
- FRANCESCHETTI, M.; MAQBOOL, A.; JIMENEZ-DALMARONI, M. J.; PENNINGTON, H. G.; KAMOUN, S.; BANFIELD, M. J.

Effectors of filamentous plant pathogens: commonalities amid diversity. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 81, n. 2, e00066-16, 2017.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and biology of *Trichoderma***. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125-137.

HERMOSA, R.; GRONDONA, I.; ITUARRIAGA, E.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J.; CASTRO, C.; MONTE, E.; GARCÍA-ACHA, I. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 1890-1898, 2000.

HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 69-80, 2013.

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

KESWANI, C.; MISHRA, S.; SARMA, B. K.; SINGH, S. P.; SIGH, H. B. Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 98, p. 533-544, 2014.

KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; MARTINEZ, D. A.; DRUZHININA, I. S.; THON, M.; ZEILINGER, S.; CASAS-FLORES, S.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K.; MUKHERJEE, M.; KREDICS, L.; ALCARAZ, L. D.; AERTS, A.; ANTAL, S.; ATANASOVA, L.; CERVANTES-BADILLO, M. G.; CHALLACOMBE, J.; CHERTKOV, O.; MCCLUSKEY, K.; COULPIER, F.; DESHPANDE, N.; HANS VON DÖHREN, H. von; EBBOLE, D. J.; ESQUIVEL-NARANJO, E. U.; FEKETE, E.; FLIPPPI, M.; GLASER, F.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, E. Y.; GRUBER, S.; HAN, C.; HENRISSAT, B.; HERMOSA, R.; HERNÁNDEZ-OÑATE, M.; KARAFKA, L.; KOSTI, I.; LE CROM, S.; LINDQUIST, E.; LUCAS, S.; LÜBECK, M.; LÜBECK, P. S.; MARGEOT, A.; METZ, B.; MISRA, M.; NEVALAINEN, E.; OMANN, M.; PACKER, N.; PERRONE, G.; URESTI-RIVERA, E. E.; SALAMOV, A.; SCHMOLL, S.; SEIBOTH, B.; SHAPIRO, H.; SUKNO, S.; TAMAYO-RAMOS, J. A.; TISCH, D.; WIEST, A.; WILKINSON, H. H.; ZHANG, M.; COUTINHO, P. M.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; BAKER, S. E.; GRIGORIEV, I. V. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, R40, 2011.

LI, R. X.; CAI, F.; PANG, G.; SHEN, Q. R.; LI, R.; CHEN, W. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. **PLoS One**, v. 10, n. 6, e0130081, 2015.

LI, H. Y.; LUO, Y.; ZHANG, X. Z.; SHI, W. L.; GONG, Z. T.; SHI, M.; CHEN, L. L.; CHEN, X. L.; ZHANG, Y. Z.; SONG, X. Y. Trichokonins from *Trichoderma pseudokoningii* SMP2 induce resistance against gram-negative *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Chinese cabbage. **FEMS Microbiology Letters**, v. 354, n. 1, p. 75-82, 2014.

LO PRESTI, L.; LANVER, D.; SCHWEIZER, G.; TANAKA, S.; LIANG, L.; TOLLOT, M.; ZUCCARO, A.; REISSMANN, S.; KAHMANN, R. Fungal effectors and plant susceptibility. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 513-545, 2015.

MARRA, R.; AMBROSINO, P.; CARBONE, V.; VINALE, F.; WOO, S. L.; RUOCCO, M.; CILIENTO, R.; LANZUISE, S.; FERRAIOLI, S.; SORIENTE, I.; GIGANTE, S.; TURRA, D.; FOGLIANO, V.; SCALA, F.; LORITO, M. Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens by using a proteomic approach. **Current Genetics**, v. 50, n. 5, p. 307-321, 2006.

MARRA, R.; LOMBARDI, N.; D'ERRICO, G.; TROISI, J.; SCALA, G.; VINALE, F.; WOO, S. L.; BONANOMI, G.; LORITO, M. Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1814-1822, 2019.

- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNÁNDEZ, I.; SÁNCHEZ-GUZMÁN, M. J.; JUNG, S. C.; PASCUAL, J. A.; POZO, M. J. Deciphering the hormonal signaling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, article 206, 2013.
- MASTOURI, F.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.
- MASUNAKA, A.; HYAKUMACHI, M.; TAKENAKA, S. Plant growth-promoting fungus, *Trichoderma koningii* suppresses isoflavonoid phytoalexin vestitol production for colonization on/in the roots of *Lotus japonicus*. **Microbes and Environments**, v. 26, n. 2, p. 128-134, 2011.
- MATHYS, J.; DE CREMER, K.; TIMMERMANS, P.; VAN KERCKHOVE, S.; LIEVENS, B.; VANHAECKE, M.; CAMMUE, B. P.; DE CONINCK, B. Genome-wide characterization of ISR induced in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma hamatum* T382 against *Botrytis cinerea* infection. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 108, 2012.
- MEDEIROS, H. A.; ARAUJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atrovirens*. **Scientific Reports**, v. 7, article 40216, 2017.
- MENDOZA-MENDOZA, A.; ZAID, R.; LAWRY, R.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; HORWITZ, B.; MUKHERJEE, P. K. Molecular dialogue between *Trichoderma* and roots. Role of the fungal secretome. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 62-85, 2018.
- MONTE, E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. **International Microbiology**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2001.
- MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Functional analysis of the *Trichoderma harzianum nox1* gene, encoding an NADPH oxidase, relates production of reactive oxygen species to specific biocontrol activity against *Pythium ultimum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 9, p. 3009-3016, 2011.
- MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; NICOLÁS, C.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Overexpression of a *Trichoderma HSP70* gene increases fungal resistance to heat and other abiotic stresses. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, n. 11, p. 1506-1513, 2008.
- MORÁN-DIEZ, E.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. TvDim1 of *Trichoderma virens* is involved in redox-processes and confers resistance to oxidative stresses. **Current Genetics**, v. 56, n. 1, p. 63-73, 2010.
- MORÁN-DIEZ, E.; HERMOSA, M. R.; AMBROSIO, P.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; LORITO, M.; MONTE, E. The ThPG1 endopolygalacturonase is required for the *Trichoderma harzianum*-plant beneficial interaction. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 8, p. 1021-1031, 2009.
- MORÁN-DIEZ, E.; RUBIO, B.; DOMÍNGUEZ, S.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; NICOLÁS, C. Transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* after 24 h incubation with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 6, p. 614-620, 2012.
- MORÁN-DIEZ, M. E.; TRUSHINA, N.; LAMDAN, N. L.; ROSENFELDER, L.; MUKHERJEE, P. K.; KENERLEY, C. M.; HORWITZ, B. A. Hostspecific transcriptomic pattern of *Trichoderma virens* during interaction with maize or tomato roots. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 8, 2015.
- MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma* - a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012.
- PÉREZ, E.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; BETTIOL, W.; MONTE, E.; HERMOSA, R. The importance of chorismate mutase in the biocontrol potential of *Trichoderma parareesei*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, article 1181, 2015.
- PIETERSE, C. M.; LEÓN-REYES, A.; ENT, S. V. D.; WEES, S. C. VAN. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. **Nature Chemical Biology**, v. 5, p. 308-316, 2009.
- PIETERSE, C. M.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; WEES, S. C. van; BAKKER, P. A. Induced systemic resistance by beneficial microbes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, p. 347-375, 2014.

- RIVAS, S.; GENIN, S. A plethora of virulence strategies hidden behind nuclear targeting of microbial effectors. **Frontiers in Plant Science**, v. 2, p. 104, 2011.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, M. R.; KECK, E.; MONTE, E. Specific PCR assays for the detection and quantification of DNA from the biocontrol strain *Trichoderma harzianum* 2413 in soil. **Microbial Ecology**, v. 49, n. 1, p. 25-33, 2005.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 294, 2017.
- RUBIO, M. B.; QUIJADA, N. M.; PÉREZ, E.; DOMÍNGUEZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Identifying beneficial qualities of *Trichoderma pararesei* for plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 6, p. 1864-1873, 2014.
- RUOCCO, M.; LANZUISE, S.; VINALE, F.; MARRA, R.; TURRÀ, D.; WOO, S. L.; LORITO, M. Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*: the role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 3, p. 291-301, 2009.
- SABATINI, M. A.; GANASSI, S.; ALTOMARE, C.; FAVILLA, M.; EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A. **Phagodeterrent compounds of fungal origin**. EP 2706846 A1, US 20140228448 A1, WO 2012153314 A1, 14 May 2012, 15 Nov. 2012.
- SALAS-MARINA, M. A.; SILVA-FLORES, M. A.; URESTI-RIVERA, E. E.; CASTRO-LONGORIA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; CASAS-FLORES, S. Colonization of Arabidopsis roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, n. 1, p. 15-26, 2011.
- SAMOLSKI, I.; RINCÓN, A. M.; PINZÓN, L. M.; VITERBO, A.; MONTE, E. The *qid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 129-138, 2012.
- SANZ, L.; MONTERO, M.; GRONDONA, I.; VIZCAÍNO, J. A.; LLOBELL, A.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Cell wall-degrading isoenzyme profiles of *Trichoderma* biocontrol strains show correlation with rDNA taxonomic species. **Current Genetics**, v. 46, n. 5, p. 277-286, 2004.
- SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; BELLIDO, D.; ODENA, M. A.; OLIVEIRA, E.; TRILLAS, I. Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum* strain T34. **Proteomics**, v. 7, n. 21, p. 3943-3952, 2007.
- SEIDL, V.; SEIBEL, C.; KUBICEK, C. P.; SCHMOLL, M. Sexual development in the industrial workhorse *Trichoderma reesei*. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, v. 106, n. 33, p. 13909-13914, 2009.
- SELIN, C.; DE KIEVIT, T. R.; BELMONTE, M. F.; FERNANDO, W. G. Elucidating the role of effectors in plant-fungal interactions: progress and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 600, 2016.
- SHAKERI, J.; FOSTER, H. A. PROTEOLYTIC ACTIVITY AND ANTIBIOTIC PRODUCTION BY *TRICHODERMA HARZIANUM* IN RELATION TO PATHOGENICITY TO INSECTS. **ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY**, v. 40, n. 4, p. 961-968, 2007.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.
- SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of the jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.
- SIVAN, A.; CHET, I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* of rhizosphere colonization. **Phytopathology**, v. 79, n. 2, p. 198-203, 1989.
- SUÁREZ, B.; REY, M.; CASTILLO, P.; MONTE, E.; LLOBELL, A. Isolation and characterization of PRA1, a trypsin-like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematocidal activity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 1, p. 46-55, 2004.
- SUÁREZ, M. B.; VIZCAÍNO, J. A.; LLOBELL, A.; MONTE, E. Characterization of genes encoding novel peptidases in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* CECT 2413 using the *TrichoEST* functional genomics approach. **Current Genetics**, v. 51, n. 5, p. 331-342, 2007.

- TIJERINO, A.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; MORAGA, J.; MALMIERCA, M. G.; ALEU, J.; COLLADO, I. G.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. Overexpression of the *Trichoderma brevicompactum tri5* gene: effect on the expression of the trichodermin biosynthetic genes and on tomato seedlings. **Toxins**, v. 3, n. 9, p. 1220-1232, 2011.
- VARGAS, W. A.; MANDAWA, J. C.; KENERLEY, C. M. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants. **Plant Physiology**, v. 151, n. 2, p. 792-808, 2009.
- VARGAS, W. A.; MUKHERJEE, P. K.; LAUGHLIN, D.; WIEST, A.; MORÁN-DIEZ, M. E.; KENERLEY, C. M. Role of gliotoxin in the symbiotic and pathogenic interactions of *Trichoderma virens*. **Microbiology**, v. 160, p. 2319-2330, 2014.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; BARBETTI, M. J.; LI, H.; WOO, S. L.; LORITO, M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 72, n. 1-3, p. 80-86, 2008.
- VITERBO, A.; LANDAU, U.; KIM, S.; CHERNIN, L.; CHET, I. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. **FEMS Microbiology Letters**, v. 305, n. 1, p. 42-48, 2010.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932.
- WEINDLING, R. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. **Phytopathology**, v. 24, p. 1153-1179, 1934.
- WIN, J.; CHAPARRO-GARCIA, A.; BELHAJ, K.; SAUNDERS, D. G.; YOSHIDA, K.; DONG, S.; SCHORNACK, S.; ZIPFEL, C.; RO-BATZEK, S.; HOGENHOUT, S. A.; KAMOUN, S. Effector biology of plant associated organisms: concepts and perspectives. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 77, p. 235-247, 2012.
- WOO, S. L.; PEPE, O. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1801, 2018.
- YEDIDIA, I.; SRIVASTVA, A. K.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil**, v. 235, n. 2, p. 235-242, 2001.
- YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; CHET, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 1061-1070, 1999.

Trichoderma: metabólitos secundários

Marcelo Henrique Soller Ramada

Fabyano Alvares Cardoso Lopes

Cirano José Ulhoa

Introdução

Fungos do gênero *Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales) são saprófitos componentes ativos da microbiota do solo, participando de inúmeros processos nesse ambiente. Tal gênero é conhecido por ser cosmopolita, encontrado em diversas partes do globo (Américas, Europa, Ásia, África e Oceania). O gênero *Trichoderma* pode ser encontrado tanto em regiões frias (ex. *T. aureoviride*, presente apenas no Reino Unido e Europa) quanto em regiões de clima tropical (ex. *T. stromaticum*, encontrado apenas nas Américas) (Samuels, 2006; Samuels et al., 2000). Há, também, relatos da presença de *Trichoderma* spp. em condições extremas como em solo Antártico (Hughes et al, 2007) e em tanques de querosene (Klein; Eveleigh, 1998).

Essa versatilidade em ocupar diferentes habitats está relacionada a plasticidade genética de indivíduos desse gênero, permitindo sua sobrevivência em diversas localidades e condições distintas (Benítez et al., 2004; Druzhinina et al, 2012; Zeilinger et al., 2016). Fatores ambientais que são reconhecidos por proteínas receptoras desencadeiam a transdução de sinais que resultam, normalmente, na ativação ou repressão de diferentes genes (Zeilinger et al., 2016). Essa alteração no perfil de transcritos culmina na produção de um conteúdo proteico distinto, evidenciando sua capacidade metabólica diversificada e, conseqüentemente, uma resposta do organismo ao estímulo percebido (Kubicek et al, 2008).

Devido a sua ampla distribuição, consequência de seu sucesso metabólico, o gênero *Trichoderma* tem sido alvo de inúmeros estudos focados em investigar sua parceria com a microbiota e com plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas (Harman et al., 2004; Lopes et al., 2012; Ramada et al., 2016; Steindorff et al., 2014; Vinale et al., 2008, 2009; Viterbo et al., 2007). A

utilização do gênero *Trichoderma* tem sido satisfatória em diversas lavouras por inúmeros motivos, como promover a resistência de plantas (Harman et al., 2004; Osbourn, 2010; Vinale et al., 2012) ou no controle do crescimento da população de vários fitopatógenos que atacam uma grande variedade de culturas agrícolas (Medeiros et al., 2017; Debode et al., 2018; Almeida et al., 2007; Geraldine et al., 2013; Marra et al., 2019). Assim, o gênero *Trichoderma* vem sendo amplamente utilizado como agente de biocontrole de fungos fitopatogênicos de importância agrícola.

No Brasil, a maioria dos produtos registrados à base de agentes de biocontrole são formulações contendo como ingrediente ativo conídios de *Trichoderma* spp. (Agrofit, c2003). Contudo, à medida que pesquisas avançam no entendimento dos componentes químicos de *Trichoderma* spp. que estão envolvidos na capacidade do mesmo em interagir com plantas e fitopatógenos, aumenta-se o interesse na elaboração de produtos a partir desses metabólitos. Dessa forma, esse capítulo visa discutir, em linhas gerais, o conhecimento existente acerca dos metabólitos, principalmente os secundários, produzidos por *Trichoderma* spp. durante sua interação com a microbiota e plantas de interesse econômico.

***Trichoderma* spp. e o metabolismo secundário**

O gênero *Trichoderma* é conhecido por ser extremamente competitivo na colonização de um ambiente, o que leva a alteração da comunidade microbiana como um todo (Chen et al., 2012). O motivo do sucesso do gênero *Trichoderma* na colonização de diversos ambientes é o mesmo motivo desse gênero ser utilizado para o controle do crescimento dos fitopatógenos: competição por nutrientes, produção de enzimas capazes de hidrolisar a parede celular do hospedeiro e produção de metabólitos secundários (Sivan; Chet, 1989).

O termo “metabólitos secundários” refere-se a compostos quimicamente diversos que estão envolvidos em vias de sinalização, desenvolvimento e interação com outros organismos. De forma geral, os metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma* spp. são frequentemente associados a certas atividades que ocorrem no metabolismo fúngico, porém, eles não são cruciais durante a fase de crescimento (Chiang et al., 2009; Keller et al, 2005). Apesar de não exercerem um papel fundamental no crescimento e desenvolvimento do fungo, os metabólitos secundários são importantes na colonização de habitats, oferecendo uma vantagem ecológica na conquista do ambiente. Assim, a ampla variedade de metabólitos secundários é relacionada com a grande diversidade de organismos-alvo que o gênero *Trichoderma* consegue parasitar (Mukherjee et al, 2012; O’Brien; Wright, 2011).

Metabólitos secundários são compostos de baixa massa molecular (< 3 kDa) e bastante apreciados no ramo industrial e agrícola (Herbert, 1989; Vinale et al., 2014), podendo exibir uma infinidade de funções biológicas e atuar como protagonistas em diversas interações entre organismos (ex. fungo - fungos, fungo - planta, fungo - microbiota) (Hanson, 2003). A

produção dos metabólitos secundários pode ser vinculada a duas rotas de síntese nos fungos: i - alteração de algum metabólito primário, como Acetil Coenzima A e aminoácidos, pela via das policetídeo sintases, do mevalonato, dentre outras (Vinale et al., 2014); ii - produtos de complexos enzimáticos chamados de sintetases não ribossomais, conhecidos como *peptaibols* (Mukherjee et al., 2011).

Atualmente, são conhecidas mais de 500 tipos de estruturas distintas (Brito et al., 2014; Patil et al., 2016; Reino et al., 2008). Compostos como quinonas, pironas, terpenóides, esteroides (Reino et al., 2008), gliotoxinas, gliovirinas (Howell, 1991; Weindling; Emerson, 1936) e os peptídeos antibióticos (*peptaibols*) (Daniel; Rodrigues Filho, 2007) são exemplos de grupos de metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma* spp. Dentro da diversidade de metabólitos secundários produzidos pelo gênero *Trichoderma*, alguns metabólitos se destacam pelo seu uso na indústria, pela sua eficiência em sua atividade antibiótica ou por sua importância na promoção de eventos benéficos às plantas (Tabela 1). As relações desses metabólitos com fitopatógenos e com plantas será abordada a seguir.

Tabela 1. Principais metabólitos secundários produzidos pelo gênero *Trichoderma*.

Classes	Metabólito secundário	Espécie de <i>Trichoderma</i>	Atividades	Organismos alvos	Referências
Epipolítiodioxipiperazinas	Gliotoxina e gliovirinas	<i>T. virens</i>	Antimicrobiana	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium ultimum</i>	(Howell, 1991; Patron et al., 2007; Weindling, 1932)
Policetídeos	Antroquinonas	<i>T. polysporum</i>	Antimicrobiana	<i>Fomes annosus</i> , <i>Fusarium</i> spp.	(Donnelly; Sheridan, 1986; Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998)
	Koningininas A, B, C, D, E, G, L, M	<i>T. harzianum</i> , <i>T. koningii</i> , <i>T. aureoviride</i>	Antimicrobiana	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Phytophthora cinnamomi</i> , <i>Pythium middletonii</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> , <i>Gaeumannomyces graminis</i>	(Almassi et al., 1991; Dunlop et al., 1989; Ghisalberti; Rouland, 1993; Lang et al., 2015)
Pironas	6-pentil- α -pirona (6-PP)	<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. atroviride</i>	Antimicrobiana e induções benéficas a plantas	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium moniliforme</i>	(Dennis; Webster, 1971; El-Hasan; Buchenauer, 2009)
	Massoillactona	<i>T. harzianum</i> , <i>T. virens</i>	Antimicrobiana	<i>Rhizoctonia bataticola</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>	(Dubey et al., 2011)
Terpenóides	Viridíol	<i>T. virens</i> , <i>T. hamatum</i>	Antimicrobiana	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i>	(Howell; Stipanovic, 1994; Sakuno et al., 2000; Wipf; Kerekes, 2003)
	Viridina	<i>T. viride</i> , <i>T. virens</i>	Antimicrobiana	<i>Fusarium caeruleum</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus niger</i>	(Reino et al., 2008)
Compostos heterocíclicos	Harzianopiridona	<i>T. harzianum</i>	Antimicrobiana e induções benéficas a plantas	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Gaeumannomyces graminis</i> , <i>Pythium ultimum</i>	(Vinale et al., 2006)
	Ácido harziânico	<i>T. harzianum</i>		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>	(Vinale et al., 2009)
Butenolídeos	Butenolídeo	<i>T. harzianum</i>	Antimicrobiana e induções benéficas a plantas	<i>Pythium ultimum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Gaeumannomyces graminis</i>	(Almassi et al., 1991; Claydon et al., 1991; Ordentlich et al., 1992; Vinale et al., 2006)
<i>Peptaibols</i>	Trichotoxinas e Asperelinas	<i>T. asperellum</i> , <i>T. viride</i>	Antimicrobiana e induções benéficas a plantas	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Artemia salina</i>	(Brewer et al., 1982; Brito et al., 2014; Brückner; Graf, 1983; Chutrakul et al., 2008; Irmischer; Jung, 1977; Ren et al., 2013)

Metabólitos envolvidos na interação *Trichoderma* e fitopatógenos

Alguns metabólitos produzidos por fungos possuem uma ação antagonista a outros fungos, inibindo o crescimento e/ou sendo tóxico ao fungo alvo. Em 1932, Weindling observou que a espécie *Trichoderma lignorum*, posteriormente identificada como *T. virens*, era capaz de parasitar outros fungos (Weindling, 1932). Anos após, foi observado que parte dessa ação antagonista a outros fungos era devido, também, a capacidade de secretar um composto que viria a ser chamado de gliotoxina (Weindling; Emerson, 1936).

No campo agrícola, o gênero *Trichoderma* é utilizado como agente de biocontrole e possui uma grande eficiência no manejo de diversas doenças de plantas de difícil controle, como por exemplo, o mofo-branco. O controle dessas doenças, causadas principalmente por fungos fitopatogênicos habitantes do solo, ocorre por uma orquestrada rede de ações que envolve tanto o *Trichoderma* spp. quanto o fungo atacado (Figura 1). A secreção de metabólitos secundários voláteis por *Trichoderma* spp. é fundamental para o contato inicial com a população do fitopatógeno, pois essa resposta será o gatilho que desencadeará o processo de micoparasitismo (Schirmböck et al., 1994; Zeilinger; Omann, 2007).

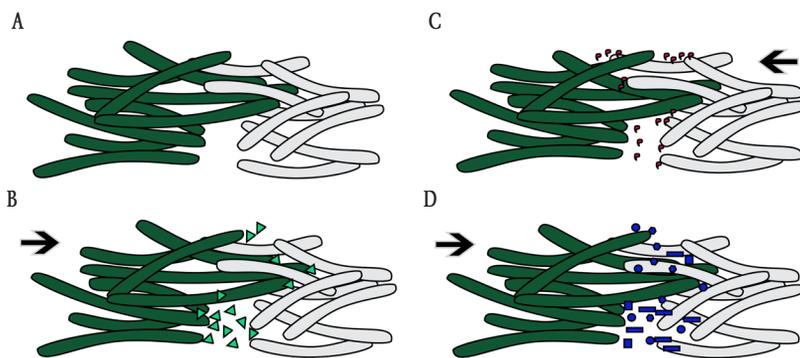


Figura 1. Interação de *Trichoderma* spp. e fitopatógenos. (A) Encontro das hifas dos fungos. (B) Metabólitos produzidos por *Trichoderma* spp. (triângulo verde claro). (C) Resposta do fitopatógeno (vermelho) devido a ação do *Trichoderma* spp. (D) Contra resposta do *Trichoderma*: Secreção de enzimas hidrolíticas (azul). Setas indicam a direção da resposta. Hifas do *Trichoderma* estão representadas pela cor verde. Hifas do fitopatógeno estão representadas pela cor cinza.

Os metabólitos secundários de *Trichoderma* tem sido alvo de diversos estudos de diferentes focos, podendo se destacar, o biotecnológico que visa a procura de um novo composto de ação efetiva ou o molecular, que tem o intuito de compreender como esses compostos impactam no processo de micoparasitismo. O gênero *Trichoderma* produz diversos grupos de metabólitos secundários, parte amplamente estudado e uma outra parte com metabólicos

relativamente desconhecidos. Segundo Ghisalberti; Sivasithamparam (1991), os metabólitos secundários antibióticos são divididos em três classes: i - antibióticos voláteis; ii - compostos solúveis em água; iii - peptaibols (Ghisalberti; Sivasithamparam, 1991)

Policetídeos

Os policetídeos pertencem a um grupo de metabólitos secundários que apresentam estruturas e funções diversas. A biossíntese desses compostos ocorre a partir da junção de unidades repetitivas de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato ou propionato, de maneira similar a biossíntese de ácidos graxos. A reação de condensação é catalisada pelas enzimas policetídeo sintases (Patil et al., 2016).

A principal função observada para essa classe de metabólitos está relacionada às suas atividades antibacterianas, antifúngicas, antiparasíticas e antitumorais, o que desperta o desejo para aplicações na área agrícola e farmacológica. Na agricultura, *Trichoderma* spp. são os principais produtores de policetídeos para usos benéficos. Como exemplos de compostos, temos as trichoharzinas (Kobayashi et al., 1993); trichodimerols (Zhang et al., 2014); trichodermatideos A, B, C e D (Sun et al., 2008); koningininas A, B, D, E e G (Almassi et al., 1991; Ghisalberti; Rouland, 1993); e koningininas L e M (Lang et al., 2015). Os policetídeos de *Trichoderma* spp. são relatados na literatura como tóxicos para *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cinnamomi*, *Pythium middletonii*, *Fusarium oxysporum* e *Bipolaris sorokiniana*.

Dentro da classe dos policetídeos, podemos citar as quinonas. A estrutura geral das quinonas apresenta um anel quinonóidico que pode apresentar modificações em sua estrutura, presença de anéis antraçênicos (antroquinonas) ou modificações que se assemelham a um benzeno devido as duplas ligações no ciclo (benzoquinonas), por exemplo. As espécies do gênero *Trichoderma* produzem antroquinonas e benzoquinonas que apresentam diferentes funções biológicas.

No gênero *Trichoderma*, a pigmentação esverdeada é devido a produção de antroquinonas na presença de raios UV (Betina et al., 1986; Ghisalberti, 2002). Além disso, já foi observado que as antroquinonas são produzidas quando representantes da espécie *T. polysporum* são colocados em contato com o fungo *Fomes annosus* e *Fusarium* spp., apresentando uma ação antagonista (Donnelly; Sheridan, 1986; Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998). Entre as antroquinonas existem as moléculas trichodermaol que apresenta atividade antagonista contra *Bacillus subtilis* e *Streptococcus aureus*, chrysophanol com atividade antagonista contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Aspergillus fumigatus* (Adachi et al., 1983; Agarwal et al., 2000). As benzoquinonas tem a característica de ser bastante volátil e possuir efeito antagonista contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, como por exemplo a aurantiogliocladina (Taylor, 1986).

Pironas

As pironas são compostos cíclicos que contêm seis anéis insaturados com um átomo de oxigênio e um grupo funcional cetona. As pironas são observadas em duas formas isoméricas: 2-pirona (α -pirona) e 4-pirona (γ -pirona). A -pirona é encontrada em abundância na natureza, tendo sido isolada de diversas fontes biológicas e que apresentam diversas atividades, como antifúngica, antibiótica, citotóxica, neurotóxica, fitotóxica, etc. (McGlacken; Fairlamb, 2005).

O gênero *Trichoderma* apresenta uma vasta gama de pironas como armas para combater patógenos. A 6-pentil- -pirona (6-PP) foi o primeiro metabólito volátil antifúngico estudado, isolado de *T. viride* (Collins; Halim, 1972), o qual apresentou proeminente potencial antifúngico contra *R. solani* (Dennis; Webster, 1971). Esse metabólito também é responsável pelo aroma de coco característico de *Trichoderma* spp. A elucidação da via biossintética de 6-PP sugere que a mesma pode ser realizada a partir da ação de enzimas da via de formação de policetídeos (Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998) ou a partir do ácido linoleico (Serrano-Carreón et al., 1993).

Em 1995, Hill e colaboradores propuseram o uso de *Trichoderma* como agente de biocontrole juntamente a duas lactonas com propriedades antibióticas: massoilactona e γ -decalactona (Hill et al, 1995). Outro composto que apresentou atividade proeminente contra *Sclerotium rolfsii* foi a viridepironona (Evidente et al., 2003). Vinale e colaboradores (2012) isolaram um derivado de uma hidroxil lactona, cerinolactona, e, mais recentemente, os pesquisadores isolaram a trichodermaerina, uma lactona diterpênica, de *T. asperellum*, que apresentou potencial atividade antifúngica (Chantrapromma et al., 2014; Vinale et al., 2012).

Terpenóides

Terpenos são uma importante classe de metabólitos secundários, que normalmente estão relacionados a defesa de plantas e aos microrganismos, além, de possuírem um forte odor (Patil et al, 2016). Os terpenos são hidrocarbonetos naturais formados a partir da condensação de unidades de isoprenos. Os terpenóides são similares aos terpenos, mas se diferenciam por possuírem algum tipo de grupo funcional adicional. Portanto, o termo terpenos e terpenóides são intercambiáveis.

Os terpenos podem ser categorizados em diferentes categorias com base no número de unidades de isoprenos incorporada no esqueleto principal. O isopreno, também chamado de 2-metil-1,3-butadieno, é um composto que possui cinco átomos de carbono (5C). Terpenos com duas unidades isoprenóides são chamados de monoterpenos (10C). A adição de uma ou mais unidades de isopreno leva as seguintes classificações: sesquiterpenos (15C), diterpenos (20C), sesterterpenos (25C), triterpenos (30C), carotenóides, etc. (Patil et al, 2016).

Trichoderma spp. apresentam uma grande variedade de terpenóides. Os ácidos

Trichodérmicos A e B foram isolados de *T. virens* (Yamaguchi et al., 2010) e apresentaram atividade anticâncer. Outros dois terpenóides, harzianona e trichoacorenol, foram descritos quando *Trichoderma* spp. interagia com *Xylocarpus granatum* (Zhang et al., 2014). Supõe-se que o gênero *Trichoderma* não produza monoterpênos ou que os produzam em baixas concentrações, visto que os mesmos ainda não foram descritos (Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998). Já o diterpeno harziandiona foi isolada de *T. harzianum*. Apesar desse último não ter sido testado para sua atividade, um composto similar isolado de *T. viride*, que apresentava a mesma estrutura química, apresentou atividade antifúngica (Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998).

Triterpenos e esteróis, como lanostadiol, ergosterol, pirocalciferol, entre outros, já foram descritos para *T. pseudokoningii* (Kamal et al, 1971). O viridiol, produzido por *T. hamatum*, é um esterol similar a viridina, isolada de *T. virens*, que levou a diminuição da produção de aflatoxinas por patógenos de plantas (Aloj et al., 2009; Sakuno et al., 2000). Outros terpenos como farnesyl (sesquiterpeno), geranyl-geranyl difosfato (diterpeno) e esqualeno (triterpeno) são outros exemplos de terpenos produzidos por *Trichoderma* spp.

Peptídeos antibióticos (peptaibols)

Trichoderma spp. produzem uma classe de metabólitos secundários que possuem aminoácidos não usuais, chamados de peptaibols. Estes são peptídeos hidrofóbicos, lineares, que apresentam aminoácidos não usuais como ácido α -amino isobutírico (Aib), isovaline (Iva), hidroxiprolina (Hyp), bem como um N-terminal acetilado e um C-terminal contendo um amino álcool (Brito et al., 2014).

Os peptaibols são denominados peptídeos não ribossomais. Isso se deve ao fato destes compostos não serem formados a partir da tradução de um mRNA, são sim por complexos multienzimáticos denominados Sintetases de Peptídeos Não Ribossomais (NRPSs, sigla em inglês) (Brito et al., 2014; Schwarzer et al, 2003). Estes complexos multienzimáticos são formados por um conjunto de módulos, sendo que cada módulo possui domínios catalíticos responsáveis pelas etapas da síntese do produto final (Brito et al., 2014; Schwarzer et al, 2003). A especificidade destes domínios é variável. Alguns sítios de ligação são altamente conservados (Brito et al., 2014; Zeilinger et al., 2016), enquanto outros não. Um exemplo é o sítio para Aib, que parece aceitar Iva, Val e Ala, o que acaba criando uma mistura de peptídeos durante a biossíntese (Brito et al., 2014; Mukherjee et al., 2011; Stoppacher et al., 2013).

Trichoderma spp. são os principais produtores de peptaibols conhecido até o momento (Patil et al, 2016). Essas moléculas foram divididas em nove subfamílias de acordo com o número de aminoácidos, padrão e processamento no N ou C-terminal (Chugh; Wallace, 2001; Neuhofer et al., 2007). O primeiro peptaibol isolado foi a alameticina, de *T. viride* (Meyer; Reusser, 1967). Posteriormente, diversos autores identificaram peptaibols de *Trichoderma*

spp., como por exemplo Rebuffat e colaboradores que isolaram peptaibols de 19 resíduos de aminoácidos de *T. longibrachiatum* (Rebuffat et al., 1991), identificaram nove trichorzinas de dois isolados de *T. harzianum*, que variavam de 14 a 18 resíduos de aminoácidos (Rebuffat et al., 1995), e posteriormente Leclerc e colaboradores que analisaram sua biossíntese (Leclerc et al., 1998). Além destes isolados, também se conhece peptaibols provenientes de linhagens de *T. asperellum*, como asperelinas A, E e G-Z12, bem como as trichotoxinas T5D2, 1717A e A-50E, F e G (Brito et al., 2014; Chutrakul et al., 2008; Ren et al., 2013), *T. brevicompactum* (Degenkolb et al., 2008), *T. longibrachiatum* (Leclerc et al., 2001), *T. citrinoviridae* (Maddau et al., 2009), entre outros. Além desses citados, existem oito novos peptaibols de *T. atroviride* (Panizel et al., 2013), o que demonstra a grande variedade de espécies de *Trichoderma* e de peptaibols produzidos por esse gênero.

Outras classes de metabólitos secundários

Há, ainda, várias outras classes de metabólitos secundários. Dentre elas, podemos citar a classe das dicetopiperazinas (DCP) devido a sua importância histórica no estudo de metabólitos secundários em *Trichoderma* spp. As DCPs são os menores peptídeos cíclicos produzidos por microrganismos (Patil et al., 2016). A primeira DCP isolada foi a gliotoxina de *T. virens* (Weindling; Emerson, 1936), a qual se mostrou eficiente no controle do crescimento de *R. solani* (Howell et al., 1993). Já a gliovirina, obtida também de *T. virens*, não apresentava atividade contra *R. solani*. Contudo, a mesma era eficaz no controle de *P. ultimum* (Howell et al., 1993). As ações antimicrobianas dos diversos metabólitos secundários discutidos até o momento reforçam a importância da seleção de cepas de *Trichoderma* spp. que sejam bons produtores desses metabólitos para um maior sucesso como agente de biocontrole. Além disso, outra característica desejável é que a produção de metabólitos também possa induzir efeitos desejáveis nas plantas.

Metabólitos envolvidos na interação *Trichoderma* e planta

Sabe-se que *Trichoderma* spp. e a microbiota do solo trabalham de forma sincronizada, o que traz consequências diretas e positivas para plantas que habitam a mesma região, como aumento na eficiência na absorção de nutrientes e água, indução de resistência a doenças causadas por fitopatógenos e crescimento da mesma, por exemplo (Harman, 2006; Harman et al., 2004; Küçük et al., 2008). Neste contexto, diversos trabalhos têm focado nos efeitos benéficos de promoção de crescimento e indução da resposta imune em plantas.

Promoção de crescimento em plantas

A produção de antibióticos é normalmente correlacionada com a capacidade de *Trichoderma* spp. em controlar outros microrganismos. Contudo, além da atividade direta contra fitopatógenos, alguns compostos produzidos por *Trichoderma* são capazes de alterar substancialmente o metabolismo de plantas hospedeiras (Patil et al., 2016). O aumento na produtividade de plantas é evidente quando sementes expostas a conídios, porém separadas por papel celofane, sem contato, apresentam um aumento em seu crescimento, sugerindo que metabólitos de *Trichoderma* spp. atuam não somente como promotor de crescimento, mas também, como moléculas sinalizadoras (Benítez et al., 2004; Vinale et al., 2012).

Algumas cepas de *Trichoderma* são capazes de aumentar a biomassa de plantas promovendo crescimento lateral de raízes através de mecanismos dependentes de auxina (Contreras-Cornejo et al., 2009) e/ou são capazes de produzir o ácido indolacético (AIA) ou análogos de auxina (Hoyos-Carvajal et al., 2009). Cutler e colaboradores (Cutler et al., 1986, 1989) e Parker e colaboradores (Parker et al., 1995a, 1995b, 1997) isolaram, identificaram e testaram alguns metabólitos secundários, como as koningininas A-C, E, G e 1-5, de *T. koningii* e 6-PP de *T. harzianum*, tendo observado que esses compostos agem como reguladores do crescimento de plantas. Esses compostos apresentaram uma atividade dependente de concentração, sendo tóxico para o coleóptilo de trigo a 1 mM, mas não a 0,1 mM (Cutler et al., 1986, 1989; Parker et al., 1995a, 1995b, 1997). Essas duas espécies também apresentaram o ciclonerodiol, um sesquiterpeno que também induzia crescimento (Cutler; Jacyno, 1991; Ghisalberti; Rowland, 1993). Recentemente, um composto heterocíclico de nitrogênio, nomeado de ácido harziânico, foi isolado e testado em plântulas de canola (*Brassica napus*), o qual também apresentou atividade dependente da concentração (Vinale et al., 2009).

O efeito dose-resposta de metabólitos de *Trichoderma* spp. sob o crescimento e desenvolvimento de plantas deve ser investigado mais a fundo. Alguns metabólitos podem atuar como compostos similares a auxina, os quais possuem uma atividade ótima em baixas concentrações (10^{-1} μ M), porém, podem apresentar efeito inibitório em doses mais altas (Cleland, 1972). Observou-se que um butanolídeo (Vinale et al., 2012) e o 6-PP apresentaram atividade similar a auxina em caules de ervilha (*Pisum sativum*) estiolados e estimularam, também, o crescimento de plântulas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) e canola (Vinale et al., 2008).

Indução de resistência em plantas

Plantas acumulam compostos que ativam mecanismos de defesa sistêmica para proteger tecidos saudáveis. Esta resposta de longa duração e amplo espectro se apresenta de duas maneiras: resistência sistêmica adquirida ou SAR (*Systemic Acquired Resistance*) e resistência sistêmica induzida ou ISR (*Induced Systemic Resistance*), esta considerada mais branda do que a SAR

(Nunes, 2018; Pieterse et al., 2014). A ativação das respostas de defesa envolve a regulação do equilíbrio de hormônios vegetais como etileno (Et), ácido salicílico (SA) e ácido jasmônico (JA), o que varia de acordo com o organismo invasor e dos efetores envolvidos. A resposta a patógenos biotróficos ou patógenos avirulentos geralmente tem como molécula sinalizadora o SA e induz a SAR, ao passo que indutores de necrose (não patogênicos e simbiontes, além de possivelmente necrotróficos) ativam preferencialmente a cascata de sinalização que envolve JA/Et, correlacionada com a ISR (Bashir et al., 2016; Lata et al., 2015; Nunes, 2018; Walters et al., 2013). Ambas envolvem a cascata de sinalização de diferentes proteínas relacionadas a patogênese, mas os diferentes fitormônios ativam fatores de transcrição específicos resultando na modulação da expressão de enzimas e metabólitos que caracterizam cada via (Figura 2). As vias de sinalização são complexas e intrincadas e os fatores de transcrição (ex. MYC2) envolvidos atuam interdependentemente (Nunes, 2018).

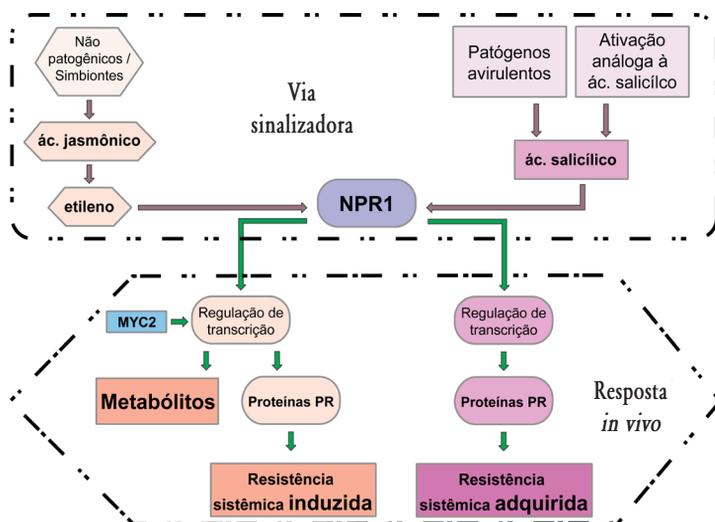


Figura 2. Mecanismo de ativação e ação de resistência sistêmica em plantas. A resistência sistêmica induzida e a resistência sistêmica adquirida são estimuladas por fatores externos variados que ativam cascatas que resultam em respostas de defesa da planta.

Além de promover crescimento, diferentes classes de metabólitos podem atuar como elicitores ou indutores de resistência durante a interação *Trichoderma*-planta (Woo et al., 2006; Woo; Lorito, 2007). A indução da resposta imune em plantas por *Trichoderma* spp. é desencadeada por diferentes classes de moléculas sinalizadoras (Figura 3), como proteínas, incluindo

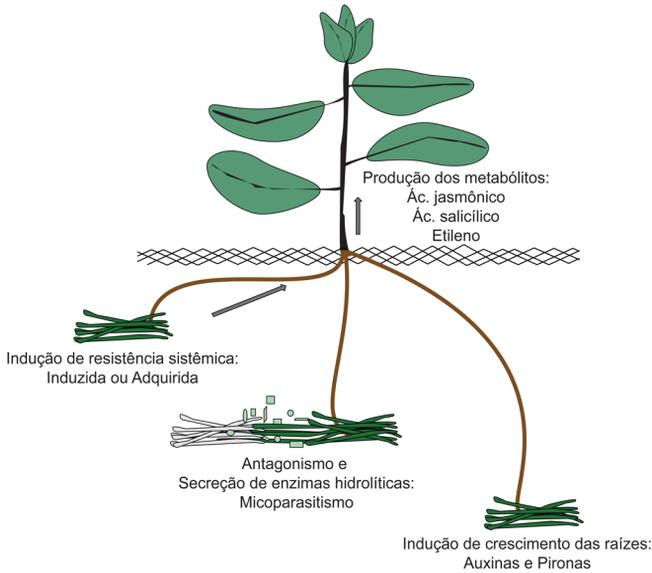


Figura 3. Interação do gênero *Trichoderma* e planta. O gênero *Trichoderma* traz efeitos indiretos (Antagonismo e Micoparasitismo) e diretos (Indução de resistência sistêmica e Promoção de crescimento) na planta. Hifas do *Trichoderma* estão representadas pela cor verde. Hifas do fitopatógeno estão representadas pela cor cinza.

as codificadas por genes de avirulência (*Avr*), peptídeos, enzimas, pequenas moléculas como oligossacarídeos provenientes da degradação de paredes celulares e metabólitos secundários (Hermosa et al., 2012; Nunes, 2018).

Ao tratar plântulas de tomate e canola com um conjunto de metabólitos secundários purificados (6-PP, harzianopiridona e um butenólídeo) foi observada uma redução dos sintomas de doenças causadas por *Botrytis cinerea* e *Leptosphaeria maculans* (Vinale et al., 2008). Observou-se, também, que houve um aumento na expressão de genes de resposta da planta, como quitinases, endoquitinases e proteínas relacionadas a patógenos 1 (PR-1) (Vinale et al., 2008). Em plântulas de milho, foi observado um aumento na atividade de peroxidases, polifenol oxidases e β -1,3-glucanase tanto na parte aérea quanto na radicular, indicando uma indução de defesa quando 6-PP foi aplicado (El-Hasan; Buchenauer, 2009). Além disso, a aplicação de 6-PP em solo, quatro dias antes da inoculação de *Fusarium moniliforme*, resultou em supressão de doenças e promoção de crescimento em plântulas tratadas quando comparadas com o grupo controle (Vinale et al., 2012). O mesmo foi observado com a aplicação de ácido harziânico em tomate, no qual foi observado um aumento da expressão de genes de resistência, diminuindo o impacto causado por *R. solani* (Manganiello et al., 2018).

Peptaibols representam outra classe de moléculas de elicitores de resposta em planta produzidas por *Trichoderma* spp. A aplicação exógena de alameticina (Macías et al., 2000), um peptaibol de 20 resíduos produzido por *T. viride*, estimulou uma resposta de defesa em *Phaseolus lunatus* (Engelberth et al., 2001) e *Arabidopsis thaliana* (Chen et al., 2003). Em *P. lunatus*, essa resposta incluiu a síntese de salicilato e compostos voláteis, enquanto em *A. thaliana* houve um aumento da produção de salicilato de metila.

Recentemente, estudos demonstraram que o truncamento da fase de leitura de do gene *tex1*, referente a uma NRPS, impossibilita a produção de peptaibols com 18 resíduos de tamanho em *T. virens* (Vinale et al., 2012; Viterbo et al., 2007). Pepinos cultivados com a cepa modificada de *T. virens* apresentaram uma resposta sistêmica induzida significativamente menor contra o patógeno de folhas *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* e uma menor produção de compostos com atividade inibitória contra a bactéria quando comparados com pepinos crescidos na presença da cepa selvagem. Dois peptaibols sintéticos de 18 resíduos, quando aplicados a plântulas de pepino, induziram resposta sistêmica contra a bactéria foliar, bem como a produção de compostos antimicrobianos e levou a um aumento da expressão de genes relacionados a resposta de estresse oxidativo (Viterbo et al., 2007). Esses dados reforçam a importância dos peptaibols como moléculas sinalizadoras de comunicação entre *Trichoderma* spp. e plantas, que resultam na ativação de respostas de defesa da última, além de sua atividade antimicrobiana *per se*.

Considerações Finais

Trichoderma é capaz de produzir metabólitos com diversas atividades, sendo as mais interessantes para o campo agrícola a capacidade de promover o crescimento de plantas, bem como a capacidade de inibir o crescimento de fitopatógenos, seja por uma ação direta ou por uma indução de resistência sistêmica nas plantas hospedeiras. Produtos compostos de metabólitos, isolados ou em misturas, são candidatos promissores para a geração de novos produtos devido a sua fácil produção, escalonamento e possibilidades de formulações, permitindo assim, um maior tempo de armazenamento e a preparação para aplicação de acordo com a cultura de interesse.

Referências

- ADACHI, T.; AOKI, H.; OSAWA, T.; NAMIKI, M.; YAMANE, T.; ASHIDA, T. Structure of trichodermaol, antibacterial substance produced in combined culture of *Trichoderma* sp. with *Fusarium oxysporum* or *Fusarium solani*. **Chemistry Letters**, v. 12, n. 6, p. 923-926, 1983.
- AGARWAL, S. K.; SINGH, S. S.; VERMA, S.; KUMAR, S. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, n. 1-2, p. 43-46, 2000.

AGROFIT: consulta aberta: produtos formulados. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 ago. 2019.

ALMASSI, F.; GHISALBERTI, E. L.; NARBAY, M. J.; SIVASITHAMPARAM, K. New antibiotics from strains of *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 2, p. 396-402, 1991.

ALMEIDA, F. B. R.; CERQUEIRA, F. M.; SILVA, R. N.; ULHOA, C. J.; LIMA, A. L. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 8, p. 1189-1193, 2007.

ALOJ, V.; VINALE, F.; WOO, S.; MARRA, R.; RUOCCO, M.; LANZUISE, S.; RITIENI, A.; CAMPANILE, G.; SCALA, F.; CAVALLO, P. Use of a *Trichoderma* spp. enzyme mixture to increase feed digestibility and degrade mycotoxins. **Journal of Plant Pathology**, v. 91, n. 4, 2009.

BASHIR, Z.; SHAFIQUE, S.; AHMAD, A.; SHAFIQUE, S.; YASIN, N. A.; ASHRAF, Y.; IBRAHIM, A.; AKRAM, W.; NOREEN, S. Tomato plant proteins actively responding to fungal applications and their role in cell physiology. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 257, 2016.

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

BETINA, V.; SEDMERA, P.; VOKOUN, J.; PODOJIL, M. Anthraquinone pigments from a conidiating mutant of *Trichoderma viride*. **Experientia**, v. 42, n. 2, p. 196-197, 1986.

BREWER, D.; FEICHT, A.; TAYLOR, A.; KEEPING, J. W.; TAHA, A. A.; THALLER, V. Ovine ill-thrift in Nova Scotia. 9. Production of experimental quantities of isocyanide metabolites of *Trichoderma hamatum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 28, n. 11, p. 1252-1260, 1982.

BRITO, J. P.; RAMADA, M. H.; MAGALHÃES, M. T.; SILVA, L. P.; ULHOA, C. J. Peptaibols from *Trichoderma asperellum* TR356 strain isolated from Brazilian soil. **SpringerPlus**, v. 3, n. 1, p. 600, 2014.

BRÜCKNER, H.; GRAF, H. Paracelsin, a peptide antibiotic containing α -aminoisobutyric acid, isolated from *Trichoderma reesei* Simmons Part A. **Experientia**, v. 39, n. 5, p. 528-530, 1983.

CHANTRAPROMMA, S.; JEERAPONG, C.; PHUPONG, W.; QUAH, C. K.; FUN, H.-K. Trichodermaerin: a diterpene lactone from *Trichoderma asperellum*. **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online**, v. 70, n. 4, p. 408-409, 2014.

CHEN, F.; D'AURIA, J. C.; THOLL, D.; ROSS, J. R.; GERSHENZON, J.; NOEL, J. P.; PICHERSKY, E. An *Arabidopsis thaliana* gene for methylsalicylate biosynthesis, identified by a biochemical genomics approach, has a role in defense. **The Plant Journal**, v. 36, n. 5, p. 577-588, 2003.

CHEN, L.-H.; HUANG, X.-Q.; ZHANG, F.-G.; ZHAO, D.-K.; YANG, X.-M.; SHEN, Q.-R. Application of *Trichoderma harzianum* SQR T037 bio organic fertilizer significantly controls Fusarium wilt and affects the microbial communities of continuously cropped soil of cucumber. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 12, p. 2465-2470, 2012.

CHIANG, Y. M.; LEE, K. H.; SANCHEZ, J. F.; KELLER, N. P.; WANG, C. C. Unlocking fungal cryptic natural products. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 11, p. 1505, 2009.

CHUGH, J. K.; WALLACE, B. A. **Peptaibols: models for ion channels**. [London]: Portland Press Limited, 2001.

CHUTRAKUL, C.; ALCOCER, M.; BAILEY, K.; PEBERDY, J. F. The production and characterisation of trichotoxin peptaibols, by *Trichoderma asperellum*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 9, p. 1694-1706, 2008.

CLAYDON, N.; HANSON, J. R.; TRUNEH, A.; AVENT, A. G. Harzianolide, a butenolide metabolite from cultures of *Trichoderma harzianum*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 11, p. 3802-3803, 1991.

CLELAND, R. The dosage-response curve for auxin-induced cell elongation: a reevaluation. **Planta**, v. 104, n. 1, p. 1-9, 1972.

COLLINS, R. P.; HALIM, A. F. Characterization of the major aroma constituent of the fungus *Trichoderma viride*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 437-438, 1972.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.

- CUTLER, H. G.; COX, R. H.; CRUMLEY, F. G.; COLE, P. D. 6-Pentyl-pyrone from *Trichoderma harzianum*: its plant growth inhibitory and antimicrobial properties. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 50, n. 11, p. 2943-2945, 1986.
- CUTLER, H. G.; HIMMELSBACH, D. S.; ARRENDALE, R. F.; COLE, P. D.; COX, R. H. Koninginin A: a novel plant growth regulator from *Trichoderma koningii*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 2605-2611, 1989.
- CUTLER, H. G.; JACYNO, J. M. Biological Activity of (-)-Harziano-pyridone Isolated from *Trichoderma harzianum*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 55, n. 10, p. 2629-2631, 1991.
- DANIEL, J. F. S.; RODRIGUES FILHO, E. Peptaibols of *Trichoderma*. **Natural Product Reports**, v. 24, n. 5, p. 1128-1141, 2007.
- DEBODE, J.; DE TENDER, C.; CREMELIE, P.; LEE, A. S.; KYNDT, T.; MUYLLE, H.; DE SWAEF, T.; VANDECASTEELE, B. *Trichoderma*-Inoculated *Miscanthus* straw can replace peat in strawberry cultivation, with beneficial effects on disease control. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 213, 2018.
- DEGENKOLB, T.; DIECKMANN, R.; NIELSEN, K. F.; GRÄFENHAN, T.; THEIS, C.; ZAFARI, D.; CHAVERRI, P.; ISMAIEL, A.; BRÜCKNER, H.; VON DÖHREN, H. The *Trichoderma brevicompectum* clade: a separate lineage with new species, new peptaibiotics, and mycotoxins. **Mycological Progress**, v. 7, n. 3, p. 177-219, 2008.
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 25-33, 1971.
- DONNELLY, D. M.; SHERIDAN, M. H. Anthraquinones from *Trichoderma polysporum*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 10, p. 2303-2304, 1986.
- DRUZHININA, I. S.; SHELEST, E.; KUBICEK, C. P. Novel traits of *Trichoderma* predicted through the analysis of its secretome. **FEMS Microbiology Letters**, v. 337, n. 1, p. 1-9, 2012.
- DUBEY, S. C.; TRIPATHI, A.; DUREJA, P.; GROVER, A. Characterization of secondary metabolites and enzymes produced by *Trichoderma* species and their efficacy against plant pathogenic fungi. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 81, n. 5, p. 455-461, 2011.
- DUNLOP, R. W.; SIMON, A.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L. An antibiotic from *Trichoderma koningii* active against soilborne plant pathogens. **Journal of Natural Products**, v. 52, n. 1, p. 67-74, 1989.
- EL HASAN, A.; BUCHENAUER, H. Actions of 6 pentyl alpha pyrone in controlling seedling blight incited by *Fusarium moniliforme* and inducing defense responses in maize. **Journal of Phytopathology**, v. 157, n. 11 12, p. 697-707, 2009.
- ENGELBERTH, J.; KOCH, T.; SCHÜLER, G.; BACHMANN, N.; RECHTENBACH, J.; BOLAND, W. Ion channel-forming alamethicin is a potent elicitor of volatile biosynthesis and tendrill coiling. Cross talk between jasmonate and salicylate signaling in lima bean. **Plant Physiology**, v. 125, n. 1, p. 369-377, 2001.
- EVIDENTE, A.; CABRAS, A.; MADDAU, L.; SERRA, S.; ANDOLFI, A.; MOTTA, A. Viridepyronone, a new antifungal 6-substituted 2 h-pyran-2-one produced by *Trichoderma viride*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 24, p. 6957-6960, 2003.
- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; ULHOA, C. J.; LOBO JUNIOR, M. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, v. 67, n. 3, p. 308-316, 2013.
- GHISALBERTI, E. L. Detection and isolation of bioactive natural products. In: COLEGATE, S. L.; MOLYNEUX, R. J. (Ed.). **Bioactive natural products: detection, isolation and structural determination**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 11-76.
- GHISALBERTI, E. L. Anti-infective agents produced by the Hyphomycetes genera *Trichoderma* and *Gliocladium*. **Current Medicinal Chemistry-Anti-Infective Agents**, v. 1, n. 4, p. 343-374, 2002.
- GHISALBERTI, E. L.; ROWLAND, C. Y. Antifungal metabolites from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 10, p. 1799-1804, 1993.
- GHISALBERTI, E. L.; SIVASITHAMPARAM, K. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, n. 11, p. 1011-1020, 1991.
- HANSON, J. R. **Natural products: the secondary metabolites**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003. 148 p.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.

- HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathology*, v. 94, n. 2, p. 147-153, 2004.
- HERBERT, R. B. **The biosynthesis of secondary metabolites**. New York: Springer Science & Business Media, 1989. 232 p.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.
- HILL, R. A.; CUTLER, H. G.; PARKER, S. R. *Trichoderma* and metabolites as control agents for microbial plant diseases. *PCT Int Appl*, v. 9520879, n. 10, 1995.
- HOWELL, C. R. Biological control of *Pythium* damping-off of cotton with seed-coating preparations of *Gliocladium virens*. *Phytopathology*, v. 81, n. 7, p. 738-741, 1991.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Effect of sterol biosynthesis inhibitors on phytotoxin (viridiol) production by *Gliocladium virens* in culture. *Culture*, v. 84969, p. 972, 1994.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D.; LUMSDEN, R. D. Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. *Biocontrol Science and Technology*, v. 3, n. 4, p. 435-441, 1993.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control*, v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009.
- HUGHES, K. A.; BRIDGE, P.; CLARK, M. S. Tolerance of Antarctic soil fungi to hydrocarbons. *Science of the Total Environment*, v. 372, n. 2-3, p. 539-548, 2007.
- IRMSCHER, G.; JUNG, G. The hemolytic properties of the membrane modifying peptide antibiotics alamethicin, suzukacillin and trichotoxin. *European Journal of Biochemistry*, v. 80, n. 1, p. 165, 1977.
- KAMAL, A.; AKHTAR, R.; QURESHI, A. A. Biochemistry of microorganisms XX. 2, 5-Dimethoxybenzoquinone, tartaric acid, itaconic acid, succinic acid, pyrocalfiferol, epifriedelinol, lantosta-7, 9 (11), 24-triene-3, 21-diol, trichoderme A, methyl 2, 4, 6-octatriene and cordycepic acid, *Trichoderma* metabolites. *Pakistan Journal of Science and Industrial Research*, v. 14, p. 71-78, 1971.
- KELLER, N. P.; TURNER, G.; BENNETT, J. W. Fungal secondary metabolism-from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, v. 3, n. 12, p. 937, 2005.
- KLEIN, D.; EVELEIGH, D. E. Ecology of *Trichoderma*. *Trichoderma and Gliocladium*, v. 1, p. 57-74, 1998.
- KOBAYASHI, M.; UEHARA, H.; MATSUNAMI, K.; AOKI, S.; KITAGAWA, I. Trichoharzin, a new polyketide produced by the imperfect fungus *Trichoderma harzianum* separated from the marine sponge *Micale cecilia*. *Tetrahedron Letters*, v. 34, n. 49, p. 7925-7928, 1993.
- KUBICEK, C. P.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S. Fungal genus *Hypocrea*/*Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *Journal of Zhejiang University Science B*, v. 9, n. 10, p. 753, 2008.
- KÜÇÜK, Ç.; KIVANÇ, M.; KINACI, E.; KINACI, G. Determination of the growth and solubilization capabilities of *Trichoderma harzianum* T1. *Biologia*, v. 63, n. 2, p. 167, 2008.
- LANG, B.-Y.; LI, J.; ZHOU, X.-X.; CHEN, Y.-H.; YANG, Y.-H.; LI, X.-N.; ZENG, Y.; ZHAO, P.-J. Koninginins L and M, two polyketides from *Trichoderma koningii* 8662. *Phytochemistry Letters*, v. 11, p. 1-4, 2015.
- LATA, C.; MUTHAMILARASAN, M.; PRASAD, M. Drought stress responses and signal transduction in plants. In: PANDEY, G. K. (Ed.). **Elucidation of abiotic stress signaling in plants**. Springer, 2015. p. 195-225.
- LECLERC, G.; GOULARD, C.; PRIGENT, Y.; BODO, B.; WRÓBLEWSKI, H.; REBUFFAT, S. Sequences and Antimycoplasmic Properties of Longibrachins LGB II and LGB III, Two Novel 20-Residue Peptaibols from *Trichoderma longibrachiatum*. *Journal of Natural Products*, v. 64, n. 2, p. 164-170, 2001.
- LECLERC, G.; REBUFFAT, S.; GOULARD, C.; BODO, B. Directed biosynthesis of peptaibol antibiotics in two *Trichoderma* strains. *The Journal of Antibiotics*, v. 51, n. 2, p. 170-177, 1998.
- LOPES, F. A. C.; STEINDORFF, A. S.; GERALDINE, A. M.; BRANDÃO, R. S.; MONTEIRO, V. N.; LOBO JÚNIOR, M.; COELHO, A. S. G.; ULHOA, C. J.; SILVA, R. N. Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Fungal Biology*, v. 116, n. 7, p. 815-824, 2012.

- MACÍAS, F. A.; VARELA, R. M.; SIMONET, A. M.; CUTLER, H. G.; CUTLER, S. J.; EDEN, M. A.; HILL, R. A. Bioactive Carotenes from *Trichoderma virens*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 9, p. 1197-1200, 2000.
- MADDAU, L.; CABRAS, A.; FRANCESCHINI, A.; LINALDEDDU, B. T.; CROBU, S.; ROGGIO, T.; PAGNOZZI, D. Occurrence and characterization of peptaibols from *Trichoderma citrinoviride*, an endophytic fungus of cork oak, using electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Microbiology**, v. 155, n. 10, p. 3371-3381, 2009.
- MANGANIELLO, G.; SACCO, A.; ERCOLANO, M. R.; VINALE, F.; LANZUISE, S.; PASCALE, A.; NAPOLITANO, M.; LOMBARDI, N.; LORITO, M.; WOO, S. L. Modulation of tomato response to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and its secondary metabolite harzianic acid. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1966, 2018.
- MARRA, R.; LOMBARDI, N.; D'ERRICO, G.; TROISI, J.; SCALA, G.; VINALE, F.; WOO, S. L.; BONANOMI, G.; LORITO, M. Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1814-1822, 2019.
- MEDEIROS, H. A.; ARAÚJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, p. 40216, 2017.
- MCGLACKEN, G. P.; FAIRLAMB, I. J. 2-Pyrone natural products and mimetics: isolation, characterisation and biological activity. **Natural Product Reports**, v. 22, n. 3, p. 369-385, 2005.
- MEYER, C. E.; REUSSER, F. A polypeptide antibacterial agent isolated from *Trichoderma viride*. **Experientia**, v. 23, n. 2, p. 85-86, 1967.
- MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma*-a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012.
- MUKHERJEE, P. K.; WIEST, A.; RUIZ, N.; KEIGHTLEY, A.; MORAN-DIEZ, M. E.; MCCLUSKEY, K.; POUCHUS, Y. F.; KENERLEY, C. M. Two classes of new peptaibols are synthesized by a single non-ribosomal peptide synthetase of *Trichoderma virens*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 6, p. 4544-4554, 2011.
- NEUHOF, T.; DIECKMANN, R.; DRUZHININA, I. S.; KUBICEK, C. P.; VON DÖHREN, H. Intact-cell MALDI-TOF mass spectrometry analysis of peptaibol formation by the genus *Trichoderma/Hypocrea*: can molecular phylogeny of species predict peptaibol structures? **Microbiology**, v. 153, n. 10, p. 3417-3437, 2007.
- NUNES, J. F. Estudo da interação entre *Trichoderma harzianum* e *Phaseolus vulgaris* utilizando a técnica de transformação aleatória por *Agrobacterium tumefaciens* (AMT). 2018. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília.
- O'BRIEN, J.; WRIGHT, G. D. An ecological perspective of microbial secondary metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 552-558, 2011.
- ORDENTLICH, A.; WIESMAN, Z.; GOTTLIEB, H. E.; COJOCARU, M.; CHET, I. Inhibitory furanone produced by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 2, p. 485-486, 1992.
- OSBOURN, A. Secondary metabolic gene clusters: evolutionary toolkits for chemical innovation. **Trends in Genetics**, v. 26, n. 10, p. 449-457, 2010.
- PANIZEL, I.; YARDEN, O.; ILAN, M.; CARMELI, S. Eight new peptaibols from sponge-associated *Trichoderma atroviride*. **Marine Drugs**, v. 11, n. 12, p. 4937-4960, 2013.
- PARKER, S. R.; CUTLER, H. G.; JACYNO, J. M.; HILL, R. A. Biological activity of 6-pentyl-2 H-pyran-2-one and its analogs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2774-2776, 1997.
- PARKER, S. R.; CUTLER, H. G.; SCHREINER, P. R. Koninginin E: isolation of a biologically active natural product from *Trichoderma koningii*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 59, n. 9, p. 1747-1749, 1995a.
- PARKER, S. R.; CUTLER, H. G.; SCHREINER, P. R. Koninginin C: a biologically active natural product from *Trichoderma koningii*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 59, n. 6, p. 1126-1127, 1995b.
- PATIL, A. S.; PATIL, S. R.; PAIKRAO, H. M. *Trichoderma* secondary metabolites: their biochemistry and possible role in disease management. In: CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. (Eds.). **Microbial-mediated induced systemic resistance in plants**. Singapore: Springer, 2016. p. 69-102.

- PATRON, N. J.; WALLER, R. F.; COZIJNSEN, A. J.; STRANEY, D. C.; GARDINER, D. M.; NIERMAN, W. C.; HOWLETT, B. J. Origin and distribution of epipolythiodioxopiperazine (ETP) gene clusters in filamentous ascomycetes. **BMC Evolutionary Biology**, v. 7, n. 1, p. 174, 2007.
- PIETERSE, C. M. J.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; VAN WEES, S. C. M.; BAKKER, P. A. H. M. Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, n. 1, p. 347-375, 2014.
- RAMADA, M. H. S.; STEINDORFF, A. S.; BLOCH JR, C.; ULHOA, C. J. Secretome analysis of the mycoparasitic fungus *Trichoderma harzianum* ALL 42 cultivated in different media supplemented with *Fusarium solani* cell wall or glucose. **Proteomics**, v. 16, n. 3, p. 477-490, 2016.
- REBUFFAT, S.; GOULARD, C.; BODO, B. Antibiotic peptides from *Trichoderma harzianum*: harzianins HC, proline-rich 14-residue peptaibols. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions**, v. 1, n. 14, p. 1849-1855, 1995.
- REBUFFAT, S.; PRIGENT, Y.; AUVIN GUETTE, C.; BODO, B. Tricholongins BI and BII, 19-residue peptaibols from *Trichoderma longibrachiatum*. **European Journal of Biochemistry**, v. 201, n. 3, p. 661-674, 1991.
- REINO, J. L.; GUERRERO, R. F.; HERNÁNDEZ-GALÁN, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 89-123, 2008.
- REN, J.; YANG, Y.; LIU, D.; CHEN, W.; PROKSCH, P.; SHAO, B.; LIN, W. Sequential determination of new peptaibols asperelines G-Z12 produced by marine-derived fungus *Trichoderma asperellum* using ultrahigh pressure liquid chromatography combined with electro-spray-ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1309, p. 90-95, 2013.
- SAKUNO, E.; YABE, K.; HAMASAKI, T.; NAKAJIMA, H. A New Inhibitor of 5'-Hydroxyaverantin Dehydrogenase, an Enzyme Involved in Aflatoxin Biosynthesis, from *Trichoderma hamatum*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 12, p. 1677-1678, 2000.
- SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.
- SAMUELS, G. J.; PARDO-SCHULTHEISS, R.; HEBBAR, K. P.; LUMSDEN, R. D.; BASTOS, C. N.; COSTA, J. C.; BEZERRA, J. L. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. **Mycological Research**, v. 104, n. 6, p. 760-764, 2000.
- SCHIRMBÖCK, M.; LORITO, M.; WANG, Y.-L.; HAYES, C. K.; ARISAN-ATAC, I.; SCALA, F.; HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 12, p. 4364-4370, 1994.
- SCHWARZER, D.; FINKING, R.; MARAHIEL, M. A. Nonribosomal peptides: from genes to products. **Natural Product Reports**, v. 20, n. 3, p. 275-287, 2003.
- SERRANO-CARREON, L.; HATHOUT, Y.; BENSOUSSAN, M.; BELIN, J.-M. Metabolism of linoleic acid or mevalonate and 6-pentyl- γ -pyrone biosynthesis by *Trichoderma* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 9, p. 2945-2950, 1993.
- SIVAN, A.; CHET, I. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. **Microbiology**, v. 135, n. 3, p. 675-682, 1989.
- SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. **Trichoderma and Gliocladium basic biology taxonomy and genetics**, v. 1, p. 139-191, 1998.
- STEINDORFF, A. S.; RAMADA, M. H. S.; COELHO, A. S. G.; MILLER, R. N. G.; PAPPAS, G. J.; ULHOA, C. J.; NORONHA, E. F. Identification of mycoparasitism-related genes against the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* through transcriptome and expression profile analysis in *Trichoderma harzianum*. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, p. 204, 2014.
- STOPPACHER, N.; NEUMANN, N. K.; BURGSTALLER, L.; ZEILINGER, S.; DEGENKOLB, T.; BRÜCKNER, H.; SCHUHMACHER, R. The comprehensive peptaibiotics database. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, n. 5, p. 734-743, 2013.
- SUN, F.; ZHANG, W.; HU, H.; LI, B.; WANG, Y.; ZHAO, Y.; LI, K.; LIU, M.; LI, X. Salt modulates gravity signaling pathway to regulate growth direction of primary roots in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 146, n. 1, p. 178-188, 2008.
- TAYLOR, A. Some aspects of the chemistry and biology of the genus *Hypocrea* and its anamorphs, *Trichoderma* and *Gliocladium*. **Proceedings of the Nova Scotian Institute of Science**, v. 36, n. 1, p. 27-58, 1986.
- VINALE, F.; FLEMATTI, G.; SIVASITHAMPARAM, K.; LORITO, M.; MARRA, R.; SKELTON, B. W.; GHISALBERTI, E. L. Harzianic

- acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 11, p. 2032-2035, 2009.
- VINALE, F.; MARRA, R.; SCALA, F.; GHISALBERTI, E. L.; LORITO, M.; SIVASITHAMPARAM, K. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 143-148, 2006.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; BARBETTI, M. J.; LI, H.; WOO, S. L.; LORITO, M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 72, n. 1-3, p. 80-86, 2008.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; RUOCCO, M.; WOOD, S.; LORITO, M. *Trichoderma* secondary metabolites that affect plant metabolism. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 11, p. 1545-1550, 2012.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; WOO, S. L.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; RUOCCO, M.; LANZUISE, S. *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, p. 127-139, 2014.
- VITERBO, A. D. A.; WIEST, A.; BROTMAN, Y.; CHET, I.; KENERLEY, C. The 18mer peptaibols from *Trichoderma virens* elicit plant defense responses. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 6, p. 737-746, 2007.
- WALTERS, D. R.; RATSEP, J.; HAVIS, N. D. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1263-1280, 2013.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932.
- WEINDLING, R.; EMERSON, O. H. The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. **Phytopathology**, v. 26, n. 1068, e1070, 1936.
- WIPF, P.; KEREKES, A. D. Structure reassignment of the fungal metabolite TAEMC161 as the phytotoxin viridiol. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 5, p. 716-718, 2003.
- WOO, S. L.; LORITO, M. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: VURRO, M.; GRESSEL, J. (Eds.). **Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management**. Singapore: Springer, 2007. p. 107-130.
- WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.
- YAMAGUCHI, Y.; MANITA, D.; TAKEUCHI, T.; KURAMOCHI, K.; KURIYAMA, I.; SUGAWARA, F.; YOSHIDA, H.; MIZUSHINA, Y. Novel terpenoids, trichoderonic acids A and B isolated from *Trichoderma virens*, are selective inhibitors of family X DNA polymerases. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 74, n. 4, p. 793-801, 2010.
- ZEILINGER, S.; GRUBER, S.; BANSAL, R.; MUKHERJEE, P. K. Secondary metabolism in *Trichoderma*—Chemistry meets genomics. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 74-90, 2016.
- ZEILINGER, S.; OMANN, M. *Trichoderma* biocontrol: signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism. **Gene Regulation and Systems Biology**, v. 1, p. 227-234, 2007.
- ZHANG, M.; LI, N.; CHEN, R.; ZOU, J.; WANG, C.; DAI, J. Two terpenoids and a polyketide from the endophytic fungus *Trichoderma* sp. Xy24 isolated from mangrove plant *Xylocarpus granatum*. **Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 6, p. 421-424, 2014.

Trichoderma: interações e estratégias

Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

Rafaela Araújo Guimarães

Júlio Carlos Pereira da Silva

Valter Cruz-Magalhães

Jorge Teodoro de Souza

Introdução

O gênero *Trichoderma* é amplamente distribuído no mundo e apresenta alta diversidade genética e funcional. Diversas espécies desse gênero ganharam interesse devido ao seu amplo uso na agricultura como biofungicidas, biofertilizantes e condicionadores de solo, além de também serem usados na indústria como fontes de enzimas hidrolíticas (Mukherjee et al., 2013). Podem ser encontrados no solo, associados a plantas, tanto na rizosfera quanto como endofíticos (Hanada et al., 2008; Harman et al., 2004). *Trichoderma* apresenta diversos mecanismos de ação, incluindo a antibiose, competição, indução de resistência contra diferentes tipos de patógenos e micoparasitismo. Essas características fazem com que *Trichoderma* atue na promoção de crescimento de plantas, indução de resistência, supressão de patógenos de solo, entre outras (Harman et al., 2004; Waghunde et al., 2016). Desta forma, *Trichoderma* é um agente de biocontrole versátil e com potencial para o desenvolvimento de produtos biológicos. No entanto, a eficiência de atuação desse fungo é dependente de fatores bióticos e abióticos específicos, como temperatura, umidade, pH e disponibilidade de nutrientes (Nieto-Jacobo et al., 2017). Além disso, a planta hospedeira também pode ser considerada como um fator de variação a mais, diretamente associada a diferentes respostas apresentadas por *Trichoderma* em campo. Não só a espécie, mas também componentes genéticos intra-específicos são associados a diferentes respostas de *Trichoderma* e seus efeitos benéficos. Logo, a utilização de diferentes isolados de *Trichoderma* em diferentes variedades ou cultivares, pode gerar respostas diferentes.

Neste capítulo abordaremos as características dos produtos registrados em relação aos alvos biológicos e formulações, diferentes interações entre *Trichoderma* e fatores bióticos e abióticos e formas de se otimizar a eficiência de controle de doenças e promoção de crescimento por meio de estratégias como posicionamento técnico e melhoramento.

Produtos à base de *Trichoderma* spp. e seus alvos biológicos

Empresas especializadas em biológicos e também as de agroquímicos têm investido cada vez mais em formulações à base de produtos biológicos no controle de pragas e doenças de plantas. Diversos produtos à base de *Trichoderma* são comercializados no Brasil para aplicação em várias culturas, principalmente contra fungos e nematoides. O aumento no interesse pelo controle biológico de doenças de plantas é também uma consequência da melhoria na legislação para o registro de agentes biológicos no país. Entretanto, mesmo com mais de 250 de espécies de *Trichoderma* já identificadas (Bissett et al., 2015), menos de 20 são estudadas no controle biológico de pragas e doenças de plantas. Isso acontece pela alta eficiência dessas espécies contra vários patógenos de importância e pela facilidade na fabricação e formulação de produtos comerciais. No mundo existem produtos registrados à base de *Trichoderma* com atuação contra fungos e nematoides (Waghunde et al., 2016). A maioria dos alvos são fungos patogênicos habitantes de solo causadores de podridões e murchas (Figura 1). Isso ocorre devido à predominância ecológica de algumas espécies de *Trichoderma* em solos de diferentes ecossistemas. Além disso, também já foram isolados de lagos, do ar, esponjas marinhas e de tecidos vegetais (Paz et al., 2010; Montero-Barrientos et al., 2011; Mukherjee et al., 2013), demonstrando a versatilidade do gênero. Recentemente, isolados de *Trichoderma* marinhos se mostraram eficazes contra *Rhizoctonia solani* induzindo respostas sistêmicas de defesa em plantas (Gal-Hemed et al., 2011).

No Brasil, os produtos à base de *Trichoderma* são registrados para o controle de doenças de plantas (Agrofit, c2003), sendo classificados como biofungicidas e bionematicidas, e a maioria dos formulados à base de *T. harzianum* e *T. asperelum*. Essas duas espécies são utilizadas pela facilidade de isolamento em meio artificial, por serem ótimas competidoras no solo, resistirem a drásticas variações ambientais e apresentarem múltiplos mecanismos contra fitopatógenos (Mukherjee et al., 2013). Os mecanismos de ação de *Trichoderma* podem envolver antibiose, micoparasitismo e competição. Além disso, muitos produtos são utilizados como reguladores, devido ao efeito de promoção de crescimento ou até mesmo como indutores de resistência (Medeiros et al., 2017). A maioria dos produtos é recomendada para aplicação terrestre no controle de fungos veiculados pelo solo. No entanto, alguns produtos são recomendados para aplicação em sementes ou em parte aérea. Para o controle de doenças como vassoura de bruxa (*Moniliophthora pernisiosa*), mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) e murchas (*Verticillium*

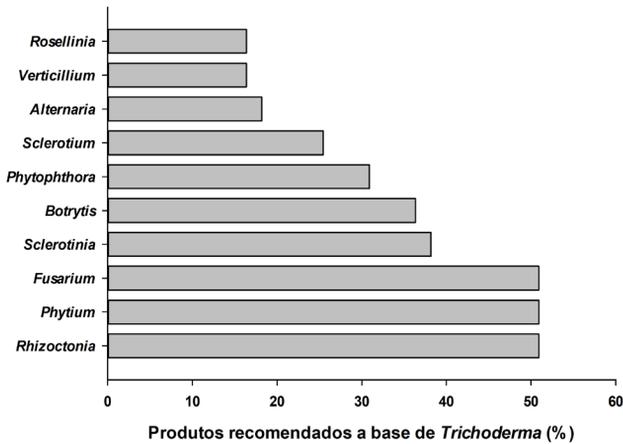


Figura 1. Alvos (patógenos) de produtos biológicos com base em *Trichoderma*

sp., *Fusarium* sp.) além da aplicação no solo, as pulverizações com *Trichoderma* micoparasitas também são recomendadas com o objetivo de alcançar os restos culturais e estruturas de sobrevivência. Em relação ao controle de fitonematoides, as aplicações geralmente são recomendadas no tratamento de sementes ou no sulco de plantio para plantas anuais, ou aplicados nas covas em períodos úmidos do ano para plantas perenes.

A eficiência de produtos à base de *Trichoderma* pode estar relacionada a vários fatores como natureza e fenologia da planta, métodos de aplicação e dosagens adequadas. Geralmente, os produtos registrados são recomendados pela concentração de propágulos do fungo ou ingrediente ativo. Apesar de não serem padronizadas, as unidades utilizadas podem ser: conídios por g ou ml; conídios viáveis por g ou ml; unidades formadoras de colônias por g ou ml (Pinto et al., 2016).

O tratamento de sementes com *Trichoderma* protege contra vários fungos patogênicos, muitas vezes dispensando o uso de químicos como já realizado em feijão, por exemplo. No tratamento de sementes de feijão o micélio de *T. asperellum* cobre a semente, fornecendo proteção contra o ataque de fungos que causam o apodrecimento de grãos e fungos causadores de doenças foliares transmitidos por sementes. O uso de produtos à base de *T. asperellum* reduziu em 90% o número de sementes de feijão infectadas por *Colletotrichum lindemuthianum* (Pomella; Ribeiro, 2009). Outra vantagem da aplicação em sementes é a redução na quantidade de produto aplicado para garantir proteção no início do ciclo da planta. Por exemplo, produtos à base de *Trichoderma* podem ser aplicados em sementes de soja ou feijão para proteção contra patógenos de solo como *Phytium* e *Rhizoctonia* na concentração de 50 a 75 g/100 kg de

sementes, enquanto no sulco de plantio ou pós-emergência é recomendada a aplicação de 50 a 100 g/ha para garantir a proteção.

O uso de *Trichoderma* no controle de doenças da parte aérea, como ferrugens e manchas foliares, ainda é limitado por fatores como necessidade de adjuvantes para proteção, permanência do efeito e eficiência dos mecanismos de ação na parte aérea. No entanto, no cultivo de frutíferas perenes a proteção de frutos contra fungos como *Botrytis* em videira, *Monilinia* em frutíferas da família *Rosaceae* e *Colletotrichum* sp. em fruteiras tropicais pode ser realizada por produtos à base *T. harzianum*, resistente a radiação UV. A aplicação de fungicidas cúpricos juntamente com *T. stromaticum* reduziu a formação de ramos com vassoura de bruxa em cacauero pelo micoparasitismo do agente às estruturas do patógeno (Medeiros et al., 2010). Apesar de algumas espécies serem mais resistentes a variações ambientais, como *T. harzianum* e *T. stromaticum*, produtos aplicados no campo devem resistir a condições adversas. Desse modo, os produtos devem conter em sua formulação substâncias aditivas como os protetores contra raios UV. A maioria das espécies de *Trichoderma* é muito sensível a esta radiação, enquanto muitos patógenos de folhas, frutos e de restos culturais resistem à incidência desses raios. Além disso, outras particularidades devem ser atendidas como realizar aplicações nas horas mais frescas do dia, verificar a compatibilidade com outros defensivos de parte aérea (caso seja usada a mistura de tanque) e fazer uso de adjuvantes adequados. Independentemente do nicho de aplicação é importante garantir a agitação constante da calda, lembrando que, diferentemente da calda fungicida química, a calda de um bioproduto é uma suspensão e tende a sedimentar com o tempo.

Produtos à base de *Trichoderma*, formulados em pó ou concentrado líquido, também são utilizados em grande escala em substratos de produção de flores e hortaliças, visando o controle de fitopatógenos veiculados pelo solo, como *R. solani* e *Fusarium solani*. Assim, a aplicação pode ser por sementes, mudas e, mais comumente, sobre o solo, alguns dias antes da semeadura ou transplantio. Além disso, sob o cultivo protegido as variações do ambiente são menores. Devido às condições controladas como a menor incidência dos raios UV e as condições favoráveis de umidade e temperatura, os cuidados requeridos para a aplicação de produtos biológicos são menores quando comparados ao campo. A adição de *Trichoderma* no substrato para a produção de mudas de eucalipto e café em viveiros promoveu maior desenvolvimento e melhor sanidade do sistema radicular das plantas, tornando-as mais vigorosas e menos sensíveis ao estresse ocasionado pelo transplantio no campo (Fortes et al., 2007; Mafia et al., 2003; Jesus et al., 2011).

No solo, devido a seleção de espécies deste ambiente, as condições são propícias para o uso de *Trichoderma*, refletindo na maior aplicabilidade e maior número de produtos registrados contra patógenos nesse habitat. Na cultura da batata, o uso de *Trichoderma* no sulco do plan-

tio e no momento da amontoa reduz as manchas ocasionadas pela rizoctoniose (*R. solani*) e sarna-comum (*Streptomyces scabies*), além de melhorar a qualidade dos tubérculos e aumentar a produtividade em até 20%. O mofo-branco (*S. sclerotiorum*) é uma das mais importantes doenças de leguminosas no Brasil. O crescente sucesso do uso de *Trichoderma* contra esse patógeno em culturas como feijão, soja e algodão foi um passo importante para o controle biológico no País (Pomella; Ribeiro, 2009). A redução significativa da incidência de mofo-branco em cultivos de soja, feijão e algodão pode ser obtida com aplicação de *Trichoderma* em pós-emergência. Assim, são necessárias duas a três aplicações na dose recomendada durante o ciclo da cultura para a efetiva colonização pelo antagonista. É recomendada a aplicação de *Trichoderma* após a colheita, principalmente nas áreas com prática do cultivo safrinha. Os restos culturais da soja estão secos e em condições de pronta colonização pelo agente de controle, além dos escleródios estarem mais expostos. No controle de fitonematoides, diferentes isolados de *T. harzianum* e *T. lignorum* têm sido estudados, principalmente em hortaliças, pois promovem o crescimento de plantas e reduzem o número de galhas e ovos nas raízes (Silva et al., 2018a). Os mecanismos de *T. harzianum* sugeridos contra fitonematoides são parasitismo de ovos, aumento da atividade de quitinase extracelular e indução de resistência sistêmica (Medeiros et al., 2017). Concentrações relativamente altas (10^{10} esporos/g de solo) de *T. harzianum* e *T. viride* apresentam significativa atividade nematicida, provavelmente pelo parasitismo de ovos (Al-Hazmi; Tariqjaveed, 2016).

Como o ambiente regula a eficiência de *Trichoderma*

No triângulo das relações patógeno-hospedeiro é ilustrado que a doença é resultado da interação compatível entre o hospedeiro (susceptível), o patógeno (virulento) e o ambiente (favorável). Quando se fala em controle biológico, os microrganismos são parte integrante do ambiente (controle biológico natural ou solo supressivo) ou representam outro vértice, definindo então um cubo com os quatro vértices (hospedeiro, patógeno, ambiente e agente de biocontrole) interagindo entre si. Portanto, essas condições devem ser consideradas no momento da aplicação do produto para se obter sucesso no controle biológico. A seguir descreveremos como algumas das condições ambientais e de cultivo podem regular a eficiência de biocontrole de *Trichoderma* spp.

Efeito da temperatura, umidade e radiação ultravioleta

Uma das variáveis envolvidas, tanto na seleção quanto no posicionamento de produtos biológicos, é a temperatura, que influencia diretamente a atuação de *Trichoderma* sp. no controle de doenças. O mofo-branco (*S. sclerotiorum*) pode ocorrer em uma ampla faixa de temperatura (17 a 25 °C), sendo que a condição de temperaturas mais baixa (17 a 20 °C) induz

à germinação carpogênica e, conseqüentemente à epidemia da doença. Nas temperaturas mais altas (21 a 25 °C) há apenas germinação miceliogênica e, sob baixa pressão de escleródios, a doença não trará grandes prejuízos na safra em curso. Para esta doença foi realizada avaliação de diferentes formulações de *Trichoderma* spp. para o controle do mofo-branco em feijoeiro plantado no inverno em Minas Gerais (temperatura média de 20 °C) e os produtos não garantiram o controle da doença (Júnior et al., 2012), diferentemente do encontrado para ensaios de biocontrole do mofo-branco realizados sob condições menos condúctivas à doença, onde observou-se um aumento de produtividade de até 60% com o uso exclusivo do controle biológico a base de *Trichoderma* spp. (Geraldine et al., 2013). Portanto, a seleção de isolados de *Trichoderma* ativos em temperaturas mais baixas (15 a 19 °C) é desejável para obtenção de melhores taxas de controle para patógenos que atuam nessas temperaturas, como *S. sclerotiorum* e *Stromatinia cepivora*.

Além da temperatura, outro fator que regula a eficiência de biocontrole exercido por *Trichoderma* sp. é a umidade. A disponibilidade de água regula não apenas a germinação de conídios, mas também a atividade de enzimas hidrolíticas produzidas durante o micoparasitismo. No micoparasitismo de escleródios de *S. sclerotiorum*, essa atividade enzimática foi maior com a umidade relativa acima de 90% (Hannusch; Boland, 1996). Considerando que o micoparasitismo de escleródios tem correlação direta com o controle do mofo-branco exercido por *Trichoderma* spp. (Geraldine et al., 2013) é de suma importância que se busque aplicar o agente de biocontrole em um momento em que a copa das plantas possa garantir essa maior umidade. Uma vez estabelecido na rizosfera ou no interior das plantas, que são ambientes mais estáveis, *Trichoderma* sp. atua como bioestimulante e tem um papel importante na tolerância a estresses abióticos (López-Bucio et al., 2015). No entanto, a parte aérea das plantas possui uma umidade muito variável, dificultando o estabelecimento destes agentes de biocontrole.

No filoplano, além das flutuações bruscas de umidade e temperatura há também a incidência de raios ultravioleta que comprometem a estabilidade das células microbianas. Microrganismos pigmentados como *Cercospora* e *Botrytis* podem ser mais competitivos que *Trichoderma* spp. Para o controle de doenças com produtos à base de *Trichoderma* spp. é necessária a adição de protetores contra a radiação ultravioleta nas formulações (Fernandes et al., 2015), sobretudo quando a aplicação do produto é planejada para alvos expostos ao sol.

Pressão de inoculo do patógeno

Um aspecto muito importante a ser considerado no controle biológico é que os mecanismos de ação de *Trichoderma* spp. são relativamente mais lentos quando comparados com produtos químicos. Portanto, o seu uso deve ser preventivo, ou seja, antes do aparecimento

da doença. No entanto, na prática, os produtos à base de *Trichoderma* spp. são aplicados em áreas onde a doença já ocorre, como para mofo-branco (*S. sclerotiorum*) e podridão-de-raiz (*F. solani*). Nestes casos, o retorno sobre o investimento é grandemente dependente da pressão de inóculo existente e é de suma importância que a empresa que recomenda o produto trabalhe a expectativa do produtor em relação ao nível de ação e os ganhos com o uso continuado da tecnologia, sempre baseados em dados científicos de testes anteriores, como aqueles propostos no ensaio em rede de controle biológico do mofo-branco (Meyer et al., 2014). Em áreas onde a pressão de inóculo é muito alta, pode se ter redução no lançamento de apotécios pelo patógeno, mas não se ter aumento na produtividade (Carvalho et al., 2015). Este ganho pode ser obtido a curto prazo com a combinação do controle biológico com outras práticas de manejo (Görgen et al., 2011). Portanto, as empresas de produtos biológicos a base de *Trichoderma* sp. devem cada vez mais primar pela difusão de práticas que não apenas garantam melhor desempenho do agente de biocontrole como também possam garantir maior eficiência do manejo da doença.

Interações entre *Trichoderma* spp. e a microbiota introduzida e nativa

Quando se faz aplicação de *Trichoderma* spp. no agroecossistema deve se considerar que o organismo não está sendo introduzido em um ambiente axênico e o impacto sobre a microbiota nativa ou introduzida pode ser benéfica, maléfica ou neutra e estas interações determinam o sucesso do controle biológico.

Se por um lado já observamos em ensaios de campo interações negativas, ou seja, a introdução de *Trichoderma* spp. desfavorecendo a nodulação, via de regra a interação é benéfica, ou seja, a introdução de *Trichoderma* spp. potencializa interações benéficas (Woo; Pepe, 2018). Quando é feita co-inoculação de uma bactéria fixadora de nitrogênio com *Trichoderma* sp. há sinergia na proteção contra fitopatógenos (Ayoubi et al., 2012) e nutrição de plantas (Rudresh et al., 2005) o que resulta na promoção do crescimento vegetal.

Quando plantas de milho foram tratadas com *T. harzianum* foi observada uma redução na sobrevivência de *Fusarium graminearum* e favorecimento de bactérias promotoras de crescimento de plantas (Saravanakumar et al., 2017).

As análises de toda a comunidade microbiana por meio de sequenciamento de DNA, também chamadas de análises do microbioma, estão se tornando cada vez mais acessíveis tanto do ponto de vista de facilidade de uso quanto de custo. Com isso, está aumentando o seu uso no controle biológico, desde a prospecção de isolados promissores até a avaliação do impacto da introdução de antagonistas. Dessa forma é possível a construção de um portfólio que combine agentes de biocontrole com os microrganismos benéficos recrutados nas áreas onde a introdução do bioproduto foi bem sucedida para o controle da doença.

Interações entre defensivos agrícolas e *Trichoderma* spp.

A resistência de patógenos a produtos químicos, devido ao uso errôneo e excessivo destes princípios ativos reforça a necessidade da inserção de novas ferramentas no manejo integrado dos agroecossistemas. Uma possível solução para esses problemas fitossanitários é integrar produtos químicos e biológicos para obter eficiência tanto no controle de alvos biológicos específicos, como também intervir no manejo da resistência das plantas a patógenos e na resistência de patógenos a produtos químicos.

Alguns defensivos utilizados na agricultura, como fungicidas, inseticidas, herbicidas e algumas fontes de nutrientes podem atuar sobre espécies de *Trichoderma* de forma negativa, afetando o crescimento micelial ou degradando metabólitos secundários (Waghunde et al., 2016). Em contrapartida, outros defensivos agrícolas podem atuar de forma compatível, sem afetar o crescimento, desenvolvimento, esporulação e a produção de metabólitos por espécies de *Trichoderma* (Lobo Junior et al., 2009). A compatibilidade de *Trichoderma* spp. com produtos químicos torna esse agente de controle biológico promissor no manejo integrado de doenças, além de ser um aliado no manejo da resistência a doenças de plantas (Dias Neto, 2014).

Fungicidas compatíveis possibilitam o controle do patógeno sem interferir com *Trichoderma*. Experimentos de campo mostraram que um isolado de *T. harzianum* foi capaz de se desenvolver em sementes de feijão tratadas com fludioxonil (Lobo Junior et al., 2009). Adicionalmente, escleródios de *Sclerotinia minor* e *S. sclerotiorum* foram micoparasitados por isolados de *Trichoderma* spp. na presença de fungicidas (Silva et al., 2018b). Algumas espécies de *Trichoderma* são capazes de colonizar o solo tratado com fungicidas mais rapidamente que outros antagonistas (Oros et al., 2011).

De modo geral, alguns princípios ativos de fungicidas podem apresentar efeito negativo sobre o crescimento micelial de *Trichoderma* spp. (Pandolfo, 2007; Singh et al., 2014). Em relação aos inseticidas e fontes de nutrientes, devido a essas formulações não terem ação direta como fungicidas tem sobre *Trichoderma* spp., normalmente atuam pouco, e apenas no crescimento micelial (Thiruchelvan et al., 2013). Enquanto que herbicidas agem sobre a produção de esporos, entretanto a maioria das moléculas são normalmente compatíveis (Santoro et al., 2014).

Conforme descrito no capítulo 12, avaliações de compatibilidade de produtos químicos com *Trichoderma* ainda necessitam de uma padronização de metodologias para garantir também a padronização de resultados. Nesse sentido, deve-se quantificar não apenas o crescimento micelial, mas também a conidiogênese, germinação de conídios e capacidade de atuação sobre os mecanismos de ação de *Trichoderma*, como micoparasitismo, antibiose, competição, promoção de crescimento e indução de resistência. Faz-se necessário também avaliar o efeito

residual de fungicidas e os demais produtos usados nas safras anteriores em diferentes nichos de colonização e sobrevivência de *Trichoderma* spp.

A informação sobre a compatibilidade de formulações à base de *Trichoderma* spp. com diferentes defensivos agrícolas deve ser fornecida pelas empresas fabricantes dos produtos, uma vez que cada isolado tem características únicas e peculiares. Normalmente, a aplicação desses produtos com fungicidas deve ser feita entre 10-15 dias antes ou depois da aplicação de fungicidas químicos.

Sinergia de *Trichoderma* com outras práticas de manejo

Os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* além serem reconhecidamente biofungicidas, também podem ser classificados como biofertilizantes, bioestimulantes e potencializadores da resistência contra estresses bióticos e abióticos. O resultado de todas estas interações normalmente é a promoção de crescimento (Woo; Pepe, 2018), ou seja, mesmo quando não se tem doença, quando o produto é utilizado, o produtor terá o benefício de aumento da eficiência de uso de nutrientes e produtividade. A aplicação de certos isolados de *Trichoderma* spp. no solo pode modificar a arquitetura das raízes, aumentando a área de absorção e a translocação de nutrientes. O efeito da interação “planta-*Trichoderma*-nutrientes” normalmente resulta na promoção de crescimento, pois o fungo atua na solubilização de fosfato e micronutrientes. Os mecanismos de *Trichoderma* spp. envolvidos na promoção de crescimento incluem a produção de sideróforos, metabólitos secundários e hormônios (Altomare et al., 1999; Mendoza-Mendoza et al., 2018).

Fungos do gênero *Trichoderma* podem ser usados em consórcios com diferentes espécies do gênero (Kumar et al., 2014) ou com outros agentes de biocontrole, como *Bacillus* spp. (Wu et al., 2018) e têm relação intermediária (dependente das espécies associadas) com fungos micorrízicos arbusculares (Szczałba et al., 2019). Espécies de *Trichoderma* são responsáveis por produzir mais de 250 metabólitos secundários, estes compostos podem afetar a resposta de outros microrganismos benéficos e assim melhorar os mecanismos de defesa envolvidos. Bons resultados têm sido alcançados em co-inoculações de *Trichoderma* spp. com bactérias fixadoras de nitrogênio, como *Rhizobium* spp. (Das et al., 2017), mostrando compatibilidade em campo, porém interações específicas devem ser mais estudadas. No Diagrama de Venn (Figura 2) estão representadas as possíveis interações compatíveis, incompatíveis e intermediárias em relação às espécies de *Trichoderma*.

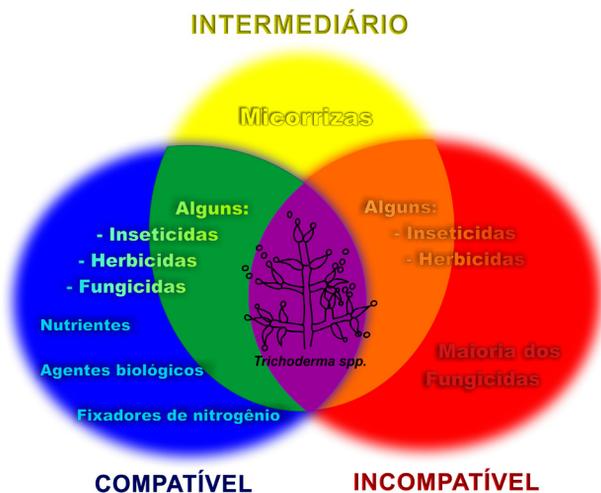


Figura 2. Diagrama de Venn representando as possíveis relações de compatibilidade, incompatibilidade e intermediárias entre diferentes espécies de *Trichoderma* em relação aos insumos de uso nos agroecossistemas.

Melhoramento de *Trichoderma* sp.

Para superar a limitação de compatibilidade ou relação da eficiência em função das condições ambientais, pode-se fazer uso de mistura de isolados em um único produto ou adotar técnicas para melhoramento do isolado.

Há vantagens e desvantagens em cada uma das estratégias. Se por um lado a mistura de isolados com alvos biológicos diferentes ou crescimento em diferentes condições ambientais garante maiores chances de sucesso, há maior custo envolvido pois deve-se prever uma linha de produção massal para cada organismo individualmente. Por outro lado, a manipulação genética de isolados representa uma área promissora de ser explorada no aumento da eficiência de biocontrole exercida por *Trichoderma* spp.

Várias ferramentas de manipulação genética de microrganismos tem sido utilizadas para melhorar a performance de isolados de importância biotecnológica. Essas ferramentas variam de acordo com seus princípios e dependem do objetivo almejado. Existem diversos casos de aplicação de ferramentas biotecnológicas para melhoria da performance de isolados de *Trichoderma* na agricultura. Dentre essas ferramentas podemos destacar a fusão de protoplastos e a manipulação genética por meio da mutagênese por diversas técnicas, incluindo a edição de genes por meio do sistema CRISPR/Cas9 (Hatvani et al., 2006; Liu et al., 2015). Em todas essas abordagens, procura-se gerar isolados que apresentem maior eficácia nos diversos fenótipos benéficos.

Fusão de protoplastos

A fusão de protoplastos tem sido uma ferramenta biotecnológica importante utilizada no melhoramento de características de interesse em fungos filamentosos (Jiang et al., 2013). O princípio dessa técnica se baseia na remoção da parede celular das células por meio de enzimas líticas. Após a remoção da parede celular, as células tornam-se permeáveis, sendo possível a fusão de protoplastos oriundos de isolados diferentes. Os protoplastos fundidos são regenerados em meio específico. Essa técnica é interessante pois possibilita a combinação de isolados ou espécies geneticamente diferentes. O desenvolvimento de indivíduos recombinantes a partir dessa técnica, pode melhorar a adaptação desses isolados a novas condições ambientais, além de revelar novos fenótipos associados ao biocontrole e promoção de crescimento de plantas (Besoain et al., 2007; Hatvani et al., 2006; Hassan, 2014).

A estratégia de utilização de fusão de protoplastos tem sido bem explorada em *Trichoderma*. O primeiro exemplo desse tipo de transformação dentro do gênero foi demonstrado em *T. reesei*, visando o aumento da eficiência de produção de enzimas de interesse industrial (Manczinger; Ferenczy, 1985). Além disso, essa estratégia possibilitou a seleção de isolados com maior velocidade de crescimento (Pe'er; Chet, 1990), aumento do antagonismo contra fitopatógenos (Mohamed; Haggag, 2010; 2014; Pe'er; Chet, 1990), controle de fitopatógenos em campo (Harman, 1998), aumento na atividade de enzimas relacionadas com efeito micoparasítico (Mohamed, 2014), aumento da resistência a diferentes pesticidas (Hatvani et al., 2006), efeito biorremediador em solos contaminados (Tripathi et al., 2013) e aumento da capacidade de colonizar a rizosfera (Sivan; Harman 1991). Além das vantagens citadas, a utilização de isolados oriundos da fusão de protoplastos, possui a vantagem de poder obter o registro para uso em campo de forma mais fácil do que aquelas oriundas de manipulação com base em transformação genética (Tripathi et al., 2013).

Um dos principais exemplos de sucesso na utilização de fusão de protoplastos em *Trichoderma* foi o isolado T-22. Esse isolado foi obtido por meio da fusão de dois isolados de *T. harzianum*, com o objetivo de melhorar a competência rizosférica (Stasz et al., 1988). O isolado T-22 apresentou uma melhor colonização do sistema radicular de plantas, contribuindo para o aumento da profundidade das raízes em diferentes tipos de solos (Harman, 1998). Além disso, esse isolado também apresenta efeito na resistência a estresses abióticos, na indução de resistência a patógenos e promoção de crescimento de plantas (Harman, 2000; Harman et al., 2004).

Nesse contexto, a utilização da fusão de protoplastos de isolados de *Trichoderma*, já é uma prática consolidada para o melhoramento dos efeitos desse fungo. Ao ponto que, a busca por melhores efeitos em campo pode impulsionar ainda mais essa abordagem no futuro. Em nosso grupo estamos desenvolvendo isolados com maior tolerância a baixas temperaturas (Figura 3).

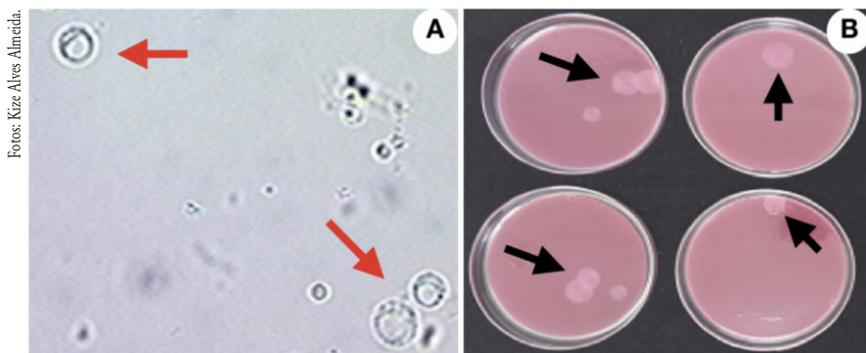


Figura 3. Melhoramento de *Trichoderma* por meio da fusão de protoplastos. Protoplastos em meio líquido indicados por setas vermelhas (A). Colônias em meio de regeneração indicadas por setas pretas (B).

Sistema de edição de genomas via CRISPR

Nas últimas décadas, vários esforços têm sido feitos para geração de novas estratégias eficientes na manipulação genética de fungos filamentosos, como forma de melhorar seu potencial biotecnológico (Jiang et al., 2013). Mesmo em diferentes abordagens, a eficiência de recombinação tem sido baixa, limitando a seleção de novos isolados com melhores fenótipos.

O sistema CRISPR-Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) originalmente descrito em bactérias e archaeas (Barrangou et al., 2007) é utilizado como uma ferramenta para edição genômica em diversos organismos (Jinek et al., 2012; Doudna; Charpentier, 2014; Nissim et al., 2014; Sander; Joung, 2014; Schuster et al., 2016). Através dessa ferramenta é possível realizar mudanças específicas em genes alvo de forma eficiente e rápida. Por conta disso, essa abordagem tem ganhado visibilidade, tornando-se a ferramenta de edição de genomas mais popular atualmente (Liu et al., 2015; Pohl et al., 2016). Essa aplicação tem sido utilizada com sucesso na edição de genomas eucariotos e sua utilização vem aumentando em fungos filamentosos (Nødvig et al., 2015; Schuster et al., 2016; Pohl et al., 2016). Até o momento, *Trichoderma reesei* foi a única espécie em que o sistema de edição CRISPR/Cas9 foi utilizado com o objetivo de induzir mudanças funcionais para melhorar seu potencial biotecnológico (Liu et al., 2015). Abordagens como essa, tem potencial para aumentar a eficiência de características existentes em isolados de *Trichoderma* para garantir melhor performance desses isolados em campo. Nesse sentido, o grande desafio é identificar genes alvo que estejam ligados a características de interesse e que possam ser manipulados com o sistema CRISPR/Cas9. Além das possibilidades já citadas, CRISPR/Cas9 pode ser utilizado em estudos de caracterização funcional de genes de interesse relacionados com diferentes aspectos da interação microorganismos-planta, possibilitando maior compreensão dos aspectos envolvidos nessa interação (Yi et al., 2018).

Todo o potencial de utilização do sistema CRISPR/Cas9 faz com que seja possível que essa abordagem vire tendência futura para o melhoramento da performance de isolados de *Trichoderma* no controle biológico de doenças e promoção de crescimento de plantas.

Referências

- AGROFIT: consulta aberta: produtos formulados. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 fev. 2019.
- AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 23, n. 2, p. 288-292, 2016.
- ALTMORE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied Environmental Microbiology*, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- AYOUBI, N.; ZAFARI, D.; MIRABOLFATHY, M. Combination of *Trichoderma* species and *Bradyrhizobium japonicum* in control of *Phytophthora sojae* and soybean growth. *Journal of Crop Protection*, v. 1, n. 1, p. 67-79, 2012.
- BARRANGOU, R.; FREMAUX, C.; DEVEAU, H.; RICHARDS, M.; BOYAVAL, P.; MOINEAU, S.; HORVATH, P. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, v. 315, n. 5819, p. 1709-1712, 2007.
- BESOAIN, X. A.; PÉREZ, L. M.; ARAYA, A.; LEFEVER, L.; MONTEALEGRE, J. R. New strains obtained after UV treatment and protoplast fusion of native *Trichoderma harzianum*: their biocontrol activity on *Pyrenochaeta lycopersici*. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 10, n. 4, p. 604-617, 2007.
- BISSETT, J.; GAMS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. J. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus*, v. 6, n. 2, p. 263-295, 2015.
- CARVALHO, D. D. C.; GERALDINE, A. M.; LOBO JUNIOR, M.; MELLO, S. C. M. D. Biological control of white mold by *Trichoderma harzianum* in common bean under field conditions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 50, n. 12, p. 1220-1224, 2015.
- DAS, T.; MAHAPATRA, S.; DAS, S. In vitro compatibility study between the Rhizobium and native *Trichoderma* isolates from lentil rhizospheric soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 6, n. 8, p. 1757-1769, 2017.
- DIAS NETO, J. A. Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematoides na cultura da soja. 2014. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul.
- DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, v. 346, n. 6213, p. 1258096, 2014.
- FERNANDES, É. K.; RANGEL, D. E.; BRAGA, G. U.; ROBERTS, D. W. Tolerance of entomopathogenic fungi to ultraviolet radiation: a review on screening of strains and their formulation. *Current Genetics*, v. 61, n. 3, p. 427-440, 2015.
- FORTES, F. de; SILVA, A. C. F. da; ALMANÇA, M. A. K.; TEDESCO, S. B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. *Revista Árvore*, v. 31, n. 2, 2007. DOI: 10.1590/S0100-67622007000200004.
- GAL-HEMED, I.; ATANASOVA, L.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S.; VITERBO, A.; YARDEN, O. Marine isolates of *Trichoderma* spp. as potential halotolerant agents of biological control for arid-zone agriculture. *Applied Environmental Microbiology*, v. 77, n. 15, p. 5100-5109, 2011.
- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; JUNIOR, M. L. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. *Biological Control*, v. 67, n. 3, p. 308-316, 2013.

- GÖRGEN, C. A.; CIVARDI, E. A.; RAGAGNIN, V. A.; SILVEIRA NETO, A. N. da; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Redução do inóculo inicial de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja cultivada após uso do sistema Santa Fé. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 45, n. 10, p. 1102-1108, 2011.
- HANADA, R. E.; SOUZA, T. J. de; POMELLA, A. W.; HEBBAR, K. P.; PEREIRA, J. O.; ISMAIEL, A.; SAMUELS, G. J. *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. *Mycological Research*, v. 112, n. 11, p. 1335-1343, 2008.
- HANNUSCH, D. J.; BOLAND, G. J. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of white mold of bean (*Sclerotinia sclerotiorum*). *Phytopathology*, v. 86, n. 2, p. 156-162, 1996.
- HARMAN, G. E. Potential and existing uses of Trichoderma and Gliocladium for plant disease control and plant growth enhancement. *Trichoderma and Gliocladium*, v. 2, p. 229-265, 1998.
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, v. 2, n. 1, p. 43, 2004.
- HASSAN, M. M. Influence of protoplast fusion between two *Trichoderma* spp. on extracellular enzymes production and antagonistic activity. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 28, n. 6, p. 1014-1023, 2014.
- HATVANI, L.; MANCZINGER, L.; KREDICS, L.; SZEKERES, A.; ANTAL, Z.; VÁGVÖLGYI, C. Production of Trichoderma strains with pesticide-polyresistance by mutagenesis and protoplast fusion. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 89, n. 3-4, p. 387-393, 2006.
- JESUS, E. P. de; SOUZA, C. H. E. de; POMELLA, A. W. V.; COSTA, R. L. da; SEIXAS, L.; SILVA, R. B. da. Avaliação do potencial de *Trichoderma asperellum* como condicionador de substrato para a produção de mudas de café. *Revista do Centro Universitário de Patos de Minas*, v. 2, n. 2, p. 111-126, 2011.
- JIANG, D.; ZHU, W.; WANG, Y.; SUN, C.; ZHANG, K. Q.; YANG, J. Molecular tools for functional genomics in filamentous fungi: recent advances and new strategies. *Biotechnology Advances*, v. 31, n. 8, p. 1562-1574, 2013.
- JINEK, M.; CHYLINSKI, K.; FONFARA, I.; HAUER, M.; DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive. *Bacterial Immunity Science*, v. 337, n. 6096, p. 816-821, 2012.
- JÚNIOR, P.; TEIXEIRA, H.; VIEIRA, R. F.; MORANDI, M. A. B.; LEHNER, M. D. S.; LIMA, R. C.; CARNEIRO, J. E. D. S. Limitations in controlling white mold on common beans with *Trichoderma* spp. at the fall-winter season. *Summa Phytopathologica*, v. 38, n. 4, p. 337-340, 2012.
- KUMAR, S.; THAKUR, M.; RANI, A. Trichoderma: mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. *African Journal of Agricultural Research*, v. 9, n. 53, p. 3838-3852, 2014.
- LIU, R.; CHEN, L.; JIANG, Y.; ZHOU, Z.; ZOU, G. Efficient genome editing in filamentous fungus *Trichoderma reesei* using the CRISPR/Cas9 system. *Cell Discovery*, v. 1, p. 15007, 2015.
- LOBO JUNIOR, M.; GERALDINE, A.; DE CARVALHO, D. D. *Controle biológico de patógenos habitantes do solo com Trichoderma spp., na cultura do feijoeiro comum*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2009. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 85).
- LÓPEZ-BUCIO, J.; PELAGIO-FLORES, R.; HERRERA-ESTRELLA, A. Trichoderma as biostimulant exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 109-123, 2015.
- MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; VENTURA, G. M.; SANFUENTES, E. A. Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoctonia solani* na propagação clonal de *Eucalyptus*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 28, n. 1, p. 101-105, 2003.
- MANCZINGER, L.; FERENCZY, L. Somatic cell fusion of *Trichoderma reesei* resulting in new genetic combinations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 22, n. 1, p. 72-76, 1985.

- MEDEIROS, F. H. V.; POMELLA, A. W. V.; DE SOUZA, J. T.; NIELLA, G. R.; VALLE, R.; BATEMAN, R. P.; HEBBAR, P. K. A novel, integrated method for management of witches' broom disease in Cacao in Bahia, Brazil. **Crop Protection**, v. 29, n. 7, p. 704-711, 2010.
- MEDEIROS, H. A. de; ARAÚJO FILHO, J. V. de; FREITAS, L. G. de; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 40216, 2017.
- MENDOZA-MENDOZA, A.; ZAID, R.; LAWRY, R.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K. Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: role of the fungal secretome. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 62-85, 2018.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. (Ed.). **Ensaios cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (Embrapa Soja. Documentos, 345).
- MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Functional analysis of the *Trichoderma harzianum* nox1 gene, encoding an NADPH oxidase, relates production of reactive oxygen species to specific biocontrol activity against *Pythium ultimum*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 77, n. 9, p. 3009-3016, 2011.
- MOHAMED, H. A. A.; HAGGAG, W. M. Mutagenesis and inter-specific protoplast fusion between *Trichoderma koningii* and *Trichoderma reesei* for biocontrol improvement. **American Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 13, p. 504-515, 2010.
- MOHAMED, M. H. Influence of protoplast fusion between two *Trichoderma* spp. on extracellular enzymes production and antagonistic activity. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 28, n. 6, p. 1014-1023, 2014. DOI: 10.1080/13102818.2014.978206.
- MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SCHMOLL, M.; KENERLEY, C. M. *Trichoderma* research in the genome era. **Annual Review of Phytopathology**, v. 51, p. 105-129, 2013.
- NIETO-JACOBO, M. F.; STEYAERT, J. M.; SALAZAR-BADILLO, F. B.; NGUYEN, D. V.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; MENDOZA-MENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 102, 2017.
- NISSIM, L.; PERLI, S. D.; FRIDKIN, A.; PEREZ-PINERA, P.; LU, T. K. Multiplexed and programmable regulation of gene networks with an integrated RNA and CRISPR/Cas toolkit in human cells. **Molecular Cell**, v. 54, n. 4, p. 698-710, 2014.
- NØDVG, C. S.; NIELSEN, J. B.; KOGLE, M. E.; MORTENSEN, U. H. A CRISPR-Cas9 system for genetic engineering of filamentous fungi. **PLoS One**, v. 10, n. 7, e0133085, 2015.
- OROS, G.; NAÁR, Z.; CSERHÁTI, T. Growth response of *Trichoderma* species to organic solvents. **Molecular Informatics**, v. 30, n. 2, p. 276-285, 2011.
- PANDOLFO, J. D. **Associação de *Trichoderma* sp. e fungicidas no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- PAZ, Z.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S.; AVESKAMP, M. M.; SHNAIDERMAN, A.; ALUMA, Y.; YARDEN, O. Diversity and potential antifungal properties of fungi associated with a Mediterranean sponge. **Fungal Diversity**, v. 42, n. 1, p. 17-26, 2010.
- PE'ER, S.; CHET, I. *Trichoderma* protoplast fusion: a tool for improving biocontrol agents. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 6-9, 1990.
- PINTO, Z. V.; WEILER, C. A.; MORANDI, M. A. B.; LUCON, C. M. M.; BETIOL, W. Controle de qualidade de produtos biológicos a base de fungos. In: MEDEIROS, F. H. V.; SILVA JÚNIOR, M. B. da; PEREIRA, P. de F.; CARDOSO, A. M. S.; FARIA, A. F. de; GADAGA, S. J. C.; LIMA, P. P.; JULIATTI, B. C. M.; LUZ, A. L. F.; SANTOS, G. de S.; NICOLLI, C. P. (Ed.). **Controle biológico de doenças de plantas: integrando técnicas para entregar resultados**. Lavras: UFLA, 2016. p. 103-122. Disponível em: <<http://www.nucleoestudo.ufla.br/nefit/livros/livro-2016.pdf>>. Acesso em: 08 ago. 2019.
- POHL, C.; KIEL, J. A. K. W.; DRIESSEN, A. J. M.; BOVENBERG, R. A. L.; NYGARD, Y. CRISPR/Cas9 based genome editing of *Penicillium chrysogenum*. **ACS Synthetic Biology**, v. 5, n. 7, p. 754-764, 2016.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas - uma visão empresarial. In: BETTIOL W.; MORANDI, M. A. R. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio ambiente, p. 241-244, 2009.
- RUDRESH, D. L.; SHIVAPRAKASH, M. K.; PRASAD, R. D. Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer arvense* L.). **Applied Soil Ecology**, v. 28, n. 2, p. 139-146, 2005.

- SANDER, J. D.; JOUNG, J. K. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 4, p. 347, 2014.
- SANTORO, P. H.; CAVAGUCHI, S. A.; ALEXANDRE, T. M.; ZORZETTI, J.; NEVES, P. M. O. J. In vitro sensitivity of antagonistic *Trichoderma atroviride* to herbicides. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 2, p. 238-243, 2014.
- SARAVANAKUMAR, K., LI, Y.; YU, C.; WANG, Q. Q.; WANG, M.; SUN, J.; CHEN, J. Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of Fusarium Stalk rot. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, article 1771, 2017.
- SCHUSTER, M.; SCHWEIZER, G.; REISSMANN, S.; KAHMANN, R. Genome editing in *Ustilago maydis* using the CRISPR-Cas system. **Fungal Genetics and Biology**, v. 89, p. 3-9, 2016.
- SILVA, J. C. P. D.; MEDEIROS, F. H. V. D.; CAMPOS, V. P. Building soil suppressiveness against plant-parasitic nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 5, p. 423-445, 2018a.
- SILVA, M. A. F. D.; MOURA, K. E. D.; MOURA, K. E. D.; SALOMÃO, D.; PATRICIO, F. R. A. Compatibility of *Trichoderma* isolates with pesticides used in lettuce crop. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 2, p. 137-142, 2018b.
- SINGH, M.; SHARMA, O. P.; BHAGAT, S. Compatibility of promising *Trichoderma* spp. with pesticides. **Pesticide Research Journal**, v. 26, n. 2, p. 217-220, 2014.
- SIVAN, A.; HARMAN, G. E. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. **Microbiology**, v. 137, n. 1, p. 23-29, 1991.
- STASZ, T. E.; HARMAN, G. E.; WEEDEN, N. F. Protoplast preparation and fusion in two biocontrol strains of *Trichoderma harzianum*. **Mycologia**, v. 80, n. 2, p. 141-150, 1988.
- SZCZALBA, M.; KOPTA, T.; G STOL, M.; S KARA, A. Comprehensive insight into arbuscular mycorrhizal fungi, *Trichoderma* spp. and plant multilevel interactions with emphasis on biostimulation of horticultural crops. **Journal of Applied Microbiology**, v. 127, n. 3, p. 617-952, 2019.
- THIRUCHCHELVAN, N.; MIKUNTHAN, G.; THIRUKKUMARAN, G.; PAKEERATHAN, K. Effect of insecticides on bio-agent *Trichoderma harzianum rifai* under in vitro condition. **American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Science**, v. 13, n. 10, p. 1357-1360, 2013.
- TRIPATHI, P.; SINGH, P. C.; MISHRA, A.; CHAUHAN, P. S.; DWIVEDI, S.; BAIS, R. T.; TRIPATHI, R. D. *Trichoderma*: a potential bioremediator for environmental clean up. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 15, n. 4, p. 541-550, 2013.
- WAGHUNDE, R. R.; SHELAKI, R. M.; SABALPARA, A. N. *Trichoderma*: a significant fungus for agriculture and environment. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 22, p. 1952-1965, 2016.
- WOO, S. L.; PEPE, O. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 1801, 2018.
- WU, Q.; NI, M.; DOU, K.; TANG, J.; REN, J.; YU, C.; CHEN, J. Co-culture of *Bacillus amyloliquefaciens* ACCC11060 and *Trichoderma asperellum* GDFS1009 enhanced pathogen-inhibition and amino acid yield. **Microbial Cell Factories**, v. 17, n. 1, article 155, 2018.
- YI, Y.; LI, Z.; SONG, C.; KUIPERS, O. P. Exploring plant microbe interactions of the rhizobacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus mycoides* by use of the CRISPR Cas9 system. **Environmental Microbiology**, v. 20, n. 12, p. 4245-4260, 2018.

Indução de resistência por *Trichoderma*

Sérgio Florentino Pascholati,
Victor Hugo Moura de Souza
Júlio Alves Cardoso Filho

Noções acerca da indução de resistência

Organismos fitopatogênicos ainda são grandes gargalos para a agricultura mundial. Por exemplo, *Phytophthora infestans* foi o primeiro agente descrito como causador de doenças em plantas, por Anton de Bary em 1845 (Bergamim Filho; Kitajima, 2018). Na ocasião, o agente causador da requeima da batata, na Irlanda, devastou a produção do país e gerou severos problemas sociais. Embora em um cenário menos devastador, *P. infestans* é um bom exemplo acerca da importância de fitopatógenos, ainda sendo hoje uma ameaça constante à segurança alimentar mundial (Kamoun et al., 2015).

Rotação de culturas, melhoramento de variedades resistentes e aplicação de pesticidas tem se mostrado insuficientes para o controle de algumas doenças de importantes culturas (Choudhary et al., 2007). A indução de resistência vem como uma ferramenta a ser adicionada nesse cenário. A noção de que as plantas podem se defender ativamente e ter sua resistência induzida contra fitopatógenos já é sabida a mais de 100 anos (Hammerschmidt, 2007). Segundo Choudhary et al., 2007, a indução de resistência é um “estado fisiológico de aumento da capacidade de defesa”, ativada por estímulos específicos, através da qual a defesa inata vegetal é potencializada contra desafios bióticos (Figura 1). A possibilidade da ativação dos genes responsáveis por esses mecanismos de resistência abriu as portas para os estudos envolvendo o fenômeno da indução de resistência em plantas (Pascholati; Dalio, 2018).

A indução de resistência já foi relatada para inúmeras espécies botânicas, incluindo batateira, cafeeiro, cevada, cravo, feijoeiro, fumo, macieira, melancia, melão, pepineiro, pereira, soja, tomateiro e videira (Pascholati; Dalio, 2018). A indução de proteção ou imunidade ad-

quirida envolve a ativação dos mecanismos latentes de resistência em uma planta através de tratamentos com agentes externos, que podem ser bióticos (por exemplo, microrganismos viáveis ou inativados) ou abióticos (por exemplo, metais pesados e o acibenzolar-S-metilico), sem alteração do genoma da mesma (Cavalcanti et al., 2005).

Existem duas formas envolvendo a indução de resistência: a resistência sistêmica adquirida (do inglês: *systemic acquired resistance*, SAR) e a resistência sistêmica induzida (do inglês: *induced systemic resistance*, ISR). Embora fenotípicamente semelhantes, estes fenômenos podem ser diferenciados tanto pela natureza do eliciador, quanto pelas vias de sinalização hormonal envolvidas (Choudhary et al., 2007). A SAR é mediada pelo ácido salicílico e, geralmente, está relacionada a exposição à patógenos biotróficos virulentos, avirulentos ou microrganismos não-patogênicos. A ativação dessa via culmina no acúmulo de proteínas relacionadas a patogênese (Proteínas-PR), como quitinase e glucanase. A ISR, por outro lado, é mediada pelos hormônios ácido jasmônico e etileno, sendo associada à rizobactérias ou microrganismos rizosféricos. A ISR é uma via não dependente do ácido salicílico e não resulta no acúmulo de proteínas-PR.

No contexto da indução de resistência, no início dos anos 2000, demonstrou-se o fenômeno do “*priming*”. Esse fenômeno está intimamente relacionado com a indução de resistência e consiste em uma potencialização das respostas bioquímicas e moleculares das plantas, por meio do pré-condicionamento/sensibilização (“*priming*”) contra subsequente infecção por patógenos (Conrath et al., 2002; Pascholati; Dalio, 2018). O *priming* é parte integrante do fenômeno da resistência em plantas contra ambos estresses bióticos e abióticos, permitindo que as plantas ativem suas respostas de defesa de forma mais rápida e/ou efetiva, quando desafiadas por esses agentes. Recentemente relatou-se o chamado “estado de *priming* transgeracional”, o qual ocorre em plantas parentais pré-condicionadas, sendo que esse fenômeno passa aparentemente de forma epigenética para a sua descendência (Ramírez-Carrasco et al., 2017; Pascholati; Dalio, 2018).

Desde sua descoberta, inúmeros relatos dedicaram-se a esclarecer as bases moleculares do fenômeno “*priming*”, trazendo novas evidências e explicações acerca dessa importante resposta a patógenos. Schwachtje et al., (2019) apresentaram um conceito sistemático de respostas metabólicas que são induzidas por estresses e que persistem na planta. Essas “marcas metabólicas” (*metabolic imprints*) podem manter as plantas em estado de *priming* a estresses subsequentes. Os dados obtidos apontam que as plantas formam um verdadeiro “histórico diverso e integrado de estresses ambientais” (*integrated diverse environmental stress histories*), a partir dos *imprints* metabólicos e de outros fatores, como o próprio “*priming*”.

Estes fatos demonstram a complexidade do fenômeno “*priming*”, o qual é importante para a elaboração de novos conceitos no controle de doenças. Ademais, propicia resistência de

amplo-espectro sem afetar, significativamente, o crescimento e a produção das plantas ou a de sementes (Karasov et al., 2017; Mauch-Mani et al., 2017; Pascholati; Dalio, 2018).

Indução de resistência por microrganismos rizosféricos

A rizosfera vegetal consiste na região em volta das raízes, de aproximadamente 1 - 3 mm, sendo moldada/influenciada pela própria raiz e seus exsudatos (Sasse et al., 2018). Esse microambiente é massivamente colonizado por diversos microrganismos, que atingem densidades celulares muito superiores ao número de células vegetais (Mendes et al., 2013). Essas comunidades microbianas, residentes da rizosfera, desempenham papel fundamental no funcionamento das plantas, atuando em sua fisiologia e desenvolvimento (Lucy et al., 2004; Mendes et al., 2013; Sasse et al., 2018).

Dentre os microrganismos rizosféricos, encontram-se também alguns fitopatógenos. Entretanto, grande parte da microbiota da rizosfera atua suprimindo estes agentes, através do controle direto de fitopatógenos ou na melhoria das capacidades defensivas das plantas, que consiste na indução de resistência (Bakker et al., 2007; Bakker et al., 2013). Dada essa atuação, muitos desses microrganismos habitantes da rizosfera tem sido estudados, destacando-se as bactérias fixadoras de nitrogênio, bactérias promotoras de crescimento, fungos micorrízicos, fungos micoparasíticos, entre outros (Mendes et al., 2013; Schouteden et al., 2015; Medeiros et al., 2018).

As bactérias rizofíticas ou rizobactérias estão presentes em abundância na superfície das raízes de plantas, nutrindo-se de exsudatos e outros compostos liberados pelas espécies vegetais (Lucy et al., 2004). As rizobactérias podem colonizar plantas de diversas espécies botânicas e apresentam efeito supressivo contra diversos fitopatógenos, além de atuarem na promoção do crescimento vegetal (Kloepper et al., 2004).

A capacidade de rizobactérias de ativar a resistência de plantas é conhecida desde o início dos anos 90, onde observou-se que isolados de *Pseudomonas* spp. conseguiam reduzir doenças de plantas, mesmo quando mantidas espacialmente separadas do patógeno (Van Peer et al., 1991; Wei, 1991).

Muitas das rizobactérias também atuam na chamada “indução de tolerância sistêmica” (do inglês “*induced systemic tolerance*”), onde esses microrganismos incrementam a tolerância vegetal à salinidade e estresse hídrico (Yang et al., 2009). Segundo os mesmos autores, as rizobactérias podem ainda melhorar a captação de nutrientes do solo pela planta, o que poderia reduzir a necessidade da adição de fertilizantes e prevenir o acúmulo de nitrato e fosfato nos solos agrícolas.

A partir dos primeiros trabalhos publicados, centenas de estudos verificando a indução de resistência e a promoção de crescimento mediada por rizobactérias, em monocotiledôneas e dicotiledôneas, tem sido documentados (Pieterse et al., 2014). O fenômeno da resistência

induzida por rizobactérias foi reportada para patógenos fúngicos (Kloepper et al., 2004) e bacterianos (Ramamoorthy et al., 2001), além de nematoides fitoparasitas (De Souza et al., 2015), vírus (Samaniego-Gómez et al., 2017) e pragas (Kloepper et al., 2004). Não apenas as células bacterianas, mas seus constituintes estão envolvidos no fenômeno da indução de resistência, como lipopolissacarídeos, sideróforos e ácido salicílico (Wei, 1991; Ramamoorthy et al., 2001; Mauch-Mani et al., 2017).

Similarmente às bactérias rizosféricas, diversos organismos fúngicos possuem a capacidade de eliciar o sistema de defesa vegetal, embora sejam filogeneticamente diversos entre si. Dentre esses fungos rizosféricos, encontram-se fungos micorrízicos e fungos promotores de crescimento, podendo ainda serem encontrados alguns patógenos fúngicos hipovirulentos ou avirulentos (Bent, 2006; Mauch-Mani et al., 2017). Dentre os mais estudados, destacam-se isolados não patogênicos de *Fusarium* spp., *Piriformospora indica*, fungos micorrízicos arbusculares do filo *Glomeromycota* e diversas espécies de *Trichoderma* (Kloepper et al., 2004; Pieterse et al., 2014; Mauch-Mani et al., 2017).

A simbiose micorrízica consiste em uma relação mutualística entre plantas e fungos micorrízicos, onde, durante a interação, a planta fornece produtos fotossintéticos, que são trocados por nutrientes e minerais, captados a partir do solo pelos fungos (Smith; Read, 2010). Essa íntima relação entre plantas e fungos é provavelmente a simbiose mais disseminada no mundo, tendo sido observada em fósseis que datam de 450 milhões de anos atrás, o que ilustra a importância dessa relação para ambos os organismos (Jung et al., 2012; Cameron et al., 2013). O benefício mútuo é a base do sucesso evolutivo dessa relação, garantido por um forte controle bidirecional do mutualismo (Kiers et al., 2011). Além da troca benéfica entre estes organismos, a regulação desse processo implica em mudanças importantes em ambos os metabolismos primário e secundário das plantas, além da regulação dos mecanismos de defesa vegetal. Essas mudanças impactam fortemente a fisiologia da planta, alterando sua habilidade de superar diversos estresses (Jung et al., 2012).

A maior parte dos relatos acerca da indução de resistência, mediada por fungos micorrízicos, refere-se a supressão de patógenos de solo, como *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Thielaviopsis* sp., *Pythium* sp., além de alguns nematoides fitoparasitas, como *Rotylenchulus* spp., *Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp. (Azcón-Aguilar; Barea, 1997; Whipps, 2004; De Souza et al., 2015). Foi apenas na última década, que ocorreram os primeiros relatos acerca da resistência induzida por fungos micorrízicos contra patógenos de parte aérea, onde obteve-se, por exemplo, a inibição de *Alternaria solani* em tomateiro (Fritz et al., 2006; Pozo; Azcón-Aguilar, 2007; Schouteden et al., 2015).

Embora a resistência induzida seja um fenômeno já conhecido, recentemente, novas explicações tem sido propostas. No artigo de opinião intitulado “Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts” (Cameron et al., 2013), os autores propõem que a resistência induzida por micorriza (MIR: *mycorrhiza-induced resistance*) é um efeito cumulativo da resposta direta da planta à infecção da micorriza e respostas imunes indiretas à ativação da resistência sistêmica induzida, ativada por rizobactérias presentes na micorrizosfera (Cameron et al., 2013). Essa conceituação revela a complexidade das interações bióticas e das sinalizações químicas, presentes na rizosfera.

Outros fungos promotores de crescimento incluem fungos saprófitas não simbiotes, que vivem livremente no solo rizosférico ou na superfície radicular (Bent, 2006). Dentro desse grupo, encontra-se o gênero *Trichoderma*, que é o objeto de estudo deste livro.

Indução de resistência mediada por *Trichoderma* contra fitopatógenos

Calderón et al. (1993) relataram pela primeira vez evidências da indução de resistência sistêmica, mediada por *Trichoderma*, em videira. Por sua vez, em trabalho publicado em 1998, observou-se a indução de resistência nas culturas do tomate, alface, pimentão, feijão e fumo, tratadas com *Trichoderma harzianum* (isolado T39), para o controle de *Botrytis cinerea* (De Meyer et al., 1998). A aplicação deste agente de biocontrole, mesmo estando espacialmente separado do patógeno, resultou em reduções de 25 - 100% dos sintomas do mofo cinzento, atribuídos ao atraso ou supressão da formação das lesões causadas por *B. cinerea*. Posteriormente, inúmeros relatos da indução de resistência sistêmica eliciada por *Trichoderma* spp., em várias culturas contra diversos patógenos, foram publicados (Bisen et al., 2016; Woo et al., 2007). Nesse sentido, a Tabela 1 sumariza alguns trabalhos que contemplam a indução de resistência mediada por *Trichoderma* spp. para diferentes grupos de fitopatógenos. Dentre desses, encontram-se fungos, oomicetos, bactérias, vírus e nematoides fitoparasitas. Além dos exemplos elencados na Tabela 1, alguns trabalhos serão detalhados ao longo deste capítulo.

Evidências genéticas, utilizando plantas de *Arabidopsis*, apontam para a importância do ácido jasmônico/etileno na indução de resistência mediada por *T. harzianum* T39 (Korolev et al., 2008; Pieterse et al., 2014). Como comentado anteriormente, os hormônios ácido jasmônico e etileno são importantes reguladores do sistema imune vegetal (Choudhary; Prakash; Johri, 2007; Pascholati; De Souza, 2017) disease can be reduced. Induced resistance is a state of enhanced defensive capacity developed by a plant when appropriately stimulated. Systemic acquired resistance (SAR). Esses hormônios parecem ser dominantes na indução de resistência independente de ácido salicílico, conferida por microrganismos benéficos do solo (Pieterse et al., 2014). Apesar disso, embora frequentemente independente do ácido salicílico, alguns fungos promotores de crescimento vegetal podem também ativar mecanismos de resistência dependentes desse hormônio, sendo similar à ativação induzida por fitopatógenos (Pieterse et al., 2014).

Tabela 1. Indução de resistência em diferentes interações planta - patógeno mediada por diferentes espécies/isolados de *Trichoderma*.

Espécie de <i>Trichoderma</i>	Fitopatógeno	Cultura	Referência
Fungos e oomicetos			
<i>T. harzianum</i>	<i>Alternaria solani</i> , <i>Phytophthora infestans</i>	Tomateiro	Chowdappa et al. (2013)
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Alternaria solani</i>	Tomateiro	Fontenelle et al. (2011)
<i>T. hamatum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Gerânio	Olson e Benson (2007)
<i>T. harzianum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Tomateiro	Martinez-Medina et al. (2013)
<i>T. harzianum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Tomateiro	Harel et al. (2014)
<i>T. harzianum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	Milho	Saravanakumar et al. (2016)
<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i> <i>T. atroviride</i> <i>T. strigosum</i> <i>T. longibrachiatum</i> <i>T. ovalisporum</i>	<i>Colletotrichum lagenarium</i>	Pepineiro	Silva et al. (2012)
<i>T. atroviride</i>	<i>Diplodia pinea</i>	<i>Pinus radiata</i>	Regli ski et al. (2012)
<i>T. koningiopsis</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Tomateiro	Suarez et al. (2009)
<i>T. virens</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Tomateiro	Jogaiah et al. (2018)
<i>T. viride</i> <i>T. harzianum</i>	<i>Ganoderma lucidum</i>	Coqueiro	Karthikeyan et al. (2006)
<i>T. harzianum</i>	<i>Plasmopara viticola</i>	Videira	Perazzolli et al. (2008; 2011)
<i>T. harzianum</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	Pimentão	Ahmed et al. (2000)
<i>T. hamatum</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	Pepineiro	Khan et al. (2004)
<i>T. harzianum</i> <i>T. viride</i>	<i>Puccinia graminis</i> f.sp. <i>tritici</i>	Trigo	El-Sharkawy et al. (2018)
<i>T. virens</i>	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Pimentão	Muthukumar et al. (2011)
<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Girassol	Singh et al. (2014)
<i>T. asperellum</i> <i>T. harzianum</i> <i>T. atroviride</i> <i>T. virens</i> <i>T. longibrachiatum</i> <i>T. brevicompactum</i>	<i>Sclerospora graminicola</i>	Milheto	Nandini et al. (2017)
<i>T. harzianum</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Brassica napus</i> <i>Raphanus</i> <i>albolabra</i>	Alkooranee et al. (2017)
<i>T. asperellum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Cebola	Guzmán-Valle et al. (2014)
<i>T. asperellum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Hortelã-pimenta	Muthukumar e Venkatesh (2014)

continua...

Tabela 1. Continuação

Espécie de <i>Trichoderma</i>	Fitopatógeno	Cultura	Referência
<i>T. harzianum</i>	<i>Uromyces appendiculatus</i>	Feijoeiro	Abeyinghe (2009)
Bactérias			
<i>T. asperellum</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	Pepineiro	Yedidia et al. (2003)
<i>T. asperellum</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Tomateiro	Konappa et al. (2018)
<i>T. hamatum</i>	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	Tomateiro	Alfano et al. (2007)
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	Tomateiro	Fontenelle et al. (2011)
Nematoides			
<i>T. longibrachiatum</i>	<i>Heterodera avenae</i>	Trigo	Zhand, Gan et al. (2014)
<i>T. harzianum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Tomateiro	Leonetti et al. (2017)
<i>T. harzianum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Tomateiro	Martinez-Medina et al. (2017)
<i>T. atroviride</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Tomateiro	Medeiros et al. (2017)
<i>T. harzianum</i>	<i>Pratylenchus brachyurus</i>	Soja	Kath et al. (2017)
Vírus			
<i>T. asperellum</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	Pepineiro	El-sharkawy et al. (2013)
<i>T. harzianum</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	Tomateiro	Vitti et al. (2016)

Utilizando-se plantas de *Arabidopsis thaliana* e marcadores de genes relacionados a patogênese, observou-se que *T. virens* e *T. atroviride* induziram resistência pela via do ácido salicílico e/ou ácido jasmônico, dependente da quantidade de conídios inoculados (Contreras-Cornejo et al., 2011). Segundo os mesmos autores, plântulas de *Arabidopsis* com as raízes colonizadas por *Trichoderma* acumularam peróxido de hidrogênio e a fitoalexina camalexina nas folhas. Os resultados do trabalho reforçam a complexidade da eliciação de *Trichoderma* em *Arabidopsis*, havendo envolvimento de diferentes fatores na ativação da imunidade vegetal.

Os fungos estão entre os mais importantes agentes causais de doenças em plantas. Dentro dessa denominação genérica, destacam-se os fungos verdadeiros (Reino *Fungi*) e os oomicetos (Reino *Chromista*, classe *Oomycetes*) (Massola Júnior, 2018). Assim, serão descritos abaixo, relatando a indução de resistência promovida por *Trichoderma* sp. contra esse grupo de fitopatógenos (Figura 1).

Khaledi & Taheri (2016) realizaram investigações para verificar o controle de *Macrophomina phaseolina* em plantas de soja. Os resultados de casa-de-vegetação revelaram que o tratamento

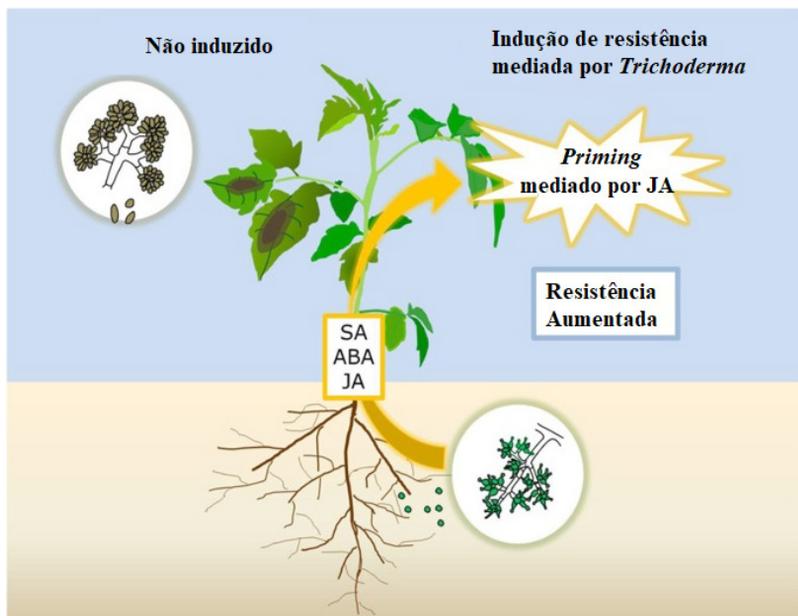


Figura 1. Modelo para a resistência induzida por *Trichoderma* sp. contra *Botrytis cinerea* em tomateiro (Adaptado de Martínez et al., (2013)). A colonização radicular por *Trichoderma* induz resistência sistêmica nos tecidos foliares e aumenta a resistência contra patógenos necrotrofos. Essa resposta é mediada por ácido jasmônico (JA), mas necessita de vias de sinalização do ácido salicílico (SA) e ácido abscísico (ABA) intactas para a resistência mediada por *Trichoderma*.

de sementes com *Trichoderma* sp. foi mais eficaz em reduzir a severidade da doença, embora o tratamento via solo tenha incrementado a massa das raízes e hastes. Embora tenha sido verificado efeito direto dos isolados de *T. harzianum* sobre *M. phaseolina*, o aumento no conteúdo fenólico e na atividade da peroxidase sugerem que parte do controle pode estar relacionado a indução de resistência.

Silva et al. (2012) observaram o efeito da aplicação de *Trichoderma* spp. no solo, o qual promoveu a ativação da resistência sistêmica em pepineiro contra a antracnose (*Colletotrichum lagenarium*), respondendo ao ataque patogênico na parte aérea. Neste estudo, verificaram que as espécies *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. strigosum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningiopsis* e *T. ovalisporum* apresentaram-se como indutores de resistência contra a antracnose, determinada por meio do aumento da atividade enzimática das plantas em casa de vegetação.

Chowdappa et al. (2013) observaram em seus ensaios, um aumento do ácido indol-3-acético, ácido giberélico e de enzimas relacionadas a defesa, como a peroxidase, a polifenol-oxidase

e superóxido dismutase, estimuladas pela indução de resistência por *Bacillus subtilis* e *T. harzianum* em plantas de tomate inoculadas com *A. solani* e *P. infestans*.

Guzmán-Valle et al. (2014) estudaram a interação de *Sclerotinia rolsii* com variedades de cebola, verificando o mecanismo de indução de resistência por *T. asperellum* através do aumento da atividade das enzimas glucanase, quitinase e peroxidase nas raízes, bulbos e folhas. Muthukumar e Venkatesh (2014) também avaliaram o aumento de enzimas de defesa na planta pela inoculação de *T. harzianum* de forma isolada e conjunta com *Pseudomonas fluorescens* contra *S. rolsii*, causadora da podridão do colo em hortelã-pimenta.

Khan et al. (2004) realizaram ensaios para verificar o controle de *Phytophthora capsici* em pepineiro, utilizando *T. hamatum* (isolado T₃₈₂). Em bioensaios de raiz bipartida, aplicações desse microrganismo reduziram a severidade da podridão da raiz e da coroa das raízes não-tratadas. Esse efeito não diferiu dos tratamentos via solo do benzotiadiazol (indutor de resistência) ou mefenoxam (fungicida sistêmico). Baseado na área abaixo da curva de progresso da doença, a adição no solo do *T. hamatum* T₃₈₂ também reduziu a severidade da requeima causada por *P. capsici*. Os resultados sugerem a natureza sistêmica da indução de resistência induzida pelo isolado T₃₈₂.

Muthukumar, Eswaran e Sangeeth (2011) também verificaram a indução de resistência por *T. viride* contra o tombamento de plântulas de pimenta, ocasionada pelo patógeno de solo *Pythium aphanidermatum*. Em estudo combinando diferentes misturas de isolados bacterianos, fúngicos e microrganismos endofíticos, comprovaram o seu efeito na redução da doença e na interferência na atividade de enzimas relacionadas à defesa vegetal.

Não apenas fungos necrotróficos/hemibiotróficos podem ser controlados por *Trichoderma* spp. Recentemente, em estudos conduzidos por El-Sharkawy et al. (2018), observou-se o controle do patógeno biotrófico *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* por fungos micorrízicos arbusculares e *Trichoderma* spp. Além da redução da severidade da doença, relatou-se também aumento nas atividades da peroxidase, polifenol oxidase e nos conteúdos fenólicos. Similarmente, plantas de feijoeiro foram protegidas por *Trichoderma* spp. contra *Uromyces appendiculatus*, agente causal da ferrugem do feijoeiro (Abeyasinghe, 2009).

Bactérias fitopatogênicas consistem em fatores limitantes para a agricultura mundial. Dentre os procariotos fitopatogênicos, são de notável importância os gêneros *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Xanthomonas* e *Xylella*, entre outros (Mansfield et al., 2012). Nesse sentido, Yedidia et al. (2003) verificam o efeito de *T. asperellum* em cultivo hidropônico de pepineiro, sobre a mancha angular causada por *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. Observou-se redução de até 80% da doença, que foi creditada ao acúmulo de mRNA de genes ligados a via dos fenilpropanóide, codificadores por exemplo, da fenilalanina amônia liase (FAL).

Alfano et al. (2007) apresentaram resultados quanto ao controle satisfatório, via indução de resistência por *T. hamatum* 382, da mancha bacteriana em tomateiro ocasionada por *Xanthomonas euvesicatoria*, reduzindo também a população do patógeno nas folhas de tomateiro. Os autores afirmaram que o *Trichoderma* modulou a expressão de genes nas folhas que estão associados ao estresse biótico, abiótico e metabolismo de RNA, DNA e proteínas da planta. Fontenelle et al. (2011) também demonstraram o potencial de *Trichoderma* spp. como indutor de resistência contra *Xanthomonas euvesicatoria* e *A. solani* em tomateiro, além de verificarem que todos os isolados estudados foram capazes de degradar celulose.

A murcha bacteriana do tomateiro é causada por *Ralstonia solanacearum* e consiste em uma das doenças mais severas da cultura. Konappa et al. (2018) realizaram estudos para verificar o controle de *R. solanacearum* em tomateiro, utilizando isolados de *T. asperellum*. O tratamento com *T. asperellum* reduziu a incidência da doença em 51% (isolado T4) e 52% (isolado T8), além de se observar o aumento da atividade da peroxidase, fenilalanina amônia-liase, polifenol oxidase, β -1,3-glucanase e fenóis totais após a inoculação do patógeno. Os resultados indicaram o envolvimento dos mecanismos de resistência induzidos por *T. asperellum* contra *R. solanacearum* em tomates, em condições de campo.

As espécies de nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e nematoides de cisto (*Heterodera* spp.) configuram entre as principais pragas do mundo, afetando diversas culturas de interesse econômico, como tomateiro, soja e cereais, entre outras (Jones et al., 2013). O uso de *Trichoderma* para o controle de fitonematoides já é consagrado, existindo, inclusive, produtos comerciais disponíveis, formulados a partir de propágulos desse fungo (Agrofit, c2003). Nesse sentido, dada sua pertinência para o manejo de fitonematoides, exemplos de sucesso envolvendo o controle e a indução de resistência por *Trichoderma* para o controle desses fitopatógenos serão discutidos em detalhes no capítulo 30. Apesar disso, discutiremos alguns exemplos de indução de resistência relacionados a nematoides fitoparasitas.

Ensaio *in vivo*, realizados por Medeiros et al. (2017), demonstraram que *T. atroviride* induz resistência sistêmica em tomateiro contra *M. javanica*, sem a necessidade de estar diretamente em contato com esse parasita. Nos experimentos de raiz bipartida, observou-se significativa redução no número de galhas (20%) e no número de nematoides adultos no interior do sistema radicular (87%). Adicionalmente, ainda utilizando tomates com raiz bipartida, tratados e/ou inoculados com *M. javanica*, observou-se que a primeira geração (F1) das plantas herdou a resistência induzida por *T. atroviride*. Além da resistência ao nematoide das galhas, a promoção de crescimento induzida por esse fungo foi igualmente herdada, sem, no entanto, alterar a resistência ao nematoide das galhas. Dessa forma, observou-se o efeito “*priming*”, onde a progênie apresentou aumento em crescimento e resistência, sem o custo adaptativo. Os autores ainda destacaram que a indução de resistência ocorreu através de diferentes meca-

nismos e em vários graus, a depender do tipo de interação entre *M. javanica* e *T. atroviride* (por exemplo: se *T. atroviride* e o nematoide das galhas estavam espacialmente separados ou habitando as mesmas raízes).

Zhang et al., (2014) avaliaram a eficiência de *T. longibrachiatum* para o controle de *Heterodera avenae* em trigo. Verificou-se o controle do nematoide do cisto através da aplicação de $1,5 \times 10^4$ à $1,5 \times 10^8$ esporos / mL de *Trichoderma*. Observou-se ainda, aumento na quantidade de clorofila e na atividade das enzimas peroxidase, polifenol oxidase e fenilalanina amônia-lia-se, todas relacionadas a defesa vegetal. Os autores concluíram que a promoção do crescimento vegetal, tornando a planta mais competitiva, e a indução de mecanismos de defesa, podem ter sido os principais mecanismos envolvidos no controle de *H. avenae* por *T. longibrachiatum*.

Finalmente, poucos exemplos envolvendo indução de resistência por *Trichoderma* spp. e fitoviroses estão disponíveis na literatura. Vitti et al. (2016) estudaram a indução de resistência sistêmica promovida por *T. harzianum* T-22 em tomateiros inoculados com *Cucumber mosaic virus*. O tratamento com T-22 reduziu a severidade da doença, bem como promoveu crescimento da planta, melhoria na fotossíntese e aumento na quantidade de clorofila. A análise hormonal revelou que o tratamento com T-22, anterior ou simultaneamente à inoculação do CMV, levou a indução de resistência, pelas vias do ácido jasmônico/etileno e ácido salicílico. Essa ativação também foi dependente do ácido abscísico, quando o tratamento com T-22 foi realizado após a infecção do CMV.

Categoria de registro de produtos à base de *Trichoderma*

Evidências científicas indicaram que um grande número de cepas de *Trichoderma* podem ser reconhecidamente classificadas como “Agentes de controle biológico” (“Microbial Biological Control Agents: MBCA”) contra vários tipos de fitopatógenos, como *Meloidogyne* spp. (Jindapunnapat et al., 2013) e *Sclerotinia sclerotiorum* (Carvalho et al., 2011), por intermédio do antagonismo, competição, antibiose e/ou parasitismo (Kredics et al. 2018). Esses agentes são usualmente registradas como produtos de proteção vegetal (“Plant Protection Products: PPPs”) na União Europeia (EU) por intermédio da “European Biostimulant Industry Council” (EBIC) (<http://www.biostimulants.eu/>). Atualmente, vários países, estados e regiões administrativas desenvolveram diferentes categorias de registro de bioestimulantes potenciais, incluindo terminologias, como condicionadores de plantas, suplementos, melhoradores do solo, reforçadores de plantas ou fitofortificantes (Yakhin et al., 2016a,b; Torre et al., 2016). Do ponto de vista regulamentar, não existe um acordo global sobre a definição de PPPs. Desta forma, muitos países da EU e fora da mesma carecem de um quadro jurídico específico para o registro de PPPs (Yakhin et al., 2017; Caradonia et al., 2018; Roupheal et al., 2018). Inicialmente, esta atividade biopesticida foi considerada como o único benefício para a planta

atribuída a *Trichoderma*, como por exemplo, *Trichoderma harzianum* Epl-1 (Gomes et al., 2017) e *Trichoderma harzianum* CECT 2413 (Cardoza et al., 2014)). No entanto, alguns relatos científicos demonstraram que algumas espécies de *Trichoderma* também podem atuar como indutores de resistência, bioestimulantes e/ou bio-intensificadores para as plantas cultivadas, quando estas são expostas a estresses de origem biótica ou abiótica (Harman et al., 2004; Fontenelle et al., 2011; Hermosa et al., 2012; Hermosa et al., 2013; Lorito e Woo, 2015; Zeilinger et al., 2016; Fiorentino et al. 2018).

Para informações detalhadas sobre esse tópico veja o capítulo 2 desse livro, intitulado “Produtos comerciais à base de *Trichoderma*”.

***Trichoderma* e consórcios microbianos**

Estudos recentes evidenciaram o potencial dos consórcios microbianos rizosféricos e não rizosféricos como bioestimulantes vegetais ou probióticos agrícolas (de Vries e Wallenstein 2017; Palmieri et al., 2017; Yakhin et al., 2017; Kong et al., 2018). Estes consórcios geralmente são associações microbianas não patogênicas, como por exemplo rizobactérias (Ruzzi; Aroca, 2015) e rizofungos (Hossain et al., 2017), naturais (Pérez-Jaramillo et al., 2016) ou sintéticas (Barra et al., 2016) que compõem e habitam o fitomicrobioma (Smith et al., 2017) ou o rizomicrobioma (Rossmann et al., 2017). Esses consórcios são capazes de incrementar na planta hospedeira a absorção de água, nutrientes, bem como aumentar a tolerância aos efeitos deletérios de fatores edáficos estressantes de origem biótica (ex. fitopatógenos) ou abiótica (ex. salinidade ou acidez) (Ben Said; Or 2017). Um consórcio microbiano, devido às múltiplas espécies envolvidas, possui um pool maior de genes do que as monoculturas microbianas (Zhang; Wang 2016; Mccarty; Ledesma-Amaro 2019). Esta diversidade metabólica permite que um consórcio microbiano execute múltiplas e mais complexas tarefas do que microrganismos isolados, utilizando os recursos nutricionais disponíveis no ambiente de maneira mais eficiente, além de disponibilizar diferentes moléculas efetoras (Woo; Pepe 2018).

Trichoderma spp. podem produzir mais de 250 produtos metabólicos (Vide capítulo 5), incluindo enzimas que degradam a parede celular, peptídeos, metabólitos secundários e outras proteínas (Patil et al., 2016). Muitos desses compostos são bioativos e podem afetar as respostas das plantas, bem como a de outros microrganismos, otimizando os mecanismos de defesa e estimulando o desenvolvimento das plantas, especialmente na rizosfera (Lombardi et al., 2018).

Considerações finais

A partir do exposto, fica evidente a riqueza de possibilidades para a descoberta de novos indutores de resistência pelo uso de diferentes espécies/isolados de *Trichoderma*, para diferentes patossistemas, o que deverá contribuir para o uso racional dos defensivos agrícolas tradicionais. Porém, é importante estimar o impacto ecológico da aplicação destes novos indutores, bem como os efeitos sobre o microbioma (fitomicrobioma e rizomicrobioma) não alvo da planta hospedeira.

Referências

- ABEYSINGHE, S. Systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* RU01 against *Uromyces appendiculatus* on *Phaseolus vulgaris*. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, v. 37, n. 3, p. 203, 2009.
- AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 15 fev. 2019.
- AHMED, A. S.; SÁNCHEZ, C. P.; CANDELA, M. E. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annuum*) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. *European Journal of Plant Pathology*, v. 106, n. 9, p. 817-824, 2000.
- ALFANO, G.; IVEY, M. L.; CAKIR, C.; BOS, J. I.; MILLER, S. A.; MADDEN, L. V.; KAMOUN, S.; HOITINK, H. A. Systemic modulation of gene expression in tomato by *Trichoderma hamatum* 382. *Phytopathology*, v. 97, n. 4, p. 429-437, 2007.
- ALKOORANEE, J. T.; ALEDAN, T. R.; ALI, A. K.; LU, G.; ZHANG, X.; WU, J.; FU, C.; LI, M. Detecting the hormonal pathways in oilseed rape behind induced systemic resistance by *Trichoderma harzianum* TH12 to *Sclerotinia sclerotiorum*. *PLOS ONE*, v. 12, n. 1, e0168850, 2017.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J. M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens - an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, v. 6, n. 6, p. 457-464, 1997.
- BAKKER, P. A.; DOORNBOOS, R. F.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. Induced systemic resistance and the rhizosphere microbiome. *The Plant Pathology Journal*, v. 29, n. 2, p. 136-143, 2013.
- BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J.; VAN LOON, L. C. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, v. 97, n. 2, p. 239-243, 2007.
- BARRA, P. J.; INOSTROZA, N. G.; ACUÑA, J. J.; MORA, M. L.; CROWLEY, D. E.; JORQUERA, M. A. Formulation of bacterial consortia from avocado (*Persea americana* Mill.) and their effect on growth, biomass and superoxide dismutase activity of wheat seedlings under salt stress. *Applied Soil Ecology*, v. 102, p. 80-91, 2016.
- BEN SAID, S.; OR, D. Synthetic microbial ecology: engineering habitats for modular consortia. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, article 1125, 2017.
- BENT, E. Induced systemic resistance mediated by plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In: TUZUN, S.; BENT, E. (Ed.). *Multigenic and induced systemic resistance in plants*. 1st ed. Boston, MA: Springer, 2006. p. 225-258.
- BERGAMIM FILHO, A.; KITAJIMA, E. W. A história da fitopatologia. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). *Manual de Fitopatologia*. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 3-13.
- BISEN, K.; KESWANI, C.; PATEL, J. S.; SARNA, B. K.; SINGH, H. B. *Trichoderma* spp.: efficient inducers of systemic resistance in plants. In: CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. (Ed.). *Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants*. Singapore: Springer Science, 2016. p. 185-195.
- CALDERÓN, A. A.; ZAPATA, J. M.; MUÑOZ, R.; PEDREÑO, M. A.; ROS BARCELÓ, A. Resveratrol production as a part of the hyper-

- sensitive-like response of grapevine cells to na elicitor from *Trichoderma viride*. **New Phytopathologist**, v. 124, p. 455-463, 1993.
- CAMERON, D. D.; NEAL, A. L.; VAN-WEES, S. C.; TON J. Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts? **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 10, p. 539-545, 2013.
- CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 263 p.
- CHOUHARY, D. K.; PRAKASH, A.; JOHRI, B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 289-297, 2007.
- CHOWDAPPA, P.; KUMAR, S. M.; LAKSHMI, M. J.; UPRETI, K. K. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, v. 65, n. 1, p. 109-117, 2013.
- CONRATH, U.; PIETERSE, C. M. J.; MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 5, p. 210-216, 2002.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; BELTRÁN-PEÑA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal- and camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 10, p. 1554-1563, 2011.
- DE MEYER, G.; BIGIRIMANA, J.; ELAD, Y.; HÖFTE, M. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 104, p. 279-286, 1998.
- DE SOUZA, V. H. M.; ROMA-ALMEIDA, R. C. C.; MELO, T. A. de; REZENDA, D. C.; INOMOTO, M. M.; PASCHOLATI, S. F. Fitone-matoides: Controle biológico e indução de resistência. In: DALIO, R. J. D. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. 1. ed. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2015. p. 242-292.
- DE VRIES, F. T.; WALLENSTEIN, M. D. Below-ground connections underlying above-ground food production: a framework for optimising ecological connections in the rhizosphere. **Journal of Ecology**, v. 105, n. 4, p. 913-920, 2017.
- EL-SHARKAWY, H. H. A.; RASHAD, Y. M.; IBRAHIM, S. A. Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* spp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 103, p. 84-91, 2018.
- EL-SHARKAWY, M. M.; SHIMIZU, M.; TAKAHASHI, H.; OZAKI, K.; HYAKUMACHI, M. Induction of systemic resistance against *Cucumber mosaic virus* in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma asperellum* SKT-1. **The Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 2, p. 193-200, 2013.
- FONTENELLE, A. D. B.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v. 30, n. 11, p. 1492-1500, 2011.
- FIORENTINO, N.; VENTORINO, V.; WOO, S. L.; PEPE, O.; DE ROSA, A.; GIOIA, L.; LOMBARDI, N.; NAPOLITANO, M.; COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. *Trichoderma*-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve n uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 743, 2018.
- FRITZ, M.; JAKOBSEN, L.; LYNGKJAER, M. F.; THORDAL-CHRISTENSEN, H.; PONS-KUHNEMANN, J. Arbuscular mycorrhiza reduces susceptibility of tomato to *Alternaria solani*. **Mycorrhiza**, v. 16, n. 6, p. 413-419, 2006.
- GUZMÁN-VALLE, P.; BRAVO-LUNA, L.; MONTES-BELMONT, R.; GUIGÓN-LÓPEZ, C.; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ, G. Induction of resistance to *Sclerotium rolfsii* in different varieties of onion by inoculation with *Trichoderma asperellum*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 138, n. 2, p. 223-229, 2014.
- HAMMERSCHMIDT, R. Introduction: definitions and some history. In: WALTERS, D.; NEWTON, A.; LYON, G. (Ed.). **Induced resistance for plant defence**. 1st ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. p. 1-7.
- HAREL, Y. M.; MEHARI, Z. H.; RAV-DAVID, D.; ELAD, Y. Systemic resistance to gray mold induced in tomato by benzothiadiazole and *Trichoderma harzianum* T39. **Phytopathology**, v. 104, n. 2, p. 150-157, 2014.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.

- HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, p. 69-80, 2013.
- HOSSAIN, M. M.; SULTANA, F.; ISLAM, S. Plant growth-promoting fungi (PGPF): Phytostimulation and induced systemic resistance. In: **Plant-microbe interactions agro-ecological perspectives**. Singapore: Springer, 2017.
- JINDAPUNNAPAT, K.; CHINNASRI, B.; KWANKUAE, S. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne enterolobii*) in guava by the fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Developments in Sustainable Agriculture**, v. 8, n. 2, p. 110-118, 2013.
- JOGAIAH, S.; ABDELRAHMAN, M.; TRAN, L. P.; ITO, S. I. Different mechanisms of *Trichoderma virens*-mediated resistance in tomato against *Fusarium* wilt involve the jasmonic and salicylic acid pathways. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 4, p. 870-882, 2018.
- JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.
- JUNG, S. C.; MARTINEZ-MEDINA, A.; LOPEZ-RAEZ, J. A.; POZO, M. J. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 6, p. 651-664, 2012.
- KAMOUN, S.; FURZER, O.; JONES, J. D.; JUDELSON, H. S.; ALI, G. S.; DALIO, R. J.; ROY, S. G.; SCHENA, L.; ZAMBOUNIS, A.; PANABIÈRES, F.; CAHILL, D.; RUOCCO, M.; FIGUEIREDO, A.; CHEN, X. R.; HULVEY, J.; STAM, R.; LAMOUR, K.; GIJZEN, M.; TYLER, B. M.; GRÜNWARD, N. J.; MUKHTAR, M. S.; TOMÉ, D. F.; TÖR, M.; VAN DEN ACKERVEKEN, G.; MCDOWELL, J.; DAAYF, F.; FRY, W. E.; LINDQVIST-KREUZE, H.; MEIJER, H. J.; PETRE, B.; RISTAINO, J.; YOSHIDA, K.; BIRCH, P. R.; GOVERS, F. The top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 16, n. 4, p. 413-434, 2015.
- KARASOV, T. L.; CHAE, E.; HERMAN, J. J.; BERGELSON, J. Mechanisms to mitigate the trade-off between growth and defense. **The Plant Cell**, v. 29, n. 4, p. 666-680, 2017.
- KARTHIKEYAN, M.; RADHIKA, K.; MATHIYAZHAGAN, S.; BHASKARAN, R.; SAMIYAPPAN, R.; VELAZHAHAN, R. Induction of phenolics and defense-related enzymes in coconut (*Cocos nucifera* L.) roots treated with biocontrol agents. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 3, p. 367-377, 2006.
- KATH, J.; DIAS ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, J. C. A.; HOMIAK, J. A.; SILVA, C. R. D.; CARDOSO, C. R. Control of *Pratylenchus brachyurus* in soybean with *Trichoderma* spp. and resistance inducers. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 11-12, p. 791-799, 2017.
- KHALEDI, N.; TAHERI, P. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* against soybean charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Plant Protection Research**, v. 56, n. 1, p. 21-31, 2016.
- KHAN, J.; OOKA, J. J.; MILLER, S. A.; MADDEN, L. V.; HOITINK, H. A. J. Systemic resistance induced by *Trichoderma hamatum* 382 in cucumber against *Phytophthora* crown rot and leaf blight. **Plant Disease**, v. 88, n. 3, p. 280-286, 2004.
- KIERS, E. T.; DUHAMEL, M.; BEESETTY, Y.; MENSAH, J. A.; FRANKEN, O.; VERBRUGGEN, E.; FELLBAUM, C. R.; KOWALCHUK, G. A.; HART, M. M.; BAGO, A.; PALMER, T. M.; WEST, S. A.; VANDENKOOORNHUYSE, P.; JANSJA, J.; BÜCKING, H. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. **Science**, v. 333, n. 6044, p. 880-882, 2011.
- KLOEPPER, J. W.; RYU, C.-M.; ZHANG, S. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. **Phytopathology**, v. 94, n. 11, p. 1259-1266, 2004.
- KONAPPA, N.; KRISHNAMURTHY, S.; SIDDAIAH, C. N.; RAMACHANDRAPPA, N. S.; CHOWDAPPA, S. Evaluation of biological efficacy of *Trichoderma asperellum* against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, article 63, 2018. DOI: 10.1186/s41938-018-0069-5.
- KONG, W.; MELDGIN, D. R.; COLLINS, J. J.; LU, T. Designing microbial consortia with defined social interactions. **Nature Chemical Biology**, v. 14, n. 8, p. 821-829, 25 ago. 2018.
- KOROLEV, N.; RAV DAVID, D.; ELAD, Y. The role of phytohormones in basal resistance and *Trichoderma*-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. **BioControl**, v. 53, n. 4, p. 667-683, 2008.
- LEONETTI, P.; ZONNO, M. C.; MOLINARI, S.; ALTOMARE, C. Induction of SA-signaling pathway and ethylene biosynthesis in *Trichoderma harzianum*-treated tomato plants after infection of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Plant Cell Reports**, v. 36, n. 4, p. 621-631, 2017.

LORITO, M.; WOO, S. L. *Trichoderma*: A Multi-Purpose Tool for Integrated Pest Management. In: **Principles of Plant-Microbe Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 345-353.

LUCY, M.; REED, E. R.; GLICK, B. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 86, n. 1, p. 1-25, 2004.

MCCARTY, N. S.; LEDESMA-AMARO, R. Synthetic biology tools to engineer microbial communities for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 37, n. 2, p. 181-197, 2019.

MANSFIELD, J.; GENIN, S.; MAGORI, S.; CITOVSKY, V.; SRIARIYANUM, M.; RONALD, P.; DOW, M.; VERDIER, V.; BEER, S. V.; MACHADO, M. A.; TOTH, I.; SALMOND, G.; FOSTER, G. D. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 6, p. 614-629, 2012.

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNÁNDEZ, I.; SÁNCHEZ-GUZMÁN, M. J.; JUNG, S. C.; PASCUAL, J. A.; POZO, M. J. Deciphering the hormonal signalling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-12, 2013.

MARTÍNEZ MEDINA, A.; FERNANDEZ, I.; LOK, G. B.; POZO, M. J.; PIETERSE, C. M.; VAN WEES, S. C. Shifting from priming of salicylic acid- to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. **New Phytologist**, v. 213, n. 3, p. 1363-1377, 2017.

MASSOLA JÚNIOR, N. S. Fungos Fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 5a. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 107-141.

MAUCH-MANI, B.; BACCELLI, I.; LUNA, E.; FLORS, V. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, n. 1, p. 485-512, 2017.

MEDEIROS, H. A.; ARAÚJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, article 40216, 2017.

MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 261-272.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 5, p. 634-663, 2013.

MUTHUKUMAR, A.; ESWARAN, A.; SANGEETHA, G. Induction of systemic resistance by mixtures of fungal and endophytic bacterial isolates against *Pythium aphanidermatum*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 5, p. 1933-1944, 2011.

MUTHUKUMAR, A.; VENKATESH, A. Biological inductions of systemic resistance to collar rot of peppermint caused by *Sclerotium rolfsii*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 6, p. 1421-1431, 2014.

NANDINI, B.; HARIPRASAD, P.; SHANKARA, H. N.; PRAKASH, H. S.; GEETHA, N. Total crude protein extract of *Trichoderma* spp. induces systemic resistance in pearl millet against the downy mildew pathogen. **3 Biotech**, v. 7, n. 183, p. 1-10, 2017.

OLSON, H. A.; BENSON, D. M. Induced systemic resistance and the role of binucleate *Rhizoctonia* and *Trichoderma hamatum* 382 in biocontrol of *Botrytis* blight in geranium. **Biological Control**, v. 42, n. 2, p. 233-241, 2007.

PALMIERI, D.; VITULLO, D.; DE CURTIS, F.; LIMA, G. A microbial consortium in the rhizosphere as a new biocontrol approach against fusarium decline of chickpea. **Plant and Soil**, v. 412, n. 1-2, p. 425-439, 2017.

PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. D. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 424-450.

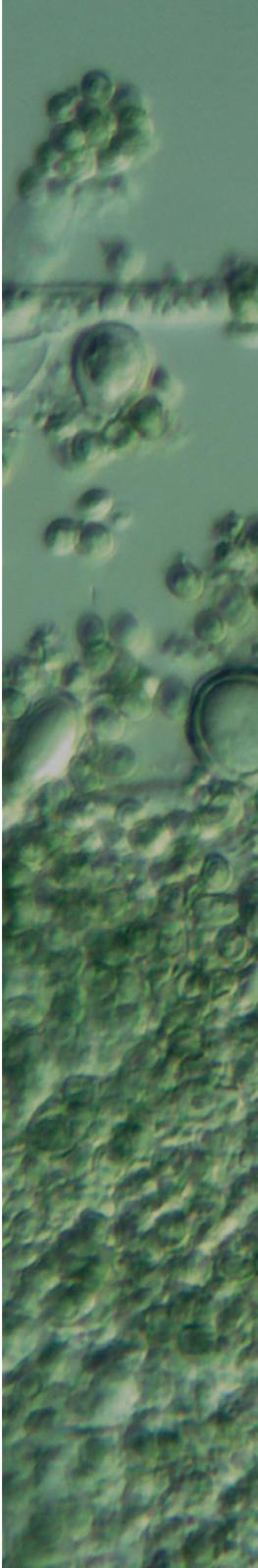
PASCHOLATI, S. F.; DE SOUZA, V. H. M. Indução de resistência como estratégia no manejo de doenças de plantas. In: GOES, A.; PEREIRA, F. D.; POLONI, N. M. (Ed.). **Tópicos Especiais em Fitopatologia Aplicada**. 1. ed. Jaboticabal: Funep, 2017. p. 23-32.

PATIL, A. S.; PATIL, S. R.; PAIKRAO, H. M. *Trichoderma* Secondary Metabolites: Their Biochemistry and Possible Role in Disease Management. In: CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. (Ed.). **Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants**. Singapore: Springer, 2016. p. 69-102.

PERAZZOLLI, M.; DAGOSTIN, S.; FERRARI, A.; ELAD, Y.; PERTOT, I. Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadiazole. **Biological Control**, v. 47, n. 2, p. 228-234, 2008.

- PERAZZOLLI, M.; ROATTI, B.; BOZZA, E.; PERTOT, I. *Trichoderma harzianum* T39 induces resistance against downy mildew by priming for defense without costs for grapevine. **Biological Control**, v. 58, n. 1, p. 74-82, 2011.
- PÉREZ-JARAMILLO, J. E.; MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J. M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. **Plant Molecular Biology**, v. 90, n. 6, p. 635-644, 2016.
- PIETERSE, C. M.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; VAN WEES, S. C.; BAKKER, P. A. Induced systemic resistance by beneficial microbes. **Annual review of Phytopathology**, v. 52, p. 347-375, 2014.
- POZO, M. J.; AZCÓN-AGUILAR, C. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 4, p. 393-398, 2007.
- RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection** v. 20, n. 1, p. 1-11, 2001.
- RAMÍREZ-CARRASCO, G.; MARTÍNEZ-AGUILAR, K.; ALVAREZ-VENEGAS, R. Transgenerational defense priming for crop protection against plant pathogens: a hypothesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.
- REGLI SKI, T.; RODENBURG, N.; TAYLOR, J. T.; NORTHCOTT, G. L.; AH CHEE, A.; SPIERS, T. M.; HILL, R. A. *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic resistance to *Diplodia pinea* in radiata pine (*Pinus radiata*) seedlings. **Forest Pathology**, v. 42, n. 1, p. 75-78, 2012.
- ROSSMANN, M.; SARANGO-FLORES, S. W.; CHIARAMONTE, J. B.; KMIT, M. C. P.; MENDES, R. Plant microbiome: composition and functions in plant compartments. In: PYLRO, V.; ROESCH, L. (Ed.). **The Brazilian Microbiome**. 1st ed. Cham: Springer, 2017. p. 7-20.
- RUZZI, M.; AROCA, R. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 124-134, 2015.
- SAMANIEGO-GÁMEZ, B. Y.; REYES-RAMÍREZ, A.; MORENO-VALENZUELA, O. A.; TUN-SUÁREZ, J. M. Resistencia sistémica inducida contra virus fitopatógenos mediada por la inoculación con la rizobacteria *Bacillus* spp. **Revista de Protección Vegetal**, v. 32, n. 1, p. 10-22, 2017.
- SARAVANAKUMAR, K.; FAN, L.; FU, K.; YU, C.; WANG, M.; XIA, H.; SUN, J.; LI, Y.; CHEN, J. Cellulase from *Trichoderma harzianum* interacts with roots and triggers induced systemic resistance to foliar disease in maize. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, article 35543, 2016.
- SASSE, J.; MARTINOJA, E.; NORTHEN, T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 1, p. 25-41, 2018.
- SCHOUTEDEN, N.; DE WAELE, D.; PANIS, B.; VOS, C. M. Arbuscular mycorrhizal fungi for the biocontrol of plant-parasitic nematodes: A review of the mechanisms involved. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1-12, 2015.
- SCHWACHTJE, J.; WHITCOMB, S. J.; FIRMINO, A. A. P.; ZUTHER, E.; HINCHA, D. K.; KOPKA, J. Induced, imprinted, and primed responses to changing environments: does metabolism store and process information? **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 106, 2019.
- SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2012.
- SINGH, B. N.; SINGH, A.; SINGH, B. R.; SINGH, H. B. *Trichoderma harzianum* elicits induced resistance in sunflower challenged by *Rhizoctonia solani*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 116, n. 3, p. 654-666, 2014.
- SMITH, D. L.; GRAVEL, V.; YERGEAU, E. Editorial: signaling in the phytomicrobiome. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3th ed. [S. l.]: Academic press, 2010. 800 p.
- SUAREZ, Y. Y. J.; VELANDIA, C. A. M.; PRADO, A. M. C. Inducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum* en tomate por *Trichoderma koningiopsis* Th003. **Acta Biológica Colombiana**, v. 14, n. 3, p. 111-120, 2009.
- VAN PEER, R.; NIEMANN, G. J.; SCHIPPERS, B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417r. **Phytopathology**, v. 81, p. 728-734, 1991.
- VITTI, A.; PELLEGRINI, E.; NALI, C.; LOVELLI, S.; SOFO, A.; VALERIO, M.; SCOPA, M.; NUZZACI, M. *Trichoderma harzianum* T-22 induces systemic resistance in tomato infected by *Cucumber mosaic virus*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1-11, 2016.

- WEI, G. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, v. 81, n. 12, p. 1508, 1991.
- WHIPPS, J. M. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, n. 8, p. 1198-1227, 2004.
- WOO, S. L.; ROUCCO, M.; CILIENTO, R.; AMBROSINO, P.; MARRA, R.; VINALE, F.; LANZU, I. S.; IOL, F. I. I.; GIGANTE, S.; SCALA, F.; LORITO, M.; TURRA, D. A novel understanding of the three-way interaction between *Trichoderma* spp., the colonized plant and fungal pathogens. In: ROBSON, G. D.; VAN WEST, P.; GADD, G. (Ed.). **Exploitation of Fungi**. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. p. 291-309.
- WOO, S. L.; PEPE, O. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.
- YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. H. Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in plant science**, v. 7, n. 26, 2017.
- YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A. Biostimulants in agrotechnologies: problems, solutions, outlook. **Agrochemical Herald**, v. 1, p. 15-21, 2016a.
- YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A. Physiological activity and efficiency of application of biostimulants. **Agrokhimya**, v. 6, p. 72-94, 2016b.
- YANG, J.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C.-M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 1, p. 1-4, 2009.
- YEDIDIA, I.; SHORESH, M.; KEREM, Z.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 12, p. 7343-7353, 2003.
- ZEILINGER, S.; GUPTA, V. K.; DAHMS, T. E. S.; SILVA, R. S.; SINGH, H. B.; UPADHYAY, R. S.; GOMES, E. V.; TSUI, C. K. M.; NAYAK, C. Friends or foes? Emerging insights from fungal interactions with plants. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 40, n. 2, p. 182-207, 2016.
- ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Efficacy of *Trichoderma longibrachiatum* in the control of *Heterodera avenae*. **BioControl**, v. 59, n. 3, p. 319-331, 2014.
- ZHANG, H.; WANG, X. Modular co-culture engineering, a new approach for metabolic engineering. **Metabolic Engineering**, v. 37, p. 114-121, 2016.



PARTE III
QUALIDADE

Produção industrial de *Trichoderma*

Gabriel Moura Mascarin

Aida Teresinha Santos Matsumura

Celson Alexandre Weiler

Nilce Naomi Kobori

Márcia Eloísa da Silva

Diouneia Lisiane Berlitz

Akio Santos Matsumura

Introdução

Produtos biológicos estão em crescente demanda no manejo de grandes culturas no Brasil e no mundo. Atualmente existem diferentes produtos microbianos registrados no Brasil, entre esses destaca-se o fungo pertencente ao gênero *Trichoderma* para o controle de patógenos radiculares ou habitantes do solo e substrato, e também da parte aérea das plantas.

Ampliações na produção de produtos biológicos devem ser cuidadosamente programadas e avaliadas nas indústrias, para que aumentos na produção de *Trichoderma* spp. para uso comercial não gerem problemas relacionados com a qualidade final das formulações, entre os quais a viabilidade dos conídios produzidos que é de suma importância ao sucesso da comercialização e aplicação desse fungo em programas de controle biológico de doenças de plantas (Lopes, 2009).

Condições nutricionais adequadas durante o crescimento da cultura e esporulação tendem a favorecer a acumulação de reservas endógenas apropriadas, de forma que os esporos recém-formados apresentem qualidades vantajosas ou adequadas (Jackson et al., 1997). É imprescindível, portanto, encontrar as combinações ideais dos fatores bióticos e abióticos envolvidos na produção de biomassa que resulte em maior rendimento de esporos ou outros propágulos de interesse, via fermentação sólida estática ou fermentação líquida submersa, sendo essas duas os principais métodos de produção massal desse fungo no Brasil e no mundo. A viabilidade econômica da produção massal de uma estirpe selecionada, bem como o desenvolvimento de um produto estável e duradouro, ou seja, formulação apropriada, são fatores-chave para o êxito do produto biológico (Leite, 2012).

Trichoderma spp., assim como a grande maioria dos outros microrganismos quimiotróficos, obtém energia estocada em ligações químicas de vários compostos, principalmente orgânicos, para crescerem e se multiplicarem. Logo, o fungo também requer fontes de carbono de origem mais complexa. Para o crescimento adequado de *Trichoderma* spp., é necessária uma série de fatores nutricionais, os quais são representados pelos elementos químicos C, H, O, N, P, K, S, Ca, Mg, etc. Esses nutrientes assumem importância vital à manutenção do metabolismo celular primário e secundário, sendo responsáveis pela formação de material celular (ex: organelas, parede celular, membranas etc.) ou produtos (ex.: enzimas, metabólitos secundários, proteínas etc.) (Cochrane, 1958).

Carboidratos são referidos como fontes de carbono, apesar de eles também proverem hidrogênio e oxigênio. Proteínas e aminoácidos são importantes fontes de nitrogênio, embora fontes inorgânicas possam ser empregadas no crescimento de *Trichoderma* spp., tais como sais de amônio e nitratos (Danielson; Davey, 1973). As fontes orgânicas de nitrogênio também provêm carbono, oxigênio, hidrogênio e enxofre, que são os elementos estruturais dos componentes celulares e outros produtos. Há inúmeras opções de fontes de carbono, nitrogênio, minerais e vitaminas disponíveis na forma de matérias-primas de origem vegetal e animal e que são, na sua grande maioria, resíduos agroindustriais de baixo custo. Apesar da incrível variabilidade genética entre espécies e isolados de *Trichoderma* aliada à sua ampla diversidade nutricional e física para crescimento *in vitro*, é importante salientar que os estudos de otimização das condições ambientais e nutricionais para sua produção em larga escala devem ser conduzidos caso a caso.

Este capítulo tem por objetivo relatar, em linhas gerais, os principais sistemas de produção massal de *Trichoderma* spp. no Brasil e prover informações embasadas na ecofisiologia nutricional desse fungo, com relevância ao sucesso do seu cultivo pela fermentação sólida estática, bifásica ou líquida submersa.

Fermentação em Estado Sólido de *Trichoderma* spp.

O processo de produção massal de um microrganismo visa à obtenção de um produto com características específicas de pureza, abundância em estruturas infectivas, viabilidade em armazenamento, economia na produção, conveniência na utilização e transporte, facilidade de aplicação e eficiência no controle do patógeno-alvo.

Os esporos constituem-se, essencialmente, em células envolvidas por parede celular que as protegem de condições ambientais adversas à sua germinação, garantindo assim a sobrevivência do fungo. Abordagens voltadas para a otimização de meios de cultura devem considerar não apenas o rendimento de esporos, mas também a qualidade dos mesmos, que inclui aspectos como tolerância à dessecação, estabilidade em uma preparação seca, e eficácia no controle biológico em si (Leite et al., 2012).

Nesse sentido, a produção industrial de *Trichoderma* spp. é realizada através de diferentes tipos de fermentação. O cultivo por meio da fermentação em estado sólido, também chamada fermentação semi-sólida ou fermentação em meio semi-sólido ou fermentação sólida estática, aplica-se ao processo de crescimento de microrganismos sobre substratos sólidos na ausência de água livre. A água presente nesses sistemas encontra-se ligada à matriz sólida formando uma fina camada na superfície das partículas (Raimbault, 1998). Para Arora et al. (2017), a fermentação em estado sólido é a melhor opção para produção massal de biopesticidas, uma vez que o microrganismo vai crescer em substrato semelhante ao seu hábitat natural. O substrato selecionado deve considerar o tamanho das partículas (de 180 μm a 1,4 mm), o grau de polimerização e cristalinidade, fatores físicos como temperatura, pH, atividade de água (a_w) e aeração. Parâmetros como tipo e concentração de fontes de carbono, nitrogênio e fósforo, pH, umidade e temperatura representam variáveis operacionais determinantes no processo de fermentação em estado sólido (Singhania et al., 2010).

Estudos sobre fatores nutricionais, físicos, químicos e biológicos envolvidos no processo de esporulação não evidenciaram nenhum conjunto de parâmetros ótimos e gerais aplicáveis a uma determinada espécie de fungo, podendo inclusive estar relacionados aos requerimentos específicos de cada isolado dentro das espécies fúngicas de interesse (Steyaert et al., 2010). A presença ou ausência de luz exerce um efeito interativo com as exigências nutricionais na esporulação, e os demais estímulos abióticos combinados com diferentes condições resultam em sistemas de interação com as fontes de carbono disponíveis (Schmoll et al., 2010; Friedl et al., 2008).

A luz é muito importante para a esporulação de *Trichoderma* onde a maioria das espécies necessita de luz para o início da conidiogênese. *Trichoderma* é definido como fungo de “luz azul”, pois para a produção de conídios a energia luminosa pode variar desde o espectro próximo ao ultravioleta até o azul (320 - 500 nm). A etapa inicial da percepção da luz pelos fotorreceptores não depende da presença de oxigênio molecular e da temperatura. Mas é dependente do estado metabólico das células. As células mais jovens e metabolicamente mais ativas são mais sensíveis a presença de luz. Após a etapa inicial vem a fase de alterações fisiológicas e morfológicas e nessa fase a esporulação depende de processos oxidativos, sendo que a produção de esporos é inibida nas hifas que crescem na ausência de oxigênio. Ciclos alternados de 12 horas de luz e 12 horas de escuro (fotoperíodo de 12 horas) são utilizados, pois assemelham-se mais às condições do ambiente natural. Cerca de 24 horas após o início do estímulo luminoso, inicia-se a fotoconidiação, enquanto a maturação dos conídios pode levar até 5 dias, dependendo da espécie (Steyaert et al., 2010; Casas-Flores; Herrera-Estrella, 2013; Steyaert et al., 2013).

A água apresenta papel de destaque na fermentação estado sólido, em virtude do seu elevado grau de interação com as substâncias que compõem a fase sólida (Gervais; Molin, 2003). Na fermentação estado sólido, a água está relacionada a dois parâmetros: o primeiro se refere à umidade, que diz respeito à porcentagem de água na massa total do meio; o segundo, a atividade de água (a_w), que é a quantidade de moléculas de água disponíveis nas vizinhanças imediatas das partículas do substrato afetando diretamente o crescimento microbiano e a síntese de metabólitos. O nível de umidade varia de acordo com o ecossistema formado entre o microrganismo e o substrato. Baixos níveis de umidade levam à inibição do crescimento microbiano e, conseqüentemente, à ineficiente utilização do substrato. Em contrapartida, o excesso de umidade resulta na diminuição da porosidade, na baixa difusão de oxigênio e na redução de trocas gasosas, que prejudicam a respiração microbiana (Hölker et al., 2004).

Grande parte das técnicas desenvolvidas para a produção de fungos entomopatogênicos no Brasil consiste no uso de cereais ou grãos pré-cozidos como substrato, principalmente arroz, a qual foi iniciada no final da década de 1960 sendo esta técnica transferida para a produção massal de *Trichoderma* spp. Durante as décadas seguintes, adaptações no sistema tornaram o processo mais prático e a produção mais eficiente (Lopes, 2009).

A grande maioria dos materiais viáveis para a biotransformação e utilizados como substratos são os grãos de arroz, milho, trigo, sorgo, milheto, farelos, cascas (Hewavitharana et al., 2018; Sargin et al., 2013; Cavalcante et al., 2008), por apresentarem como principais componentes a celulose, hemicelulose, lignina, amido, pectina e proteínas, além de vitaminas e minerais.

A produção massal em substrato sólido deve iniciar com a multiplicação de cada cepa proveniente da coleção (estoque), as quais podem ser preservadas desidratadas (liofilizadas) e criopreservadas em nitrogênio líquido, ou sob ultracongelamento (-80 °C) para assegurar a manutenção de características morfológicas, fisiológicas e genética das mesmas. Segundo Sandhya et al., (2005) a concentração inicial do inóculo, em relação à quantidade de substrato utilizado, é um importante fator biológico, necessário para garantir a fermentação do meio, acelerar a colonização do substrato e não esgotar os nutrientes necessários para o desenvolvimento pleno do microrganismo.

A multiplicação para obtenção do inóculo inicial é realizada em placas de Petri (9,0 x 1,5 cm) com meio comercial de batata-dextrose-ágar (BDA), as quais são mantidas em câmara de crescimento do tipo B.O.D., à temperatura de 26 ± 2 °C, UR > 60%, com 12 horas de fotofase durante a 7 dias (Figura 1A e 1B). A próxima etapa é o fracionamento do arroz em sacos de polipropileno (40 x 25 cm), preenchendo 1/3 do volume total, sendo em seguida esterilizados durante 25 minutos a 120 °C (1 atm) (Figura 1C). Nesse substrato é realizada a inoculação mecanizada de uma suspensão a 10^8 conídios mL⁻¹ de *Trichoderma* spp. oriunda da multi-

plicação do inóculo inicial (Figura 1D). Esse material permanece horizontalmente em salas climatizadas a 26 ± 2 °C, 12 horas de fotofase por um período de 10 a 12 dias, para a obtenção do maior índice de desenvolvimento e esporulação do fungo no arroz (Figura 1E).

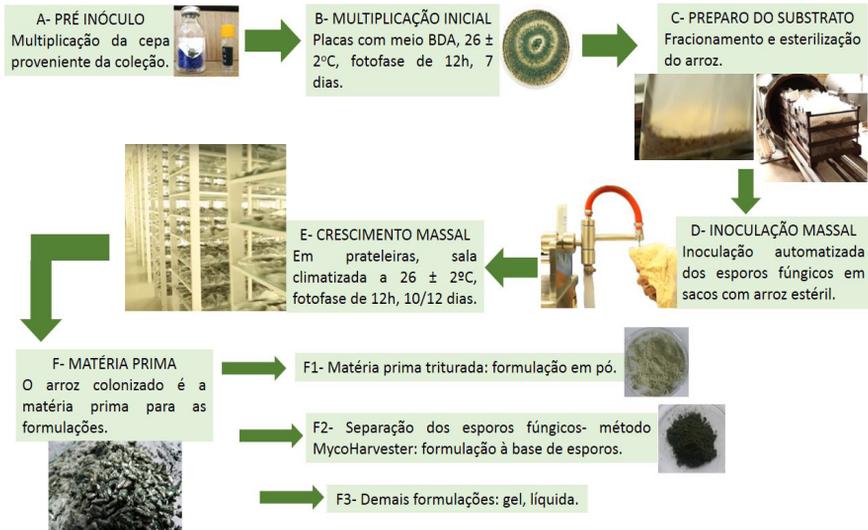


Figura 1. Processo de produção massal de *Trichoderma* spp. em substrato sólido.

Fonte: Aida Terezinha Santos Matsumura.

Além da fermentação estado sólido, pode-se realizar a fermentação através do processo bifásico, onde o fungo é produzido inicialmente em meio líquido seguido de meio sólido. Nesse processo ocorre alta produção de biomassa através do cultivo em meio líquido e após a produção de conídios estáveis e hidrofóbicos no meio sólido (Jenkins; Goettel, 1997). Nesta fermentação aspectos como o tempo de produção da fonte de inóculo em meio líquido, quantidade da fonte de inóculo transferida ao meio sólido e compatibilidade dos substratos envolvidos podem determinar o incremento da produção (Machado et al., 2013; Moraes et al., 2014).

Na fermentação bifásica descrita por Santos (2017) o meio líquido utilizado foi à base de glicose e extrato de levedura contendo 45 g L^{-1} de fonte de carbono e 36 g L^{-1} de fonte de nitrogênio. Na pesquisa mencionada, 10 mL de suspensão fúngica a $5,0 \times 10^6$ conídios/mL com 0,05% de Tween® 80 foi inoculada em 90 mL de meio líquido em frascos Erlenmeyer de 250 mL. Os frascos são então acondicionados à 28 °C em mesa agitadora orbital a 325 rpm sendo homogeneizados manualmente e diariamente para evitar crescimento micelial e esporulação nas paredes do frasco. Após incubação de 3 dias, este meio com $> 1,0 \times 10^8$ propágulos

mL⁻¹ é inoculado em substratos sólido (arroz e/ou farelos) e materiais inertes (suportes de esporulação e crescimento). Após inoculação, os sacos são incubados a 25 ± 2 °C, UR 70 ± 10% e fotofase de 12 horas, durante 10 dias. Após esse período de incubação, os conídios são extraídos do substrato por lavagem em água.

Após a finalização do processo de multiplicação massal, a matéria prima composta de arroz colonizado por fungo deverá passar pelo processo de secagem em estufa a 28±2 °C com circulação forçada de ar. Após a secagem, a matéria-prima pode ser processada através de diferentes tecnologias: (i) processo de trituração mecânica dos grãos de arroz colonizados com o fungo, resultando na formulação em pó (Figura 1 F1); (ii): separação dos esporos fúngicos através da metodologia de MycoHarvester, resultando na formulação à base de esporos secos (Figura 1 F2); (iii): processo de lavagem da matéria prima resultando em formulações à base de gel ou líquidas. Neste contexto da fermentação sólida usando arroz pré-cozido, o produto final é a obtenção de conídios aéreos de *Trichoderma* para formulação e comercialização. Apesar de *Trichoderma* também produzir clamidósporos em substratos sólidos, esta produção é muito baixa e pouco explorada em produtos comerciais, sendo inexistente no Brasil.

Quando a empresa utiliza mais de uma espécie e ou diferentes isolados de *Trichoderma* spp., os mesmos devem ser cultivados separadamente e a mistura será feita somente na etapa de formulação do produto final. A formulação final do produto deve manter a estabilidade e aumentar a sobrevivência dos esporos durante o armazenamento, transporte e seu estabelecimento a campo.

O rendimento na produção de conídios de *Trichoderma* spp. está relacionado às espécies utilizadas no processo produtivo resultando em variações nas taxas de rendimento, além da influência das características nutricionais e físicas dos diferentes substratos sólidos empregados como fontes de carbono, nitrogênio e matriz para prover suporte físico e aeração (Tabela 1).

Tabela 1. Rendimento na produção massal de diferentes espécies de *Trichoderma* cultivados em substratos sólidos variados.

Isolado	Rendimento	Substrato	Referência
CEN 287- <i>T. harzianum</i>	1,6 x 10 ⁸ conídios mL ⁻¹	Arroz	Muniz et al., 2018
CEN 288- <i>T. harzianum</i>	2,6 x 10 ⁸ conídios mL ⁻¹	Arroz	Muniz et al., 2018
CEN 289- <i>T. harzianum</i>	1,4 x 10 ⁸ conídios mL ⁻¹	Arroz	Muniz et al., 2018
CEN 290- <i>T. harzianum</i>	2,5 x 10 ⁸ conídios mL ⁻¹	Arroz	Muniz et al., 2018
CEN 316- <i>T. harzianum</i>	0,5 x 10 ⁸ conídios mL ⁻¹	Arroz	Muniz et al., 2018
<i>T. harzianum</i>	2,1 a 5,8 10 ⁸ esporos g ⁻¹	Arroz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. harzianum</i>	2,3 a 7,4 10 ⁸ esporos g ⁻¹	Farelo de milho	Cavalcante et al., 2008
<i>T. harzianum</i>	5,1 a 28,3 10 ⁸ esporos g ⁻¹	Farelo de trigo	Cavalcante et al., 2008
<i>T. viride</i>	1,8 a 5,7 10 ⁸ esporos g ⁻¹	Arroz	Cavalcante et al., 2008

continua...

Tabela 1. Continuação

Isolado	Rendimento	Substrato	Referência
<i>T. viride</i>	2,3 a 6,8 10^8 esporos g^{-1}	Farelo de milho	Cavalcante et al., 2008
<i>T. viride</i>	1,9 a 24 10^8 esporos g^{-1}	Farelo de trigo	Cavalcante et al., 2008
<i>T. koningii</i>	2,3 a 5,7 10^8 esporos g^{-1}	Arroz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. koningii</i>	1,1 a 6,1 10^8 esporos g^{-1}	Farelo de milho	Cavalcante et al., 2008
<i>T. koningii</i>	2,8 a 8,8 10^8 esporos g^{-1}	Farelo de trigo	Cavalcante et al., 2008
<i>T. polysporum</i>	1,4 a 4 10^8 esporos g^{-1}	Arroz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. polysporum</i>	0,1 a 2,6 10^8 esporos g^{-1}	Farelo de milho	Cavalcante et al., 2008
<i>T. polysporum</i>	1,7 a 6,5 10^8 esporos g^{-1}	Farelo de trigo	Cavalcante et al., 2008
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	1 x 10^{10} esporos g^{-1}	Farelo de trigo	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	9,2 x 10^9 esporos g^{-1}	Farelo de Arroz	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	4 x 10^8 esporos g^{-1}	Semente de algodão	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	5 x 10^8 esporos g^{-1}	Bagaço de uva	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	2,8 x 10^8 esporos g^{-1}	Serragem	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	3,6 x 10^7 esporos g^{-1}	Casca de noz	Sargin et al., 2013
<i>T. viride</i>	6,5 x 10^4 UFC mL^{-1}	Pó de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. viride</i>	6 x 10^6 UFC mL^{-1}	Pó de serra	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. viride</i>	5 x 10^6 UFC mL^{-1}	Arroz	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. asperellum</i>	5,5 x 10^4 UFC mL^{-1}	Pó de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. asperellum</i>	4,5 x 10^6 UFC mL^{-1}	Pó de serra	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. asperellum</i>	3,5 x 10^6 UFC mL^{-1}	Arroz	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. harzianum</i>	6,5 x 10^4 UFC mL^{-1}	Pó de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. harzianum</i>	5,5 x 10^4 UFC mL^{-1}	Pó de serra	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. harzianum</i>	4,5 x 10^6 UFC mL^{-1}	Arroz	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. longibrachiatum</i>	7 x 10^6 UFC mL^{-1}	Pó de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. longibrachiatum</i>	6 x 10^6 UFC mL^{-1}	Pó de serra	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. longibrachiatum</i>	6,5 x 10^6 UFC mL^{-1}	Arroz	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. virens</i>	7 x 10^6 UFC mL^{-1}	Pó de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. virens</i>	6,5 x 10^6 UFC mL^{-1}	Pó de serra	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. virens</i>	6 x 10^6 UFC mL^{-1}	Arroz	Hewavitharana et al., 2018

Em relação ao armazenamento, apesar de não existir uma padronização nas metodologias de avaliação, as empresas aferem a qualidade de seus produtos por basicamente três critérios: contagem de esporos (mínimo de 1×10^8 conídios g^{-1}), germinação (mínimo de 85%) e viabilidade (mínimo de $8,5 \times 10^7$ UFC g^{-1}). A vida de prateleira dos produtos varia de 30 a 180 dias em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) e 180 a 360 dias em geladeira ou câmara fria (4 a 6 °C) (Morandi; Bettiol, 2009).

Todo processo de fabricação deve passar por um controle de qualidade e seguir as normas de boas práticas de fabricação, sendo acompanhado pelo sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) visando à garantia, efetividade e eficácia do controle dos

perigos à produção. Paralelo ao processo de produção, faz-se necessário o desenvolvimento de um rigoroso procedimento de controle de qualidade, o que permitirá acompanhar qualquer variação ou contaminação que possa ocorrer durante o processo de produção e posterior armazenamento do produto.

Esse controle de qualidade visa garantir a concentração, a pureza, a viabilidade, a determinação taxonômica (no caso de diferentes espécies) para a manutenção das características desejadas no produto final. Para garantir a qualidade final do produto, é necessário o monitoramento do processo desde a manutenção das cepas até seu estabelecimento a campo. O monitoramento do processo deve ser feito por pessoas aptas a detectar qualquer falha no processo produtivo. O controle de qualidade será abordado no capítulo 9.

Os dados do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa) mostram o total de produtos registrados no Brasil. São considerados produtos de baixa toxicidade os biológicos, microbiológicos, semioquímicos, bioquímicos, extratos vegetais ou de uso na agricultura orgânica. Para o ano de 2019, do total de 1.210 defensivos, apenas 1,4% se caracterizam como produtos biológicos sendo menos de 1% de produtos destinados à agricultura orgânica.

Produtos registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento e (Agrofit, c2003), como fungicidas ou nematicidas incluem as espécies de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma stromaticum* e *Trichoderma koningiopsis*.

Nesse contexto, as diferentes formulações destes fungicidas e nematicidas registrados no Brasil à base de *Trichoderma* spp. se distribuem em WP: pó-molhável; WG: grânulos dispersíveis; SC: suspensão concentrada; EC: concentrado emulsionável. Devido à diversidade de condições climáticas, alvos e preferência de mercado, um único microrganismo poderá ser formulado de maneiras distintas para atender a diferentes mercados. Assim, existe disponível para consultas o índice de códigos e as denominações das diferentes formulações, segundo a terminologia ABNT NBR 12679/2018 (Associação..., 2013). Adicionalmente, a norma ABNT NBR 8510/2018 rege sobre as característica físicas de cada tipo de formulação (Associação..., 2013).

Fermentação Líquida Submersa de *Trichoderma* spp.

A fermentação líquida submersa é um método amplamente difundido e utilizado na produção de biomassa microbiana, enzimas e metabólitos secundários de microrganismos com múltiplas funções e aplicações nos setores veterinário, farmacêutico, alimentício e agrícola. Tradicionalmente, a fermentação microbiana consiste em um processo anaeróbico, sem presença de oxigênio, baseado na transformação de substratos orgânicos em moléculas mais simples com baixa geração de energia na forma de ATP e baixa produção de biomassa celular. A fermentação aeróbica, ao contrário, envolve um processo de fosforilação oxidativa na pre-

sença de oxigênio que ocorre durante a respiração celular, gerando alta produção de energia e de biomassa microbiana. Este tipo de fermentação na presença de oxigênio é, portanto, o principal bioprocessos visando à produção massal de biomassa de microrganismos benéficos, que também são aeróbicos facultativos, para exploração como agentes de controle biológico.

Os componentes de um meio líquido para fermentação de *Trichoderma* spp. demandam nutrientes classificados em fontes de carbono e nitrogênio, componentes inorgânicos (sais minerais) e vitaminas, de acordo com a função no meio de cultivo. Em ordem de grandeza e exigência ao crescimento de *Trichoderma* spp., carbono, oxigênio, nitrogênio, hidrogênio e enxofre são os nutrientes exigidos em maiores concentrações nesta ordem (Zabriskie et al., 2008).

A composição nutricional do meio de cultura líquido bem como os fatores físicos do ambiente de produção exerce uma forte influência na formação, rendimento e qualidade dos propágulos cultivados durante a fermentação líquida. Os principais fatores que podem impactar de forma significativa nas culturas líquidas de *Trichoderma* spp. estão indicados na Figura 2.

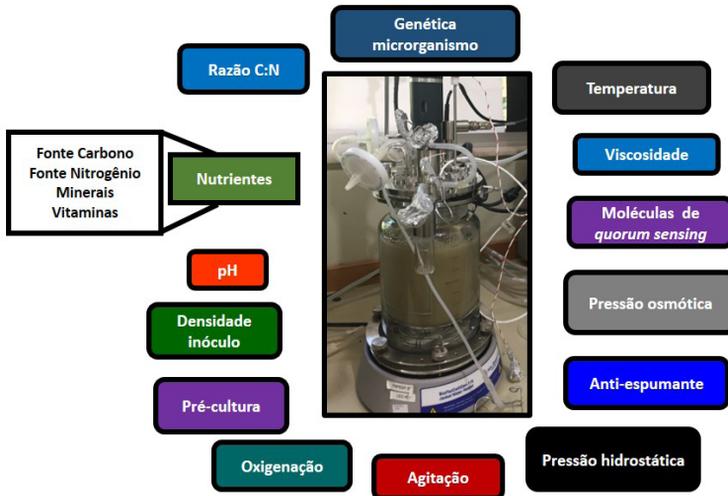


Figura 2. Fatores físicos, químicos, genéticos e nutricionais que afetam as variáveis de crescimento de *Trichoderma* sob cultivo submerso em biorreatores com agitação mecânica.

Fonte: Gabriel Moura Mascarin.

No sistema de fermentação líquida submersa, é possível produzir diferentes propágulos de *Trichoderma* spp., diferentemente da fermentação em estado sólido em que apenas conídios e micélio são geralmente obtidos. Portanto, a fermentação líquida submersa confere excelente versatilidade ao desenvolvimento de diferentes propágulos fúngicos, tais como conídios submersos, micélio, microescleródios e clamidósporos, conforme ilustrados na Figura 3.

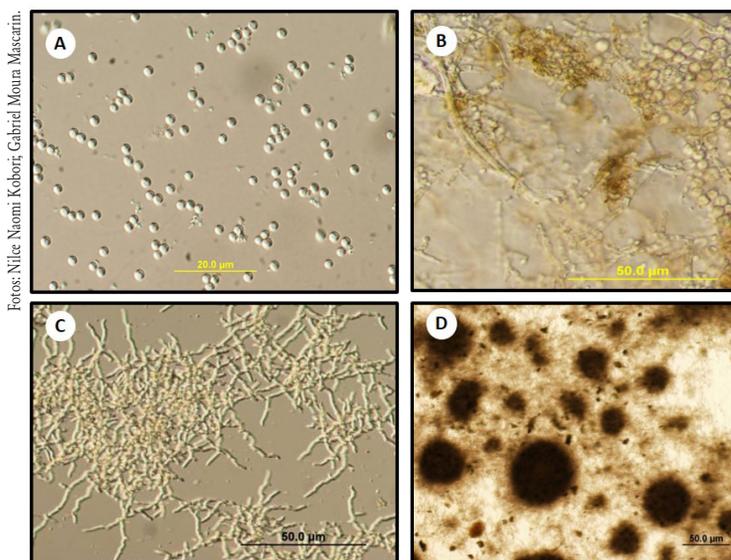


Figura 3. Exemplos de propágulos submersos de *Trichoderma harzianum* (cepa T-22) produzidos sob cultivo líquido. A) Conídios submersos, B) Clamidósporos, C) Micélio e D) Microscleródios (notar a pigmentação escura dessas estruturas).

A Tabela 2 mostra as principais diferenças e aplicações desses diferentes propágulos de *Trichoderma* em comparação com os conídios aéreos, sendo que a fermentação líquida submersa leva uma grande vantagem no quesito tempo de cultivo, que geralmente é mais curto do que no sistema de fermentação em estado sólido.

Tabela 2. Rendimentos e tempos de produção de diferentes propágulos de *Trichoderma* spp. para uso como ingrediente ativo em produtos comerciais.

Propágulo	Forma de fermentação	Rendimento	Tempo de fermentação	Eficácia	Armazenamento ¹	Forma de aplicação
Conídios aéreos	Substrato sólido	5×10^8 conídios g ⁻¹ substrato	Variável (1-3 semanas)	Boa - Excelente	3 a 12 meses	Solo, parte aérea, sementes
Micélio	Fermentação sólida ou líquida	Muito variável (1 a 50 mg mL ⁻¹)	>1 dia	Regular - Boa	1 a 6 meses	Solo, parte aérea e sementes
Conídios submersos	Fermentação líquida	1×10^7 a 2×10^9 conídios mL ⁻¹	3 a 10 dias	Regular - Boa	1 a 6 meses	Solo, parte aérea, sementes
Clamidósporos	Fermentação líquida	1×10^2 a 2×10^6 clamidósporo mL ⁻¹	3 a 10 dias	Boa - Excelente	12 meses	Solo e sementes
Microscleródios	Fermentação líquida	2×10^2 a 5×10^4 microscleródios mL ⁻¹	3 a 7 dias	Boa - Excelente	12 meses	Solo e sementes

¹O tempo de prateleira dos propágulos de *Trichoderma* vai depender da espécie e isolado do fungo, bem como das condições nutricionais do meio de produção que impactam na sua qualidade e também nas condições de armazenamento (temperatura, tipo de embalagem, vácuo, umidade final dos propágulos, método de secagem e tipo de formulação).

Há inúmeros estudos entre as décadas de 1980 e 1990 que demonstram a viabilidade e facilidade em se produzir, principalmente, conídios submersos, micélio e clamidósporos de várias espécies de *Trichoderma* spp. em meios líquidos sob cultivo submerso utilizando ingredientes, muitas vezes, de baixíssimo custo, tais como levedo de cerveja e melão de cana, como é relato resumidamente a seguir. Um sistema de fermentação líquida para espécies de *Trichoderma* e *Gliocladium* foi desenvolvida por Papavizas et al., (1984) usando um garrafão plástico autoclavável de 20 L para escalonar a produção de *Trichoderma* em um volume útil de 7-10 L de caldo fermentando contendo conídios submersos. Um sistema de injeção de ar estéril por meio de compressores de aquário foi adaptado com filtros e tubulação a fim de fornecer oxigenação ao meio de cultivo líquido.

Neste sistema, o meio líquido utilizado foi composto de melão (3%) e levedo de cerveja (0,5%), o que proporcionou ao final de 10-15 dias de fermentação um rendimento máximo de $3,2 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$ de biomassa fúngica seca de *T. harzianum*. Esta biomassa fúngica seca consistiu basicamente em conídios submersos, clamidósporos e micélio. Desses, clamidósporos foram aqueles que persistiram e sobreviveram por mais tempo após inoculação em solo, após formulação e secagem com pirofilita, um mineral filossilicato composto do hidróxido de silicato de alumínio. Mais adiante, Jin et al. (1991), resolveram modificar a atividade de água e, conseqüentemente, a pressão osmótica do meio líquido (RM8), composto por meio de Richard suplementado com suco de extratos vegetais chamado V8, para crescimento de *T. harzianum* a 30 °C e 150 rpm com o intuito de aumentar a sua produção de conídios submersos e tolerância à secagem a vácuo. Para isso, os autores usaram como osmólito o polímero polietileno glicol 200 (PEG 200) adicionado a 6% (v/v) ao meio RM8 gerando um potencial hídrico de -1,88 MPa. Esses mesmos autores verificaram que a adição de PEG 200 ao meio RM8 em fases mais iniciais do crescimento (0 ou 24 horas) da cultura líquida do fungo permitiu desencadear o processo de conidiogênese ou esporulação submersa mais precocemente. A produção máxima foi em torno de 6×10^8 conídios submersos mL^{-1} em 84 h de cultivo e essas células apresentaram alto teor de trealose na sua massa seca, o que lhes conferiu uma maior tolerância à dessecação (Jin et al., 1991; Harman et al., 1991).

Em seguida, Jin et al. (1996) produziram conídios submersos de *T. harzianum* (cepa T-22) em meio modificado de RM8 adicionado de 9% de glicerol em um fermentador de bancada (1,5 L) a 32 °C com 50% de saturação de ar e agitação mecânica de 1000 rpm, cujo resultado revelou uma concentração final de $1,1 \times 10^{11}$ conídios submersos g^{-1} de biomassa seca (conídios + micélio) em 68 h de cultivo, após inoculação do meio com pré-cultura líquida de 2 dias de idade. Novamente, esses conídios foram tolerantes à dessecação em função da alta pressão osmótica gerada pelo glicerol no meio de cultivo, conferindo às células esta qualidade fenotípica.

Em estudo realizado por Sriram et al. (2011), notou-se que a adição de glicerol ao meio líquido de produção de conídios submersos de *T. harzianum* conferiu um tempo de prateleira prolongado por até 12 meses sob armazenamento à temperatura ambiente com variação de 23 a 29 °C, o que é uma característica extremamente desejável em um bioproduto comercial. Outros trabalhos prévios que reportam esforços em otimizar a produção de conídios submersos de *Trichoderma* spp. não tiveram tanto sucesso, pois os rendimentos obtidos ficaram na faixa de 4,1 a 9,2 x 10⁷ conídios submersos mL⁻¹ com até 3 dias de cultivo (Jakubikova et al., 2006; Syahiddin, 2007). Entretanto, as exigências nutricionais e ambientais requeridas ao crescimento em fermentação líquida podem variar consideravelmente entre espécies e cepas de *Trichoderma*, o que implica em estudos de otimização caso a caso.

Um dos trabalhos que, recentemente, foi considerado um divisor de águas na história da produção massal de *Trichoderma* spp. resgatou e aperfeiçoou o método de fermentação líquida submersa para manipular as condições nutricionais e ambientais durante o crescimento deste fungo, de forma a produzir propágulos usando um meio de baixo custo e com alta eficiência no processo, menor dependência de mão de obra e proporcionando uniformidade e qualidade ao produto final mediante controle mais rigoroso dos parâmetros fermentativos. Este trabalho, de cunho disruptivo, foi concretizado por meio de uma parceria entre um grupo de pesquisadores brasileiros e outro de pesquisadores norte-americanos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) de Peoria, Illinois, cujos resultados renderam um artigo e uma patente onde descrevem a composição e o processo produção via fermentação líquida submersa de um propágulo de resistência de *Trichoderma* denominado microescleródio (Kobori et al., 2015; Jackson et al., 2015 patente). Na natureza, não há relatos sobre a formação de microescleródios por *Trichoderma* até o presente momento, o que torna esta estrutura fúngica singular ao seu desenvolvimento induzido somente meio líquido artificial. No entanto, não é possível descartar a hipótese de que *Trichoderma* possa formar esta estrutura de resistência nos seus mais variados nichos ecológicos. Por definição, microescleródio é considerado uma estrutura pluricelular formado por células do pseudoparênquima e geralmente acompanhadas de pigmentação mais escura, ou simplesmente é formado por agregados de hifas compactadas com deposição de quitina e pigmentos durante sua maturação fisiológica, tornando-se uma estrutura densa e melanizada, semelhante a escleródios de fungos fitopatogênicos, porém numa escala micrométrica variando de 50 a 500 µm em tamanho (Jackson; Payne, 2016).

Geralmente, os fungos filamentosos, em especial aqueles com ação fitopatogênica, formam microescleródios para superar e sobreviver a condições nutricionais e ambientais desfavoráveis, oferecendo uma vantagem adaptativa. A descoberta da formação de microescleródios em espécies de *Trichoderma* spp. abre uma nova abordagem ao desenvolvimento de produtos mais persistentes no campo para aplicação via tratamento de sementes ou diretamente no

solo. Não obstante, há ainda carência de estudos comparando a bioeficácia e persistência entre microescleródios e conídios aéreos em condições de campo.

O processo de fermentação líquido submerso desenvolvido para *Trichoderma* spp. visa produzir rapidamente e de forma econômica propágulos estáveis denominados microescleródios para uso em controle de doenças de plantas e promoção do crescimento vegetal. Usando a fermentação líquida e condições nutricionais e ambientais apropriadas ao crescimento de *Trichoderma* spp. em biorreatores de 5 até 100 L de capacidade, foi possível otimizar sua produção chegando a rendimentos simultâneos de $5-10 \times 10^6$ microescleródios L^{-1} e $1-2 \times 10^{12}$ conídios submersos L^{-1} em apenas 3 dias de cultivo, com uso de pré-culturas líquidas de 3 dias de idade para inoculação (Figura 4).

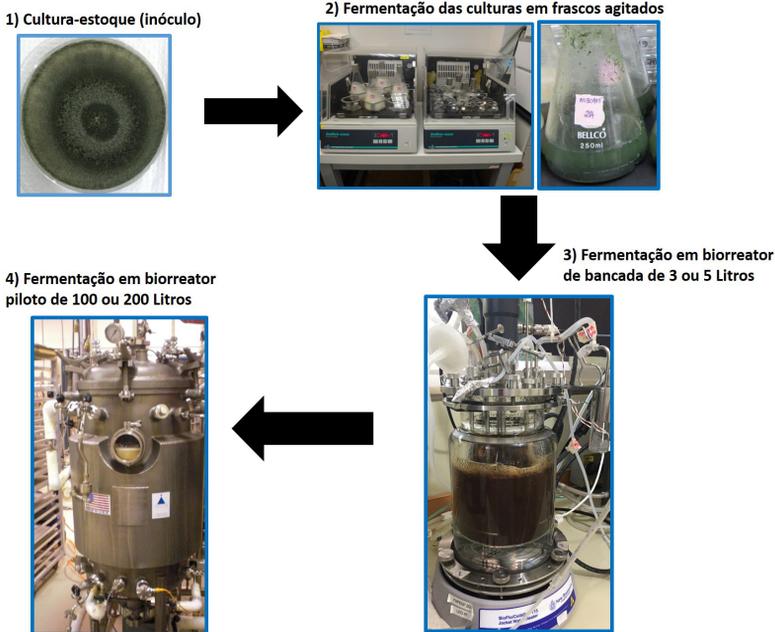


Figura 4. Sequência da produção de biomassa de *Trichoderma* spp. por fermentação líquida submersa e o processo de escalonamento em biorreatores com agitação mecânica.

Fonte: Nilce Naomi Kobori; Gabriel Moura Mascarin.

O custo do meio líquido para atingir esses rendimentos de produção foi estimado em menos de 20 centavos de dólar norte-americano (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados e custo de produção de microescleródios de *Trichoderma harzianum* (cepa T-22) em fermentação líquida submersa usando um biorreator com agitação mecânica.

Atributos	Resultados
Custo do meio líquido de produção	<US\$0,20 L ⁻¹
Tempo curto de fermentação	3-4 dias
Altos rendimentos de microescleródios (MS)	1 x 10 ⁸ MS L ⁻¹ , biomassa seca 30 g L ⁻¹
Tolerância à dessecação	90-100% após 24 horas de incubação
Excelente vida-de-prateleira	Mínimo de 12 meses a 4 °C e mínimo de 6 meses a 28 °C.
Eficácia de biocontrole	Excelente - conídios oriundos dos microescleródios são produzidos no próprio local em que são aplicados.

Fonte: Patente US9642372B2 - Jackson, Mascarin e Kobori, 2015.

Kobori et al. (2015) testaram diferentes concentrações de carbono total e variações da razão C:N em meios de cultivo. Os resultados revelaram que nos meios com menor razão C:N e baixo teor de carbono no meio (8 g L⁻¹), ou seja meios pobres em nitrogênio e carbono, houve sempre uma maior produção de conídios submersos, cujo início da formação dessas células se dava geralmente no início do cultivo entre 24 a 36 horas. Ao contrário desta tendência, meios com maiores razões C:N e maior teor de carbono (36 g L⁻¹) produziram tanto microescleródios quanto conídios submersos, porém em meios com razão C:N menores (30:1 e 10:1) induziram somente a formação de microescleródios em quantidades consideravelmente elevadas (Tabela 4).

Tabela 4. Influência das variáveis concentração de glicose (g L⁻¹), ácidos casamínicos (g L⁻¹), carbono total (g L⁻¹) e razão C:N na produção de microescleródios e conídios submersos de *Trichoderma harzianum* (cepa T-22) após 4 dias de cultivo líquido submerso em frascos agitados a 300 rpm e a 28 °C com escotofase total.

Meio líquido	Glicose (g L ⁻¹)	Ácidos casamínicos (g L ⁻¹)	Carbono (g L ⁻¹)	Razão C:N	Conídio submerso (x10 ¹⁰ L ⁻¹)	Microescleródios (x10 ⁸ L ⁻¹)	Conídios produzidos em grânulos de MS (x10 ¹⁰ g ⁻¹)
1	10	10	8	10: 1	25,4 b [†]	0 b [†]	-
2	16,6	3,4	8	30: 1	32,1 ab	0 b	-
3	18	2	8	50: 1	15,8 c	0 b	-
4	45	45	36	10: 1	0 d	48,3 a	1,52 a [†]
5	75	15	36	30: 1	0 d	33,3 a	1,12 b
6	81	9	36	50: 1	49,9 a	25,8 a	0,99 c

Fonte: Kobori et al. (2015). [†]Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si (Tukey-Kramer teste, P < 0,05).

Um fator de grande relevância para a indústria de biopesticidas é se os propágulos produzidos na fermentação líquida ou sólida de *Trichoderma* spp. são passíveis de secagem e estabilização para dar subsídio à formulação de um produto sólido com tempo de prateleira desejável de no mínimo 6 meses à temperatura ambiente (25-30 °C). Nesse contexto, outro resultado interessante gerado com essa pesquisa (Jackson et al., 2015 patente; Nilce N. Kobori, dados não publicados) foi a notável capacidade de esses propágulos submersos de *Trichoderma* se mostrarem recalcitrantes ao processo de secagem, necessário à obtenção de uma formulação sólida para posterior aplicação no solo ou em sementes. Uma das vantagens dos microescleródios é que estes são estruturas de resiliência com reserva nutricional suficiente para iniciar a germinação e produção *in situ* de uma grande quantidade de conídios aéreos, o que contribui para criar uma alta densidade de inóculo do fungo no solo ou na rizosfera das plantas tratadas.

A Figura 5 ilustra o processo de secagem via aeração forçada em cabine hermética com duração de até 16 horas (secagem lenta) e secagem e recobrimento simultaneamente de sementes com microescleródios e conídios submersos via leito fluidizado, mostrando subseqüentemente a viabilidade tanto do fungo quanto das sementes após reidratação em meio ágar-água (Nilce N. Kobori, dados não publicados). Os microescleródios secos na forma de grânulos, quando reidratados adequadamente, são capazes de germinar em menos de 24 horas e, subseqüentemente, produzem uma grande quantidade de conídios usando suas próprias reservas nutricionais (detalhe na Figura 5B).

Na Tabela 4, após secagem lenta de microescleródios formulados com terra diatomácea a 7,5% peso/volume (p/v), observa-se uma elevada produção de conídios a partir dos grânulos sob reidratação durante 7 dias em meio ágar-água. Essa concentração na magnitude de 10^{10} conídios por grama de grânulos de microescleródios de *Trichoderma* é muitas vezes superior às concentrações de conídios aéreos declaradas em rótulos de produtos comerciais registrados no Brasil.

No quesito armazenamento, formulações secas compostas por grânulos de microescleródios de *Trichoderma* se mantiveram viáveis por um período superior a 12 meses sob armazenamento a 4 °C, e foram capazes de aumentar a germinação e sobrevivência de plântulas de melão expostas ao inóculo do patógeno *Rhizoctonia solani*, fungo causador da doença *damping-off* em inúmeras espécies vegetais (Kobori et al., 2015; Jackson et al., 2015 patente).

O processo de fermentação líquida submersa descrito por Kobori et al. (2015) e patenteada por Jackson et al. (2015) teve por objetivo aumentar a eficiência, qualidade e reduzir os custos de produção em larga escala de microescleródios e conídios submersos de *Trichoderma*, atrelado à baixa contaminação e alto rendimento de biomassa final. Além disso, a fermentação submersa é totalmente compatível aos equipamentos de processamento pós-produção para

Fotos: Nilce Naomi Kobori; Gabriel Moura Mascarin.



Figura 5. Métodos de secagem de microescleródios e conídios submersos de *Trichoderma* após produção por fermentação líquida submersa. A) Secagem lenta em câmara com aeração forçada. B) Teste de viabilidade e produção de conídios pelos grânulos de microescleródios formulados com inerte argilo-mineral, após 7 dias sob reidratação em meio ágar-água (2% m/v (massa/volume)). C) Leito fluidizado de bancada para testes em escala piloto com controle de vazão de atomização da calda fermentada contendo microescleródios e/ou conídios submersos de *Trichoderma* sp. e controle da temperatura de secagem. D) Detalhe do tratamento via recobrimento de sementes de trigo usando o leito fluidizado de bancada (fotos à esquerda) e, em seguida na foto à direita, detalhe da germinação das sementes acompanhada do crescimento e proliferação de *Trichoderma* sp. em meio ágar-água.

beneficiamento, extração, secagem e formulação de *Trichoderma* spp., uma vez que usa os mesmos equipamentos da indústria de fermentação líquida de outros microrganismos.

Uma questão importante concerne à decisão de qual tipo de propágulo se pretende utilizar no biocontrole de fitopatógenos, o que dependerá também a forma de aplicação e sistema de produção da cultura de interesse. Entre clamidósporos, conídios e microescleródios, os dois últimos têm a capacidade de germinar em menos de 24 horas, logo esses propágulos são mais rápidos do que clamidósporos. Além disso, tanto conídios submersos quanto microescleródios produzidos em meio líquido são mais facilmente coletados para fins de processamento em formulações sólidas ou líquidas. Entretanto, microescleródios estabilizados em matrizes

inorgânicas, como terra diatomácea, na forma de grânulos secos (< 5% umidade final) têm proporcionado uma excelente vida de prateleira tanto em temperatura ambiente (mínimo de 6 meses) ou sob refrigeração a 4 °C (mínimo de 12 meses) (Jackson et al., 2015 patente; Kobori et al., 2015).

A avaliação da sobrevivência desses microescleródios em formulação granular é realizada mediante teste de germinação vegetativa (miceliogênica) seguida da produção de conídios (germinação esporogênica) por estas estruturas após reidratação por um período entre 7 a 10 dias a 28 °C em meio ágar-água (2% p/v) (Kobori et al., 2015). Em estudos não publicados, Kobori e colaboradores também verificaram que é possível realizar secagem rápida utilizando a técnica de atomização ou do inglês *spray drying* tanto de conídios submersos quanto de microescleródios produzidos em meio líquido. Esses mesmos autores também conseguiram concentrações de até 2×10^{12} conídios submersos L⁻¹ e 5×10^7 microescleródios L⁻¹ em apenas 3 dias de fermentação líquida em biorreator de bancada de 5 L com adequada aeração e agitação (Kobori et al., em preparação). Uma patente de Israel de 1989 também relata uma produção de no máximo 5×10^{11} conídios submersos L⁻¹ de *T. harzianum* após 60 h de cultivos submersos em biorreatores de 500 L sob constante iluminação, temperatura entre 25 e 30 °C e pH inicial entre 5,8 e 7, utilizando uma composição de meio com fontes de carbono e nitrogênio complexas e de baixo custo (Tabachnik, 1989 - Patente US4837155A).

A desvantagem da fermentação líquida é o investimento inicial na compra de biorreatores sofisticados que permitem um controle sistemático dos parâmetros fermentativos; todavia este custo é diluído ou amortizado com o tempo de uso do equipamento e com as vantagens inerentes ao processo que traz economicidade, uniformidade entre lotes, rapidez e automação, aliados à facilidade de escalonamento industrial para fins de formulação e empacotamento.

Finalmente, vale salientar que a fermentação líquida submersa é um processo moderno e robusto, o qual continuará se aperfeiçoando nos mais variados sistemas de produção de microrganismos benéficos aplicados na agricultura. Devido às inúmeras vantagens em custo operacional, versatilidade em produzir rapidamente diferentes estruturas fúngicas de *Trichoderma*, somada à facilidade de automação e escalabilidade gerando vantagens competitivas em relação à fermentação sólida-estática, é indubitável e inevitável que haja uma tendência de as empresas de biopesticidas migrarem ou investirem nesta tecnologia a curto e médio prazo. A uniformidade e qualidade do produto final com atraente custo-benefício são inerentes a este bioprocessos e contribuirá com a expansão da adoção de *Trichoderma* e outros fungos benéficos na agricultura brasileira.

Considerações Finais

Dentre os fungo as espécies de *Trichoderma* spp. são mais utilizadas comercialmente no Brasil (mais de 5 milhões de hectares tratados) com várias biofábricas produzindo dezenas de toneladas por semana de esporos deste fungo crescidos em grãos de cereais por fermentação em estado sólido, é seguro afirmar que existe uma oportunidade incrível de adotar esta tecnologia para desenvolver novas formulações comerciais à base de seus propágulos submersos.

No geral, existe uma ampla carência envolvendo pesquisa em tecnologia de produção massal de *Trichoderma* por fermentação líquida submersa, bem como de outros fungos filamentosos benéficos que são utilizados como biocontroladores de pragas e doenças de plantas no Brasil. As perspectivas esperadas com os avanços nestes estudos em parceria com o setor privado, composto pelas indústrias de biopesticidas microbianos, é a expansão e consolidação das tecnologias de fermentação para *Trichoderma* spp.

No aspecto biotecnológico, formulações de biopesticidas devem visar a competitividade econômica frente aos produtos químicos, o que está diretamente relacionado com a eficiência do processo produtivo, a otimização e utilização de matérias-primas de qualidade e com preço acessível. Além disso, a proteção e manutenção da viabilidade do princípio ativo visando à persistência e à eficácia em campo. Outro aspecto relevante de bioformulações é a especificidade dos microrganismos que, na visão ambiental, de saúde do trabalhador e ainda não residual ao consumidor, é extremamente favorável.

Referências

- AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: mar. 2019.
- ARORA, A.; KAUR, P.; KUMAR, M.; SAINI, V. Production of Biopesticides Namely *Trichoderma viride* and *Beauveria bassiana*. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 10, n. 26, p. 1-7, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 8510**: Agrotóxicos e afins – Características físicas. Rio de Janeiro, 2018b. 10 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12679**: Agrotóxicos e afins – Produtos técnicos, concentrados técnicos e formulações – Terminologia. Rio de Janeiro, 2018a. 10 p.
- CASAS-FLORES, S.; HERRERA-ESTRELLA, A. The influence of light on the biology of *Trichoderma*. In: MUKHERJEE, P. K. et al. (Eds.). *Trichoderma: biology and applications*. [S. l.]: CAB International, 2013. p. 43-66.
- CAVALCANTE, R. S.; HELDER, L. S.; PINTO, G. A. S.; GAVA, C. A. T.; RODRIGUES, S. Effect of Moisture on *Trichoderma* Conidia Production on Corn and Wheat Bran by Solid State Fermentation. **Food Bioprocess Technology**, v. 1, p. 100-104, 2008.
- COCHRANE, F. W. **Physiology of Fungi**. New York: Wiley, 1958. 524 p.
- DANIELSON, R. M.; DAVEY, C. B. Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5, n. 5, p. 505-515, 1973.

- FRIEDL, M. A.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Carbon source dependence and photostimulation of conidiation in *Hypocrea atroviridis*. **Applied Environmental Microbiology**, n. 74, p. 245-250, 2008.
- GERVAIS, P.; MOLIN, P. The role of water in solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 85-101, 2003.
- HARMAN, G. E.; JIN, X.; STASZ, T. E.; PERUZZOTTI, G.; LEOPOLD, A. C.; TAYLOR, A. G. Production of conidial biomass of *Trichoderma harzianum* for biological control. **Biological Control**, n. 1, p. 23-28, 1991.
- HEWAVITHARANA, N.; KANNANGARA, S. D. P.; SENANAYAKE, S. P. Isolation, Identification and Mass production of five *Trichoderma* spp. on Solid and Liquid Carrier Media for Commercialization. **International Journal of Applied Science and Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 285-293, 2018.
- HÖLKER, U.; HOFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advances of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiological Biotechnology**, v. 64, n. 2, p. 175-186, 2004.
- JACKSON, A. M.; WHIPPS, J. M.; LYNCH, J. M. Optimizing nutritional conditions for the liquid culture production of effective fungal biological control agents. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 19, p. 180-187, 1997.
- JACKSON, M. A.; MASCARIN, G. M.; KOBORI, N. N. *Trichoderma microsclerotia and methods of making*. US Patent 9642372, 2015. 16 p.
- JACKSON, M. A.; PAYNE, A. R. Liquid culture production of fungal microsclerotia. In: GLARE, T. R.; MORAN-DIEZ, M. E. (Eds.). **Microbial-Based Biopesticides: Methods and Protocols**, Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer Science Business Media, 2016. p. 71-83.
- JAKUBIKOVA, L.; FARKS, V.; KOLAROVA, N.; NEMCOVIC M. Conidiation of *Trichoderma atroviridae* isolate during submerged cultivation in laboratory stirred-tank fermenter. **Folia Microbiol**, v. 51, n. 3, p. 209-213, 2006.
- JENKINS, N. E.; GOETTEL, M. S. Methods for mass-production of microbial control agents for grasshoppers and locusts. In: GOETTEL, M. S.; JOHNSON, L. (Eds.). **Microbial control of grasshoppers and locusts**. [Berkeley]: Entomological Society of Canada, 1997. p. 37-48. (Memoirs of the Entomological Society of Canada, n. 171).
- JIN, X.; HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G. Conidial biomass and desiccation tolerance of *Trichoderma harzianum* produced at different medium water potentials. **Biological Control**, v. 1, p. 237-243, 1991.
- JIN, X.; TAYLOR, A. G.; HARMAN, G. E. Development of media and automated liquid fermentation methods to produce desiccation-tolerant propagules of *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, v. 7, p. 267-274, 1996.
- KOBORI, N. N.; MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; SCHISLER, D. A. Liquid culture production of microsclerotia and submerged conidia by *Trichoderma harzianum* active against damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, v. 119, n. 4, p. 179-190, 2015.
- LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. (Eds.). **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2012. 92 p.
- LOPES, R. B. A indústria no Controle Biológico: Produção e Comercialização de Microorganismos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009, p. 15-28.
- MACHADO, A. C. R.; MOCHI, D. A.; MONTEIRO, A. C. Crop optimization and pre-steps standardization to get a *Bipolaris euphorbiae*-based bioherbicide. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 4, p. 392-399, 2013.
- MORAES, C.; MONTEIRO, A. C.; MACHADO, A. C. R.; BARBOSA, J. C., MOCHI, D. A. Production of a bioherbicide agent in liquid and solid medium and in a biphasic cultivation system. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 255-264, 2014.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.
- MUNIZ, P. H. P. C.; PEIXOTO, G. H. S.; TEIXEIRA, M. P. M.; MELLO, S. C. M.; CARVALHO, D. D. C. Produção de conídios em substrato sólido e colonização superficial por *Trichoderma harzianum*. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 5, n. 4, p. 40-44, out/dez. 2018.
- PAPAVIZAS, G. C.; DUNN, M. T.; LEWIS, J. A.; BEAGLE-RISTAINO, J. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. **Phytopathology**, v. 74, n. 10, p. 1171-1175, 1984.

- RAIMBAULT, M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 1, n. 3, 1998.
- SANDHYA, C.; SUMANTHA, A.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 2689-2694, 2005.
- SANTOS, P. S. **Adaptações no sistema de produção do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales)**. 2017. 72 p. Tese (Doutorado em Ciências: Entomologia)- Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Piracicaba.
- SARGIN, S.; GEZGIN, Y.; ELTEM, R.; VARDAR, F. Micropropagule production from *Trichoderma harzianum* EGE-K38 using solid-state fermentation and a comparative study for drying methods. *Turkish Journal of Biology*, v. 37, p. 139-146, 2013.
- SCHMOLL, M.; ESQUIVEL-NARANJO, E. U.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* in the light of day - Physiology and development. *Fungal Genetics and Biology*, n. 47, p. 909-916, 2010.
- SINGHANIA, R. R.; SUKUMARAN, R. K.; PATEL, A. K.; LARROCHE, C.; PANDET, A. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 46, p. 541-549, 2010.
- SRIRAM, S.; ROOPA, K. P.; SAVITHA, M. J. Extended shelf-life of liquid fermentation derived talc formulations of *Trichoderma harzianum* with the addition of glycerol in the production medium. *Crop Protection*, v. 30, p. 1334-1339, 2011.
- STEAERT, J. M.; WELD, R. J.; MENDOZA, A.; KRYŠTOFOVÁ, S.; ŠIMKOVIC, M.; VAREC'KA, L.; STEWART, A. Asexual development in *Trichoderma*: from conidia to chlamydo spores. In: MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; SINGH, U. S.; MUKHERJEE, M.; SCHMOLL, M. (Eds.). *Trichoderma*: biology and applications. [S. l.]: CAB International, 2013. p. 87-109.
- STEAERT, J. M.; WELS, R. J.; STEWART, A. Isolate-specific conidiation in *Trichoderma* in response to different nitrogen sources. *Fungal Biology*, n. 114, p. 179-188, 2010.
- SYAHIDDIN, D. S. Spore Production by biocontrol agent *Trichoderma harzianum* in submerged fermentation: effect of agitation and aeration. *Journal ReKayasa Kimia dan Lingkungan*, v. 6, n. 2, p. 71-76, 2007.
- TABACHNIK, M. **Method of growing *Trichoderma*** - US 4837155 A - Israel, 1989. 5 p.
- ZABRISKIE, D. W.; ARMIGER, W. B.; PHILLIPS, D. H.; ALBANO, P. A. **Trader's guide to fermentation media formulation**. Memphis: Traders protein, 2008. 60 p.

Controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Trichoderma*

Zayame Vegette Pinto

Cleusa Maria Mantovanello Lucon

Wagner Bettiol

Introdução

Trichoderma é o fungo mais estudado e utilizado como agente de biocontrole, principalmente, de fitopatógenos habitantes do solo, e, mais recentemente, como bioestimulante na promoção de crescimento de plantas e aumento de produtividade (Woo et al., 2014). Como fungos de vida livre, comumente encontrados no solo e associados ao ecossistema radicular, possuem estilo de vida versátil (Druzhinina et al., 2011; Carreras-Villaseñor et al., 2012).

O micoparasitismo, a competição, a antibiose e a indução de respostas de defesa da planta são os principais mecanismos de ação de *Trichoderma* no controle de fitopatógenos (Carreras-Villasen et al., 2012). Como bioestimulante, linhagens de *Trichoderma* competentes na colonização do sistema radicular, afetam diretamente a promoção de crescimento e aumento da produtividade de plantas. Esses efeitos, mediados por *Trichoderma*, estão baseados na modificação da arquitetura do sistema radicular; na solubilização, disponibilização e uso eficiente de nutrientes; no aumento da porcentagem e taxa de germinação de sementes e no estímulo das defesas das plantas contra danos bióticos e abióticos (Contreras-Cornejo et al., 2009; Hermosa et al., 2012; Samoslki et al., 2012).

Trichoderma spp. são caracterizadas pelo rápido crescimento e produção de conídios de tonalidades da cor verde em conidióforos ramificados. A sobrevivência e dispersão de *Trichoderma* envolve diversos mecanismos. A produção de conídios, desenvolvimento assexual, é favorecida pela luz e injúrias mecânicas, influenciada diretamente pelas condições ambientes de crescimento, tais como disponibilidade de nutrientes e pH (Carreras-Villasen et al., 2012). Também, há isolados que produzem microescleródios em determinadas condições (Kobori et

al., 2015).

A maioria dos produtos comerciais à base de *Trichoderma* é produzida por meio da fermentação em estado sólido, na qual o fungo produz conídios aéreos, os quais são extraídos e formulados (Bettioli, 2011; Woo et al., 2014). Por outro lado, pesquisas são desenvolvidas com fermentação líquida submersa para produção de conídios e microescleródios, sem todavia resultados, até o momento, que possam ser comparáveis com a produção em estado sólido (Papavizas et al., 1984; Harman et al., 1991; Kobori et al., 2015; Locatelli et al., 2017). Os conídios e os microescleródios são estruturas que possuem maior resistência às condições adversas. Desta forma, estas estruturas podem ser utilizadas como ingrediente ativo de produtos biológicos à base de *Trichoderma*.

No mercado brasileiro, os produtos biológicos à base de *Trichoderma* são comercializados em diferentes formulações, como por exemplo grânulo dispersível em água, suspensão concentrada, pó-molhável e concentrado emulsionável e gel emulsionável. Na bula dos produtos formulados registrados é informada a concentração de propágulos do fungo, que consiste no ingrediente ativo. As unidades de medida utilizadas para indicar a concentração não são padronizadas. Há produtos registrados considerando a concentração de conídios e ou esporos viáveis e unidades formadoras de colônia. Além disto, as metodologias de análise de conformidade e controle de qualidade de produtos biológicos não são padronizadas para todos os antagonistas. Este panorama dificulta a análise adequada da qualidade dos produtos, a comparação de resultados, a realização de testes e a emissão de laudos no processo de registro (Teixeira et al., 2010).

Em 2008, considerando os problemas existentes com a qualidade dos produtos contendo agentes de biocontrole comercializados, bem como a inexistência, no Brasil, de metodologias padronizadas, foi formada uma rede de pesquisa denominada Projeto Qualibio (“Desenvolvimento de metodologia analítica e amostral para avaliação de conformidade e da inocuidade de produtos comerciais formulados à base de agentes microbianos”), a qual desenvolveu metodologias para avaliar a conformidade e qualidade de produtos comerciais formulados à base de agentes microbianos para o controle de doenças de plantas. O projeto foi financiado pelo edital MCT/CNPq/Mapa/DAS n° 64/2008; com a participação da Embrapa Meio Ambiente, Embrapa Arroz e Feijão, Instituto Biológico de São Paulo, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Universidade Federal de Pelotas e Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC/CEFET).

As metodologias desenvolvidas no âmbito do Projeto Qualibio não foram oficializadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - Mapa, mas são utilizadas por, praticamente, todas as empresas, laboratórios e instituição de pesquisa para avaliar a conformidade e a qualidade de produtos comerciais formulados à base de agentes microbianos

para o controle de doenças de plantas, bem como pesquisas na área. As metodologias foram desenvolvidas para produtos à base de fungos do gênero *Trichoderma* e bactérias do gênero *Bacillus*. Porém, as metodologias desenvolvidas podem também ser utilizadas para outros microrganismos antagonistas, como *Clonostachys rosea*, *Pochonia clamydosporea*, *Purpureocillium lilacinum* entre outros e, também para outras bactérias, desde que consideradas as especificidades de cada espécie.

O controle de qualidade em todas as etapas da cadeia de produção de um agente de biocontrole é extremamente importante para que produtos de reconhecida qualidade sejam disponibilizados no mercado e, desta forma, manter a confiança dos agricultores sobre a eficácia dos bioprodutos. Consequentemente, contribuirá para ampliar o mercado de agentes de biocontrole para o manejo integrado de doenças e pragas de plantas.

Descrição das metodologias

No Projeto Qualibio foram desenvolvidas as metodologias para a determinação do número total de conídios, da porcentagem de conídios viáveis e do número das unidades formadoras de colônias (UFC) para produtos formulados à base de *Trichoderma* spp. (Bettiol et al., 2016).

A metodologia desenvolvida para a determinação do número total de conídios informa a quantidade de conídios na amostra, porém, não avalia a viabilidade dos conídios. Assim, é complementada com a metodologia desenvolvida para a determinação da porcentagem de conídios viáveis, a qual informa a porcentagem de conídios viáveis na amostra, bem como o seu vigor baseado no tempo de germinação. Finalmente, a metodologia desenvolvida para a determinação do número de unidades formadoras de colônias informa a quantidade de estruturas presentes no bioproduto que são capazes de dar origem a uma colônia do fungo em meio de cultura. É importante considerar que uma colônia do fungo pode ser originada de um conídio, de um aglomerado de conídios, de fragmentos de hifas e outras estruturas do fungo. Assim, a realização dessas análises são complementares, mas consideramos que a determinação das unidades formadoras de colônias é sempre a mais relevante e realista para os agricultores.

As metodologias, apesar de simples, devem ser executadas por profissionais qualificados. Assim, os resultados obtidos serão precisos. Além disso, os equipamentos utilizados devem ser sempre calibrados e estarem em perfeitas condições de uso.

A seguir serão descritas detalhadamente essas três metodologias, sempre lembrando que são complementares.

Protocolo da metodologia 1: determinação do número total de conídios na amostra

Equipamentos e vidrarias necessários para a realização da metodologia

Frascos com capacidade para 250 mL e 1.000 mL; tubos de ensaio; tampas para tubo de ensaio; estante para tubos de ensaio; autoclave; balança; agitador tipo vortex (de tubo de ensaio); banho de ultrassom com frequência de 40 kHz; mesa agitadora; micropipeta (10 mL e 1.000 μ L); ponteiros esterilizados para micropipetas (10 mL e 1.000 μ L); câmara de Neubauer (hemacitômetro); microscópio óptico; contador manual de conídios; agitador magnético; barra magnética.

Solução

Solução salina com Tween 80

Ingredientes: NaCl P.A.: 9,0 g; água destilada: 1.000 mL; Tween 80: 1 mL.

Preparo: em frasco de 1.000 mL suspender o NaCl em 1.000 mL de água destilada e acrescentar o Tween 80. Homogeneizar bem e autoclavar o diluente a 121 °C e a 1 atm por 20 minutos.

Procedimento

1. As amostras devem ser colocadas à temperatura ambiente por 30 a 40 minutos antes do início da análise, principalmente as originárias de formulação com base em óleo emulsionável.

2. Pesar 10 g do produto a ser testado em frasco de 250 mL e acrescentar 90 g de solução salina com Tween 80 (corresponde à diluição 10^{-1}). Devem ser realizadas duas pesagens para cada amostra e uma série de diluição para cada pesagem. A segunda pesagem deve ser realizada 10 minutos após a colocação de água na primeira amostra para obter o mesmo tempo de hidratação.

3. Colocar o frasco com a suspensão em agitador orbital ou mesa agitadora por 60 minutos a, pelo menos, 120 rpm.

4. Colocar o frasco com a suspensão em banho de ultrassom por 5 minutos. O nível de água do banho de ultrassom deve ultrapassar o volume da suspensão contida no frasco para garantir o efeito vibracional em todas as estruturas do fungo.

5. Misturar vigorosamente o conteúdo do frasco em agitador tipo vortex, colocando e tirando três vezes do aparelho até ser observado o turbilhamento total da suspensão, em cada uma das passagens. Ou colocar em agitador magnético por 5 minutos.

6. Transferir, imediatamente, 1,0 mL da suspensão contida no frasco (10^{-1}), com auxílio de micropipeta com ponteira esterilizada para o tubo de ensaio seguinte contendo 9,0 mL da solução salina (corresponde à diluição 10^{-2}). Descartar a ponteira em seguida.

7. Homogeneizar o conteúdo da diluição 10^2 em agitador tipo vortex, colocando e tirando três vezes do aparelho até ser observado o turbilhamento total da suspensão, em cada uma das passagens.

8. Para obter a diluição 10^3 repetir os itens 6 e 7 (diluição seriada), utilizando o tubo da diluição anterior (10^2). Considerando as informações sobre a concentração contida no rótulo do produto, se necessário dar continuidade à diluição seriada até a diluição apropriada. Proceder assim repetidamente até alcançar a diluição apropriada (normalmente 10^3 ou 10^4). Para cada diluição deve-se trocar a ponteira da micropipeta.

9. Misturar o conteúdo do tubo de ensaio com a suspensão apropriada em agitador tipo vortex colocando e tirando três vezes. O tubo deve ser retirado quando ocorrer o turbilhamento total.

10. Retirar imediatamente após a agitação uma alíquota representativa da suspensão com auxílio de uma micropipeta de 1.000 μL .

11. Colocar cuidadosamente a suspensão na canaleta da câmara de Neubauer, já coberta com a lamínula, até o preenchimento de todo o espaço existente entre a lamínula e a câmara de Neubauer.

12. Antes de iniciar a contagem, deixar a câmara de Neubauer, com a suspensão de conídios, em repouso por 5 minutos, para que os conídios precipitem, facilitando a contagem e reduzindo erros.

13. Realizar a contagem de conídios ao microscópio óptico, no aumento de 250X ou 400X, nos campos 1 e 2 da câmara de Neubauer (Figura 1), nos cinco quadrados (subcompartimentos) como demarcados na Figura 2, totalizando cinco contagens por campo da câmara de Neubauer (E1, E2, E3, E4 e E5). **Observação:** Muitos conídios ficam exatamente sobre as linhas de demarcação internas dos subcompartimentos. Recomenda-se contar apenas os conídios que estiverem nas linhas da esquerda e superior do mesmo campo da observação para evitar que eles sejam contados duas vezes.

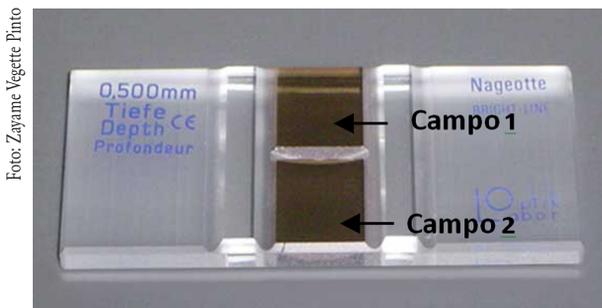


Figura 1. Localização dos campos 1 e 2 na câmara de Neubauer.

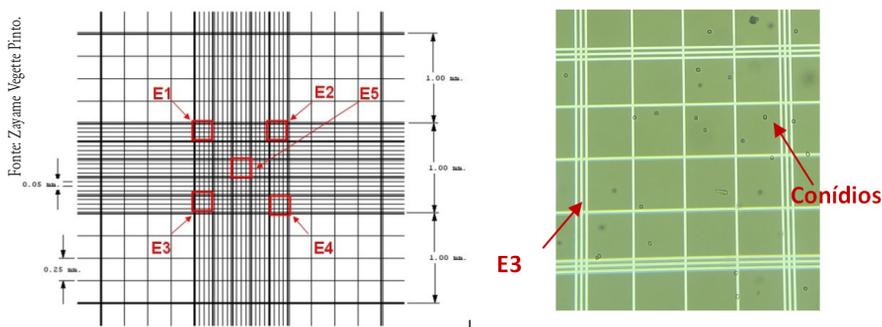


Figura 2. Área dentro dos subcompartimentos vermelhos para a realização da contagem de conídios - E1, E2, E3, E4 e E5.

Cálculo do número de conídios

Para determinar o número de conídios, utilizar a fórmula: $\text{Número de conídios/mL} = \left\{ \left[\frac{(-\text{Campo } 1 + \text{Campo } 2)}{2} \right] \times 2,5 \times 10^3 \right\}$, sendo que: $\text{Campo } 1 = (E1 + E2 + E3 + E4 + E5)/5$ e $\text{Campo } 2 = (E1 + E2 + E3 + E4 + E5)/5$. Quando utilizada a diluição 10^{-3} , multiplica-se o resultado do número de conídios/mL por 10^3 e quando utilizada a diluição 10^{-4} , multiplica-se o resultado por 10^4 .

Observação: foi desenvolvido, no âmbito do projeto Qualibio, o software CALIBRA que está disponível para cópia do site da Embrapa Meio Ambiente. Este software realiza cálculos e armazena as informações para a emissão de laudos. A sugestão é que o CALIBRA seja sempre utilizado para uma maior facilidade e precisão das análises.

Repetição

Devem ser feitas duas pesagens do produto, sendo que de cada pesagem deve ser realizada uma série de diluição seriada. Na segunda pesagem a solução salina deve ser colocada 10 minutos após ao da primeira pesagem para evitar a diferença na hidratação dos conídios. A diluição selecionada, geralmente 10^{-3} e 10^{-4} , deve ser colocada na câmara de Neubauer para a realização da contagem do número total de conídios presentes na amostra (Figura 3).

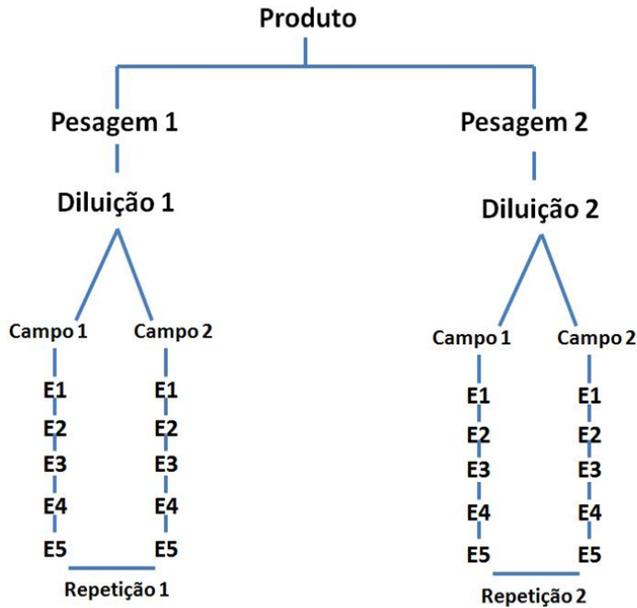


Figura 3. Esquema das repetições utilizadas na metodologia para análise da qualidade - número total de conídios contidos na amostra.

Protocolo da metodologia 2: determinação do número de conídios viáveis na amostra

Equipamentos e vidrarias

Frascos com capacidade para 100 mL, 250 mL e 1.000 mL; tubos de ensaio; tampa para tubo de ensaio; estante para tubos de ensaio; autoclave; balança; agitador tipo vortex (de tubo de ensaio); banho de ultrassom com frequência de 40 kHz; mesa agitadora para frasco; incubadora operando 25 ± 2 °C (BOD); micropipeta para volume de 10 mL, 15 μ L e 1.000 μ L; ponteiros esterilizados para micropipeta (10 mL, 15 μ L e 1.000 μ L); placas de Petri esterilizadas; agitador magnético; barra magnética esterilizada.

Soluções

Solução salina com Tween 80

Ingredientes: NaCl P.A.: 9,0 g; água destilada: 1.000 mL; Tween 80: 1 mL.

Preparo: em frasco de 1.000 mL suspender o NaCl em 1.000 mL de água destilada e acrescentar o Tween 80. Homogeneizar bem e autoclavar o diluente a 121 °C e a 1 atm por 20 minutos.

Azul de lactofenol

Ingredientes: fenol: 20 g; ácido láctico: 20 g; água destilada: 20 g; glicerol: 40 g; azul de metila (ou azul de algodão ou azul de Trypan): 0,1 g.

Preparo: adicionar os ingredientes em um frasco e homogeneizar durante 5 minutos em agitador magnético dentro de capela de exaustão de gases. Utilizar os EPIs adequados. Outra opção é adquirir o produto pronto no mercado.

Meio de cultura

Meio de batata dextrose ágar (BDA)

Ingredientes: meio de batata-dextrose-ágar comercial: recomendação do fabricante; água destilada: 1.000 mL.

Preparo: em frascos misturar a água destilada ao meio BDA e autoclavar a 121 °C a 1 atm por 20 minutos. Verter, aproximadamente, 10 mL do meio por placa descartável esterilizada. Depois de solidificado o meio, as placas devem ser invertidas e incubadas a 25 ± 2 °C por uma noite para secar e para avaliar a condição de esterilidade do meio. As placas preparadas com BDA podem ser estocadas em local escuro e sob refrigeração (2-8 °C) por sete dias. Observação: todas as vidrarias e soluções devem ser esterilizadas em autoclave antes de serem utilizadas.

Procedimento

1. As amostras a serem testadas devem ser colocadas à temperatura ambiente por 30 a 40 minutos antes do início da análise, principalmente as originárias de formulação com base em óleo emulsionável.

2. Pesar 10 g do produto a ser testado em frasco de 250 mL e acrescentar 90 g de solução salina com Tween 80 (corresponde à diluição 10^{-1}). Devem ser realizadas duas pesagens para cada amostra e uma série de diluição para cada pesagem. A segunda pesagem deve ser realizada 10 minutos após a colocação de água na primeira amostra para obter o mesmo de hidratação.

3. Colocar o frasco com a suspensão em agitador orbital ou mesa agitadora por 60 minutos a, pelo menos, 120 rpm.

4. Colocar o frasco com a suspensão em banho de ultrassom por 5 minutos. O nível de água do banho de ultrassom deve ultrapassar o volume da suspensão contida no frasco para garantir o efeito vibracional em todas as estruturas do fungo.

5. Misturar vigorosamente o conteúdo do frasco em agitador tipo vortex, colocando e tirando três vezes do aparelho até ser observado o turbilhonamento total da suspensão, em cada uma das passagens. Ou colocar em agitador magnético por 5 minutos.

6. Transferir, imediatamente, 1,0 mL da suspensão contida no frasco (10^{-1}), com auxílio de micropipeta com ponteira esterilizada para o tubo de ensaio seguinte contendo 9,0 mL da

solução salina (corresponde à diluição 10^2). Descartar a ponteira em seguida.

7. Homogeneizar o conteúdo da diluição 10^2 em agitador tipo vortex (de tubo de ensaio), colocando e tirando três vezes do aparelho até ser observado o turbilhonamento total da suspensão, em cada uma das passagens.

8. Para obter a diluição 10^3 repetir os itens 6 e 7 (diluição seriada), utilizando o tubo da diluição anterior (10^2). Considerando as informações sobre a concentração contida no rótulo do produto, se necessário dar continuidade à diluição seriada até a diluição apropriada. Proceder assim repetidamente até alcançar a diluição apropriada (normalmente 10^3 ou 10^4). Para cada diluição deve-se trocar a ponteira da micropipeta.

9. Misturar o conteúdo do tubo de ensaio com a suspensão apropriada em agitador tipo vortex colocando e tirando três vezes. O tubo deve ser retirado quando ocorrer o turbilhonamento total.

10. Pipetar imediatamente após a agitação em aparelho tipo vortex, cinco aliquotas de 15 μ L de duas das diluições apropriadas (em geral são as de 10^3 e/ou 10^4), e transferir imediatamente para placas de Petri contendo meio BDA em cinco pontos previamente definidos e demarcados (Figura 4a). Repetir este passo para mais uma placa.

11. Transferir e incubar as placas para BOD a 25 ± 2 °C, no escuro.

12. Após 9 horas de incubação, verificar a germinação dos esporos a cada duas horas, até 20 h após o plaqueamento em função do produto (o momento considerado ideal variará de acordo com as características da espécie, da cepa e da formulação do produto. Entretanto, em média são necessárias 16 horas). Neste momento, colocar uma gota de azul de lactofenol (8 μ L) em cada ponto (local onde foi colocada a diluição apropriada) com a suspensão (cinco pontos por placa) (Figura 4B).

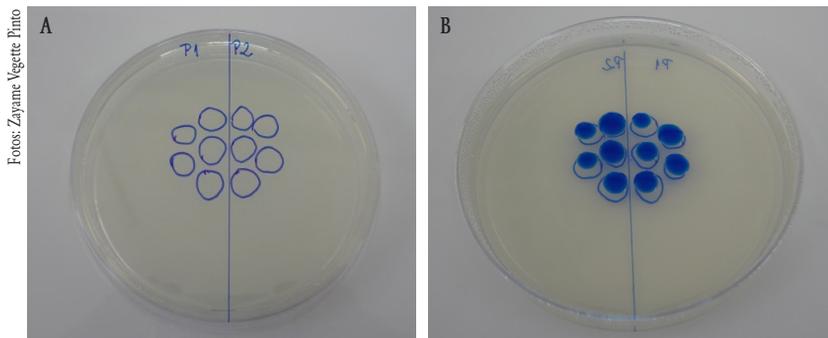


Figura 4. Placa de Petri com meio BDA com as marcações nos locais onde serão colocados os 15 μ L da suspensão para análise da viabilidade (A). Gotas com lactofenol após 16 horas de incubação (B).

13. Contar o número de conídios viáveis, germinados e ativos não germinados, e não viáveis (não germinados), conforme Figura 5, nos cinco pontos usando microscópio óptico no aumento de 200X a 400X. Para maior confiabilidade, deve-se contar pelo menos 100 conídios por área delimitada. Calcular a taxa média de viabilidade utilizando a fórmula:

$$\text{Viabilidade (\%)} = \left(\frac{\text{média do número de conídios viáveis das pesagens}}{\text{total de conídios}} \right) \times 100$$

Deve ser realizado o cálculo para cada gota de cada diluição das duas pesagens, separadamente. Posteriormente, obter a média aritmética para cada pesagem.

Fotos: Zayane Vegette Pinto

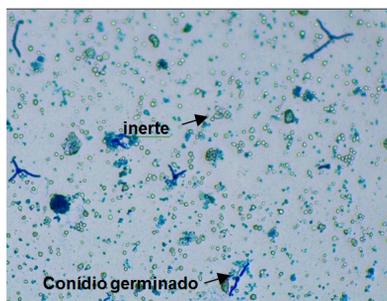


Figura 5. Aspecto ao microscópio óptico: do inerte usado na formulação, dos conídios viáveis, germinados e ativos, e não germinados de *Trichoderma* sp.

Repetição

Devem ser feitas duas pesagens do produto (item 2), sendo que de cada pesagem deve ser realizada uma série de diluição seriada (itens 6, 7 e 8). Na segunda pesagem a solução salina deve ser colocada 10 minutos após ao da primeira pesagem para evitar a diferença na hidratação dos conídios. Da diluição selecionada, deve-se colocar cinco gotas por placa em duas placas diferentes (Figura 6).

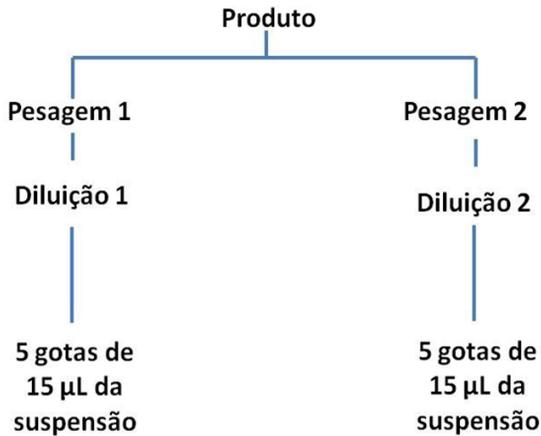


Figura 6. Esquema das repetições utilizadas na metodologia para análise da qualidade - viabilidade de conídios.

Metodologia 3:

determinação do número de unidades formadoras de colônias na amostra

Equipamentos e vidrarias

Frasco com capacidade para 250 mL e 1.000 mL; tubos de ensaio; tampa para tubo de ensaio; estante para tubos de ensaio; autoclave; balança; agitador tipo vortex (de tubo de ensaio); banho de ultrassom com frequência de 40 kHz; mesa agitadora para frasco; incubadora operando 25 ± 2 °C (BOD); micropipeta para volume de 10 mL, 20 µL, 100 µL e 1.000 µL; ponteiros estéreis para micropipeta (10 mL, 20 µL, 100 µL e 1.000 µL); placas de Petri descartável esterilizada; alça de Drigalski esterilizada; agitador magnético; barra magnética estabilizada; microscópio óptico; lâmina de microscopia e fita adesiva transparente.

Solução

Solução salina com Tween 80

Ingredientes: NaCl P.A.: 9,0 g; água destilada: 1.000 mL; Tween 80: 1 mL.

Preparo: em frasco de 1.000 mL suspender o NaCl em 1.000 mL de água destilada e acrescentar o Tween 80. Homogeneizar bem e autoclavar o diluente a 121 °C e a 1 atm por 20 minutos.

Meio de cultura

Meio de batata dextrose ágar (BDA +T). Ingredientes: meio de batata dextrose ágar comercial: recomendação do fabricante, 1 mL de Triton X-100 e água destilada: 1.000 mL.

Preparo: o modo de preparo do meio deve seguir a recomendação do fabricante. Em frascos misturar a água destilada e Triton X-100 (reductor de colônia) ao meio de batata dextrose ágar e autoclavar a 121 °C a 1 atm por 20 minutos. Verter aproximadamente de 15 mL a 20 mL por placa descartável esterilizada. Depois de solidificado o meio, as placas devem ser invertidas e incubadas a 25 ± 2 °C por uma noite para secar e para avaliar a condição de esterilidade do meio. As placas preparadas com BDA+T podem ser estocadas em local escuro e sob refrigeração (2-8 °C) por sete dias. Observação: todas as vidrarias e soluções devem ser esterilizadas em autoclave antes de serem utilizadas.

Procedimento

Teste de microgotas:

1.1. As amostras a serem testadas devem ser colocadas à temperatura ambiente por 30 a 40 minutos antes do início da análise, principalmente as originárias de formulação com base em óleo emulsionável.

1.2. Pesar 10 g do produto a ser testado em frasco de 250 mL e completar com 90 g da solução salina com Tween 80 (corresponde à diluição 10^{-1}). Devem ser realizadas duas pesagens para cada amostra e duas séries de diluições para cada pesagem. A segunda pesagem deve ser realizada 10 minutos após a colocação de água na primeira amostra para obter o mesmo tempo de hidratação.

1.3. Colocar o frasco com a suspensão em agitador orbital ou mesa agitadora por 60 minutos a, pelo menos, 120 rpm.

1.4. Colocar o frasco com a suspensão em banho de ultrassom por 5 minutos. O nível de água do banho de ultrassom deve ultrapassar o volume da suspensão contida no frasco para garantir o efeito vibracional em todas as estruturas do fungo.

1.5. Misturar vigorosamente o conteúdo do frasco em agitador tipo vortex, colocando e tirando três vezes do aparelho até ser observado o turbilhonamento total da suspensão, em cada uma das passagens. Ou colocar em agitador magnético por 5 minutos.

1.6. Transferir, imediatamente, 1,0 mL da suspensão contida no frasco (10^{-1}), com auxílio de micropipeta com ponteira esterilizada para o tubo de ensaio seguinte contendo 9,0 mL da solução salina (corresponde à diluição 10^{-2}). Descartar a ponteira em seguida.

1.7. Homogeneizar o conteúdo da diluição 10^{-2} em agitador tipo vortex, colocando e tirando três vezes do aparelho até ser observado o turbilhonamento total da suspensão, em cada uma das passagens.

1.8. Para obter a diluição 10^{-3} repetir os itens 1.6 e 1.7 (diluição seriada), utilizando o tubo da diluição anterior (10^{-2}). Considerando as informações sobre a concentração contida no rótulo do produto, se necessário dar continuidade à diluição seriada até a diluição apro-

priada. Proceder assim repetidamente até alcançar a diluição apropriada (uma diluição acima da concentração mencionado pelo fabricante) (Tabela 1). Para cada diluição deve-se trocar a ponteira da micropipeta.

Tabela 1. Máximo de diluição seriada da amostra que deve ser realizado para obtenção da diluição apropriada.

Concentração informada pelo fabricante	Diluir até
10^5	10^6
10^6	10^7
10^7	10^8
10^8	10^9
10^9	10^{10}
10^{10}	10^{11}
10^{11}	10^{12}

1.9. Delimitar com caneta de retroprojeter na parte externa da base das placas contendo meio BDA, dividindo-as em quatro quadrantes, conforme Figura 7.

1.10. Misturar o conteúdo do tubo de ensaio com a suspensão apropriada em agitador tipo vortex colocando e tirando três vezes. O tubo deve ser retirado quando ocorrer o turbilhonamento total.

1.11. Pipetar imediatamente três alíquotas de 20 μ L de cada diluição preparada, logo em seguida da agitação vigorosa em aparelho tipo vortex por três vezes, para a superfície do meio de BDA de cada um dos quadrantes (Figura 7). Em cada placa é possível depositar quatro das diluições da série realizada.

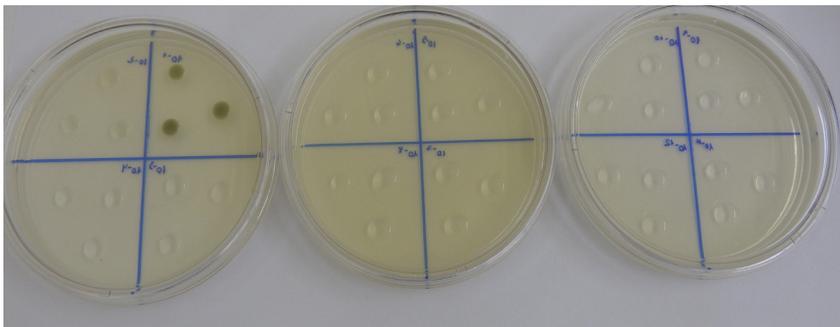


Foto: Zayane Vegete Pinto.

Figura 7. Aspecto das placas de Petri com meio BDA, dividida em quatro quadrantes, com três alíquotas de 20 μ L de doze diluições da amostra do bioproduto.

1.12. Após o plaqueamento das alíquotas, os tubos com as diluições devem ser guardados sobre refrigeração (2 - 8 °C) por, no máximo, 48 horas para serem utilizados na determinação do número de unidades formadoras de colônias.

1.13. Antes de incubar as suspensões, esperar para que os 20 µL de cada diluição sejam absorvidos pelo meio de cultura. Em seguida, transferir as placas para BOD, por 24 a 48 horas, 25 ± 2 °C, no escuro.

1.14. Após dois dias, observar em quais diluições houve o crescimento de colônias do fungo e selecionar as três últimas diluições que apresentaram o crescimento do fungo nas três gotas, das duas pesagens realizadas, para a determinação do número de unidades formadoras de colônias (Figura 8).

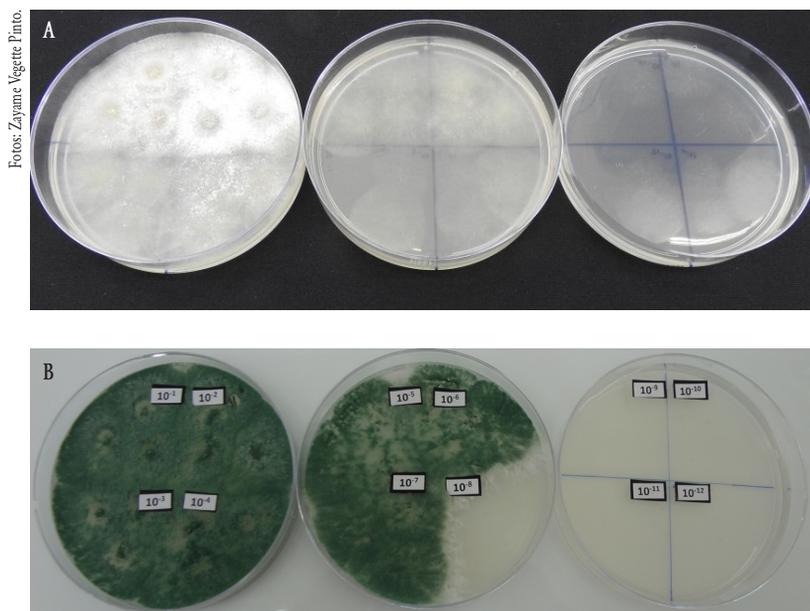


Figura 8. Crescimento de *Trichoderma* em placa com meio BDA no testes de microgotas. A=48 h e B= 96 h de incubação.

Determinação do número de unidades formadoras de colônias (UFC) da amostra

2.1. Retirar os tubos de cultura com as diluições seriadas da refrigeração 30 a 40 minutos antes do início da análise.

2.2. Agitar vigorosamente o conteúdo dos tubos de cultura com as diluições escolhidas em agitador tipo vortex, colocando e tirando três vezes. O tubo deve ser retirado quando ocorrer o turbilhamento.

2.3. Transferir de cada diluição, previamente selecionada, conforme o resultado do teste das microgotas, com micropipeta com ponteira esterilizada, 100 µL para a superfície de cinco placas de Petri, com meio de cultura BDA + Triton X-100. Descartar a ponteira ao final do plaqueamento da diluição.

2.4. Distribuir uniformemente sobre a superfície do meio com uma alça de Drigalski esterilizada, imediatamente após a transferência. Para cada grupo de cinco placas, de cada diluição, utilizar uma alça de Drigalski.

2.5. Fazer uma placa controle antes de iniciar o item 2.3, espalhando 100 µL da solução salina esterilizada com Tween 80 em placa contendo o meio de cultura (BDA + T), com alça de Drigalski esterilizada.

2.6. Incubar as culturas a 25 ± 2 °C, no escuro, por 48 e/ou 72 horas.

2.7. Após a incubação contar o número de colônias crescidas (Figura 9) e verificar, de acordo com as características do fungo, se as colônias formadas são realmente do *Trichoderma* presente no produto biológico, por meio da visualização da colônia na placa e das estruturas do fungo em microscópio óptico.

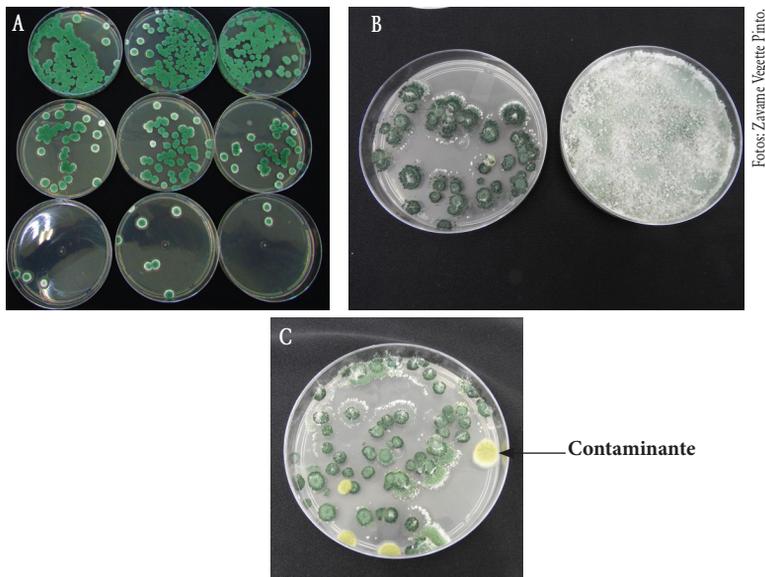


Figura 9. Aspecto macroscópico das colônias de *Trichoderma harzianum* para a realização da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC): (A) crescimento de UFC em três diluições; (B) esquerda: placa com meio de cultura BDA contendo redutor de colônia e direita: placa com meio de cultura BDA sem redutor de colônia; (C) aspecto da colônia de contaminante na placa.

2.8. Para observar ao microscópio óptico as estruturas do fungo, pode ser utilizada a técnica da fita adesiva transparente. Para isso, pressionar com cuidado a parte adesiva sobre a colônia desenvolvida na placa de Petri com meio de cultura, retirar com cuidado e transferir a fita com as estruturas aderidas para uma lâmina de microscopia, com o lado adesivo sobre a lâmina. Observar as estruturas do fungo (geralmente conidióforos e conídios) ao microscópio óptico em aumento entre 200 a 400X (Figura 10). Comparar as estruturas com figuras e descrições de publicações sobre o gênero *Trichoderma*.

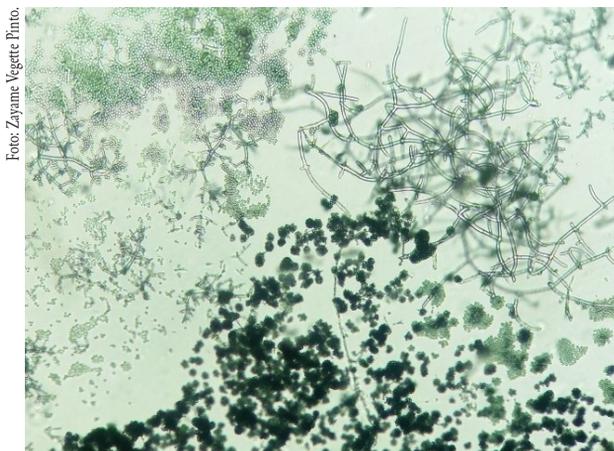


Foto: Zayane Vegette Pinto.

Figura 10. Aspecto microscópico das estruturas de *Trichoderma harzianum*.

Repetição

Devem ser feitas duas pesagens do produto (item 1.2), sendo que de cada pesagem deve ser realizada duas séries de diluição (item 1.6). Das três diluições selecionadas, deve-se plaquear cinco repetições por diluição (item 2.3) (Figura 11).

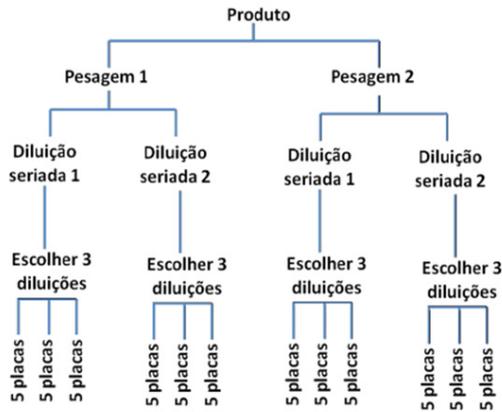


Figura 11. Esquema das repetições utilizadas na metodologia para análise da qualidade - unidades formadoras de colônias.

Determinação do número de unidades formadoras de colônias

Fazer a contagem do número de colônias, por placa, no tempo de 72 e/ou 96 horas, e determinar o número segundo a fórmula:

Número de unidades formadoras de colônias/mL ou grama=UFC/mL ou grama= (número médio de colônias nas placas X diluição escolhida da amostra X 10).

Deve ser realizado o cálculo para cada placa das duas pesagens, separadamente. Posteriormente, obter a média aritmética para cada pesagem.

Etapas comuns às metodologias: armazenamento das amostras e limpeza

Logo após as análises, as amostras deverão ser lacradas e armazenadas conforme recomendação do fabricante até a data de validade. O armazenamento, em condições adequadas, é importante para caso haja necessidade de repetição dos procedimentos. Após este período ou, se não houver mais interesse nas amostras, as mesmas deverão ser autoclavadas a 120 °C por 20 minutos, e em seguida descartadas. Em caso de produto comercial, há a necessidade de atender as normas de descarte de embalagens.

Antes e após a realização das análises é fundamental a limpeza das instalações. Neste caso, sugere-se os procedimentos padrões de cada instituição, sempre atendendo as boas práticas laboratoriais.

Uso da metodologia no processo produtivo

Após a obtenção da cepa que será registrada e comercializada, o processo produtivo possui algumas etapas básicas que podem ser divididas em: 1ª - manutenção/preservação da matriz (ingrediente ativo da formulação); 2ª - produção de inóculo visando a produção em larga escala; 3ª - produção massal por meio da fermentação líquida, sólida e/ou bifásica; 4ª - beneficiamento/formulação; 5ª - preparação do lote e empacotamento (embalagem); 6ª - transporte/comercialização; 7ª - controle de qualidade (que permeia praticamente todas as fases); 8ª - assuntos regulatórios; e 9ª - pesquisa e desenvolvimento (Tabela 2).

As metodologias desenvolvidas no Projeto Qualibio podem ser utilizadas nas diferentes etapas da produção de produtos à base de *Trichoderma*. Na produção do inóculo pode ser utilizada a contagem de conídios visando a calibração da suspensão que será adicionada no substrato para a produção massal. Na produção massal e beneficiamento podem ser utilizadas as metodologias de contagem de conídios, viabilidade e unidades formadoras de colônias, com o objetivo de monitorar o processo, detectando possíveis contaminações e falhas com rapidez para adequar o ingrediente ativo de acordo com o registro. No final do processo produtivo, no controle de qualidade, podem ser utilizadas as metodologias do número de conídios viáveis e unidades formadoras de colônias com o objetivo de monitoramento para garantir a qualidade de cada lote. Não há regulamentação sobre o monitoramento dos lotes dentro do período de validade. Assim, cada empresa estipula a regularidade de suas análises. Os resultados devem ser os mesmos indicados no rótulo e em caso de não conformidade o lote deverá ser recolhido. Todo este controle garantirá a confiança dos consumidores e a segurança junto aos órgãos de fiscalização.

Além do processo produtivo, as metodologias podem ser utilizadas na área regulatória, de fiscalização e de pesquisa e desenvolvimento. Os testes de microgota e de viabilidade de conídios são de grandes utilidades para o desenvolvimento da formulação da cepa. A contagem de unidades formadoras de colônias e contagem de conídios são vitais para os testes de vida de prateleira de novos produtos e para o processo de registro dos produtos nos órgãos competentes, entre outros.

Considerando todos estes aspectos é fundamental que as empresas mantenham em seus quadros pessoas treinadas nas metodologias, bem como instalações adequadas para a realização dos testes de qualidade dos produtos.

Tabela 2. Uso das metodologias de avaliação da qualidade de produtos à base de *Trichoderma* no processo produtivo.

Processo	Metodologia utilizada	Função
Preservação/Manutenção da matriz	-	-
Produção de inóculo	Contagem de conídios	Calibrar inóculo
Produção massal	Viabilidade dos conídios	Monitorar produção
Beneficiamento/Formulação	Contagem de conídios Viabilidade dos conídios Unidades formadoras de colônias	Monitorar produção Avaliar a concentração do produto
Preparação do lote/empacotamento (embalagem)	-	-
Transporte /comercialização	-	-
Controle de qualidade	Unidades formadoras de colônias Contagem de conídios Viabilidade dos conídios	Monitorar a vida de prateleira*
Regulatório	Unidades formadoras de colônias Contagem de conídios Viabilidade dos conídios	Registro do produto
Pesquisa e desenvolvimento	Contagem de conídios Viabilidade dos conídios Unidades formadoras de colônias	Melhorar o processo produtivo Teste de formulação Desenvolvimento de novos produtos Ensaio de eficiência em campo para o controle biológico de doenças e promoção de crescimento de plantas/aumento de produtividade da cultura

*A metodologia utilizada depende do registro.

Considerações finais

A taxa composta anual de crescimento (CAGR) do mercado de biopesticidas, sejam os micro ou macrorganismos, cresce em torno de 17% ao ano no Brasil e no mundo. Esse aumento no consumo dos produtos formulados contendo agentes de biocontrole tem melhorado a qualidade dos produtos biológicos disponíveis, aumentando a oferta de novos produtos no mercado, estabelecido normas de registro adequadas aos produtos contendo os agentes de biocontrole, estimulado o investimento em pesquisa e desenvolvimento, estimulado a criação de novas empresas no setor e também incrementada a formação de profissionais na área. O crescimento desta cadeia produtiva tem levado os órgãos regulatórios a compreenderem os modos de ação dos agentes de biocontrole e com isso importantes conquistas na área regulatória, como o registro por alvo biológico e dispensa do uso dos símbolos da caveira e das duas tóxicas cruzadas em rótulo, bula e embalagem de produtos Classe Toxicológicas III e IV, vem sendo obtidas. Também as instituições de pesquisa e de fomento à pesquisa estão investindo no desenvolvimento de novas pesquisas com controle biológico. Esse maior investimento tem levado à criação de novos grupos de pesquisas na área no Brasil.

O crescimento do setor, conseqüentemente, tem colaborado para estimular a integração do controle biológico nos sistemas de manejo de pragas e doenças de plantas, com importantes ganhos para a sociedade, pois está conduzindo a uma redução do uso de pesticidas químicos na agricultura.

O crescimento do mercado mundial para biopesticidas, sem dúvida, está relacionado ao controle de qualidade dos produtos biológicos, pois aumenta a confiança dos agricultores em adquirir os produtos. Também tem reduzido a oferta de produtos sem as garantias exigidas pelos órgãos registrantes, pois sem um controle eficiente dos produtos registrados se torna difícil a comercialização de produtos de baixa qualidade.

A padronização de metodologias de análise de conformidade e controle de qualidade de produtos biológicos pelos órgãos competentes facilitará a fiscalização, o registro de produtos biológicos, a análise da concentração pelos laboratórios e a comparação dos resultados de pesquisa na área, bem como maior entendimento dos usuários.

Além dos testes de concentração do ingrediente ativo dos produtos à base de agentes de controle biológico, outros testes deverão ser incluídos no controle de qualidade, como a eficiência/estabilidade da cepa; presença de contaminantes; e estabilidade da formulação, entre outros. Essas etapas serão rapidamente exigidas pelo mercado consumidor. Com o avanço na pesquisa de fermentação líquida e dos metabólitos produzidos por *Trichoderma*, novas metodologias de controle de qualidade deverão ser desenvolvidas, visando além da concentração do fungo, estabelecer a concentração de determinadas substâncias presentes na formulação com ação antagonista aos fitopatógenos produzidas por *Trichoderma*.

Glossário

Conídio: estrutura não sexual de reprodução de fungos.

Conídio ativo ou em processo de germinação: o conídio que aumentou de tamanho em relação ao não germinado, mas que ainda não emitiu tubo germinativo.

Conídio germinado: o conídio apresenta tubo germinativo com pelo menos o mesmo comprimento que o tamanho do conídio.

Conídios inativos: conídios não viáveis.

Conídios não germinados: conídios que podem ou não estar viáveis, porém não formou tubo germinativo com pelo menos o mesmo comprimento que o tamanho do conídio.

Conídios viáveis: são os conídios ativos e os germinados.

Conidióforo: estrutura do fungo produtora de conídios.

Grânulos: tipo de formulação de produto biológico em forma de grânulos que se desfazem na presença de água.

Pó-molhável: tipo de formulação de produto biológico composta pelo ingrediente ativo e inerte que permita a mistura com água, formando suspensões dotadas de grande estabilidade.

Referências

- BETTIOL, W. Biopesticides use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v.22: p.280-283, 2011.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Avaliação da qualidade de produtos à base de *Trichoderma***. Apostila. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/down_site/forum/2012/trichoderma/Apostila_Trichoderma_2012.pdf>. Acesso em: jul. 2016.
- CARRERAS-VILLASEÑOR, N.; SÁNCHEZ-ARREGUÍN, J. A.; HERRERA-ESTRELLA, A. H. *Trichoderma*: sensing the environment for survival and dispersal. **Microbiology**, v. 158, p. 3-16, 2012.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 149, p. 1579-1592, 2009.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B.A.; KERNERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v.16, p. 749-59. 2011.
- HARMAN, G. E.; JIN, X.; STASZ, T. E.; PERUZZOTTI, G.; LEOPOLD, A. C.; TAYLOR, A. G. Production of conidial biomass of *Trichoderma harzianum* for biological control. **Biological Control**, v. 1, p. 23-28, 1991.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17-25, 2012.
- KOBORI, N. N.; MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; SCHISLER, D. A. Liquid culture production of microsclerotia and submerged conidia by *Trichoderma harzianum* active against damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, v. 119, p. 179-190, 2015.
- LOCATELLI, G. O.; FINKLER, C. L. L.; MASCARIN, G. M.; LOBO JUNIOR, M.; BUENO, L. A. Optimization of microsclerotia production by *Trichoderma asperellum*. In: SIMPOSIO NACIONAL DE BIOPROCESSO, 21.; SIMPOSIO DE HIDROLISE E ENZIMÁTICA DE BIOMASSA, 12., 2017, Aracajú, SE. [Anais...]. São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Química, 2017. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164065/1/CNPAF-2017-snb.pdf>>. Acesso em: fev. 2019.
- PAPAVIZAS, G. C.; DUNN, M. T.; LEWIS, J. A.; BEAGLE-RISTAINO, J. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. **Phytopathology**, v. 74, p. 1171-1175, 1984.
- SAMOLSKI, I.; RINCÓN, A. M.; PINZÓN, L. M.; VITERBO, A.; MONTE, E. The qjd74 gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, p. 129-38, 2012.
- TEIXEIRA, H.; BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PINTO, Z. V.; LEHNER, M. S.; FREITAS, M. M. Q.; REZENDE, L.C. Conformidade e qualidade de produtos biológicos para o controle de doenças de plantas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Viçosa: U.R. Epamig ZM, 2010. p. 101-112.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.

Uso de micro e nanotecnologia com *Trichoderma*

Leonardo Fernandes Fraceto

Cintia Rodrigues Maruyama

Mariana Guilger-Casagrande

Natalia Bilesky-José

Renata de Lima

Introdução

Como alternativa aos efeitos deletérios do uso incorreto de agrotóxicos no controle de doenças e pragas das plantas surgiram atividades utilizando o controle biológico, o qual se destaca pela eficiência e reduzido impacto ambiental (Lima; Gravina, 2009; Moura et al., 2009; Pazini; Galli, 2011; Parra, 2014).

Entre os diferentes organismos utilizados no controle biológico, os fungos *Trichoderma* spp. são encontrados em diversos tipos de solo, mas principalmente naqueles com alto teor de matéria orgânica (Schuster; Schmoll, 2010). *Trichoderma* spp. apresentam mecanismos de ação baseados na produção de metabólitos antifúngicos, micoparasitismo e competição por espaço e nutrientes (Shoresh et al., 2005; Fabry et al., 2006; Lucon et al., 2008; Vinale et al., 2008; Wijesinghe et al., 2011). Logo, sua utilização como agente de controle biológico mostra eficiência contra patógenos radiculares, como o *Meloidogine javanica*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora* spp., (Naseby et al., 2000; Thrane et al., 2000; Sharon et al., 2001; Cúndom et al., 2003; Ezziyyani et al., 2007), assim como contra patógenos que atingem a parte aérea das plantas, como a *Venturia* spp., *Botrytis* spp., *Crinipellis pernicioso* (Hjeljord et al., 2001; Sonogo et al., 2002; Lisboa et al., 2007).

Além de ações que envolvem o contato direto entre antagonista e fitopatógeno, o *Trichoderma* spp. (*Hypocreales: Hypocreaceae*) também induz a ativação dos mecanismos de defesa das plantas pela liberação de peptídeos, proteínas e compostos de baixo peso molecular, promovendo o crescimento das raízes e a saúde da planta (Reino et al., 2008; Mastouri et al., 2012; Sharma et al., 2012). Devido a estes efeitos, *Trichoderma* spp. é utilizado para o controle

de fitopatógenos como *Sclerotinia sclerotiorum* (Zancan et al., 2012), *Alternaria alternata* (Gveroska, Ziberoski, 2012), *Rhizopus stolonifer* (Bomfim et al., 2010), *Bipolaris* spp., *Cladosporium* spp. (Machado; Silva, 2013), sendo sua eficácia comprovada cientificamente. Entretanto, são necessários novos estudos pois, assim como os demais agentes de controle biológico, a efetividade deste fungo pode ser influenciada por variações ambientais e do ecossistema (Benítez et al., 2004).

Desta maneira, o controle biológico apresenta inúmeras vantagens, porém alguns problemas têm limitado o seu uso, entre eles a sensibilidade do organismo à radiação, umidade inadequada e baixa estabilidade térmica, fatores esses que causam baixa biopersistência dos organismos no ambiente (Paula et al., 2011; Sri.S et al., 2012; Vemmer; Patel, 2013). Assim, especialmente em relação as condições climáticas do Brasil, a persistência desses organismos é de apenas três dias e este fator acaba por reduzir a eficiência no campo, fazendo-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que possam aumentar a persistência. Outros problemas enfrentados são alguns resultados insatisfatórios que estes apresentam, existindo muitas vezes a necessidade de se realizar diversas aplicações, ou até mesmo a complementação com pesticida não biológico, sendo que na maioria das vezes esta necessidade se faz devido a problemas na tecnologia de aplicação empregada, e não devido a ineficiência do produto. Assim, além da busca por novos produtos e novas formas de combate a pragas agrícolas, a adequação da tecnologia de aplicação é uma etapa crucial no manejo de pragas de difícil controle (Costa et al., 2014; Costa et al., 2015), o qual deve ser mais estudado quando se trata da utilização de microrganismos.

Portanto, diferentes caminhos devem ser considerados em relação ao desenvolvimento de tecnologias que permitam o aumento da proteção, viabilidade e eficácia dos microrganismos. Em relação à utilização de *Trichoderma* spp., existe a necessidade de protegê-lo das adversidades ambientais, garantir o manuseio e a permanência em campo, assim como, utilizar tecnologias que permitam o aumento da eficiência, tempo de prateleira e garantia de aplicabilidade. A proposta deste capítulo é a utilização da micro e nanotecnologia no auxílio da aplicação de *Trichoderma* spp. na agricultura, sendo propostos processos de microencapsulação (Vemmer; Patel, 2013; Rathore et al., 2013; Ma et al., 2015) e a síntese de nanopartículas metálicas a partir desses microrganismos, ou seja, por via biogênica (Ahluwalia et al., 2014; Guilger et al., 2017).

Uso de tecnologia de microencapsulação para aumento da persistência de microrganismos

A microencapsulação consiste na criação de uma barreira física que protege os ingredientes ativos dos fatores externos (Paulo; Santos, 2017), como a proteção contra a radiação ultravioleta, oxidação e altas temperaturas (Sri.S et al., 2012). As técnicas de microencapsulação podem

ser utilizadas em diversas áreas, como a farmacêutica (Agnihotri et al., 2012), a alimentícia (Chávarri et al., 2010) e a agrícola (Jin; Custis, 2011a). No caso da agricultura há relatos de microencapsulação de agentes de controle biológico como *Beauveria brongniartii* (Horaczek; Viernstein, 2004a), *B. bassiana* (Liu; Liu, 2009b), *Metarhizium anisopliae* (Horaczek; Viernstein, 2004b, Liu; Liu, 2009a), *T. harzianum* (Muñoz-Celaya et al., 2012, Jin; Custis, 2011a, Adzmi et al., 2012, Locatelli et al., 2018)

Em relação ao seu funcionamento, a matriz das micropartículas é capaz de conferir proteção ao ingrediente ativo de condições adversas do ambiente exterior e do estresse mecânico, podendo proporcionar um microambiente seguro e definido (McCloughlin, 1994). Com isso, o microrganismo é capaz de sobreviver por longos períodos e sua atividade metabólica é mantida (Cassidy et al., 1996; Rathore et al., 2013; Oancea et al., 2016). Os métodos de microencapsulação são classificados em três grupos (Tyagi et al., 2011): físicos (spray-drying), químicos (polimerização) e físico-químicos (coacervação e gelificação iônica).

Tabela 1. Principais métodos de encapsulação de micropartículas.

Métodos de Encapsulação	Descrição	Vantagens	Desvantagens
Spray-drying	Processo de conversão de uma solução em pó seco em um único passo, passando por um spray atomizado através de meio gasoso em alta temperatura	Formação de partículas e secagem no mesmo passo	Variação na distribuição de tamanho; altas temperaturas normalmente não permitem o encapsulamento de organismos sensíveis
Polimerização	Processo onde a emulsão de organismos em um monômero hidrofílico em uma fase orgânica é adicionada a um monômero hidrofóbico	Possibilita a encapsulação de partículas inorgânicas diretamente nas gotas do monômero	Toxicidade dos monômeros
Coacervação	Separação de fases de polímeros incompatíveis com a solução de acordo com valor de pH, temperatura; o polímero incompatível sofre deposição, formando as microsferas	Baixo custo	Ocorre apenas dentro dos limites de valores de pH
Gelificação iônica	Uma solução polimérica é gotejada em uma solução iônica	Protege o ativo da degradação, aumenta estabilidade	A capacidade de produção é limitada pela velocidade de formação de gotículas

O método de microencapsulação através do spray-drying é uma técnica relacionada com a atomização de um líquido em um pó por meio de um injetor em conjunto com uma corrente de gás quente (Rattes; Oliveira, 2007). Este método compreende três estágios: (i) homogeneização do líquido por um atomizador, (ii) secagem da solução através do gás quente para evaporação de solvente e (iii) coleta das micropartículas secas (Schafroth et al., 2012). Diferentes condições no método de spray-drying podem influenciar na formação das micropartículas, como por exemplo, fluxo de alimentação do ativo, fluxo de ar, temperatura de entrada e saída (O'riordan et al., 2001; Vega; Roos, 2006).

A coacervação é uma técnica que pode ser definida como um fenômeno coloidal que envolve a separação de fases de uma mistura de dois polímeros com cargas opostas em solução aquosa desencadeada por diversas interações (Xiao et al., 2014). A interação entre os polímeros pode depender de vários fatores, como por exemplo, o tipo de polímero, pH, força iônica e concentração (Turgeon et al., 2007).

A gelificação iônica pode ser realizada através de processos de extrusão, deposição eletrostática e atomização (Maestrelli et al., 2008). O método de extrusão acaba sendo o mais comum, no qual uma solução polimérica é gotejada em uma solução iônica em constante agitação e o material ativo a ser encapsulado é acrescentado na solução polimérica (Paques et al., 2014). Quando as gotas atingem a solução iônica, a formação das micropartículas esféricas é instantânea (Patil et al., 2010; Souza et al., 2012; Leong et al., 2016). Consiste em um procedimento simples, fácil e que não requer equipamentos especializados, além disso, não tem necessidade do uso de solventes orgânicos e nem de altas temperaturas (Patil et al., 2010; Comunian; Favaro-Trindade, 2016).

A formação das micropartículas através da polimerização se caracteriza pela interação entre monômeros hidrofílicos e lipofílicos em uma emulsão óleo-água os quais reagem para a formação de uma membrana polimérica (Yeo et al., 2001).

Existem diversos trabalhos na literatura relacionados com a síntese de micropartículas, principalmente através dos métodos citados anteriormente, os quais são mostrados na Tabela 2.

Como exemplo, Muñoz-Celaya et al. (2012) encapsularam conídios do fungo *T. harzianum* em matrizes poliméricas de carboidratos. Esta estratégia foi uma alternativa válida para aumentar o tempo de prateleira das formulações produzidas. Neste estudo, foram utilizadas maltodextrina e goma arábica para a síntese das micropartículas, pelo método de spray-drying, que proporcionou uma estabilidade de até oito semanas para o microrganismo.

Em outro estudo, Jin; Custis (2011a) utilizaram o método de spray-drying para o encapsulamento de *T. harzianum*, que evitou a contaminação microbiana, induziu dormência e possibilitou uma maior estabilidade de prateleira. Também, Locatelli et al. (2018) desenvolveram micropartículas de alginato contendo *Trichoderma* spp através do método de gelificação iônica. O encapsulamento promoveu a viabilidade dos conídios durante 14 meses armazenados à 28 °C.

Vincenkovic et al. (2016) encapsularam *T. viride* em micropartículas de alginato/quitosana em conjunto com ativos químicos (cobre). Este estudo mostrou que a encapsulação de ativos químicos e biológicos foi possível, sem que o ativo químico inviabilizasse o ativo biológico.

Recentemente, Mancera-López et al. (2018) desenvolveram um método para a preservação dos conídios de *T. harzianum* em cápsulas de alginato, com três tamanhos diferentes (micro,

Tabela 2. Principais sistemas de microencapsulação de *Trichoderma spp.*

Polímero	Organismo	Método de Preparo	Principais Características	Referência
Alginato	<i>Trichoderma inhamatum</i>	Gelificação iônica	Tamanho: não informado Atividade: adição de fonte alimentar proporcionou maior inibição do patógeno	Mafia et al., 2003
Alginato/Quitosana com cobre	<i>Trichoderma viride</i>	Gelificação iônica	Tamanho: 0,45 mm e 2 mm Viabilidade: encapsulação de ativos químicos (cobre) e biológicos em conjunto; adição de cobre não inibiu a viabilidade de <i>T. viride</i>	Vincenkovic et al., 2016
Alginato	<i>Trichoderma harzianum</i>	Gelificação iônica	Tamanho: 10 µm Viabilidade: o armazenamento à 5 °C demonstrou uma melhora significativa na viabilidade comparado com armazenamento à 30 °C	Adzmi et al., 2012
Alginato	<i>Trichoderma sp.</i>	Gelificação iônica	Tamanho: não informado Viabilidade: o encapsulamento promoveu a manutenção dos conídios por 14 meses à 28 °C	Locatelli et al., 2018
Alginato	<i>Trichoderma harzianum</i>	Gelificação iônica	Tamanho: 1,5 ± 0,3 mm Viabilidade: o encapsulamento promoveu viabilidade de 2 anos, resistência à irradiação ultravioleta e efeito antagonico contra fungos fitopatogênicos.	Mancera-López et al., 2018
Maltodextrina DE10 e DE20, goma arábica (GA)	<i>Trichoderma harzianum</i>	Spray drying	Tamanho: não informado Viabilidade: taxa de sobrevivência de 86 % e, após 8 semanas de armazenamento à 4 °C de 40 % obtida com polímero MD10-GA.	Muñoz-Celaya et al., 2012
Sucrose, glicerol e melão	<i>Trichoderma harzianum</i>	Spray drying	Tamanho: 10 a 25 µm Viabilidade: o uso de açúcar aumentou a porcentagem de sobrevivência após a secagem	Jin; Custis, 2011a
Maltodextrina DE20	<i>Trichoderma asperellum</i>	Spray drying	Tamanho: não informado Viabilidade: conídios encapsulados apresentaram viabilidade de 70 % no sistema avaliado	Braga et al., 2017
Açúcares	<i>Trichoderma sp.</i>	Spray drying	Tamanho: 8 a 30 µm Viabilidade: menor concentração de sucrose garantiu maior viabilidade dos conídios	Jin; Custis, 2011b

médio e grande). O *T. harzianum* encapsulado foi testado para resistência à radiação ultravioleta e para efeito antagonico contra quatro fungos fitopatogênicos (*Penicillium citrinum*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger* e *Rhizoctonia solani*). Os resultados apresentaram cápsulas de tamanho médio (1,5 ± 0,3 mm) e grande (2,7 ± 0,3 mm) pelo método de gotejamento e, pelo método de gelificação, cápsulas no tamanho de 8,6 ± 3 µm. As micropartículas de tamanho médio favoreceram uma maior produção de conídios e, quanto maior a densidade dos conídios maior a proteção contra à radiação ultravioleta. Com relação à preservação dos conídios, foi observada uma perda de 30 % após dois anos.

Neste contexto, como exemplo, a figura 1 mostra uma imagem de micropartículas de alginato de cálcio contendo o fungo *Trichoderma harzianum* encapsulado. As micropartículas foram preparadas através do método de gelificação iônica, onde apresentaram tamanho médio de 900 μm e morfologia esférica.

Foto: Leonardo Fernandes Fraceto.

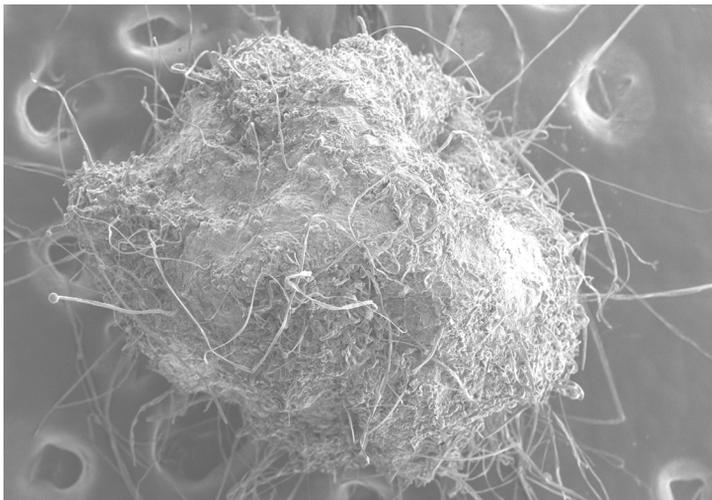


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura de micropartículas de alginato de cálcio contendo o fungo *T. harzianum* encapsulado, na concentração de 3 %. A imagem da micropartícula mostra que o crescimento do fungo não foi afetado pelo processo de microencapsulação, onde há destaque para o crescimento das hifas e conídios. A imagem foi obtida com magnificação de 85x.

Ainda, na literatura são reportadas patentes sobre microencapsulação de fungos. Os autores da patente US 20110306116A1 desenvolveram um método de encapsulação de micropartículas de conídios de *Trichoderma* spp. em matriz de monossacarídeos através de spray-drying. Neste método, foram testados diversos tipos de açúcares, concentrações e temperaturas de entrada e saída do spray drying. Os resultados mostraram que 2 % de sucrose foi a melhor concentração para uma maior taxa de sobrevivência. Além disso, a temperatura ideal de entrada e saída do spray drying é de 60 °C e 30 °C, respectivamente. As micropartículas apresentaram tamanho de 8 a 30 μm (Jin; Custis, 2011b).

Em outra patente, BR 1020120267918A2, os autores trataram do processo de microencapsulação de *T. asperellum* em matriz polimérica (alginato de sódio). A formulação granular final foi aplicada para o biocontrole de doenças de plantas provocadas por fungos patógenos de solo (Castilho, 2014).

Em termos comerciais, já é possível encontrar produtos baseados na encapsulação de fungos. Como exemplo, a empresa Codagu Agritech é responsável pela fabricação do produto

Trichocap, que é uma formulação encapsulada de *T. harzianum* MTCC 5179 (Codagu Agritech, 2017). De acordo com a descrição do produto, esta formulação é capaz de promover o crescimento, desencadear a defesa e ação direta contra o patógeno, auxiliando na melhoria e rendimento das culturas.

Nanopartículas biogênicas sintetizadas a partir de fungos

As nanopartículas metálicas, devido ao seu tamanho reduzido e maior área de superfície, apresentam propriedades químicas, físicas e biológicas diferenciadas de seu material de origem na escala convencional, o que pode conferir a elas potencial para o controle de microrganismos (Mody et al., 2010).

A síntese de nanopartículas metálicas pode ser realizada utilizando diferentes métodos como químico, físico e biogênico. A síntese biogênica destaca-se pela possibilidade de utilização de organismos vivos, de seus metabólitos ou de extratos destes organismos, sendo que estes atuam como agentes redutores e estabilizantes. A síntese biogênica é considerada um método simples, barato e com menor impacto ao ambiente (Mohanpuria et al., 2008).

Na maioria das sínteses biogênicas a redução dos sais precursores é realizada por moléculas orgânicas provenientes do agente redutor, tais como proteínas, aminoácidos, açúcares e enzimas, sendo este um processo que ocorre naturalmente no ambiente, pois os microrganismos ao serem expostos a elementos indesejados, como uma forma de proteção secretam metabólitos e demais compostos que convertem íons metálicos em metal elementar (Lloyd, 2003; Siddiqi; Husen, 2016).

A principal vantagem das nanopartículas biogênicas é que estas apresentam um centro metálico envolto por uma camada denominada de recobrimento, a qual apresenta características do organismo utilizado para a síntese. A presença do recobrimento combinado ao metal utilizado na síntese faz com que ocorra uma sinergia entre eles, o que dá as nanopartículas características únicas e possibilita diferentes combinações, as quais podem ser utilizadas para o direcionamento da atividade desejada. Além disso, o recobrimento formado neste tipo de síntese possibilita o controle de tamanho e forma da nanopartículas, o que pode influenciar na atividade e toxicidade das mesmas.

Diferentes organismos podem ser utilizados para a síntese de nanopartículas metálicas biogênicas, porém os fungos apresentam qualidades importantes para este fim devido ao seu rápido crescimento, fácil manipulação e produção de grande quantidade de enzimas (Dhillon et al., 2012; Alghuthaymi et al., 2015). Desta forma, são encontradas patentes para nanopartículas biogênicas metálicas sintetizadas a partir de fungos, como a patente US 9567610B2, que mostra o desenvolvimento de nanopartículas de ouro a partir de uma cultura de *Botrytis cinerea*, com síntese realizada utilizando os esporos, micélio, escleródios ou moléculas pro-

duzidas pelo fungo (Retamal; Nara, 2017). A patente US 9701552B1 se refere à produção de nanopartículas de prata utilizando o fungo *Alternaria pluriseptat*, para descontaminação de águas (Ortashi et al., 2017). Já a Patente US 20050214916A1 desenvolveu um processo para a síntese biológica de nanopartículas de óxidos utilizando fungos hidrolisantes, sendo os fungos propostos o *Fusarium* sp., *Trichotecium* sp., *Verticillium* sp., *Chloridium* sp., *Aspergillus* sp., *Cephalophora* sp., *Fusarium oxysporum* e *Helicostylum* sp. e os metais titânio, zircônio, silício e zinco (Absar et al., 2005).

Em relação à nanopartículas sintetizadas a partir de *Trichoderma* spp. foram desenvolvidas patentes como a US 2014/0363871A1, que utiliza o *T. koningiopsis* e o *Hypocrea lixii* na produção de nanopartículas de cobre para a biorremediação de águas residuais (Correa et al., 2014), e a US 20100055199A1, que utiliza *T. reesei* na síntese de nanopartículas de prata de diâmetro entre 5 e 50 nm (Mansoori, 2010). Em outra patente, CN 105039419B, foram preparadas nanopartículas de prata a partir do *T. aculeatus* (Zhao; Zhang, 2017). Também na patente CN 104673684 os autores desenvolveram a síntese de nanopartículas de ouro a partir de uma nova cultura de *Trichoderma* sp. obtida através de uma amostra de lodo ativado, sendo que nesse caso foram observadas partículas com diferentes formatos como esfera, polígono, triângulo equilátero e similares (Qu, 2015).

Neste cenário, a utilização de *Trichoderma* spp. para o controle biológico é considerada devido a estes fungos não apresentarem patogenicidade e apresentarem potencial como agentes redutores e estabilizantes na síntese biogênica de nanopartículas. Diante disto, nos últimos anos pesquisas em relação à síntese de nanopartículas utilizando estes microrganismos começaram a ser cogitadas. Dentre as nanopartículas biogênicas sintetizadas a partir de *Trichoderma* spp. estão nanopartículas de prata, titânio, selênio, ouro e cobre (Tabela 3), sendo que as de prata recebem destaque principalmente devido ao potencial bactericida já conhecido.

Tabela 3. Principais nanopartículas biogênicas sintetizadas utilizando o fungo *Trichoderma* spp. nos últimos anos.

Organismo	Metal	Tamanho (nm)	Avaliação da toxicidade	Observações	Referência
<i>T. asperellum</i>	Cobre	10-190	Tóxica para células cancerígena pulmonar a 24,7µg.mL ⁻¹ (A549)	-	Saravanakumar et al., 2019
<i>T. koningii</i>	Ouro	10-14	Tóxica para células LoVo a 33,04 µg.mL ⁻¹ e LoVo/DX a 28,88 µg.mL ⁻¹	-	Maliszewska, 2013
<i>T. viride</i>	Ouro	20-30	-	Atividade contra <i>Pseudomonas syringae</i> , <i>E. coli</i> e <i>Shigella sonnei</i>	Mishra et al., 2014

Continua...

Tabela 3. Continuação

Organismo	Metal	Tamanho (nm)	Avaliação da toxicidade	Observações	Referência
<i>Trichoderma</i> sp.	Ouro	26-34	-	Catalisa degradação de corantes azo	Qu et al., 2017
<i>T. harzianum</i>	Ouro	32-44	-	Usado na detecção de íons de Hg ²⁺	Tripathi et al., 2014
<i>T. harzianum</i>	Prata	21,1	-	Atividade contra <i>S. aureus</i> e <i>K. aeruginosa</i>	Ahluwalia et al., 2014
<i>T. asperellum</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>T. longibrachiatum</i> , <i>T. pseudokoningii</i> <i>T. virens</i>	Prata	8-60	-	A maior produção de NPs foi a partir do <i>T. virens</i>	Devi et al., 2013
<i>T. harzianum</i>	Prata	12,7±0,8	-	Atividade contra <i>A. alternate</i> , <i>Helminthosporium</i> sp, <i>Botrytis</i> sp e <i>P. arenaria</i>	El-Moslamy et al., 2017
<i>T. viride</i>	Prata	5-40	-	Atividade contra <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> , combinado com antibióticos melhorou a sua eficiência contra <i>E. coli</i> , <i>E. aureus</i> , <i>S. typhi</i> e <i>M. luteus</i>	Fayaz et al., 2009, Fayaz et al., 2010
<i>T. harzianum</i>	Prata	20-30	Efeitos citotóxicos e genotóxicos a 0,15 a 3,16x10 ¹² NPs.mL ⁻¹	Média do tamanho por DLS foi de 100,7 nm	Guilger et al., 2017
<i>T. viride</i>	Prata	2-5	-	Inibição de <i>Shigella sonnei</i> , <i>E. coli</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i>	Kumari et al., 2017
<i>Trichoderma</i> sp.	Prata	100	Não apresentou citotoxicidade e genotoxicidade em macrófagos a 0,5 ppm	Potencial para combater infecção micobacteriana	Mohanty et al., 2013
<i>T. asperellum</i>	Prata	13-18	-	-	Mukherjee et al., 2008
<i>T. viride</i>	Prata	4-16	-	Atividade contra <i>Bacillus mycoides</i> , <i>E. coli</i> e <i>C. albicans</i>	Othman et al., 2017
<i>T. atroviride</i>	Prata	15-25	Tóxica para células de câncer de mama a 16,5 µg.mL ⁻¹	Atividade contra <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. aureus</i> ; atividade antioxidante	Saravanakumar; Wang, 2018
<i>T. reesei</i>	Prata	5-50	-	-	Vahabi et al., 2011
<i>T. asperellum</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , <i>T. virens</i> , <i>T. longibrachiatum</i> <i>T. brevicompactum</i>	Selênio	49,5-312,5	Não apresentou efeito tóxico em planta (<i>Pennisetum glaucum</i>) a 100 ppm	Inibiu <i>Sclerotospora graminicola</i>	Nandini et al., 2017

Continua..

Tabela 3. Continuação

Organismo	Metal	Tamanho (nm)	Avaliação da toxicidade	Observações	Referência
<i>T. viride</i>	Titânio	74,4	Não foi tóxica para <i>Eudrilus eugeniae</i> (minhoca) a 100 ppm	Atividade larvívora contra <i>Helicoverpa armigera</i> ; menor toxicidade quando comparada a nanopartícula comercial	Kamaraj et al., 2018

Conforme relatado anteriormente, uma das vantagens da síntese biogênica é que as nanopartículas apresentam um recobrimento estabilizante composto por proteínas e metabólitos, o qual pode contribuir para a atividade biológica potencializando a ação das mesmas. Esse recobrimento garante às nanopartículas uma maior estabilidade e controle de tamanho, prevenindo a aglomeração e agregação (Ballotin et al., 2016; Khan; Ahmad, 2014). Visando esta propriedade os fungos são considerados uma alternativa interessante devido à produção de grande quantidade de biomoléculas.

O gênero *Trichoderma* é bem conhecido pela secreção de enzimas hidrolíticas, tais como quitinases, β -1,3-glucanases e proteases, e metabólitos secundários, que atuam no controle biológico de outras espécies de fungos fitopatogênicos (Geraldine et al., 2013; Qualhato et al., 2013). Tal característica é um fator chave para que estes fungos sejam utilizados na síntese biogênica de nanopartículas metálicas, principalmente visando atividade para aplicação na área agrícola.

Diversos estudos empregaram espécies de *Trichoderma* para a síntese de nanopartículas metálicas e constataram a formação de um recobrimento de compostos do fungo na superfície das mesmas. Ahluwalia et al. (2014) sintetizaram nanopartículas de prata utilizando *T. harzianum* e observaram um fino recobrimento de matéria orgânica envolvendo as nanopartículas e impedindo sua agregação. Também foram observados sinais de espectro indicando a presença de carbono, oxigênio e cloreto, confirmando a adsorção de compostos do fungo na superfície das nanopartículas. Segundo os autores, a ligação das proteínas às nanopartículas se dá por meio de resíduos de cisteína das proteínas ou grupamentos amina livres. Elgorban et al. (2016) também verificaram a formação de um recobrimento ao redor de nanopartículas de prata sintetizadas a partir de *T. viride* e observaram sinais de carbono e oxigênio, atribuídos às proteínas do fungo. Saravanakumar et al. (2019) sintetizaram nanopartículas de óxido de cobre a partir do extrato de *T. asperellum* e observaram a presença de várias moléculas funcionais envolvidas na síntese e grupamentos amida e metabólitos aromáticos secundários responsáveis pela formação do recobrimento.

Devido à presença deste recobrimento de compostos orgânicos, as nanopartículas metálicas biogênicas acabam apresentando maior biocompatibilidade com sistemas biológicos quando comparadas à nanopartículas sintetizadas por métodos químicos e físicos, o que pode

contribuir para a atividade das mesmas. Kumari et al. (2017) compararam a atividade bactericida de nanopartículas prata sintetizadas por via biogênica a partir de *T. viride* e recobertas com os metabólitos secundários deste fungo, e nanopartículas sintetizadas quimicamente e estabilizadas com citrato. Os autores observaram uma maior internalização das nanopartículas recobertas com os metabólitos antimicrobianos de *T. viride* nas células bacterianas, ocasionando maior estresse oxidativo e consequentemente, a morte das bactérias. Maliszewska (2013) sintetizou nanopartículas de ouro a partir de *T. koningii* e constatou a permanência de proteínas do fungo na superfície das mesmas, as quais conferiram alta estabilidade. O potencial citotóxico dessas nanopartículas foi avaliado sobre as linhagens de células de adenocarcinoma de cólon humano LoVo e LoVo/DX, sendo verificada internalização das nanopartículas nas células por endocitose, e alta citotoxicidade, a qual foi atribuída às proteínas do recobrimento.

Apesar da viabilidade de *Trichoderma* spp. para a síntese biogênica de nanopartículas, e do potencial das mesmas para variadas aplicações, é importante considerar a necessidade de marcos regulatórios para o uso desses novos nanomateriais. A nanotecnologia, principalmente quando voltada para a área agrícola, ainda é uma ciência bastante recente, sendo necessários estudos visando conhecer seus possíveis efeitos ao ambiente. As variadas propriedades das nanopartículas como tamanho, carga de superfície, recobrimento e estrutura cristalina, assim como parâmetros do ambiente no qual as mesmas podem ser lançadas, como temperatura, pH, força iônica e quantidade de matéria orgânica, são parâmetros que podem influenciar significativamente em sua toxicidade (Walters et al., 2016).

Devido ao interesse na utilização de nanopartículas e sua crescente inserção no mercado nos últimos anos, se faz necessária a avaliação de mecanismos de toxicidade como estresse oxidativo, citotoxicidade e genotoxicidade. Embora exista um progresso no estudo da nanotecnologia na área médica, o impacto de nanomateriais para utilização agrícola e seus impactos no ambiente e saúde ainda necessitam de maiores estudos, no entanto, o levantamento e monitoramento de impactos ambientais causados por nanomateriais não é uma tarefa de fácil execução, sendo necessário o desenvolvimento de técnicas que permitam que estes sejam realizados com precisão.

Desta maneira, para que se possa explorar o potencial das nanopartículas biogênicas somado ao potencial de *Trichoderma* spp. como agente de controle biológico com maior segurança quanto a possíveis riscos à saúde e ao ambiente, é de grande importância a continuidade nos estudos deste tema direcionando para o futuro e para a definição de uma nova legislação.

Considerações finais

Os benefícios de *Trichoderma* spp. para aplicações agrícolas já são conhecidos e estudados há algum tempo, porém ainda existem algumas questões a serem resolvidas em relação à praticidade de uso, e até mesmo em relação à garantia de sua efetividade. Desta maneira, diferentes espécies são avaliadas e investigadas visando a otimização de sua atividade e garantia de permanência no solo, análises genéticas são realizadas para se obter maiores informações quanto à produção de proteínas de interesse, assim como, são realizados estudos de seus metabólitos secundários para que haja maior entendimento em relação à sua atividade.

Diante deste interesse apresentado em relação à utilização deste microrganismo visando a melhoria da produção agrícola, a nanotecnologia volta seus olhos para contribuir com este tema, tentando trazer soluções para problemas que até o momento não foram superados, assim como propondo uma renovação nos pensamentos em relação aos benefícios do *Trichoderma* spp.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (#2017/21004-5; #2017/13328-5; #2017/20932-6; #2016/13692-6; #2017/20932-6).

Referências

- ABSAR, A.; ASTRY, M.; RAUTARAY, D. **Biological process for synthesis of oxide Nanoparticles**. US Pat. 2005/0214916 A1, September 29, 2005.
- ADZMI, F.; MEON, S.; MUSA, M. H.; YUSUF, N. A. Preparation, characterization and viability of encapsulated *Trichoderma harzianum* UPM40 in alginate-montmorillonite clay. **Journal of Microencapsulation**, v. 29, n. 3, p. 205-210, 2012.
- AGNIHOTRI, N.; MISHRA, R.; GODA, C.; ARORA, M. Microencapsulation-a novel approach in drug delivery: a review. **Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2012.
- AHLUWALIA, V.; KUMAR, J.; SISODIA, R.; SHAKIL, N. A.; WALLIA, S. Green synthesis of silver nanoparticles by *Trichoderma harzianum* and their bio-efficacy evaluation against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumonia*. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 202-206, 2014.
- ALGHUTHAYMI, M. A.; ALMOAMMAR, H.; RAI, M.; SAID-GALIEV, E.; ABD-ELSALAM, A. Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogens management. **Biotechnology, Biotechnological Equipment**, v. 29, n. 2, p. 221-236, 2015.
- BALLOTIN, D.; FULAZ, S.; SOUZA, M. L.; CORIO, P.; RODRIGUES, A. G.; SOUZA, A. O.; GASPARI, P. M.; GOMES, A. F.; GOZZO, F.; TASIC, L. Elucidating Protein Involvement in the Stabilization of the Biogenic Silver Nanoparticles. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 313, p. 1-9, 2016.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, set. 2004.
- BOMFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B. S.; DIAS, N. O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.

- BRAGA, A. B. A. C.; COSTA, C. J. M.; MELO, M. R.; ZOTARELLO, M. F.; SANTOS, L. D.; IBEIRO, E. J. Spray drying microencapsulation of *Trichoderma asperellum*. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 21, 2017, Aracaju. **Anais eletrônicos...** São Paulo: ABEQ, [2017]. Disponível em: <<https://proceedings.science/sinaferm/sinaferm-2017/papers/spray-drying-microencapsulation-of-trichoderma-asperellum?lang=pt-br>>. Acesso em: jul. 2019.
- CASSIDY, M. B.; LEE, H.; TREVORS, J. T. J. Environmental applications of immobilized microbial cells: A review. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 79-101, 1996.
- CASTILHO, K. S. C. Processo de microencapsulação de *Trichoderma asperellum* em matriz polimérica. BR Pat. 10 2012 0267918 A2, 26 junho, 2014.
- CHÁVARRI, M.; MARAÑÓN, I.; ARES, R.; IBÁÑEZ, F. C.; MARZO, F.; VILARÁN, M. C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, n. 1-2, p. 185-189, 2010.
- CODAGU AGRITECH. **Trichocap**: encapsulated formulation of *Trichoderma harzianum* MTCC 5179, 2017. Disponível em: <<http://codaguagritech.com/trichocap-2/>>. Acesso em: jan. 2019.
- COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 442-457, 2016.
- CORREA, B.; NASCIMENTO, C. A. O.; SALVADORI, M. R. Process for obtaining copper nanoparticles from a fungus selected between *Hypocrea lixii* and *Trichoderma koningiopsis* and use of fungi selected between *Hypocrea lixii* and *Trichoderma koningiopsis* in bioremediation of wastewater and production of copper nanoparticles. US Pat. 2014/0363871 A1, December 11, 2014.
- COSTA, J. T.; FORM, M. R.; COSTA, E. V.; SOUZA, J. R.; MONDEGO, J. M.; BOIÃO-JUNIOR, A. L. Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Bohemian, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. **Journal of Stored Products Research**, v. 56, p. 49-53, 2014.
- COSTA, L. L.; FERREIRA, M. C.; CAMPOS, H. B. N.; CARVALHO, G. F. G.; BARBOSA, J. C. The mixture volume sprayed by hydraulic and centrifugal energy nozzles for the control of Asian soybean rust. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 37, n. 4, p. 425-433, 2015.
- CÚNDOM, M. A.; MAZZA, S. M. GUTIÉRREZ, S. A. Short communication. Selection of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 1, n. 4, p. 79-52, 2003.
- DEVI, T. P.; KULANTHAIVAL, S.; KAMIL, D.; BORAH, J. L.; PRABHAKARAN, N.; SRINIVASA, N. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Trichoderma* species. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 51, p. 543-547, 2013.
- DHILLON, G. S.; BRAR, S. K.; KAUR, S.; VERMA, M. Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. **Critical Reviews Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 49-73, 2012.
- ELGORBAN, A. M.; AL-RAHMAH, A. N.; SAYED, S. R. Antimicrobial activity and green synthesis of silver nanoparticles using *Trichoderma viride*. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 30, n. 2, p. 299-304, 2016.
- EL-MOSLAMY, S. H.; ELKADY, M. F.; REZK, A. H.; ABDEL-FATTAH, Y. R. Applying Taguchi design and large-scale strategy for mycosynthesis of nano-silver from endophytic trichoderma harzianum SYA.F4 and its application against phytopathogens. **Scientific Reports**, v. 7, n. 45297, 2017.
- EZZIYANI, M.; REQUENA, M. E.; EGEEA-GILBERT, C.; CANDELA, M. E. Biological Control of Phytophthora Root Rot of Pepper Using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in Combination. **Journal of Phytopathology**, v. 155, n. 6, p. 342-349, 2007.
- FABRY, C. F. S.; LUSTOSA, D. C.; OLIVEIRA, J. C. **Trichoderma**: alternativa para o controle biológico de doenças de plantas. Boreiras - BA: Gráfica Imãos Ribeiro, 2006. Cartilha Técnica. Disponível em: <<http://www.jcofertilizantes.com.br/folders/0009.pdf>>. Acesso em: jan. 2019.
- FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; GIRILAL, M.; KALAICHELVAN, P. T.; VENKATESAN, R. Mycobased synthesis of silver nanoparticles and their incorporation into sodium alginate films for vegetable and fruit preservation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6246-6252, 2009.
- FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; GIRILAL, M.; YADAV, R.; KALAICHELVAN, P. T.; VENKATESAN, R. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. **Nanomedicine**, v. 6, p. 103-109, 2010.
- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; ULHOA, C. J.;

- LOBO JUNIOR, M. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, v. 67, n. 3, p. 308-316, 2013.
- GUILGER, M.; PASQUOTO-STIGLIANI, T.; BILESJKY-JOSÉ, N.; GRILLO, R.; ABHILASH, P. C.; FRACETO, L. F.; LIMA, R. Biogenic silver nanoparticles based on *Trichoderma harzianum*: synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity. **Scientific Reports**, v. 7, n. 44421, 2017.
- GVEROSKA, B.; ZIBEROSKI, J. *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco. **Applied Technologies Innovations**, v. 7, n. 2, p. 67-76, 2012.
- HJELJORD, L. G.; STENSVAND, A.; TRONSMO, A. Antagonism of nutrient-activated conidia of *Trichoderma harzianum* (atroviride) P1 against *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, v. 91, n. 12, p. 1172-1180, 2001.
- HORACZEK, A.; VIERNSTEIN, H. *Beauveria brongniartii* subjected to spray-drying in a composite carrier matrix system. **Journal of Microencapsulation**, v. 21, n. 3, p. 317-330, 2004a.
- HORACZEK, A.; VIERNSTEIN, H. Comparison of three commonly used drying technologies with respect to activity and longevity of aerial conidia of *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. **Biological Control**, v. 31, n. 1, p. 65-71, 2004b.
- JIN, X.; CUSTIS, D. Microencapsulating aerial conidia of *Trichoderma harzianum* through spray drying at elevated temperatures. **Biological Control**, v. 56, n. 2, p. 202-208, 2011a.
- JIN, X.; CUSTIS, D. **Method for encapsulation of microparticles**. US Pat. 2011/0306116, December 15, 2011b.
- KAMARAJ, C.; BALASUBRAMANI, G.; DEEPAK, P.; AISWARYA, D.; ARUL, D.; AMUTHA, V.; KARTHI, S.; PERUMAL, P. Bio-pesticidal effects of *Trichoderma viride* formulated titanium dioxide nanoparticle and their physiological and biochemical changes on *Helicoverpa armigera* (Hub.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 149, p. 26-36, 2018.
- KHAN, S. A.; AHMAD, A. Enzyme mediated synthesis of water-dispersible nanoparticles, naturally protein capped, monodispersed gold nanoparticles: their characterization and mechanistic aspect. **RSC Advances**, v. 4, n. 15, p. 7729-7734, 2014.
- KUMARI, M.; SHUKLA, S.; PANDEY, S.; GIRI, V. P.; BHATIA, A.; TRPATHI, T.; KAKKAR, P.; NAUTIYAL, C. S.; MISHRA, A. Enhanced cellular internalization: a bactericidal mechanism more relative to biogenic nanoparticles than chemical counterparts. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 9, n. 5, p. 4519-4533, 2017.
- LEONG, J. Y.; LAM, W. H.; HO, K. W.; VOO, W. P.; LEE, M. F. X.; LIM, H. P.; LIM, S. L.; TEY, B. T.; PONCELET, D.; CHAN, E. S. Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. **Particulate Science and Technology**, v. 24, p. 44-60, 2016.
- LIMA, J. O. G.; GRAVINA, G. A. Failure of imidacloprid and thiacloprid to control the guava-psyllid, *Triozoida limbata* (Enderlein) (Hemiptera: Psyllidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1888-1891, 2009. Edição especial.
- LISBOA, B. B.; BOCHESI, C. C.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, J. R. P.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A. M. R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viridena* redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.
- LIU, C. P.; LIU, S. D. Formulation and characterization of the microencapsulated entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* MA126. **Journal of Microencapsulation**, v. 26, n. 5, p. 377-384, 2009a.
- LIU, C. P.; LIU, S. D. Low-temperature spray drying for the microencapsulation of the fungus *Beauveria bassiana*. **Drying Technology**, v. 27, n. 6, p. 747-753, 2009b.
- LLOYD, J. R. Microbial reduction of metals and radionuclides. **Federation of European Microbiological Societies Microbial Reviews**, v. 27, n. 2-3, p. 411-425, 2003.
- LOCATELLI, G. O.; SANTOS, G. F.; BOTELHO, P. S.; FINKLER, C. L. L.; BUENO, L. A. Development of *Trichoderma* sp. formulations in encapsulated granules (CG) and evaluation of conidia shelf life. **Biological Control**, v. 117, p. 21-29, 2018.
- LUCON, C. M. M.; AKAMATSU, M. A.; HARAKAWA, R. Promoção de crescimento e controle de tombamento de plântulas de pepino por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 6, p. 691-697, 2008.

- MA, X.; WANG, X.; CHENG, J.; NIE, X.; YU, X.; ZHAO, Y.; WANG, W. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* B99-2 and its biocontrol efficiency against *Rhizoctonia solani* in tomato. **Biological Control**, v. 90, p. 3441, 2015.
- MACHADO, D. F. M.; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* no controle in vitro de fungos presentes em diásporos de *Gochnatia polymorpha*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 182-191, 2013.
- MAESTRELLI, F.; ZERROUK, N.; CIRRI, M.; MENNINI, N.; MURA, P. Microspheres for colonic delivery of ketoprofen-hydroxypropyl-cyclodextrin complex. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 34, n. 1, p. 1-11, 2008.
- MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; VENTURA, G. M.; SANFUENTES, E. A. Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoctonia solani* na propagação clonal de Eucalyptus. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 101-105, 2003.
- MALISZEWSKA, I. Microbial mediated synthesis of gold nanoparticles: preparation, characterization and cytotoxicity studies. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 8, n. 3, p. 1123-1131, 2013.
- MANCERA-LÓPEZ, M. E.; IZQUIERDO-ESTÉVEZ, W. F.; ESCALANTE-SANCHÉZ, A.; IBARRA, J. E.; BARRERA-COTÉS, J. Encapsulation of *Trichoderma harzianum* conidia as a method of conidia preservation at room temperature and propagation in submerged culture. **Biocontrol Science and Technology**, v. 29, n. 2, p. 107-130, 2018.
- MANSOORI, G. A. **Synthesis of nanoparticles by fungi**. US Pat. 2010/0055199 A1, March 4, 2010.
- MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances Antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.
- MCLOUGHLIN, A. J. Controlled release of immobilized cells as a strategy to regulate ecological competence of inocula. **Biotechnics/Wastewater**, v. 51, p. 1-45, 1994.
- MISHRA, A.; KUMAR, M.; PANDEY, S.; CHAUDHRY, V.; GUPTA, K. C.; NAUTIYAL, C. S. Biocatalytic and antimicrobial activities of gold nanoparticles synthesized by *Trichoderma* sp. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 235-242, 2014.
- MODY, V. V.; SIWALE, R.; SINGH, A.; MODY, H. R. Introduction to metallic nanoparticles. **Journal of Pharmacy BioAllied Sciences**, v. 2, n. 4, p. 282-289, 2010.
- MOHANPURIA, P.; RANA, K. N.; YADAV, S. K. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 10, n. 3, p. 507-517, 2008.
- MOHANTY, S.; JENA, P.; MEHTA, R.; PATI, R.; BANERJEE, B.; PATIL, S.; SONAWANE, A. Cationic antimicrobial peptides and biogenic silver nanoparticles kill mycobacteria without eliciting DNA damage and cytotoxicity in mouse macrophages. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 8, p. 3688-3698, 2013.
- MOURA, A. P.; CARVALHO, G. A.; MOSCARDINI, V. F.; MARQUES, M. C.; SOUZA, J. R. Toxicidade de pesticidas recomendados na produção integrada de maçã (PIM) a populações de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 3, p. 395-404, 2009.
- MUKHERJEE, P.; ROY, M.; MANDAL, B. P.; DEY, G. K.; MUKHERJEE, P. K.; GHATAK, J.; TYAGI, A. K.; KALE, S. P. Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus *T. asperellum*. **Nanotechnology**, v. 19, p. 1-7, 2008.
- MUÑOZ-CELAYA, A. L.; ORTIZ-GARCIA, M.; VERNON-CARTER, E. J.; JAUREGUI-RINCON, J.; GALINDO, E.; SERRANO-CARREÓN, L. Spray-drying microencapsulation of *Trichoderma harzianum* conidia in carbohydrate polymers matrices. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1141-1148, 2012.
- NANDINI, B.; HARIPRASAD, P.; PRAKASH, H. S.; SHETTY, H. S.; GHEETA, N. Trichogenic-selenium nanoparticles enhance disease suppressive ability of *Trichoderma* against downy mildew disease caused by *Sclerospora graminicola* in pearl millet. **Scientific Reports**, v. 7, n. 2612, 2017.
- NASEBY, D. C.; PASCUAL, J. A.; LYNCH, J. M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 1, p. 161-169, 2000.
- OANCEA, F.; RAUT, I.; ESAN, T. E.; CORNEA, P. C. Dry flowable formulation of biostimulants *Trichoderma* strains. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 10, p. 494-502, 2016.

- O'RIORDAN, K.; ANDREWS, D.; BUCKLE, K.; CONWAY, P. Evaluation of microencapsulation of a Bifidobacterium strain with starch as an approach to prolonging viability during storage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n.6, p. 1059-1066, 2001.
- ORTASHI, K. M. O.; AWAD, M. A. G.; HENDI, A. A.; ABDELAZIZ, A. R. M.; HENDI, A. S. A.; LAHMED, A. A. **Synthesis of silver nanoparticles using fungi**. Pat. 9,701,552 B1, July 11, 2017. Disponível em: <<https://patentimages.storage.googleapis.com/43/07/52/8e2a-8977b1e259/US9701552.pdf>>. Acesso em: jun. 2019.
- OTHMAN, A. M.; ELSAYED, M. A.; ELSHAFEI, A. M.; HASSAN, M. M. Application of response surface methodology to optimize the extracellular fungal mediated nanosilver green synthesis. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 15, p. 497-504, 2017.
- PAQUES, J. P.; SAGIS, L. M.; VAN RIJN, C. J.; VAN DER LINDEN, E. Nanospheres of alginate prepared through w/o emulsification and internal gelation with nanoparticles of CaCO₃. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 182-188, 2014.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 345-355, 2014.
- PATIL, J. S.; KAMALAPUR, M. V.; MARAPUR, S. C.; KADAM, D. V. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: the novel techniques to design hydrogel particulate sustained, modulated drug delivery system: a review. **Digest Journal of Nanomaterials Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 241-248, 2010.
- PAULA, A. R.; CAROLINO, A. T.; PAULA, C. O.; SAMUELS, R. I. The combination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with the insecticide Imidacloprid increases virulence against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 8, p. 1-8, 2011.
- PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: a review. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 1327-1340, 2017.
- PAZINI, W. C.; GALLI, J. C. Redução de aplicações de inseticidas através da adoção de táticas de manejo integrado do *Triozoida limbata* (Enderlein, 1918) (Hemiptera: Triozidae) em goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 66-72, 2011.
- QU, Y. *Trichoderma* sp. and application of *Trichoderma* sp. in synthesis of gold nanoparticles. CN Pat. 104673684 A, JUNE 3, 2015.
- QU, Y.; SHEN, W.; PEI, X.; MA, F.; YOU, S.; LI, S.; WANG, J.; ZHOU, J. Biosynthesis of gold nanoparticles by *Trichoderma* sp. WL-Go for azo dyes decolorization. **Journal of Environmental Sciences**, v. 56, p. 79-86, 2017.
- QUALHATO, T. F.; LOPES, F. A. C.; STEINDORF, A. S.; BRANDÃO, R. S.; JESUINO, R. S. A.; ULHOA, C. J. Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production. **Biotechnology Letters**, v. 35, n. 9, p. 1461-1468, 2013.
- RATHORE, S.; DESAI, P. M.; LIEW, C. V.; CHAN, L. W.; HENG, P. W. S. Microencapsulation of microbial cells. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 369-381, 2013.
- RATTES, A. L. R.; OLIVEIRA, W. P. Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac nanoparticles. **Powder Technology**, v. 171, n. 1, p. 7-14, 2007.
- REINO, J. L.; GUERRERO, R. F.; HERNANDEZ-GALAN, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 89-123, 2008.
- RETAMAL, M. C.; NARA, A. C. Use of *Botrytis cinerea* for obtaining gold nanoparticles. US Pat. 9,567,610 B2, February 14, 2017.
- SARAVANAKUMAR, K.; SHANMUGAM, S.; VARUKATTU, N. B.; MUBARAKALI, D.; KATHIRESAN, K.; WANG, M. H. Biosynthesis and characterization of copper oxide nanoparticles from indigenous fungi and its effects of photothermolysis on human lung carcinoma. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 190, p. 103-109, 2019.
- SARAVANAKUMAR, K.; WANG, M. H. *Trichoderma* based synthesis of anti-pathogenic silver nanoparticles and their characterization, antioxidant and cytotoxicity properties. **Microbial Pathogenesis**, v. 114, p. 269-273, 2018.
- SCHAFROTH, N.; ARPAGAU, C.; JADHAV, U. Y.; MAKNE, S.; DOUROUMIS, D. Nano and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 90, p. 8-15, 2012.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and Biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787-799, 2010.

- SHARMA, P.; PATEL, A. N.; SAINI, M. K.; DEEP, S. Field Demonstration of *Trichoderma harzianum* as a plant growth promoter in wheat (*Triticum aestivum* L). **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 8, p. 6-73, 2012.
- SHARON, E.; BAR EYAL, M.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological Control of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 91, n. 7, p. 687-693, 2001.
- SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.
- SIDDIQI, K. S.; HUSEN, A. Fabrication of metal nanoparticles from fungi and metal salts: scope and application. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 98, p. 1-15, 2016.
- SONOGO, S.; POMELLIA, A.; HEBBAR, P. K.; BAILEY, B.; COSTA, J. C. B.; SAMUELS, G. J.; LUMSDEN, R. D. Production and germination of conidia by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of *Crinipellis perniciosa* on cacao. **Phytopathology**, v. 92, n. 10, p. 1032-1037, 2002.
- SOUZA, F. N.; GEBARA, C.; RIBEIRO, M. C. E.; CHAVES, K. S.; GIGANTE, M. L.; GROSSO, C. R. F. Production and characterization of microparticles containing pectin and whey proteins. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 560-566, 2012.
- SRI.S, J.; SEETHADEVI, A.; SURIA PRABHA, K.; MUTHUPRASANNA, P.; PAVITRA, P. Microencapsulation: A Review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 3, n. 1, p. 509-521, 2012.
- THRANE, C.; JENSEN, D. F.; TRONSMO, A. Substrate colonization, strain competition, enzyme production *in vitro*, and biocontrol of *Pythium ultimum* by *Trichoderma* spp. isolates P1 and T3. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, n. 3, p. 215-225, 2000.
- TRIPATHI, R. M.; GUPTA, R. K.; SINGH, P.; BHADWAL, A. S.; SHRIVASTAV, A.; KUMAR, N.; SHRIVASTAV, B. R. Ultra-sensitive detection of mercury (II) ions in water sample using gold nanoparticles synthesized by *Trichoderma harzianum* and their mechanistic approach. **Sensors and Actuators**, v. 204, p. 637-646, 2014.
- TURGEON, S.; SCHMIDT, C.; SANCHEZ, C. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloids and Interface Science**, v. 12, p. 196-205, 2007.
- TYAGI, V.; KAUSHIK, S.; TYAGI, S.; AKIYAMA, T. Development of phase change materials based microencapsulated technology for buildings: A review. Renewable and Sustainable. **Energy Reviews**, v. 15, n. 2, p. 1373-1391, 2011.
- VAHABI, K.; MANSOORI, G. A.; KARIMI, S. Biosynthesis of silver nanoparticles by fungus *Trichoderma reesei* (a route for large-scale production of AgNPs). **Insciences Journal**, v. 1, n. 1, p. 65-79, 2011.
- VEGA, C.; ROOS, Y. H. Invited review: spray-dried dairy and dairy-like emulsions-compositional considerations. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 2, p. 383-401, 2006.
- VEMMER, M.; PATEL, A. V. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. **Biological Control**, v. 67, n. 3, p. 380-389, 2013.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- VINCEKOVI, M.; JALŠENJAK, N.; TOPOLOVEC-PINTARI, S.; ERMI, E.; BUJAN, M.; JURI, S. Encapsulation of Biological and Chemical Agents for Plant Nutrition and Protection: Chitosan/Alginate Microcapsules Loaded with Copper Cations and *Trichoderma viride*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 43, p. 8073-8083, 2016.
- WALTERS, C.; POOL, E.; SOMERSET, V. Nanotoxicology: a review. In: LARRAMENDY, M.; SOLONESKI, S. (Ed.). **Toxicology: new aspects to this scientific conundrum**. [S. l.]: InTechOpen, 2016. p. 45-63
- WIJESINGHE, C. J.; WIJERATNAM, R. S.; SAMARASEKARA, J. K. R. R.; WIJESUNDERA, R. L. C. Development of a formulation of *Trichoderma asperellum* to control black rot disease on pineapple caused by (*Thielaviopsis paradoxa*). **Crop Protection**, v. 30, n. 3, p. 300-306, 2011.
- XIAO, Z.; LIU, W.; ZHU, G.; ZHOU, R.; NIU, Y. A review of the preparation and application of flavor and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 8, p. 1482-1494, 2014.
- YEO, Y.; BAEK, N.; PARK, K. Microencapsulation methods for delivery protein drugs. **Biotechnology methods for delivery Engineering**, v. 6, n. 4, p. 213-230, 2001.

ZANCAN, W. L. A.; MACHADO, J. C.; SOUSA, B. F. M.; MATOS, C. S. M. Crescimento micelial, produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 5, p. 782-789, 2012.

ZHAO, L.; ZHANG, J. A method using *Trichoderma aculeatus* in the synthesis of silver nanoparticles. CN Pat. 105039419 B, October 17, 2017.

Riscos da produção de microrganismos de forma artesanal

Fernando Hercos Valicente

Ubiraci Gomes de Paula Lana

Jéssica Leticia Abreu Martins

Ana Clara Pimenta Pereira

Amanda Naye Guimarães Tavares

Frederick Mendes Aguiar

O Brasil se destaca por ser um país com dimensões continentais, clima predominantemente tropical e com grandes extensões de áreas plantadas com culturas de importância agrícola. De tempos em tempos surgem fronteiras agrícolas sendo a mais recente MATOPIBA que inclui os estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia, com grande capacidade produtiva. Na grande maioria destas áreas são realizados três plantios anuais, fazendo uma mudança radical na paisagem agrícola brasileira, onde os problemas fitossanitários ocorrem durante todo o ano. Essa “ponte verde” que é feita com os três cultivos anuais pode ser observada principalmente com as culturas de milho, soja, algodão, feijão etc. No Mato Grosso, por exemplo, há o plantio da soja precoce em setembro, soja tardia, algodão convencional, milho convencional e algodão safrinha. Há várias pragas e doenças importantes neste cenário único da agricultura brasileira. A lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, por exemplo, se destaca por ser uma praga polífaga, que se alimenta de milho, sorgo, soja, algodão, feijão, etc. A lagarta falsa medideira, *Chrysodeixis includes*, que até 10 anos atrás era praga secundária da cultura da soja, é outra praga importante neste cenário, pelo fato de ser importante desfolhadora de soja e algodão.

Dentro deste contexto os problemas fitossanitários se destacam com mais frequência e incluem a ocorrência de pragas e doenças de diversas culturas. Diante dos desafios constantemente encontrados em campo para aumentar a produção de grãos, a produtividade e baixar o custo, a busca por alternativas ao uso dos agrotóxicos tem sido intensificada. O que se busca são agentes de controle biológico com redução no custo de produção e alta eficiência a fim de permitir que a tecnologia através dos produtos biológicos esteja disponível no mercado e possa ser distribuída para diversos cultivos.

Dentre os organismos utilizados como controle biológico de pragas e doenças, alguns dos agentes mais difundidos são os fungos do gênero *Trichoderma* e a bactéria *Bacillus thuringiensis*.

Trichoderma spp.

De acordo com Bettiol et al. (2012), o *Trichoderma* é um dos principais agentes de controle biológico utilizados na agricultura e apresenta resultados significativos no controle de uma vasta gama de doenças.

Para que o controle seja efetivo em campo, é necessário garantir a qualidade de todas as etapas envolvidas no processo de produção, de modo que se garanta uma viabilidade do organismo e o vigor necessários (Adekunle et al., 2001).

Visando atender a uma alta demanda por produtos biológicos a produção do agente em larga escala torna-se necessária de modo a abastecer um grande mercado em expansão e garantir a distribuição e aplicação do produto. Estudos de Singh et al. (2007) mostraram potenciais substratos com alta viabilidade para a produção deste fungo e, dentre eles grãos de sorgo, trigo e arroz. A fácil obtenção dos substratos e seu baixo custo são fatores que auxiliam na viabilidade da produção industrial deste agente.

Durante o processo produtivo, o fungo se instala no substrato e inicia o processo de liberação de esporos favoráveis à sua reprodução (Hölker et al., 2004) onde ocorre o crescimento do agente por um período de aproximadamente sete dias. Um dos principais problemas envolvidos neste processo está na possibilidade de contaminação por outros gêneros de fungos e até mesmo bactérias no material, gerando riscos à saúde (Bettiol; Morandi, 2009).

Outras metodologias de produção de fungos foram apresentadas em trabalhos de Bettiol e Morandi (2009) as quais envolviam o uso de meio líquido para otimizar o espaço, garantir maior pureza no material e reduzir o percentual de contaminações, favorecendo a propagação do fungo.

De acordo com a Anvisa (2013), o termo biossegurança é definido como “condição de segurança alcançada por um conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam comprometer a saúde humana, animal e o meio ambiente”. Neste sentido, o controle de qualidade torna-se uma etapa fundamental no processo de elaboração de produtos à base de microrganismos para garantir que o produto final esteja livre de contaminações ou com um nível muito baixo, seja seguro tanto para o manipulador quanto para o meio ambiente, além de manter sua efetividade.

Freqüentemente as empresas avaliam a qualidade dos produtos à base de *Trichoderma* por três critérios, sendo eles: contagem de esporos (mínimo de 1×10^8 esporos/g), germinação mínima de 85% e viabilidade mínima de $8,5 \times 10^7$ UFC/g. Para essas avaliações diferentes me-

todologias são empregadas de acordo com a formulação do produto (Bettiol; Morandi, 2009).

A contagem do número de esporos é realizada com o auxílio de uma Câmara de Neubauer ao microscópio. Para isso é necessário preparar uma suspensão de esporos de *Trichoderma* e o resultado dessa contagem é expresso em número de esporos por massa ou volume de produto biológico formulado. Já a metodologia para avaliar a porcentagem de esporos viáveis consiste na dispensa de alíquota da suspensão de esporos de *Trichoderma* em áreas delimitadas da placa de Petri com meio BDA (batata, dextrose e ágar), incubação a 25 ± 2 °C para a germinação dos esporos e contagem do número de esporos viáveis ao microscópio óptico (Bettiol et al., 2012).

Para quantificar as unidades formadoras de colônia (UFC) a metodologia consiste na homogeneização do produto à base de *Trichoderma* com solução salina adicionada de Tween 80 esterilizada. A partir desta solução são realizadas diluições seriadas as quais são distribuídas em placas de Petri com meio BDA e Triton e incubadas a 25 ± 2 °C no escuro para posterior contagem do número de colônias formadas pelo *Trichoderma*. O resultado é expresso em unidades formadoras de colônia (UFC/mL) (Bettiol et al., 2012).

Entretanto, as cepas selecionadas para a produção dos insumos biológicos à base de *Trichoderma* registrados junto ao Mapa e os processos de controle de qualidade destes produtos são realizados pelas empresas em condições laboratoriais. Nesse caso, em ambiente controlado, os riscos de contaminações são minimizados e realizados por profissionais qualificados com a capacitação técnica necessária. Para a concessão do registro do produto biológico no Mapa as empresas devem cumprir uma extensa lista de pré-requisitos que garantam a segurança e eficácia destes produtos (Brasil, 2012).

Controle de qualidade

Os riscos associados à produção de agentes de controle biológico são muito grandes quando normas e procedimentos de laboratório são ignorados.

A produção de *Trichoderma* e outros insumos biológicos à base de microrganismos não é limitada apenas ao mercado em escala comercial. Tem-se observado a crescente tentativa de “produção caseira” desses bioprodutos visando à redução dos custos com produtos fitossanitários à base de microrganismos, sistema denominado “on farm” (Valicente et al., 2018). Hoje entende-se por produção “on farm” aquela que é feita em fazenda sem as condições mínimas de assepsia. Vale ressaltar que há produtores que possuem em suas fazendas laboratórios modernos atendendo as normas de produção, não se enquadrando no processo “on farm”. Na maioria dos casos de “produção caseira” não se observa o uso de materiais esterilizados nem de laboratórios com os mínimos requisitos para um bom funcionamento sem contaminar o produto final, bem como a utilização de materiais registrados como fonte de inóculo, sem autorização prévia, constituindo um caso de pirataria. A utilização de subprodutos agroin-

dustriais é considerada uma alternativa viável e barata para produção *in situ* de *T. asperellum* (Santos-Villalobos et al., 2012) e *Bacillus thuringiensis* (Valicente; Mourão 2008). No caso de *Trichoderma*, os esporos fúngicos são facilmente obtidos a partir do crescimento em substratos como o arroz, milho ou outros grãos, o que permite que o produto final seja diretamente aplicado nas lavouras ou no solo (Woo et al., 2014). De acordo com Woo et al. 2014, os produtos à base de *Trichoderma* comercializados são compostos de uma única espécie (67%), sendo que o restante é uma combinação de espécies conhecidas e/ou não conhecidas, isolados, ou mistura de *Trichoderma* com outros microrganismos benéficos como micorriza (*Glomus*), e bactérias (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, etc.). Se um produto comercial está associado com outros microrganismos benéficos, esse produto também corre um risco de contaminação por condições que favoreçam a multiplicação rápida de microrganismos indesejáveis e que possam oferecer risco à saúde humana e animal, além da baixa qualidade do produto.

Além disso, existe grande variedade de espécies do gênero *Trichoderma* identificadas em diferentes ecossistemas. Em apenas um isolamento realizado em uma amostra de solo no sul da Alemanha foram identificados mais de 350 materiais genéticos diferentes de *Trichoderma spp.* (Meincke et al., 2010). Algumas espécies são consideradas como patógenos humanos, como *T. longibrachiatum*, relacionada a infecções pulmonares (Miguel et al., 2005) e *T. fungaemia*, relacionada com infecções bacterianas em pacientes hospitalizados (Lagrange-Xélot et al., 2008). Da mesma forma, algumas espécies produzem metabólitos secundários potencialmente tóxicos para animais e plantas, como tricotecenos e peptídeos cíclicos, classificados como micotoxinas. Os tricotecenos prejudicam o crescimento das plantas e os peptídeos cíclicos ocasionam morte celular pelo ataque na membrana de células bacterianas eucarióticas. Os isocianetos, outro tipo de metabólito secundário, atacam os microrganismos ruminais em carneiros e ovelhas (Sandle, 2014). Essas pesquisas mostram a importância de trabalhar com o isolado puro, sem contaminantes, para que organismos indesejáveis e que possam causar danos em mamíferos não cresçam no processo de produção em larga escala.

Todos estes fatores reforçam ainda mais importância de seguir técnicas específicas para a produção de produtos biológicos à base de microrganismos tais como: vírus, fungos bactérias etc. Cada organismo tem uma necessidade diferente para se atingir uma concentração máxima na produção final do produto. A ineficácia e a inconsistência dos resultados de desempenho em campo dificultam a disseminação e o uso frequente de produtos produzidos de um modo inadequado em propriedades rurais. Esses fatores reforçam a necessidade do controle de qualidade com seleção de isolados adequados para serem utilizados no controle biológico.

Sivila e Alvarez (2013) publicaram o manual denominado “Producción Artesanal de *Trichoderma*”, destinado a pequenos produtores da agricultura familiar. Os autores esclarecem o que é o controle biológico de doenças de plantas, o que são microrganismos antagonistas,

quais são as características do fungo *Trichoderma sp.* e seus mecanismos de ação para o controle biológico de doenças que levam à proteção de determinadas culturas.

Ainda de acordo com Sivila e Alvarez (2013), para a produção de *Trichoderma*, a metodologia mais simples a ser utilizada é a fermentação sólida e esse processo é dividido em várias etapas. Estas etapas são básicas para qualquer produção de produto biológico, inclusive para *B. thuringiensis*.

- I) Escolha do substrato.
- II) Preparação e condicionamento do substrato.
- III) Esterilização do material.
- IV) Inoculação do fungo *Trichoderma*.
- V) Incubação.
- VI) Pode ser usado em campo ou seco e formulado
- VII) Secagem.
- VIII) Envase.
- IX) Armazenamento.

Para garantir o controle de qualidade dos produtos biológicos à base de *Trichoderma* artesanal, Sivila e Alvarez (2013) sugerem quatro testes: determinação do grau de antagonismo, determinação da produção de esporos, determinação da viabilidade dos esporos e determinação de contaminantes (pureza).

Contudo, os produtores rurais de agricultura familiar geralmente não possuem uma estrutura física para realizar os procedimentos para a produção de *Trichoderma*. Na etapa III da produção, onde um dos processos é a esterilização do substrato, muitas vezes é utilizado o banho-maria, pois os produtores não possuem autoclave. Na etapa IV, frequentemente a capela de fluxo laminar é substituída por apenas uma chama sob uma bancada limpa com sabão e água sanitária comercial. A escolha do isolado e processo de controle de qualidade é dependente de laboratórios de microbiologia para serem realizados, não sendo possível a execução dos testes nas propriedades rurais (Sivila; Alvarez, 2013).

Todos esses entraves podem diminuir a qualidade do produto final, podendo colocar em risco a saúde dos próprios agricultores e, podendo dispersar organismos indesejáveis no meio ambiente, como foi observado por Valicente et al. (2018) na avaliação da qualidade de bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* produzidos em propriedades rurais no sistema “*on farm*”.

Nos sistemas de produção todos os materiais e reagentes dos meios de cultura, sem exceção, devem ser esterilizados (autoclavado a 120 °C por 20 a 30 minutos) e inoculados com uma cepa limpa, sem contaminantes. Entretanto, a produção realizada nas propriedades rurais, em

sua grande maioria, não possui as condições exigidas de infraestrutura, segurança e higiene (Valicente et al., 2018). Valicente et al. 2018 analisaram três amostras de *B. thuringiensis* provenientes de produção caseira, em condições inadequadas de produção, sem a higienização e esterilização necessária. Foram identificadas dezenas de espécies de microrganismos distintos em amostras de produtos que deveriam conter apenas esporos viáveis de *Bacillus thuringiensis* e cristais. A identificação dessas bactérias de diversas espécies mostra que esses produtos podem causar problemas sérios de saúde, o que acaba afetando não somente os envolvidos na produção realizada sem os devidos cuidados higiênicos. Algumas amostras de *B. thuringiensis* (Bt) produzidas de forma caseira em propriedades rurais e com meios alternativos já foram testadas e consideradas inadequadas ao uso como biopesticida. Vários tipos de contaminantes com morfologia e coloração diferentes às de Bt foram encontrados, incluindo *B. cereus* e bactérias do gênero *Microbacterium*, que são patógenos oportunistas associados a infecções humanas. A prevalência de *Enterococcus casseliflavus* e *E. gallinarum* mostra-se preocupante, uma vez que estas espécies têm sido associadas à endocardite (Dargere et al., 2002) e meningite em humanos (Iaria et al., 2005; Antonello et al., 2010). A figura 1 mostra placas com colônias isoladas de matérias de fermentação caseira, onde observam-se colônias desuniformes e várias colorações.

Foto: Ubiraci Gomes de Paula Lana

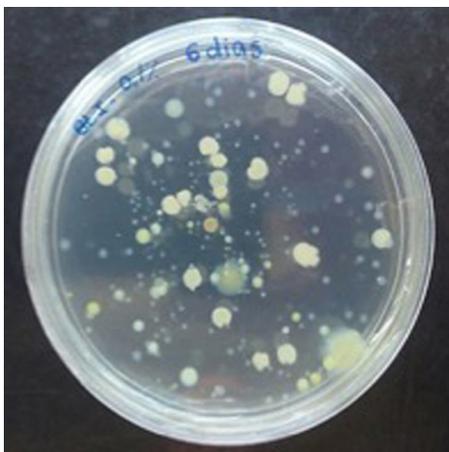


Figura 1. Colônias atípicas isoladas de amostras recebidas de produção caseira sem assepsia.

Considerações finais

No processo de produção industrial de *Trichoderma* o controle de qualidade torna-se uma etapa fundamental, pois consegue-se determinar a concentração e viabilidade dos esporos e a determinação de contaminantes algo que não é possível de se obter em um sistema de produção caseira.

Além das questões de qualidade, a produção caseira pode colocar em risco a saúde dos próprios agricultores além de poder conter microrganismos indesejáveis ao meio ambiente.

Referências

- ADEKUNLE, A. T.; CARDWELL, K. F.; FLORINI, D. A.; IKOTUN, T. Seed treatment with *Trichoderma* species for control of damping-off cowpea caused by *Macrophomina phaseolina*. *Biocontrol Science Technology*, v. 11, n. 4, p. 449-457, 2001.
- ANTONELLO, V. S.; ZENKNER, F. de M.; FRANCA, J.; SANTOS, B. R. *Enterococcus gallinarum meningitis* in an immunocompetent host: a case report. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 52, n. 2, p. 111-112, 2010.
- ANVISA - AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência a Saúde**. Módulo 1: Biossegurança e Manutenção de Equipamentos em Laboratório de Microbiologia Clínica. Brasília, DF, 2013. 44 p.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341 p.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; NASCIMENTO, R.; AGOSTINI, E. R. dos S.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R.; HADDAD, P. E. **Avaliação da qualidade de produtos à base de *Trichoderma***: curso. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 46 p. apostila.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. **Manual de Procedimentos para Registro de Agrotóxicos**. Brasília, DF: MAPA, 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/arquivos/manual-de-procedimentos-para-registro-de-agrotoxicos.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2019.
- DARGERÉ, S.; VERGNAUD, M.; VERDON, R.; SALOUX, E.; LE PAGE, O.; LECLERCQ, R.; BAZIN, C. *Enterococcus gallinarum* endocarditis occurring on native heart valves. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 6, p. 2308-2310, 2002.
- HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 64, n. 2, p. 175-186, 2004.
- IARIA, C.; STASSI, G.; COSTA, G. B.; DI LEO, R.; TOSCANI, A.; CASCIO, A. *Enterococcal meningitis* caused by *Enterococcus casseliflavus*. First case report. *BMC Infectious Diseases*, v. 5, n. 1, p. 3, 2005.
- LAGRANGE-XÉLOT, M.; SCHLEMMER, F.; GALLIEN, S.; LACROIX, B.; MOLINA, J. M. *Trichoderma fungaemia* in a neutropenic patient with pulmonary cancer and human immunodeficiency virus infection. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 14, n. 12, p. 1190-1192, 2008.
- MEINCKE, R.; WEINERT, N.; RADL, V.; SCHOLTER, M.; SMALLA, K.; BERG, G. Development of a molecular approach to describe the composition of *Trichoderma* communities. *Journal of Microbiological Methods*, v. 80, n. 1, p. 63-69, 2010.
- MIGUEL, D.; GÓMEZ, P.; GONZÁLEZ, R.; GARCÍA-SUÁREZ, J.; CUADROS, J. A.; BANÁS, M. H.; ROMANYK, J.; BURGALETA, C. Non fatal pulmonary *Trichoderma viride* infection in an adult patient with acute myeloid leucemia: report of one case and review of the literature. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 53, n. 1, p. 33-37, 2005.
- SANDLE, T. *Trichoderma*. In: BATT, C. A.; TORTORELLO, M. L. (Ed.). **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 644-646.

- SANTOS-VILLALOBOS, S.; HERNANDEZ-RODRIGUEZ, L. E.; VILLASEÑOR-ORTEGA, F.; PEÑA-CABRIALES, J.J. Production of *Trichoderma asperellum* T8a spores by a “home-made” solid-state fermentation of mango industrial wastes. *Bioresource*, v. 7, n. 4, p. 4938-4951, 2012.
- SINGH, A.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, H. B. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 2, p. 470-473, 2007.
- SIVILA, N.; ÁLVAREZ, S. **Tecnologías agroecológicas para la agricultura familiar**: producción artesanal de *Trichoderma*. San Salvador de Jujuy: Universidad Nacional de Jujuy, Facultad de Ciencias Agrarias, 2013. 50 p.
- VALICENTE, F. H.; LANA, U. G. de P.; PEREIRA, A. C. P.; MARTINS, J. L. A.; TAVARES, A. N. G. **Riscos à produção de biopesticida à base de *Bacillus thuringiensis***. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018. 20 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 239).
- VALICENTE, F. H.; MOURÃO, A. H. C. Use of by-products rich in carbon and nitrogen as a nutrient source to produce *Bacillus thuringiensis* (Berliner)-Based biopesticide. *Neotropical Entomology*, v. 37, n. 6, p. 702-708, 2008.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MAGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal*, v. 8, supl. 1, p. 71-126, 2014.

Compatibilidade de produtos à base de *Trichoderma* com fungicidas utilizados no tratamento de sementes

Nean Locatelli Dalacosta

Silvânia Helena Furlan

Sérgio Miguel Mazaro

Introdução

A ocorrência de resistência de fitopatógenos a princípios químicos tem preocupado a indústria, técnicos e produtores, visto a redução de eficiência de controle e a falta de perspectiva a curto prazo de surgimento de novas moléculas.

Além da questão de resistência, em muitos patossistemas, o uso de químicos não é eficiente, como em doenças do sistema radicular das plantas, devido a não translocação de fungicidas via floema, não é possível atingir os alvos biológicos com aplicações foliares. Bem como, estruturas de resistência de alguns patógenos, como os escleródios, não são controlados ou atingidos de forma adequada por aplicações de fungicidas químicos.

Nesse sentido, o manejo de doenças envolve o uso de biológicos, e com isso, muitas empresas têm investido em novos biofungicidas, fato que pode ser observado pelo crescimento apresentado pelo setor, e com projeções segundo a Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológicos (ABCBio) de crescimento de 20% ao ano.

O *Trichoderma* spp. é um dos microrganismos mais estudados no mundo (Bettiol et al., 2012). Isso se deve a sua alta versatilidade em modos de ação (parasitismo, antibiose, competição) e ainda, induzem resistências nas plantas e produzem sideróforos. São encontrados em diversos ambientes, apresentam rápido crescimento em diversos meios, o que facilita a produção massal. Além disso, são capazes de atuar como bioestimulantes, promovendo o crescimento vegetal pela liberação de fitohormônios e solubilização de nutrientes (Machado et al., 2012).

Como forma de aumentar a eficiência de controle de fitopatógenos nos cultivos agrícolas, o manejo integrado de químicos com fungos antagonistas é uma prática fundamental. Dessa

forma, a utilização de produtos químicos associados com o controle biológico, em especial as espécies de *Trichoderma*, vem sendo expandida.

Assim, o uso associado do controle químico com o controle biológico pode ser uma melhor opção por possibilitar uma interação positiva quando comparados com os métodos isolados, obtendo efeitos aditivos ou sinérgicos (Srinivas; Ramakrishnan 2002).

A interação positiva de químicos com biológicos pode estar relacionada ao controle inicial dos patógenos pelos fungicidas e a estabilização posterior dos biológicos, reduzindo dessa forma a infecção de patógenos (Luz, 2003).

Porém, muitas vezes, a utilização de produtos químicos pode agir de forma indesejada no desenvolvimento do agente de controle biológico, por reduzir seu potencial de ação ou causar inviabilização (Ávila et al., 2005; Dias Neto, 2014).

Os fungicidas químicos podem afetar o crescimento vegetativo, a viabilidade e a conidiogênese dos antagonistas, afetando os mecanismos de ação ou até mesmo a composição genética (Ribas, 2010).

Várias espécies do gênero *Trichoderma* são relatadas como portadoras de uma resistência inata e ou induzidas a muitos fungicidas, no entanto, essa resistência é diferente em função do fungicida utilizado (Khan; Shahzad, 2007).

Para a utilização adequada de *Trichoderma* com produtos químicos é preciso que as muitas variáveis envolvidas sejam consideradas, como a diversidade de ingredientes ativos, as concentrações, a associação de produtos, os diferentes cultivos e a forma de aplicação dos produtos.

Ainda, a indústria apresenta em seu portfólio uma diversidade de informações entre os fabricantes de biológicos, e em muitos casos desconsidera a forma de aplicação dos químicos ou biológicos, seja em sementes, sulco de cultivo ou aplicação foliar. Fato que dificulta ao usuário uma aplicação com segurança quanto à compatibilidade.

Estudos de compatibilidade com produtos químicos no tratamento de sementes das principais culturas agrícolas

Nas principais culturas o *Trichoderma* é posicionado quanto a sua aplicação de forma isolada, ou seja, sem misturas com químicos, exceto quando é utilizado no tratamento de sementes, nas situações em que é realizado o tratamento na propriedade (*on farm*) ou tratamentos industriais (TSI). Por isso, esse capítulo irá tratar a questão de compatibilidade considerando o emprego no tratamento de sementes nas principais culturas agrícolas, soja, feijão, milho, algodão e trigo.

Para o estudo de compatibilidades e incompatibilidades, buscou-se compilar as informações dos produtos registrados no Brasil para essas culturas, considerando seus ingredientes

ativos (Agrofit, c2003). Observa-se uma grande diversidade de produtos, no entanto possuem muita similaridade quanto aos seus ingredientes ativos, o que pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Ingredientes ativos registrados para o tratamento de sementes nas principais culturas agrícolas.

Ingredientes ativos	Culturas agrícolas
Azoxistrobina + fludioxonil + metalaxil-M	Algodão
Captana	Milho
Carbendazim	Algodão, feijão, soja e trigo
Carboxina + tiram	Algodão, feijão, milho, soja e trigo
Carbendazim + tiram	Algodão, milho e soja
Difenoconazol	Algodão, feijão, soja e trigo
Difenoconazol+ fludioxonil	Soja
Difenoconazol + metalaxil-M	Trigo
Fluazinam + tiofanato-metílico	Algodão, feijão, milho, soja e trigo
Fludioxonil	Algodão, feijão, milho e soja
Fludioxonil + metalaxil-M	Feijão, milho e soja
Fludioxonil + metalaxil-m + tiabendazol	Feijão, milho e soja
Flutriafol	Algodão, feijão, soja e trigo
Iponazol + tiram	Soja
Iprodiona	Trigo
Piraclostrobina + tiofanato-metílico	Algodão, feijão, milho, soja e trigo
Quintozeno	Algodão e feijão
Tiram	Algodão, milho, soja e trigo
Triadimenol	Algodão e trigo

Fonte Agrofit, c2003.

Pode-se observar na Tabela 2, uma revisão de literatura dos trabalhos desenvolvidos de compatibilidade e incompatibilidade de *Trichoderma* com ingrediente ativos de fungicidas citados na Tabela 1, e utilizados nas principais culturas agrícolas.

Tabela 2. Estudos encontrados de compatibilidade/incompatibilidade de *Trichoderma* spp. com ingredientes ativos de fungicidas.

Ingredientes ativos	Espécies	Compatibilidade	Autores
Azoxistrobina + fludioxonil + metalaxil-M		Não relatado	
Captana	<i>T. viride</i> <i>T. harzianum</i>	Parcialmente compatível em função do isolado	Ribas, 2010 Bhale; Rajkonda, 2015 Gowdar et al., 2006
Carbendazim	<i>T. viride</i> <i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Incompatível	Kumar et. al, 2018 Ribas, 2010 Ishizuka, 2016 Gowdar et al., 2006
Carboxina + tiram	<i>Trichoderma</i> sp.	Parcialmente compatível	Pandolfo, 2007
Carbendazim + tiram	<i>T. harzianum</i>	Incompatível	Dalacosta, 2019
Difenoconazol	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Incompatível	Ishizuka, 2016
Fluazinam	<i>T. Viride</i> <i>T. harzianum</i>	Incompatível	Ribas, 2010
Fluazinam + tiofanato-metilico	<i>T. harzianum</i>	Parcialmente compatível	Dalacosta, 2019
Fludioxonil	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Parcialmente compatível	Ishizuka, 2016
Fludioxonil + metalaxil-M	<i>T. harzianum</i>	Compatível	Dalacosta, 2019
Fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Parcialmente compatível Incompatível	Ishizuka, 2016
Flutriafol	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Incompatível e parcialmente compatível em função dos isolados	Ishizuka, 2016
Ipconazol + tiram		Não relatado	
Iprodiona	<i>T. Viride</i> <i>T. harzianum</i>	Incompatível	Ribas, 2010. Silva et.al., 1999
Piraclostrobina + tiofanato-metilico	<i>T. harzianum</i>	Parcialmente compatível	Dalacosta, 2019
Tiabendazol	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Incompatível	Ishizuka, 2016 Herrera et al., 2012
Quintozeno		Não relatado	
Tiram	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Compatível	Ishizuka, 2016 Pandya et al. 2012 Gowdar et al., 2006
Tiofanato metilico	<i>T. Viride</i> <i>T. harzianum</i>	Parcialmente compatível	Ribas, 2010 Ishizuka, 2016
Triadimenol		Não relatado	

Observa-se pelos trabalhos de literatura uma carência de informações, mas de modo geral, ocorre concordâncias quanto às incompatibilidades ou compatibilidades (Tabela 2), mesmo com distintas metodologias de avaliações.

A compatibilidade ou incompatibilidade está muito relacionada à sensibilidade dos diferentes isolados de *Trichoderma* e aos grupos químicos, como no caso dos benzimidazóis, como o carbendazim e o tiabendazol, os quais não apresentam compatibilidade (Zambolim et al., 2007).

Dalacosta (2019), um dos autores desse capítulo desenvolveu um trabalho objetivando avaliar a compatibilidade dos principais produtos utilizados no tratamento de sementes de soja (Tabela 3), a principal cultura agrícola do Brasil, com duas formulações de *Trichoderma harzianum*, bem como testou diferentes metodologias de avaliação.

O trabalho buscou representar o que acontece efetivamente a nível de produtor ou no mercado em relação ao pacote tecnológico proposto por empresas de agroquímicos. Assim, optou-se por associação de ingredientes ativos, presentes nos fungicidas comerciais, e que representam os maiores mercados considerando o uso no tratamento de sementes de soja no país.

Avaliaram-se duas formulações de *Trichoderma*, grânulos dispersíveis em água (WP) ou suspensão concentrado (SC), haja visto os estudos até então realizados não tratarem tais diferenças (Tabela 3).

Avaliando a compatibilidade através do crescimento micelial pela metodologia de incorporação dos produtos químicos no meio de cultura, conforme a dosagem recomendada pelos fabricantes (Tabela 3).

Foram observados (Tabela 4) que os tratamentos contendo a combinação de ingredientes ativos do tratamento 2 (tiram/carbendazim) e o tratamento 3 (tiofanato metílico/ fluazinam) causaram efeito fungicida sobre o *T. harzianum*, independente da formulação de *Trichoderma* utilizada.

Tabela 3. Ingredientes ativos utilizados no tratamento de sementes de soja e associações com formulações de *Trichoderma harzianum*, 2018.

Ingrediente ativo	Dose (g.i.a.ha ⁻¹)*	Formulação do <i>Trichoderma</i>
Piraclostrobina /tiofanato metílico	2,5/ 22,5	WP**
Tiram/ carbendazim	15/ 35	
Tiofanato metílico/ fluazinam	35/ 5,25	
Metalaxil-M/fludioxonil	0,5/ 12,5	SC***
Piraclostrobina /tiofanato metílico	2,5/ 22,5	
Tiram/ carbendazim	15/ 35	
Tiofanato metílico/ fluazinam	35/ 5,25	
Metalaxil-M/fludioxonil	0,5/ 12,5	WP
Testemunha	9 (1x 10 ¹⁰ UFC.ml ⁻¹ ****)	
Testemunha	5 (2x10 ⁸ UFC.ml ⁻¹)	SC

*Dose calculada com base na recomendação de 50 Kg de sementes de soja por hectare.

**WP = *Trichoderma harzianum* em grânulo dispersível em água.

***SC = *Trichoderma harzianum* em suspensão concentrada.

****UFC = Unidade formadora de colônia.

Tabela 4. Crescimento micelial (cm) e inibição (%) das duas formulações de *Trichoderma* em meio de cultura modificado com os produtos químicos na dose de bula, após 72 horas em BOD a 25±2 °C. 2018.

Padrão utilizado	Formulação do Agente de controle	Crescimento micelial (cm)	% inibição
Piraclostrobina /tiofanato metílico	<i>Trichoderma</i> WP	1,11 d*	87,59
Tiram/ carbendazim		0,00 e	100
Tiofanato metílico/ fluazinam		0,00 e	100
Metalaxil-M/fludioxonil		5,47 b	38,88
Piraclostrobina /tiofanato metílico	<i>Trichoderma</i> SC	1,15 d	86,97
Tiram/ carbendazim		0,00 e	100
Tiofanato metílico/ fluazinam		0,00 e	100
Metalaxil-M/fludioxonil		3,42 c	61,26
Testemunha	<i>Trichoderma</i> WP	8,95 a	-
Testemunha	<i>Trichoderma</i> SC	8,83 a	-
CV (%)		10,33	

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Scott -Knott (P<0,05).

Já na combinação do tratamento 1 (piraclostrobina /tiofanato metílico), embora houvesse desenvolvimento do *Trichoderma*, a porcentagem de inibição foi muito elevada, e, apenas no tratamento 4 contendo (metalaxil-M/ fludioxonil), associado com o *Trichoderma* em formulação WP obteve-se certa compatibilidade (Figura 1).

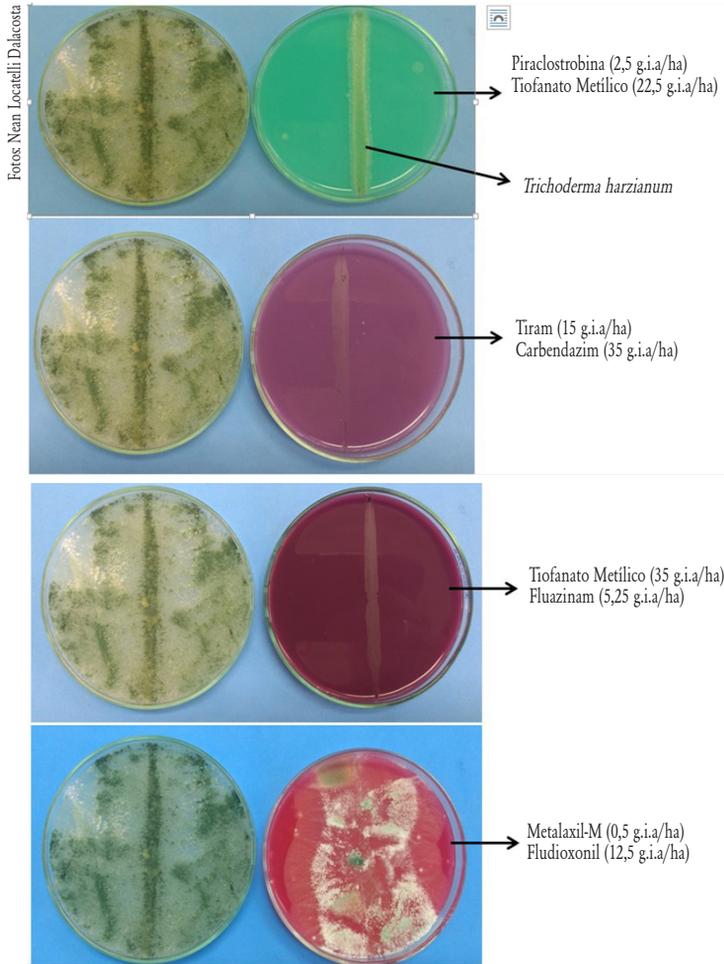


Figura 1. Efeito de diferentes ingredientes ativos no desenvolvimento de *T. harzianum*, 2018.

Seguindo a mesma linha dos trabalhos *in vitro* foi determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM), pelo método de microdiluição em calda, conforme o protocolo padronizado pela NCCLS (c2002), com adaptações.

Resultados indicam que na dosagem de bula das combinações contendo os ingredientes ativos tiram/ carbendazim e tiofanato metílico/ fluazinam não há desenvolvimento de *Trichoderma* (Tabela 5), reforçando o resultado obtido anteriormente. Também foi possível observar que a formulação de *Trichoderma* SC (líquida) apresentou maior sensibilidade quando exposta aos produtos químicos.

Tabela 5. Concentração inibitória mínima dos diferentes produtos químicos e princípios ativos sobre os ACB em relação à dose de bula, avaliados após 48 horas de incubação a 25 ±2 °C. 2018.

Padrão utilizado	Formulação do agente de controle	
	Trichoderma WP	Trichoderma SC
Piraclostrobina /tiofanato metílico	2 x*	2x
Tiram/ carbendazim	1 x	½ x
Tiofanato metílico/ fluazinam	1 x	x
Metalaxil-M/ fludioxonil	2 x	2 x
Princípios ativos	Dose inibitória equivalente (g.i.a.ha ¹)	
Piraclostrobina /tiofanato metílico	5/45	5/45
Tiram/ carbendazim	15/ 35	7,5/17
Tiofanato metílico/ fluazinam	35/5,25	8,75/1,3
Metalaxil-M/ fludioxonil	1/25	1/25

*Concentração de inibição mínima dos ACB em relação à dosagem de bula dos produtos.

Com a hipótese que a campo a exposição a doses elevadas de produtos químicos é baixa, visto os fatores edafoclimáticos e de estabilidades dos próprios produtos, buscou-se uma metodologia que se assemelhasse à modalidade de emprego no tratamento de sementes. Dessa maneira, realizou-se um experimento considerando a incorporação do *Trichoderma* no momento da sementeira.

Para isso, as sementes foram tratadas com os produtos químicos na dosagem recomendada pelo fabricante (Tabela 3) e com volume de calda final de sete (7) mL/kg. semente⁻¹, estas agitados até a homogeneização. Após 35 dias do tratamento químico das sementes, e simulando um processo de adição do produto biológico no momento da sementeira, as formulações do *Trichoderma* foram adicionadas conforme as dosagens recomendadas pelo fabricante (Tabela 3) com volume de calda final de sete (7) mL.Kg. semente⁻¹. Após esse processo, foi disposta uma semente por placa de Petri contendo meio BDA, contemplando dessa forma o tempo zero, com quatro repetições.

Foi avaliado o crescimento micelial do *Trichoderma* em função de diferentes tempos de armazenamento das sementes (0, 6, 12, 18 horas), simulando uma condição onde o *Trichoderma* foi inserido na semente, porém não realizada a sementeira imediatamente. As sementes foram armazenadas em temperatura ambiente à sombra e após dispostas nas placas, foram incubadas em BOD a 25±2 °C. A avaliação do crescimento micelial foi realizada após 18 horas do tratamento, com o auxílio de um paquímetro, medindo o diâmetro da colônia em centímetros.

Tabela 6 - Crescimento micelial (cm) de *Trichoderma* em diferentes tempos de armazenamento das sementes (0, 6, 12 e 18 horas) após o tratamento com os produtos químicos, avaliados 18 horas após o tratamento. Redução percentual em relação ao controle (% R).2018.

Tratamentos**	0 h	% R	6 h	% R	12 h	% R	18 h	% R	Média %R
1	7,05 a ³	11,87	7,65 a	4,37	7,75 a	3,12	7,35 a	8,12	6,87
2	3,00 c	62,5	4,70 c	41,25	4,85 b	39,37	3,85 c	51,87	48,75
3	7,10 a	11,25	7,30 a	8,75	7,85 a	1,87	7,55 a	5,62	6,87
4	7,45 a	6,87	6,95 a	13,12	6,65 a	16,87	6,25 b	21,87	14,68
5	5,55 b	30,62	6,10 b	23,75	4,65 b	41,87	5,05 b	36,87	33,28
6	0,00 d	100	0,00 e	100	0,00 d	100	0,00 d	100	100
7	4,5 b	40,62	0,00 e	100	0,00 d	100	0,00 d	100	85,15
8	5,70 b	28,75	3,45 d	56,87	2,35 c	70,62	2,65 c	66,87	55,78
9	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	-
10	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	-
Média	5,66	36,56	5,21	43,51	5,01	46,71	4,87	48,90	43,92
CV (%)	14,89		14,19		15,97		18,40		

³Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott (P<0,05). **Tratamentos: 1-Piraclostrobina/tiofanato metílico; 2-Tiram/ carbendazim; 3-Tiofanato metílico/ fluazinam; 4-Metalaxil-M/fludioxonil; 5-Piraclostrobina/tiofanato metílico; 6-Tiram/ carbendazim; 7-Tiofanato metílico/ fluazinam; 8-Metalaxil-M/fludioxonil; 9-Testemunha (*Trichoderma* WP); 10 - Testemunha (*Trichoderma* SC). Os tratamentos de 1 a 4 foram associados a formulação *Trichoderma* WP e de 5 a 8 associados ao *Trichoderma* SC.

Os resultados indicaram que as combinações de produtos atuaram de forma diferente sobre o crescimento do *Trichoderma*. À medida que o tempo de armazenagem aumentou, houve redução de crescimento do *Trichoderma* quando comparado com a testemunha, fato que era esperado, visto ao maior tempo de contato entre o produto biológico e o tratamento químico (Tabela 6).

É possível observar que os produtos a base dos ingredientes ativos tiram/ carbendazim e tiofanato metílico/fluazinam que não possibilitaram o crescimento do *Trichoderma* nos experimentos anteriores (Tabelas 4 e 5), permitiram o desenvolvimento do *Trichoderma* na formulação WP. Já para a formulação SC, esses princípios ativos tiveram efeito fungicida sobre o *Trichoderma* (Figura 2).

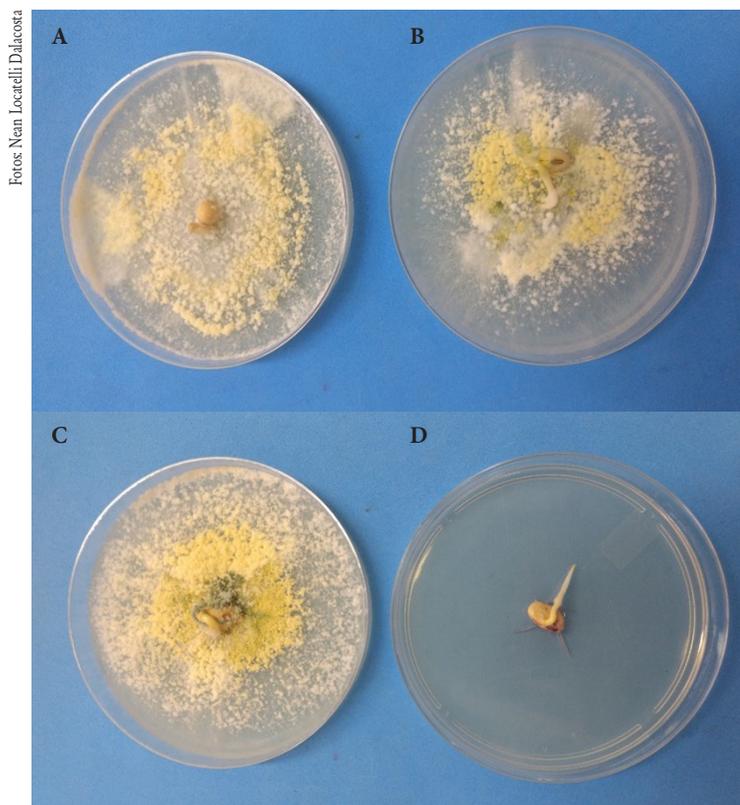


Figura 2 - Crescimento micelial de *Trichoderma* na semente, associado com os tratamentos químicos. (A) *T. harzianum* formulação WP sem a presença do tratamento químico (testemunha). (B) *T. harzianum* em formulação WP + piraclostrobina / tiofanato metílico. (C) *T. harzianum* formulação SC sem a presença do tratamento químico (testemunha). (D) *T. harzianum* em formulação SC + *Trichoderma* SC + Tiram/ carbendazim.

Novamente a formulação de *Trichoderma* SC (líquida) foi mais afetada pelos produtos químicos, este fato pode estar associado à hidratação dos esporos na solução, o que permite o maior contato com a solução, no caso ingredientes ativos. Na formulação WP, o esporo está intacto e há a necessidade de uma hidratação inicial, fato que prolonga a vida útil do *Trichoderma*.

Com base nesses experimentos foi possível observar que os tratamentos contendo os ingredientes ativos piraclostrobina / tiofanato metílico e metalaxil-M/ fludioxonil foram menos agressivos ao *Trichoderma* quando incorporados ao meio de cultura. Quando incorporados

na semente, soma-se a esses, o tratamento contendo tiofanato metílico/ fluazinam para a formulação WP. A não compatibilidade com tiram+carbendazim possivelmente está relacionado à sensibilidade de *Trichoderma* ao grupo dos benzimidazóis, nesse caso o carbendazim (Zambolim et al., 2007).

Ainda com relação ao tratamento de sementes (TS) de soja, por uma outra metodologia, estudou-se a viabilidade da associação do tratamento químico (fungicidas) com o biológico a base de *Trichoderma harzianum*, em dois lotes de sementes, com baixo vigor (74,0 %) e alto vigor (92,0 %), quando armazenadas em diferentes períodos de tempo: 14 horas, 7 dias, 15 dias e 30 dias após o TS (dados do autor, Furlan, 2010).

Este trabalho visou avaliar a compatibilidade de três fungicidas para TS de soja com uma formulação em pó molhável de *Trichoderma*. Foram utilizadas 400 g de sementes por tratamento, tratando-as inicialmente com água+ fungicida e em seguida, com o produto biológico nas dosagens de recomendação de uso.

As sementes foram divididas em quatro partes iguais para serem tratadas e utilizadas de acordo com os diferentes tempos de armazenamento, em condições ambientes de laboratório, acondicionadas em sacos de papel. Seguindo o tempo de armazenamento de cada tratamento, as sementes tratadas foram transferidas para placas de Petri contendo papel de filtro embebidos em água destilada (Bloter-test). Permaneceram incubadas em BOD por 7 dias, fotoperíodo de 12 horas e à temperatura de 26-27 °C para favorecer o agente biológico. As sementes com as colônias do fungo antagonista foram avaliadas e contadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

Os tratamentos fungicidas (Tabelas 7 e 8, respectivamente para as sementes de baixo e de alto vigor) incluíram entre eles o fungicida fluquinconazole, que na época da execução do trabalho era recomendado para o controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*). Atualmente o mesmo não faz parte das recomendações para TS de soja, sendo um fungicida triazol formulado com um único ativo. O tratamento testemunha absoluta refere-se às sementes não tratadas com nenhum dos produtos (químicos ou biológico), e que por isso, justifica-se nele a ausência do crescimento de colônias de *Trichoderma* nas sementes incubadas.

Os dados foram obtidos pela contagem das sementes com a presença do agente biológico; foram transformados em porcentagem e apresentados para cada um dos dois lotes de sementes utilizados nas Tabelas 7 e 8.

Tanto para as sementes de baixo vigor como as de alto vigor, observa-se que houve colonização significativa de *Trichoderma* nas sementes tratadas com o antagonista, sem a presença dos químicos; no entanto, isso ocorreu somente quando elas permaneceram armazenadas por algumas horas (tempo de 14 horas após o tratamento). Portanto, quando associado ao tratamento químico o mesmo não ocorreu. O período de armazenamento exerceu um efeito nega-

tivo na sobrevivência do agente biológico, independente da qualidade fisiológica das sementes. Já a partir do período de 14 horas, houve menor crescimento das colônias e praticamente não houve crescimento delas quando associado aos fungicidas, independente do ingrediente ativo (Tabelas 7 e 8 e Figuras 3 e 4).

Finalmente, neste trabalho, nenhuma das combinações testadas do biológico com os químicos foi positiva a ponto de justificar a prática da mistura dos produtos, principalmente com o maior tempo de exposição, constatando a queda significativa de sobrevivência do *Trichoderma*. Apesar disso, como já discutido aqui, os resultados da inibição do antagonico podem ser menos drásticos em condições de campo, por diversos efeitos relacionados a outros fatores aqui não considerados pelas condições de laboratório em que este ensaio foi executado.

Tabela 7. Sementes de soja com baixo vigor (74%): porcentagem de sementes com a presença de colônias de *Trichoderma harzianum* após o tratamento químico e/ou biológico, em diferentes períodos de armazenamento. Sementes incubadas em BOD a 25 a 26 °C e fotoperíodo de 12 horas por 7 dias.

Tratamentos	% Sementes colonizadas com <i>Trichoderma</i>			
	Períodos de armazenamento das sementes após o tratamento			
	14 horas	7 dias	15 dias	30 dias
1 - <i>Trichoderma</i>	100	78,5	56,5	19,0
2 - <i>Trichoderma</i> + Fluquinconazole	14	0	0	0
3 - <i>Trichoderma</i> + Fluquinconazole + Carboxin/Tiram	4	0	0	0
4 - <i>Trichoderma</i> + Carbendazim/Tiram	10	0	0	0
5- Testemunha absoluta	0	0	0	0

[§]Doses utilizadas em g. ou mL por 100 kg. semente: 1- *Trichoderma* (500g); 2- *Trichoderma* + fluquinconazole (500g. + 300mL); *Trichoderma* + fluquinconazole + carboxin/Tiram(500g + 300mL. + 200mL); 4- *Trichoderma* + carbendazim/Tiram (500g. + 200ml).

Tabela 8. Sementes de soja com alto vigor (92%): porcentagem de sementes com a presença de colônias de *Trichoderma harzianum* após o tratamento químico e/ou biológico em diferentes períodos de armazenamento. Sementes incubadas em BOD a 25 a 26 °C e fotoperíodo de 12 horas por 7 dias.

Tratamentos	% Sementes Colonizadas com <i>Trichoderma</i>			
	Períodos de armazenamento das sementes			
	14 horas	7 dias	15 dias	30 dias
1 - <i>Trichoderma</i>	94	90	87,5	2,0
2 - <i>Trichoderma</i> + Fluquinconazole	22	0	0	0
3 - <i>Trichoderma</i> + Fluquinconazole + Carboxin/Tiram	2	0	0	0
4 - <i>Trichoderma</i> + Carbendazim/Tiram	12	0	0	0
5- Testemunha absoluta	0	0	0	0

[§]Doses utilizadas em g. ou mL por 100 kg. semente: 1- *Trichoderma* (500g); 2- *Trichoderma* + fluquinconazole (500g. + 300mL); *Trichoderma* + fluquinconazole + carboxin/Tiram(500g + 300mL. + 200mL); 4- *Trichoderma* + carbendazim/Tiram (500g. + 200ml).

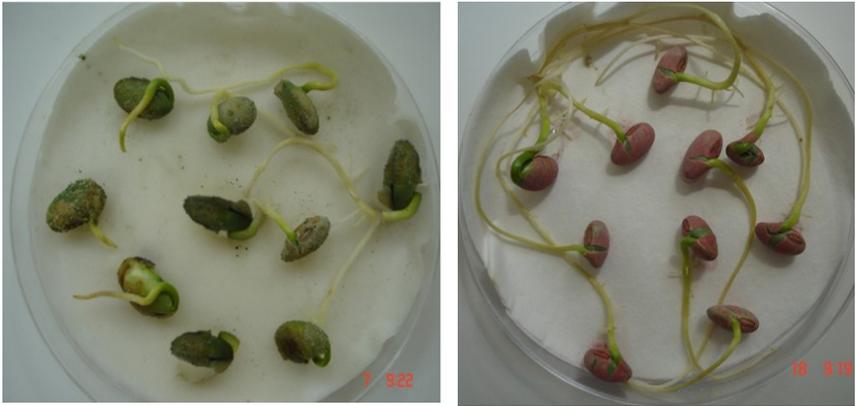


Figura 3. Sementes tratadas com *Trichoderma harzianum*, 14 horas após o armazenamento (à esquerda), e sementes tratadas com fungicida + *T. harzianum* após 7 dias de armazenamento, mostrando a ausência do agente biológico por incompatibilidade por incompatibilidade (à direita).

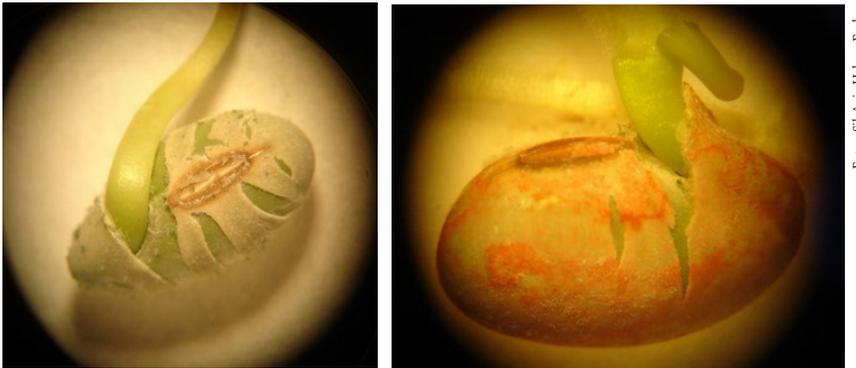


Figura 4. Detalhe de semente tratada com *Trichoderma harzianum* após 14 horas do tratamento (à esquerda) e tratada com *T. harzianum* + fungicida, armazenada por 7 dias (à direita), avaliadas pelo Bloter-test. Na primeira observam-se colônias de *Trichoderma* e na segunda sua ausência pelo uso do fungicida e/ou pelo efeito do armazenamento.

Outro experimento conduzido pelo autor (Furlan, 2008) no Instituto Biológico, refere-se à seletividade de três fungicidas, procimidone, fluazinam e azoxistrobina para dois produtos formulados à base de *Trichoderma harzianum*, um na formulação pó molhável e o outro em óleo (líquido). Foi avaliada a compatibilidade *in vitro* entre os princípios ativos e o antagonista. Os produtos foram selecionados pelo fato de serem empregados no manejo das doenças do feijoeiro, especialmente para o mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e ainda, para outros fungos de solo nesta cultura.

Foram utilizadas as concentrações de 0, 10 e 100 ppm i.a. dos fungicidas, os quais foram incorporados ao meio de BDA, distribuídos em placas de Petri, as quais após a solidificação do meio, recebeu na sua superfície uma alíquota 1,0 mL de cada um dos dois produtos biológicos, sendo ambas as formulações diluídas na mesma proporção (1×10^7 ufc/ml).

Após o período de incubação das placas, realizou-se uma avaliação qualitativa das colônias do *Trichoderma harzianum*, baseada no crescimento micelial e na esporulação, esta visualizada pela coloração típica (esverdeada), considerando-se que a testemunha (0 ppm i.a. dos fungicidas) apresentava a máxima esporulação e coloração verde intensa, típica da colônia de *Trichoderma*. Assim, atribuiu-se nas placas testemunhas sem fungicida a nota máxima, de acordo com a escala empregada, representada pelo recobrimento de toda a placa e pela coloração. As notas variaram de 1,0 a 4,0, sendo 1= ausência de esporulação e colônia esbranquiçada, 2= baixa esporulação e colônia verde claro; 3= moderada esporulação e verde escuro e 4,0= elevada esporulação e coloração verde escuro.

De acordo com os resultados (Tabela 9), as testemunhas (0 ppm i.a.) tiveram nota máxima (4,0) com esporulação abundante, havendo diferenças visuais de coloração/esporulação entre os tratamentos. Fluazinam foi o fungicida menos seletivo, apresentando as menores notas, ou seja, exerceu uma maior inibição sobre a esporulação do *Trichoderma*. Enquanto que azoxistrobina e procimidone exerceram uma menor inibição sobre as colônias de *Trichoderma*, principalmente quando este foi formulado em óleo (forma líquida) comparado à formulação WP.

Apesar da inibição do *Trichoderma* nas associações com os químicos não tenha sido completa, de acordo com as expectativas, acredita-se que no campo a ação dos produtos químicos seja ainda menos agressiva devido à influência dos fatores externos do ambiente, evitando um contato tão intenso entre o químico e o biológico. O emprego isolado do biológico possivelmente seja mais eficiente do que aquele combinado com os fungicidas aqui avaliados, ou ainda, com outros ingredientes ativos comumente empregados na cultura.

Tabela 9. Seletividade de três fungicidas (procimidone, fluazinam e azoxistrobina) a duas formulações de *Trichoderma virides*, em pó molhável e em óleo, avaliada pela intensidade de esporulação das colônias crescidas em BDA (notas de 1 a 4, onde 1= ausência de esporulação e 4 = máximo de esporulação/coloração), após 5 dias de incubação.

Formulação de <i>T. virides</i>	Intensidade de esporulação do <i>Trichoderma</i> (notas de 1 a 4)								
	concentrações dos fungicidas em ppm i.a. 0,10 e 100								
	Procimidone			fluazinam			azoxistrobina		
	0	10	100	0	10	100	0	10	100
WP	4,0	2,5	2,5	4,0	2,0	2,0	4,0	3,8	1,8
Óleo	4,0	3,0	2,7	4,0	2,2	2,0	4,0	4,0	3,5

Considerações finais

Trichoderma preferencialmente deve ser utilizado de forma isolada sem associação com os químicos no tratamento de sementes;

A compatibilidade ou a incompatibilidade está relacionada aos ingredientes ativos, mas também existe diversidade de resposta em função da espécie de isolados de *Trichoderma*;

Os estudos realizados com os principais ingredientes ativos, utilizados no tratamento de sementes das principais culturas agrícolas, demonstram maior incompatibilidade com os ingredientes ativos carbendazim, difenoconazol, fluazinam, iprodiona e tiabendazol;

A formulação de *Trichoderma* pó-molhável (WP) demonstrou uma maior resposta em relação a compatibilidade, quando comparado as formulações oleosa e suspensão concentrada (SC); assim indica-se uma preferência à formulação WP quando se busca a associação com químicos; no entanto, estas respostas podem variar de acordo com o patossistema e as diversas condições do ambiente a que é exposto.

O tempo de exposição do *Trichoderma* ao ingrediente ativo tem relação direta na incompatibilidade; dessa forma, quando for considerado o uso de *Trichoderma* com químicos em tratamento de sementes, a semeadura deve ser realizada imediatamente após essa operação;

As pesquisas de compatibilidade, na sua grande maioria, são realizadas em metodologias *in vitro* ou condições controladas, que são importantes como referência. No entanto, a resposta a campo pode diferir considerando a dispersão dos ingredientes ativos no solo e a estabilidade do agente biológico, além da influência de inúmeros fatores externos.

É necessário ainda pesquisas, considerando principalmente as distintas interações, a variabilidade de *Trichoderma*, a vasta disponibilidade de ingredientes ativos de diferentes classes, as condições de aplicações e ainda, as diversidades edafoclimáticas.

Referências

AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 17 fev. 2019.

ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; SILVA, M. C. F.; MELLO, S. C. M. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos, 2005. 30 p. (Boletim Técnico de Desenvolvimento e Pesquisa, 177).

BETTIO, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CORRÊA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. de C. do B.; BEZERRA, J. L. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. (Documentos, 88). 113 p.

BHALE, U. N.; RAJKONDA, J. N. Compatibility of Fungicides and Antagonistic Activity of *Trichoderma* spp. against plant Pathogens. *Bioscience Methods*, v. 6, n. 3, p. 1-9, 2015.

DALACOSTA, N. L. Compatibilidade de *Trichoderma harzianum* associado ao controle químico no tratamento de sementes de soja. 2019. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.

- DIAS NETO, J. A. Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematóides na cultura da soja. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul.
- GOWDAR, S. B.; RAMESH BABU, H. N.; NARGUND, V. B.; KRISHNAPPA, M. Compatibility of fungicides with *Trichoderma harzianum*. *Agricultural Science Digest*, v. 26, n. 4, p. 279-281, 2006.
- HERRERA, R.; NUNEZ, D.; ROMERO, N.; BESOAIN, X.; PEREZ, L. M.; MONTEALEGRE, J. Sensitivity of wild-type and mutant *Trichoderma harzianum* strains to fungicides. *Ciencia e Investigación Agraria*, v. 39, n. 3, p. 569-576, 2012.
- ISHIZUKA, M. S. Compatibilidade entre tratamentos químico e biológico de sementes de feijão para controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. 2016. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- KHAN, M. O.; SHAHZAD, S. Screening of *Trichoderma* species for tolerance to fungicides. *Pakistan Journal of Botany*, v. 39, n. 3, p. 945-951, 2007.
- KUMAR, R.; SINGH, S. K.; YADAV, S.; KUMAR, R.; CHOUBEY A. K.; KUMARI, A. Compatibility of *Trichoderma viride* with different fungicide and organic cake. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, v. 7, n. 2, p. 2398-2401, 2018.
- LUZ, W. C. da. Avaliação dos tratamentos biológico e químico na redução de patógenos em semente de trigo. *Fitopatologia Brasileira* v. 28, n. 1, p. 93-95, 2003.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. da; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos: norma aprovada. Wayne, c2002. (NCCLS. Documento M38-A) v. 22, n. 16. 50 p. A permissão para traduzir o M38-A foi concedida à ANVISA por CLSI.
- PANDOLFO, J. D. Associação de *Trichoderma* sp. e fungicidas no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia, Porto Alegre.
- PANDYA, J. R.; SABALPARA, A. N.; CHAWDA, S. K.; WAGHUNDE, R. R. Compatibility of *Trichoderma harzianum* with fungicides. *BIOINFOLET-A Quarterly Journal of Life Sciences*, v. 9, n. 4b, p. 695-696, 2012.
- RIBAS, P. P. Compatibilidade de *Trichoderma* spp. a princípios ativos de fungicidas comerciais aplicados na cultura do feijão. 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia, Porto Alegre.
- SILVA, A. C. F.; ROSA, C. R. E.; MELO, I. S. Sensibilidade de isolados de *Trichoderma* spp. a benomil e iprodione. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 395-399, 1999 .
- SRINIVAS, P.; RAMAKRISHNAN, G. Use of native microorganisms and commonly recommended fungicides in integrated management of rice seed borne pathogens. *Annual Plants Protect Science*, v. 10, n. 2, p. 260-264, 2002.
- ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W. S.; OLIVEIRA, S. H. F. Manejo da resistência de fungos a fungicidas. Viçosa: UFV, 2007. 168 p.

Avaliação à campo de *Trichoderma* em mofo-branco

Maurício Conrado Meyer

Hercules Diniz Campos

Murillo Lobo Junior

Introdução

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é o agente causal do mofo-branco, uma doença de importância mundial, que afeta a produtividade de inúmeras culturas como a soja [(*Glycine max* (L.) Merr.], feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), canola (*Brassica napus* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), ervilha (*Pisum sativum* L.), entre outras (Boland; Hall 1994; Lobo Junior. et al., 2000; Jaccoud Filho et al., 2017).

O patógeno produz estruturas de sobrevivência denominadas escleródios, que permanecem no solo e constituem a fonte primária de inóculo do mofo-branco. Em condições de elevada umidade do solo, temperaturas em torno de 15 e 20 °C e sombreamento do solo, os escleródios germinam, produzindo estruturas infectivas (micélio ou ascósporos) capazes de desencadear a doença nas plantas hospedeiras (Meyer et al., 2010; Peltier et al., 2012; Jaccoud Filho et al., 2017).

O manejo do mofo-branco requer a adoção conjunta de medidas culturais, uso de fungicidas e de agentes de controle biológico, com o objetivo de prevenir e controlar a doença nas plantas e de reduzir a quantidade de inóculo (Meyer et al., 2016). A redução da população de escleródios (fonte do inóculo inicial) no solo é um elemento-chave para o manejo integrado da doença.

O controle biológico de *S. sclerotiorum* ocorre principalmente pela ação de microrganismos que parasitam e degradam os escleródios no solo, reduzindo a densidade de inóculo do patógeno nas áreas infestadas. Dentre esses microrganismos, os mais amplamente utilizados

no Brasil são algumas espécies do fungo *Trichoderma* e da bactéria *Bacillus*, já havendo mais de 30 produtos registrados e disponíveis no mercado (Meyer et al., 2016; Agrofit, c2003).

A ação de *Trichoderma* spp. é extremamente dependente de condições ambientais favoráveis ao seu estabelecimento no solo, o que pode limitar sua eficiência de controle sobre os fitopatógenos (Lobo Junior. et al., 2018; Ghazanfar et al., 2018). Essa condição é a principal causa de variações nos resultados de experimentos de eficiência de biocontrole de *S. sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. (Meyer et al., 2016), conduzidos em diferentes municípios.

Outras causas de variação de resultados podem ser melhor controladas, e são relacionadas aos procedimentos de laboratório que verificam a eficiência dos tratamentos biológicos. A eficiência de agentes de biocontrole na inviabilização de escleródios de *S. sclerotiorum* na cultura da soja vem sendo avaliada desde 2012, pela rede de ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco, conduzidos por pesquisadores de diversas instituições de pesquisa e experimentação no Brasil. Este capítulo apresenta o método empregado nesses ensaios, repetidamente testada e aperfeiçoada. Aqui, é dada ênfase à padronização dos procedimentos de campo e de laboratório, para minimizar erros experimentais e garantir a robustez de resultados.

Produção de escleródios em laboratório

Os escleródios de *S. sclerotiorum* utilizados nos ensaios cooperativos são produzidos em laboratório, com o objetivo de obter escleródios livres de possíveis contaminações por agentes de controle biológicos provenientes do campo. A produção dos escleródios geralmente é feita em grãos de feijão ou em grãos de aveia, autoclavados.

Para produção de escleródios em grãos de feijão, adota-se a metodologia adaptada de Garcia et al. (2012). São utilizados frascos de vidro com tampa rosqueada tipo Schott-Duran (cap. 500 mL) ou Erlenmeyers de 250 mL, nos quais são adicionados 100 g de grãos de feijão umedecidos com 10 mL de água, autoclavando por 20 minutos a 120 °C. Após repouso de 24 horas, adiciona-se aos grãos de feijão autoclavados, cinco discos de micélio de *S. sclerotiorum* oriundos de colônias multiplicadas em meio BDA, a 24 °C, por cinco dias. Os frascos são mantidos a 20 °C, fotoperíodo de 12 horas, até a formação dos escleródios (cerca de 30 dias). Nos três primeiros dias após a repicagem dos discos de micélio de *S. sclerotiorum*, observar se há produção de micélio branco abundante, que indica a colonização dos grãos por *S. sclerotiorum*. Caso contrário, recomenda-se aumentar cuidadosamente a umidade dos grãos, adicionando de 1 a 2 mL de água destilada autoclavada, evitando-se o empoçamento de água no fundo dos frascos. Deve-se homogeneizar o crescimento micelial na massa de feijão diariamente, por meio de agitação manual cuidadosa dos frascos por 30 segundos. Caso os frascos não sejam agitados, em poucos dias há formação de uma massa compacta de micélio, grãos e posteriormente escleródios, que dificilmente são separados.

Para produção de escleródios em grãos de aveia, utiliza-se 300 g de grãos de aveia em casca, em frascos Schott-Duran (cap. 1000 mL), adiciona-se 250 mL de água, autoclavando duas vezes por 30 minutos a 120 °C, em intervalos de 24 horas. Após repouso de 24 horas, adiciona-se à aveia autoclavada, 10 discos de micélio de *S. sclerotiorum* oriundos de colônias multiplicadas em meio BDA, a 24 °C, por cinco dias. Os frascos são mantidos a 20 °C, fotoperíodo de 12 horas, até a formação dos escleródios (cerca de 25 dias). Nos três primeiros dias após a repicagem dos discos de micélio de *S. sclerotiorum*, deve-se homogeneizar o crescimento micelial na massa de feijão, por meio de agitação manual suave dos frascos por 30 segundos, a intervalos de 12 horas. Esse método pode ser adaptado, utilizando-se sacos plásticos autoclaváveis em substituição aos frascos Schott-Duran[®], visando aumentar o volume de produção de escleródios.

Instalação do ensaio a campo

Os ensaios são conduzidos em área de lavoura de soja, em sistema de semeadura direta sobre palha, com uniforme cobertura de solo com palhada de gramínea, como aveia, trigo, cevada, milheto, braquiária, etc. O delineamento experimental utilizado é o de blocos casualizados, com parcelas de seis linhas de 6 m e quatro repetições, considerando-se como parcela útil as quatro linhas de 5 m centrais.

Amostras contendo 30 escleródios são colocadas em sacos de tela de náilon com malha inferior a 1,0 mm (Figura 1) e dispostas em bandejas de isopor (tipo marmitta), com o fundo perfurado (Figura 2), para garantir a drenagem da água da chuva. As bandejas são preenchidas com solo de barranco ou subsolo ou solo autoclavado. Não é utilizado solo da lavoura para evitar contaminação com populações nativas de *Trichoderma* spp.

As bandejas são distribuídas no centro das parcelas e acomodadas de forma que metade de sua altura fique abaixo da superfície do solo. Cada bandeja receberá um saquinho de tela contendo os escleródios (Figura 3), que deverá ser levemente afundado no solo no centro da bandeja, de forma que sua face superior fique nivelada com a superfície do solo da bandeja.

Em seguida, cada bandeja receberá uma cobertura uniforme de palhada picada (Figura 4). Essa cobertura deverá ser proveniente da gramínea utilizada como cobertura de solo, devendo-se utilizar apenas as partes aéreas da mesma, que não tenham tido contato com o solo. Regar as bandejas com água, após a cobertura com palha, para a acomodação da mesma na superfície do solo e garantia de umidade para os escleródios.

Fotos: Maurício Conrado Meyer



Figura 1. Saquinhos de tela de náilon com malha inferior a 1,0 mm, contendo amostras de escleródios

Fotos: Maurício Conrado Meyer



Figura 2. Bandejas de isopor (tipo marmitta) perfuradas no fundo

Os tratamentos são aplicados com as plantas de soja em estágio V2 e V4, em dias nublados ou chuvosos, ou no final da tarde (a condição ideal é a de ocorrência de chuva logo após a aplicação). Para as pulverizações são utilizados pulverizador pressurizado por CO_2 , composto por barra com quatro pontas de jato plano e calibrado para vazão de 150 litros de calda por hectare. Entre as aplicações de cada tratamento deve-se realizar uma boa lavagem do interior do pulverizador, esgotando-se um frasco (garrafa pet) de 2,0 L de água. Essa lavagem do interior do equipamento de pulverização deve ser realizada fora da área do ensaio, com direção do vento contrária ao experimento.



Fotos: Maurício Conrado Meyer

Figura 3. Posicionamento da amostra de escleródios na bandeja



Fotos: Maurício Conrado Meyer

Figura 4. Cobertura das bandejas com palhada de gramínea

Avaliação da viabilidade dos escleródios

O efeito dos tratamentos de biocontrole sobre a viabilidade de escleródios de *S. sclerotiorum* é avaliado pelos pesquisadores que conduzem os ensaios, em seus respectivos laboratórios, para evitar possível interferência do transporte nos resultados.

As amostras de escleródios são recolhidas aos 20 dias após a última aplicação de biofungicidas, quando a soja se encontra entre os estádios V6 e V7 de desenvolvimento, acondicionando-se individualmente cada saquinho de tela em sacos de papel devidamente limpos, identificados e imediatamente encaminhadas ao laboratório.

Germinação carpogênica, colonização por *Trichoderma* spp. e viabilidade dos escleródios

As avaliações de viabilidade dos escleródios são realizadas em caixas de acrílico tipo Gerbox transparente (11 x 11 x 3,5 cm), contendo aproximadamente 200 g de solo de barranco autoclavado, umedecido até atingir 90% da capacidade de campo. São avaliados todos os 30 escleródios de cada amostra (120 escleródios por tratamento).

Em cada caixa Gerbox os escleródios são dispostos em esquema 6 X 5 na superfície do solo, fazendo-se uma leve pressão para que se acomodem e mantenham a mesma posição (Figura 5). Não é feita nenhuma assepsia dos escleródios, mas as caixas devem ser cobertas com suas devidas tampas. Tampas arranhadas ou foscas devem ser evitadas, pois a formação de apotécios precisa de luz. Em seguida, as caixas Gerbox são incubadas em câmaras com temperatura de 19 °C (± 2 °C) e fotoperíodo de 12 horas (duas lâmpadas fluorescentes brancas de 20W ou LED de 9W e uma lâmpada de luz negra 15W). É importante padronizar a iluminação no ambiente de incubação, de modo que todas as caixas com escleródios recebam a mesma intensidade luminosa. Esta padronização pode ser feita contando-se com lâmpadas da mesma idade, sendo que lâmpadas fluorescentes brancas podem ser substituídas por lâmpadas LED. A germinação carpogênica deverá começar num período de 20 a 30 dias com a formação de estipes, e de apotécios normalmente a partir dos 40 dias, quando então as leituras deverão ser realizadas (Figura 6).

Parâmetros avaliados:

- Percentual de germinação carpogênica (escleródios com apotécios ou estipes);
- Percentual de escleródios colonizados por *Trichoderma* spp. (avaliação visual);
- Percentual de escleródios inviáveis (podres) - apertar com pinça para avaliar se estão íntegros (firmes) ou podres (moles). Considerar os podres como inviáveis.

Fotos: Maurício Conrado Meyer

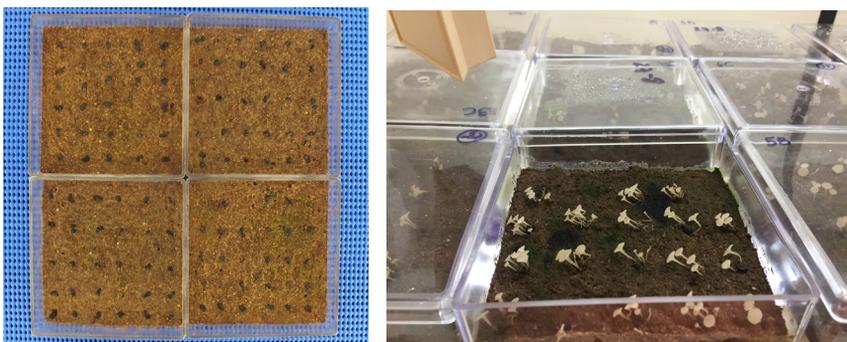


Figura 5. Acondicionamento dos escleródios em gerbox com solo umedecido a 90% da capacidade de campo, incubados a 19 °C (± 2 °C) e fotoperíodo de 12 horas



Figura 6. Aspectos da análise de viabilidade de escleródios sadios (esquerda da linha vermelha) e colonizados por agentes de biocontrole (direita da linha vermelha)

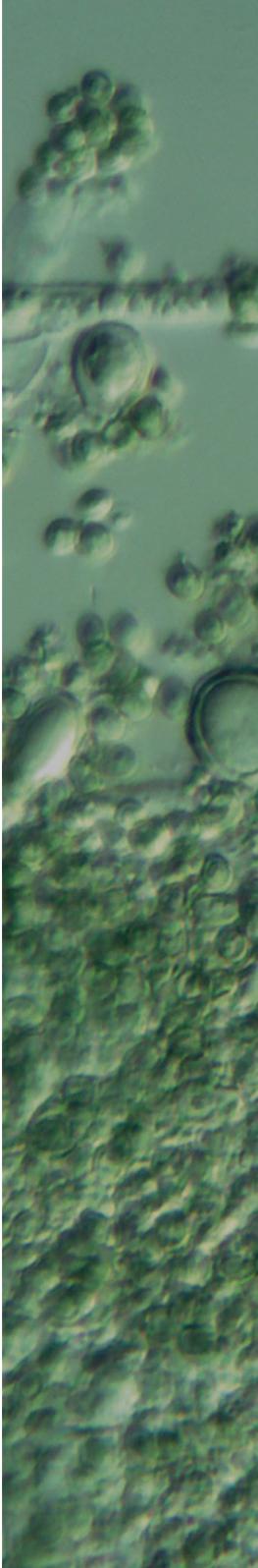
Germinação miceliogênica

A avaliação da capacidade de germinação miceliogênica dos escleródios não é mais realizada nos ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco em soja desde 2015, pois os resultados constantemente indicam não haver redução desse tipo de germinação em função dos tratamentos com biofungicidas. Esse fato revela que um mínimo de reserva remanescente nos escleródios, mesmo que parasitados por *Trichoderma* spp. é suficiente para gerar micélio de *S. sclerotiorum*. Entende-se, inclusive, que a germinação miceliogênica tem pouca importância epidemiológica na cultura da soja.

Para as avaliações de germinação miceliogênica são utilizados 20 escleródios por amostra (80 escleródios por tratamento), não desinfestados para não interferir na avaliação da incidência de *Trichoderma* spp. Posteriormente, os escleródios são depositados em placas de Petri (cinco escleródios por placa), contendo meio de cultura BDA modificado para uma concentração reduzida em 1/3 dos ingredientes batata e dextrose, acidificado com ácido láctico para pH 4,0 (BDA pobre acidificado). Ao meio ainda fundente é adicionado 250 μ l de dispersante Triton e 0,2 g de antibiótico oxitetraciclina (pode ser substituído por estreptomicina), por litro de meio. As placas com os escleródios são incubadas a 23 °C e ausência de luz, sendo a primeira avaliação realizada aos cinco dias após o início da incubação e, a segunda, aos 10 dias. A germinação miceliogênica dos escleródios é expressa em percentual de escleródios que geraram micélio de *S. sclerotiorum*. Pode-se ainda avaliar o percentual de escleródios colonizados por *Trichoderma* spp. e a integridade dos escleródios (% de escleródios inviáveis).

Referências

- AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: Mapa, c 2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: abr. 2019.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 16, p. 93-108, 1994.
- GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; CASSEMIRO, T. A. produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em meio de cultura. *Bioscience Journal*, v. 28, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2012.
- GHAZANFAR, M. U.; RAZA, M.; RAZA, W.; QAMAR, M. I. Trichoderma as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. *Plant Protection*, v. 2, n. 3, p. 109-135, 2018.
- JACCOUD FILHO, D. S.; NASSER, L. C. B.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; JULIATTI, F. C. Mofo-branco: introdução, histórico, situação atual e perspectivas. In: JACCOUD FILHO, D. S.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G. (Eds.). **Mofo-branco**. Ponta Grossa: Todapalavra, 2017. p. 29-73.
- LOBO JUNIOR, M.; LOPES, C. A.; SILVA, W. L. C. Sclerotinia rot losses in processing tomatoes grown under centre pivot irrigation in central Brazil. *Plant Pathology*, v. 49, p. 51-56, 2000.
- LOBO JUNIOR, M.; SILVA-ABUD, L. L. S.; SANTOS-GOULART, P. F.; MACEDO, R.; TOLEDO-SOUZA, E. D. Panorama da pesquisa com patógenos radiculares no Brasil. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. (Ed.). **Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2018. p. 17-34.
- MEYER, M. C.; FERREIRA, L. C.; BAYLÃO, B. S. G.; COSTA, N. B.; GUERZONI, R. A.; PIMENTA, C. B.; NUNES JÚNIOR, J.; VENANCIO, W. S. Influência do nível de água no solo sobre a germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Tropical Plant Pathology*, v. 35 p. S153, 2010. Suplemento.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. (Eds.). **Ensaio cooperativos de controle biológico de mofo branco na cultura da soja - safras 2012 a 2015**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 46 p. (Embrapa Soja, Documentos, 368).
- PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of Sclerotinia Stem Rot of Soybean. *Journal of Integrated Pest Management*, v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1603/IPM11033>.

A vertical strip on the left side of the page shows a microscopic view of biological cells. The cells are mostly spherical or oval in shape, with some showing distinct internal structures like nuclei and membranes. The overall color is a pale, greenish-yellow, typical of a light micrograph of stained tissue or cells.

PARTE IV
APLICAÇÕES

Uso do *Trichoderma* na cultura do arroz

Gisele Barata da Silva
Marcela Cristiane Ferreira Rêgo
Suenny Kelly Santos de França
Thatyane Pereira de Sousa
Adriano Stephan Nascente
Anna Cristina Lanna
Marta Cristina Corsi de Filippi
Alan Carlos Alves de Souza
Gustavo Bezerra Andrade

Introdução

O arroz é um dos alimentos mais importantes do mundo, visto que é a principal fonte alimentar para a metade da população mundial e responsável por 25% a 80% do fornecimento das calorias na dieta diária; portanto, considerado uma cultura essencial para a segurança alimentar (Walter et al., 2008; Serraj et al., 2009). Agronomicamente, a espécie *Oryza sativa* é a mais bem-sucedida das espécies cultivadas (Ouko, 2003), sendo classificada nas subespécies *indica* e *japonica*, as quais se diferenciam pela adaptação a diferentes fatores ambientais, tais como fotoperíodo e condições de umidade e temperatura (Cheng et al., 2002). Após muitos anos de melhoramento genético, existe atualmente uma diversidade de genótipos adaptados aos diferentes regimes hídricos (Degenkolbe et al., 2013; Terra et al., 2013), o que resultou na classificação de três tipos principais de ecossistemas para o seu cultivo: irrigado por inundações com controle de lâmina de água, irrigado por inundações sem controle de lâmina de água e terras altas com ou sem irrigação, com representatividade de 75%, 19% e 4% de produção de arroz, respectivamente, sendo a área cultivada total de 150 milhões de hectares em nível mundial (Kikuta et al., 2016).

No Brasil, grande parte das lavouras de arroz de terras altas está localizada nas regiões dos Cerrados, que se concentram, principalmente, nos Estados de Mato Grosso, Goiás, Tocantins, Roraima, Pará e Maranhão (Guimarães et al., 2006; Oliveira Neto, 2015). Entre os anos de 2006 e 2016, o arroz de terras altas reduziu sua área de cultivo em 65% (1.613.894 para 563.941 hectares) e a produção em 62% (2.835.877 para 1.091.343 toneladas); contudo aumentou a produtividade em 10% (1.757 para 1.935 kg ha⁻¹). Para o arroz irrigado, os Estados do Rio

Grande do Sul e Santa Catarina, são os principais produtores, mas também existem áreas de cultivo no Tocantins. Entre os anos de 2006 e 2016, o arroz irrigado aumentou sua área em 4% (1.319.274 para 1.375.129 hectares); produção em 11% (8.597.497 para 9.550.454 toneladas) e a produtividade em 6,5% (6.517 para 6.945 kg ha⁻¹) (Embrapa Arroz e Feijão, 2015).

As doenças na cultura do arroz

A cultura do arroz em todas as fases de desenvolvimento está sujeita ao ataque de doenças que reduzem a produtividade e a qualidade dos grãos. A prevalência e a severidade das doenças dependem da presença de patógeno virulento, ambiente favorável e da suscetibilidade da cultivar. Existem mais de 80 doenças causadas por patógenos, registradas em diferentes países. No Brasil, o número exato de doenças do arroz ainda não está definido, sendo que algumas delas, que ocorrem em escala menor, não foram relatadas.

Dentre as doenças que ocorrem na cultura do arroz, a brusone, causada por *Magnaporthe oryzae* se destaca pela complexa biologia do patógeno, caracterizada pela variabilidade natural encontrada nas populações deste patógeno e pela rapidez com que se adapta ao hospedeiro resistente. Cultivares de arroz geneticamente melhoradas para resistência a *M. oryzae* são rapidamente sucumbidas por raças do patógeno, previamente em baixa frequência. O cultivo de arroz em áreas extensas, sob condições de alta pressão requer a inserção de agentes biológicos no manejo. Agentes biológicos exercem múltiplas funções, como a promoção do crescimento, a indução de resistência e o antagonismo contra fitopatógenos. Agentes biológicos, ao contrário da maioria das moléculas de defensivos químicos, possuem diferentes modos de ação, com funções distintas que agem em sinergia, dificultando o surgimento de isolados resistentes em uma população de fitopatógenos, além de auxiliar no manejo de resistência de doenças à fungicidas.

Outra doença de importância econômica para a cultura do arroz é a queima-das-bainhas, causada por *Rhizoctonia solani*, representando um dos fatores limitantes para a produção de arroz. A dificuldade de controlar a doença está na capacidade do patógeno de formar escleródios, sua ampla gama de hospedeiros e a falta de cultivares de arroz resistentes. O controle da doença requer a aplicação foliar de fungicidas, o que incorre no aumento do custo de produção, além de causar preocupação ambiental (Prabhu et al 2002; Araújo et al., 2006).

O controle biológico e as doenças do arroz

O uso de agentes de biocontrole, pode ser uma alternativa viável para tornar o manejo fitossanitário da cultura do arroz mais equilibrado e favorecer a redução no uso de insumos químicos agrícolas, principalmente no controle de pragas e doenças. Dentre os agentes de biocontrole, destaca-se o fungo do gênero *Trichoderma*, que vem sendo utilizado como in-

gradiente ativo em diversos produtos agrícolas comercializados no mundo (Woo et al., 2014), uma vez que produz múltiplos efeitos benéficos nas plantas (Harman et al., 2004), dentre os quais a redução de estresses abióticos e o biocontrole de doenças (Lorito; Woo, 2015).

Estudos conduzidos em laboratório e a campo com *Trichoderma* sp., realizados com diversas culturas, têm mostrado redução de sintomas causados por estresses abióticos, como por exemplo deficiência hídrica, nutrientes e salinidade (Mastouri et al., 2012; Brotman et al., 2013; Sofo et al., 2014; Fiorentino et al., 2018). A melhoria no desenvolvimento da planta, aumento da taxa de emergência das plântulas, sistema radicular, parte aérea, conteúdo de clorofila, produtividade, tamanho e/ou número de flores e/ou frutos (Harman et al., 2004; Hermosa et al., 2012; Studholme et al., 2013; Mendoza-Mendoza et al., 2018). Em particular, modificações no sistema radicular aumentam a área de absorção, favorecendo a assimilação e a translocação de nutrientes, que por consequência, intensifica a biomassa vegetal (Samolski et al., 2012). O efeito de promotor de crescimento vegetal é também atribuído ao papel de *Trichoderma* sp. na solubilização de fosfato e micronutrientes (Altomare et al., 1999), mediado pela liberação de sideróforos e metabólitos secundários (Vinale et al., 2008; Spaepen, 2015), ou por modificações no conteúdo de etileno e auxina (Hermosa et al., 2013; Contreras-Cornejo et al., 2015) os quais estimulam o desenvolvimento das plantas.

Como agente de biocontrole, *Trichoderma* sp. produz uma gama de metabólitos secundários, parasitam outros fungos e, no solo, competem com os demais fitopatógenos por exsudados, liberados pelas sementes e raízes, e por espaço, e ainda inibem, ou degradam pectinases e outras enzimas, que, ou são componentes essenciais da parede celular de fungos fitopatogênicos, ou são compostos importantes para induzir resistência em plantas (Shoresh et al., 2005; Vinale et al., 2008). Informações adicionais referentes aos mecanismos de ação *Trichoderma* sp. sobre os fungos fitopatogênicos poderão ser encontrados no Capítulo 4. No controle das doenças do arroz, a utilização de *Trichoderma* spp. como agente biológico tem se mostrado eficiente, principalmente se inserido no manejo integrado de doenças.

Controle biológico de brusone

No Brasil, estudos vêm sendo conduzidos na Embrapa Arroz e Feijão visando caracterizar a interação de *Trichoderma asperellum* e *M. oryzae*, em condições de laboratório e casa de vegetação. Em condições de laboratório, foi verificada a produção de metabolitos voláteis e não voláteis, sua termoestabilidade, a inibição do crescimento micelial, da germinação conidial e formação de apressórios, a atividade de quitinase (CHI), β 1-3 glucanase (GLU) e protease (PRO), durante o co-cultivo de *T. asperellum* e *M. oryzae*, bem como com o cultivo de *T. asperellum* contendo como substrato a parede celular de *M. oryzae*. *T. asperellum* apresentou potencial e inibição do crescimento micelial de *M. oryzae*.

A inibição da germinação de conídios de *M. oryzae* em contato com conídios de *T. asperellum* foi verificada após 4 a 6 horas (Sousa, 2018). Nguyen et al. (2016) verificaram que a germinação de esporos e a formação de apressório foi completamente suprimida com a utilização de extrato do fermentado de *Trichoderma* sp. isolado H921. Os mesmos autores sugeriram que o extrato possui algumas substâncias antifúngicas que poderão ser promissoras candidatas para o controle da brusone foliar do arroz.

Em condições de casa de vegetação, em plantas de arroz da cultivar BRS Primavera, avaliou-se a supressão da brusone em dois experimentos: 1) aplicação simultânea de *M. oryzae* (suspensão de conídios) e a mistura dos isolados UfraT06, UfraT09, UfraT12 e UfraT52 de *T. asperellum* (suspensão de conídios ou fermentado filtrado); 2) e aplicação curativa da mesma mistura de isolados de *T. asperellum*. A aplicação dos isolados de *T. asperellum* UfraT06, UfraT09, UfraT12 e UfraT52, juntamente com a inoculação do patógeno, tanto em suspensão de conídios como o filtrado de cada isolado, foram eficientes em suprimir o desenvolvimento de brusone foliar diferindo significativamente quando comparado com o tratamento controle. A suspensão de conídios do isolado UfraT52 e o filtrado do isolado UfraT12 reduziram em 94,7 % e 93,5 % da severidade da brusone foliar, respectivamente. Avaliando o controle da brusone foliar em aplicação curativa, os isolados reduziram a severidade da doença, sendo a maior redução observada quando as plantas foram tratadas com o isolado UfraT09 às 24 h e 48 h após inoculação de *M. oryzae*.

Do ponto de vista bioquímico, avaliando *T. asperellum*, durante o co-cultivo com *M. oryzae*, detectou-se que a atividade de β -1,3-Glucanase (GLU) foi crescente e a de Chitinase (CHI) decrescente. A maior atividade de GLU e CHI, foi verificado às 24h, quando *T. asperellum* foi cultivado em meio de cultura juntamente com a parede celular do patógeno. Quando *T. asperellum* e *M. oryzae* foram transferidos simultaneamente para crescimento em co-cultivo, a maior atividade de GLU foi observada às 48 h e, após 72 h, todos os isolados apresentaram baixa atividade enzimática de CHI. Os resultados *in vitro* evidenciaram o potencial de *T. asperellum* em competir, produzir toxinas e enzimas líticas, quando confrontados com *M. oryzae*.

Trichoderma spp. produzem uma ampla variedade de metabólitos secundários de baixo peso molecular que desempenham um papel importante na sinalização durante a interação com outros microrganismos (Vinale et al., 2008; Lorito et al., 2010; Mukherjee et al. 2012). Um passo importante na pesquisa com *Trichoderma* spp. será, posteriormente, a identificação dos compostos capazes de inibir o crescimento micelial, a germinação dos conídios e formação de apressórios de *M. oryzae*.

Além do controle da brusone, os autores Silva et al. (2012) e França et al. (2015) verificaram que isolados de *T. asperellum* foram eficientes no controle da queima da bainha, em casa de vegetação e campo.

Controle biológico da queima-da-bainha

Estudos conduzidos pela Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) avaliando o tratamento de escleródios de *R. solani* com os isolados UfraT06, UfraT09, UfraT12 e UfraT52 de *T. asperellum*, demonstraram a eficiência na redução do crescimento micelial do patógeno, entretanto, *T. asperellum* não inibiu a germinação dos escleródios. Os isolados avaliados de *T. asperellum* foram considerados altamente antagonísticos, por reduzirem o crescimento micelial de *R. solani* em até 75% por antagonismo direto e, em 35% pela produção de compostos voláteis.

Em condições de campo, avaliando os sistemas de plantio, verificou-se que plantas de arroz tratadas com a mistura dos isolados UfraT06, UfraT09, UfraT12 e UfraT52 de *T. asperellum* apresentaram aumento de produtividade em experimentos conduzidos por semeadura direta e transplantio. No experimento realizado por meio semeadura direta, a produtividade foi superior no tratamento com a mistura dos quatro isolados de *T. asperellum*, quando comparado com os demais tratamentos, proporcionando um incremento de 34,3% na massa de 100 grãos e de 41,4% em produtividade do arroz em relação ao tratamento controle. No experimento de transplantio, houve incremento do tratamento com a mistura dos quatro isolados de *T. asperellum* somente em relação ao controle, sendo de 18,5% na massa de 100 grãos e de 25,9% para a produtividade. Estes dados demonstram o potencial da utilização de *T. asperellum* no controle biológico da queima da bainha, causada por *R. solani*.

Promoção de crescimento em plantas de arroz

As informações indicam que *Trichoderma* spp. não são microrganismos endofíticos frequentemente associados em plantas de arroz. Mesmo assim, observa-se que, quando em interação com plantas de arroz ocorre uma comunicação multicelular entre raízes e parte aérea, por meio da liberação de auxinas, peptídeos, metabólitos voláteis e não voláteis, que promovem ramificação radicular e aumentam a capacidade de absorção de nutrientes, aumentando o crescimento e a produção das plantas.

Investigações científicas com *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento de arroz iniciaram-se em 2008 com a caracterização de 120 isolados do banco de isolados fúngicos da UFRA. Os isolados foram coletados na Base da Petrobras em Urucu, município de Coari, Estado do Amazonas, em áreas nativas e antropizadas pela exploração petrolífera, em área de terra firme. Durante a caracterização *in vitro* desta coleção, quatro isolados se sobressaíram e foram identificado como produtores de fosfatase, celulase e AIA, em condições de laboratório. Em ensaios conduzidos em condições de casa de vegetação, plantas de arroz, semeadas em vaso e tratadas com os isolados UfraT06, UfraT09, UfraT12, UfraT52, apresentaram um incremento de 61% e 33% em biomassa da parte aérea e da parte radicular, respectivamente (Silva et al.

2012). Posteriormente, Sousa (2018) identificou os isolados como *T. asperellum*.

Com o objetivo de verificar os efeitos desses isolados selecionados em condições de casa de vegetação, França et al. (2015) conduziram dois ensaios em condições de várzea tropical inundada naturalmente, durante duas safras consecutivas, sendo um em sistema de semeadura direta (E1) e o outro em sistema de transplantio (E2), utilizando-se a cultivar de arroz BRS Tropical. Em E1, as sementes de arroz foram tratadas com uma mistura dos isolados UfraT06, UfraT09, UfraT12, UfraT52, seguido de duas aplicações foliares. O uso da mistura dos isolados de *T. asperellum* promoveu incremento em 13% no comprimento das panículas, 46% na massa de grãos por panícula, 52% na massa de 100 grãos e 71% na produtividade. No ensaio E2, as plantas que foram pulverizadas com a mistura dos quatro isolados, apresentaram o incremento nos parâmetros comprimento das panículas em 11%, 38% no número de grãos por panícula, 40% na massa de grãos por panícula, 23% na massa de 100 grãos e em 35% na produtividade. Portanto, verificou-se que a mistura dos isolados de *T. asperellum*, quando aplicada via tratamento de sementes, seguido de aplicações foliares, foi eficiente em aumentar a produtividade do arroz em várzea tropical, e pode constituir uma alternativa para produção orgânica e para a redução da utilização de insumos químicos.

Alterações histológicas e bioquímicas

A caracterização de alterações histológicas e bioquímicas resultantes de interações entre o *Trichoderma* sp e as plantas de arroz é importante para entender os mecanismos e processos envolvidos na interação entre microrganismo e hospedeiro (Rêgo et al., 2014). *Trichoderma* spp. promove modificações nas raízes da plantas que resultam em respostas fisiológicas positivas, que podem estar associadas a mudanças na sinalização das vias dos fitohormônio, como por exemplo o ácido indol-3-acético (AIA), resultando em aumentos da área de superfície, do número de raízes e de pelos absorventes. Mantelin; Touraine (2004) sugerem que o aumento do sistema radicular induzido por *T. asperellum*, ocorre devido ao aumento na translocação de íons via estimulação da enzima ATPase e da bomba de prótons. Os ganhos registrados em raízes de arroz, induzidos pelo tratamento com *T. asperellum* são relevantes para os sistemas de produção de arroz de terras altas, visto que neste sistema de cultivo, o desenvolvimento inicial da planta é lento. Acredita-se que esta limitação é uma consequência da baixa eficiência na absorção de nitrogênio, na forma de NO_3^- sendo que na forma NH_4^+ a eficiência de absorção é maior (Araújo, 2004). O nitrogênio influencia a formação de raízes nos tecidos meristemáticos da região de alongação das raízes (Chen et al., 2013). Rêgo et al. (2014) identificaram e descreveram as alterações morfoanatômicas em raízes de arroz, quando tratadas com a mistura dos isolados de *T. asperellum* UfraT06, UfraT09, UfraT12 e UfraT52. O aumento no comprimento e na massa seca radicular foi de 57% e 56% respectivamente, e o aumento no diâmetro

radicular iniciou-se a partir do 15º dia após a semeadura atingindo incremento de 30% no 21º dia. Foi verificado o aumento do diâmetro do cilindro vascular, das áreas de lacunas de aerênquima, da espessura da endoderme e exoderme, dos vasos condutores do protoxilema e nos elementos de vasos de metaxilema.

Nascente et al. (2017) avaliaram a aplicação de rizobactérias e mistura de isolados de *T. asperellum* em arroz de terras altas na cultivar BRS Primavera CL, e verificaram que as plantas de arroz tratadas com rizobactérias e *T. asperellum*, isolados UfraT06, UfraT09, UfraT12 e UfraT52 apresentaram, em média, os maiores valores de taxa fotossintética e biomassa de matéria seca da parte aérea, quando comparado com o tratamento controle.

Modulação da expressão gênica de plantas de arroz por *T. asperellum*

A interação de plantas com *Trichoderma* sp. resulta em rápida indução sistêmica de genes relacionados à defesa (Contreras-Cornejo et al., 2011; Salas-Marina et al., 2011). Durante a interação benéfica *Trichoderma*-planta a sinalização é constituída pela expressão de genes relacionados às vias de defesa de ácido jasmônico (JA) / etileno (ET) e/ou ácido salicílico (AS) que podem se sobrepor, dependendo do isolado, como a espécie e concentração, e do hospedeiro, como o estágio de desenvolvimento da planta, e também do tempo de duração da interação (Hermosa et al., 2012). Para o arroz, muitos autores mostraram que agentes biológicos, como por exemplo rizobactérias, podem ativar a resposta de defesa, por vias de sinalização hormonal e atividade proteica relacionada ao estresse (Vleeschauwer et al., 2006, 2009; Chithrashree et al., 2011; Sousa et al., 2018).

Entretanto, o entendimento dos mecanismos de defesa resultantes da indução de resistência às doenças do arroz ainda é incipiente (Vleeschauwer et al., 2009; Balmer et al., 2013). Os autores verificaram que plantas de arroz tratadas com *T. asperellum* + *M. oryzae*, apresentaram incremento na expressão do gene *LOX-RLL*, acompanhado pela redução da severidade da brusone foliar, indicando que as vias induzidas por este gene levam ao aumento dos mecanismos de defesa em plantas de arroz contra *M. oryzae*. O gene *LOX-RLL* está associado principalmente à via do JA. O agente de biocontrole *T. asperellum* é citado na literatura como modulador da expressão de genes de defesa, durante a interação com uma ampla gama de espécies hospedeiras, incluindo monocotiledôneas (Contreras-Cornejo et al., 2011; Salas-Marina et al., 2011; Morán-Diez et al., 2009; Sharma et al., 2017).

Associação de *T. asperellum* com silicato de cálcio e magnésio e com as rizobactérias

No biocontrole de doenças, os agentes de controle biológico associados a aplicação de silício atuam em diferentes mecanismos de resistência a patógenos. Os fungos do gênero *Trichoderma* promotores de crescimento ativam mecanismos responsáveis pela competição por

nutrientes e na antibiose a fitopatógenos, através da produção de substâncias antimicrobianas, como fitoalexinas e proteínas relacionadas a patogênese (PRP's) (Brotman et al., 2010; Ramamoorthy et al., 2001), resultando na indução de resistência sistêmica (ISR) (Van Loon; Pieterse, 2006; Van Loon, 2007). O silício é estudado como um elemento eficiente para a proteção de plantas contra pragas e doenças em muitas espécies, inclusive no arroz (Prabhu et al., 2001). Até então, os resultados indicam que seu efeito protetor advém da absorção radicular de ácido monossilícico e deposição na forma de sílica amorfa na parede celular em plantas de arroz (Yoshida, 1965).

Sousa et al. (2018), verificaram que a severidade de brusone foliar foi menor no tratamento constituído por sementes de arroz microbiolizadas com a mistura de isolados UfraT06, UfraT09, UfraT12 e UfraT52 de *T. asperellum*, seguidos da pulverização foliar de plantas com *Pseudomonas fluorescens*, isolado BRM 32111. O ensaio foi instalado em solo previamente adubado com 2,0 t SiCaMg.ha⁻¹. Na literatura existem alguns relatos sobre a atuação do silício e de bioagentes no sistema bioquímico de defesa de plantas de arroz (Rodrigues; Datnoff, 2005; Silva et al., 2011; Datnoff, 2012). Os tratamentos contendo plantas tratadas com a misturas de *T. asperellum* e adubadas previamente ao plantio com 2,0 t SiCaMg.ha⁻¹ apresentaram aumento na atividade de CHI, GLU, POX (peroxidase), FAL (fenilalanina amônia liase) e no teor de AS, mesmo na ausência de *M. oryzae* (Cortes et al., 2015), corroborando com os resultados de Cruz et al. (2013), que observaram o aumento da atividade enzimática de FAL, CHI, GLU e Polifenoloxidase em plantas de soja nutridas com silicato de cálcio, na ausência de *Phakopsora pachyrhizi*. Após 48 horas do desafio com *M. oryzae*, observou-se o efeito do silício, quando combinado com os bioagentes no aumento da atividade de CHI e GLU.

Aumento significativo na matéria seca de raiz (194%) e foliar (189%) foi verificado em plantas de arroz tratadas com adubação silicatada e bioagentes, a combinação da adubação com SiCaMg com os bioagentes, foi verificado o aumento significativo na matéria seca da raiz (194%) e da foliar (189%) quando comparado às plantas controle.

Em condições de campo, a utilização da combinação de microrganismos associada a adubação à base de silicato de cálcio e magnésio, os autores verificaram a redução da severidade de brusone nas folhas e nas panículas, redução da incidência de brusone nas panículas, incremento em biomassa, número de perfilhos e produtividade do arroz (Souza, 2018).

Considerações finais

A utilização de agentes de biocontrole, destacando-se *T. asperellum*, apresenta potencial de utilização em cultivo de arroz em condições irrigadas, inundadas e de terras altas. Dados de pesquisas conduzida no Brasil demonstram o efeito benéfico no manejo de doenças como brusone (*M. oryzae*) e queima-da-bainha (*R. solani*), por antagonismo e por indução de re-

sistência, além de propiciar a promoção de crescimento e o incremento de produtividade na cultura do arroz.

Adicionalmente, estudos com a combinação de *T. asperellum* e a adubação com silicato de cálcio e magnésio vem apresentando resultados promissores em diferentes condições de cultivo, podendo ser também uma possibilidade de melhoria do manejo de doenças.

Desvendar o papel benéfico que *Trichoderma* spp. exerce nas interações entre plantas e patógenos é a missão desafiadora da pesquisa científica. Portanto, as investigações devem continuar visando elucidar esta complexa interação entre planta de arroz e *Trichoderma* spp., resultando consequentemente, na promoção do crescimento, na supressão de doenças, na indução da resistência e no incremento em potencial produtivo.

Referências

- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- ARAÚJO, J. L. **Atividade da redutase do nitrato sobre o crescimento e a produção de arroz**. 2004. 62 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ARAÚJO, L. G.; PRABHU, A. S.; SILVA, G. B. Método de perfislos únicos para estimar os danos causados pela queima-da-bainha nos componentes de produtividade do arroz. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 199-202, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000200014>.
- BALMER, D.; PLANCHAMP, C.; MAUCH-MANI, B. On the move: induced resistance in monocots. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1249-1261, 2013. DOI: 10.1093/jxb/ers248.
- BROTMAN, Y.; GUPTA, J. K.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v. 20, n. 9, p. 390-391, 2010.
- BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; CUADROS-INOSTROZA, Á.; TOHGE, T.; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VITERBO, A.; WILLMITZER, L. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLoS Pathogens**, v. 9, n. 4, e1003221, 2013. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003221.
- CHEN, G.; GUO, S.; KRONZUCKER, H. J.; SHI, W. Nitrogen use efficiency (NUE) in rice links to toxicity and futile NH₄ cycling in roots. **Plant and Soil**, v. 369, n. 1-2, p. 351-363, 2013.
- CHENG, C.; MOTOHASHI, R.; TSUCHIMOTO, S.; FUKUTA, Y.; OHTSUBO, H.; OHTSUBO, E. Polyphyletic origin of cultivated rice: based on the interspersed pattern of SINEs. **Molecular Biology and Evolution**, v. 20, n. 1, p. 67-75, 2002. DOI: 10.1093/molbev/msg004.
- CHITHRASHREE, A. C.; UDAYASHANKAR, S.; CHANDRA, N. S.; REDDY, M. S.; SRINIVAS, C. Plant growth-promoting rhizobacteria mediate induced systemic resistance in rice against bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. **Biological Control**, v. 59, n. 2, p. 114-122, 2011. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2011.06.010.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; LÓPEZ-BUCIO, J. S.; MÉNDEZ-BRAVO, A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; RAMOS-VEGA, M.; GUEVARA-GARCÍA, Á. A.; LÓPEZ-BUCIO, J. Mitogen-activated protein kinase 6 and ethylene and auxin signaling pathways are involved in *Arabidopsis* root-system architecture alterations by *Trichoderma atroviride*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 28, n. 6, p. 701-710, 2015. DOI: 10.1094/MPMI-01-15-0005-R.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; BELTRÁN-PEÑA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal and camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 10, p. 1554-1563, 2011. DOI: 10.4161/

psb.6.10.17443.

CORTES, A. C. A.; SOUZA, M. V. de B.; SILVA, G. B. da; SOUSA, T. P. de; RODRIGUES, F. A.; FILIPPI, M. C. C. Enzyme-induced defense response in the suppression of rice leaf blast (*Magnaporthe Oryzae*) by silicon fertilization and bioagents. **International Journal of Research Studies in Biosciences**, v. 3, n. 5, p. 22-32, 2015.

CRUZ, M. F. A.; RODRIGUES, F. A.; POLANCO, L. R.; CURVÊLO, C. R. S.; NASCIMENTO, K. J. T.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Inducers of resistance and silicone on the activity of defense enzymes in the soybean-*Phakopsora pachyrhizi* interaction. **Bragantia**, v. 72, n. 2, p. 162-172, 2013.

DATNOFF, L. E. Differential gene expression of rice in response to silicon and infection by *Magnaporthe oryzae*. In: RODRIGUES, F. A.; FORTUNATO, A. A.; RESENDE, R. S. (Ed.). **Indução de resistência a patógenos**. Viçosa, MG: UFV, 2012. p. 227-238.

DEGENKOLBE, T.; DO, P. T.; KOPKA, J.; ZUTHER, E.; HINCHA, D. K.; HÖHL, K. I. Identification of drought tolerance markers in a diverse population of rice cultivars by expression and metabolite profiling. **Plos One**, v. 8, n. 5, e63637, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0063637.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Bases de dados conjunturais de arroz e feijão**: série histórica de 1985 a 2018. Santo Antonio de Goiás, 2015. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 21 fev. 2019.

FIorentino, N.; VENTORINO, V.; WOO, S. L.; PEPE, O.; DE ROSA, A.; GIOIA, L.; ROMANO, I.; LOMBARDI, N.; NAPOLITANO, M.; COLA, G.; ROUPHAEL, Y. Trichoderma-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve N uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 743, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.00743.

FRANÇA, S. K. S.; CARDOSO, A. F.; LUSTOSA, D. C.; RAMOS, E. M. L. S.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 1, p. 317-324, 2015. DOI: 10.1007/s13593-014-0244-3.

GUIMARÃES, C. M.; SANTOS, A. B. dos; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. de; STONE, L. F. Sistemas de cultivo. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. de A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. p. 53-96.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004. DOI: 10.1038/nrmicro797.

HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of Trichoderma to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 69-80, 2013. DOI: 10.2438/20.1501.01.181.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012. DOI: 10.1099/mic.0.052274-0.

KIKUTA, M.; YAMAMOTTO, Y.; PASOLON, Y. B.; REMBON, F. S.; MIYAZAKI, A.; MAKIHARA, D. How growth and yield of upland rice vary with topographic conditions: a case of Slash-and-burn rice farming in South Konawe Regency, Southeast Sulawesi Province, Indonesia. **Tropical Agriculture and Development**, v. 60, n. 3, p. 162-171, 2016. DOI: 10.11248/jsta.60.162.

LORITO, M.; WOO, S. L. Trichoderma: a multi-purpose tool for integrated pest management. In: LUGTENBERG, B. (Ed.). **Principles of plant-microbe interactions: microbes for sustainable agriculture**. New Delhi: Springer, 2015. p. 345-353. DOI: 10.1007/978-3-319-08575-3.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-418, 2010. DOI: 10.1146/annurev-phyto-073009-114314.

MANTELIN, S.; TOURAINE, B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 394, p. 27-34, 2004.

MASTOURI, F.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012. DOI: 10.1094/MPMI-09-11-0240.

MENDOZA-MENDOZA, A.; ZAID, R.; LAWRY, R.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K. Molecular dialogues between Trichoderma and roots: role of the fungal secretome. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 62-85, 2018. DOI: 10.1016/j.fbr.2017.12.001.

MORÁN-DIEZ, E.; HERMOSA, R.; AMBROSINO, P.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; LORITO, M.; MONTE, E. The ThPG1 endopolygalacturonase is required for the Trichoderma harzianum-plant beneficial interaction. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.

22, n. 8, p. 1021-1031, 2009. DOI: 10.1094/MPMI-22-8-1021.

MUKHERJEE, M.; MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; ZACHOW, C.; BERG, G.; ZEILINGER, S. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions: advances in genetics of biological control. **Indian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 522-529, 2012. DOI: 10.1007/s12088-012-0308-5.

NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C. de; LÂNNA, A. C.; SOUZA, A. C. A.; LOBO, V. L. S.; SILVA, G. B. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 3, p. 2956-2965, 2017. DOI: 10.1007/s11356-016-8013-2.

NGUYEN, Q. T.; UEDA, K.; KIHARA, J.; UENO, M. Culture filtrates of *Trichoderma* isolate H921 inhibit *Magnaporthe oryzae* spore germination and blast lesion formation in rice. **Advances in Microbiology**, v. 6, p. 521-527, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/aim.2016.67052>.

OLIVEIRA NETO, A. A. (Org.). **A cultura do arroz**. Brasília, DF: CONAB, 2015. 179 p.

OUKO, M. O. **Nitrate reductase activity in rice as a screening tool for weed competitiveness**. 2003. 73 p. Thesis (Masters of Agriculture) - University of Bonn, Bonn.

PRABHU, A. S.; BARBOSA FILHO, M. P.; FILIPPI, M. C.; DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H. Silicon from disease control perspective in Brazil. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 293-311.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; SILVA, G. B.; SANTOS, G. R. Resistência de cultivares de arroz a *Rhizoctonia solani* e *Rhizoctonia oryzae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 37, p. 589-595, 2002. DOI: 10.1590/S0100-204X2002000500003.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRACKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2001. DOI: 10.1016/S0261-2194(00)00056-9.

RÊGO, M. C. F.; ILKIU-BORGES, F.; FILIPPI, M. C. C.; GONÇALVES, L. A.; SILVA, G. B. Morphoanatomical and Biochemical Changes in the Roots of Rice Plants Induced by Plant Growth-Promoting Microorganisms. **Journal of Botany**, v. 2014, article ID 818797, 2014. 10 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/818797>.

RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon and rice disease management. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 457-469, 2005.

SALAS-MARINA, M. A.; SILVA-FLORES, M. A.; URESTI-RIVERA, E. E.; CASTRO- LONGORIA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; CASAS-FLORES, S. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ ethylene and salicylic acid pathways. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, n. 1, p. 15-26, 2011. DOI: 10.1007/s10658-011-9782-6.

SAMOLSKI, I.; RINCÓN, A. M.; PINZÓN, L. M.; VITERBO, A.; MONTE, E. The qid74 gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 129-138, 2012. DOI: 10.1099/mic.0.053140-0.

SERRAJ, R.; KUMAR, A.; MCNALLY, K. L.; SLAMET-LOEDIN, I.; BRUSKIEWICH, R.; MAULEON, R.; CAIRNS, J.; HIJMANS, R. J. Improvement of drought resistance in rice. **Advances in Agronomy**, v. 103, p. 41-99, 2009. DOI: 10.1016/S0065-2113(09)03002-8.

SHARMA, V.; SALWAN, R.; SHARMA, P.; GULATI, A. Integrated transcriptome and proteome: approach for accurate portraying of wide-spread multifunctional aspects of *Trichoderma*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, article 1602, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01602.

SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005. DOI: 10.1094/PHYTO-95-0076.

SILVA, J. C.; TORRES, D. B.; LUSTOSA, D. C.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Rice sheath blight biocontrol and growth promotion by *Trichoderma* isolates from the Amazon. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 4, p. 243-250, 2012. DOI: 10.4322/rca.2012.0.

SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, dez. 2011. DOI: 10.1590/S0100-204X2011001200005.

SOFO, A.; NUZZACI, M.; VITTI, A.; TATARANNI, G.; SCOPA, A. Control of biotic and abiotic stresses in cultivated plants by the use of bio stimulant microorganisms. In: AHMAD, P.; WANI, M.; AZOOZ, M.; TRAN, L. S. (Eds.). **Improvement of crops in the era of**

climatic changes. New York: Springer, 2014. p. 107-117. DOI: 10.1007/978-1-4614-8830-9_5.

SOUSA, T. P. **Characterization of interaction between *Trichoderma asperellum*, *Magnaporthe oryzae* and *Oryza sativa***. 2018. 127 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitossanidade) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

SOUSA, T. P. de; SOUZA, A. C. A. de; FILIPPI, M. C. C. de; LANNA, A. C.; CORTES, M. V.; PINHEIRO, H. A.; SILVA, G. B. da. Bioagents and silicon promoting fast early upland rice growth. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 4, p. 3657-3668, 2018. DOI: 10.1007/s11356-017-0753-0.

SPAEPEN, S. Plant hormones produced by microbes. In: LUGTENBERG, B. (Ed.). **Principles of plant-microbe interactions: microbes for sustainable agriculture**. New Delhi: Springer, 2015. p. 247-256. DOI: 10.1007/978-3-319-08575-3_26.

STUDHOLME, D. J.; HARRIS, B. D.; LE COCQ, K.; WINSBURY, R.; PERERA, V.; RYDER, L. S.; WARD, J. L.; BEALE, M. H.; THORNTON, C. R.; GRANT, M. Investigating the beneficial traits of *Trichoderma hamatum* GD12 for sustainable agriculture - insights from genomics. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, article 258, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00258.

TERRA, T. G. R.; LEAL, T. C. A. B.; BORÉM, A.; RANGEL, H. N. R. Tolerância de linhagens de arroz de terras altas à seca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 2, p. 201-208, 2013.

VAN LOON, L. C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. **European Journal of Plant Pathology**, v. 119, n. 3, p. 243-254, 2007. DOI: 10.1007/s10658-007-9165-1.

VAN LOON, L. C.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, p. 35-62, 2006. DOI: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425.

VLEESSCHAUWER, D.; CORNELIS, P.; HOFTE, M. Differential effectiveness of *Serratia plymuthica* IC1270-induced systemic resistance against hemibiotrophic and necrotrophic leaf pathogens in rice. **BMC Plant Biology**, v. 9, n. 9, p. 1-16, 2009. DOI: 10.1186/1471-2229-9-9.

VLEESSCHAUWER, D.; CORNELIS, P.; HOFTE, M. Redox-active pyocyanin secreted by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 triggers systemic resistance to *Magnaporthe grisea* but enhances *Rhizoctonia solani* susceptibility in rice. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 19, n. 12, p. 1406-1419, 2006. DOI: 10.1094/MPMI-19-1406.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. Trichoderma-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008. DOI: 10.1016/j.soilbio.2007.07.002.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, 2008. DOI: 10.1590/S0103-84782008000400049.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. Trichoderma-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014. DOI: 10.2174/1874437001408010071.

YOSHIDA, S. Chemical aspects of the role of silicone in physiology of the rice plant. **Bulletin of the National Institute of Agricultural Science**, v. 15, p. 1-58, 1965.

Uso do *Trichoderma* na cultura do algodão

Nelson Dias Suassuna

Juliano Cesar da Silva

Wagner Bettiol

Introdução

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. *latifolium* Hutch) vem sendo cultivado no cerrado brasileiro desde o início dos anos de 1980, em virtude, principalmente, do desenvolvimento e lançamento de cultivares com maior rendimento de fibra e com adaptação a esse ecossistema. Este fato também se deve às melhorias no sistema de produção da cultura, que asseguram alta produtividade de fibra, proporcionando competitividade para o algodão do Brasil no mercado internacional (Morello et al., 2015; Silva Neto et al., 2016; Barroso et al., 2017; Suassuna et al., 2018). Atualmente, com mais de 90% das áreas cultivadas nesse bioma, a cultura está sujeita a alta pressão de estresses bióticos, com destaque para os danos causados por doenças, pragas e competição por plantas daninhas. O atual sistema de produção, com base em extensas áreas cultivadas com poucas cultivares, muitas delas suscetíveis a mais de um patógeno, leva ao agravamento de doenças antes consideradas pouco expressivas, como também possibilita surtos epidêmicos de novas doenças levando ao aumento sistemático no uso fungicidas químicos.

As principais doenças na cultura do algodoeiro no Brasil podem ser causadas por fungos, nematoides, bactérias ou vírus que se desenvolvem e multiplicam nos tecidos das plantas causando redução de produtividade e qualidade da fibra e, às vezes, morte da planta. Neste capítulo serão discutidas as doenças que afetam sementes, plântulas e plantas, com ênfase em fungos que podem ser controlados com o uso de espécies do gênero *Trichoderma* como componente de manejo.

Características do gênero *Trichoderma*

Espécies de fungos do gênero *Trichoderma* exibem uma ampla gama de estilos de vida e interações com outros fungos, animais e plantas (Druzhinina et al., 2011; Kubicek et al., 2011; Rubio et al., 2017; Druzhinina et al., 2018). Devido a sua capacidade de antagonizar fungos fitopatogênicos e estimular o crescimento e defesa de plantas, alguns isolados de *Trichoderma* são usados para controle biológico de doenças de plantas, com um grande número de produtos comerciais (Baker, 1989; Bettiol et al., 2012; Woo et al., 2014). O sucesso de *Trichoderma*, como agente de biocontrole se deve aos diferentes mecanismos de ação frente aos fitopatógenos, pois apresentam ação direta, incluindo o micoparasitismo, a produção de compostos antimicrobianos e enzimas, a competição por nutrientes e espaço (Harman et al., 2004; Kubicek et al., 2011; Hermosa et al., 2014), como também, ação indireta por meio da indução de mecanismos de resistência na planta (Hermosa et al., 2012; Vos et al., 2015). Além disso, apresentam a capacidade de promover o crescimento das plantas, com aumento de produtividade das culturas, maior absorção de nutrientes e indução de resistência também a estresses abióticos (Baker, 1989; Harman et al., 2004; Hermosa et al., 2012; Hermosa et al., 2014; Rubio et al., 2017). Detalhes sobre os mecanismos de ação de *Trichoderma* como agente de biocontrole são apresentados no capítulo 3 deste livro o qual trata exclusivamente sobre mecanismos de ação de *Trichoderma*.

As espécies de *Trichoderma* também possuem a vantagem de serem atóxicas ao homem e aos animais, de custo acessível, sua produção não depende de um recurso natural limitado e alguns, ainda, podem persistir no solo ou nas plantas, podendo dispensar reaplicações.

As espécies de *Trichoderma* se adaptaram a vários ecossistemas, onde desempenham um papel importante na saúde dos ecossistemas. Estes fungos são componentes predominantes da micobiota tanto em solos nativos quanto em solos agrícolas. Além de serem capazes de colonizar raízes das plantas, em alguns casos também colonizam a parte aérea e podem se desenvolver endofiticamente (Guzmán-Guzmán et al., 2019).

A capacidade de espécies de *Trichoderma* agirem como micoparasitas, sintetizarem compostos antibióticos e se desenvolverem de forma saprofítica, faz com que sejam eficazes competidoras tanto no solo quanto na rizosfera de plantas de algodoeiro. Nos patógenos cujas estruturas de sobrevivência são suscetíveis à infecção por *Trichoderma*, o micoparasita pode ser usado para reduzir o potencial de inóculo do patógeno no solo. Outra característica importante em espécies de *Trichoderma* para uso como eficientes agentes de biocontrole de doenças de plantas é a facilidade de serem cultivadas, armazenadas e aplicadas apropriadamente como tratamento de sementes ou diretamente no solo (Howell, 2007). Os biofungicidas controlam eficientemente doenças de plantas e são ambientalmente seguros. No entanto, embora o uso esteja se expandindo anualmente, a adoção pelos produtores no Brasil ainda permanece li-

mitada (Bettiol, 2011). Entretanto, o uso de controle biológico na agricultura mundial está crescendo em torno de 17%. No Brasil, a Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABC BIO) estimou um crescimento de 70% no mercado de controle biológico no ano de 2018 (Mercado..., 2019).

Controle de doenças do algodoeiro

Tombamento de plântulas

O tombamento de plântulas em algodoeiro pode ocasionar sérios prejuízos ao estabelecimento da cultura, em função, principalmente, dos efeitos sobre a redução do estande. É causado por um complexo de fungos fitopatogênicos, com destaque para *Rhizoctonia solani* (forma anamórfica de *Thanatephorus cucumeris*), *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae* (sin. *Botryodiplodia theobromae*), *Macrophomina phaseolina* [forma teleomórfica de *Rhizoctonia bataticola* (Sin. *Sclerotium bataticola*)], *Pythium ultimum*, *Thielaviopsis basicola* e algumas espécies dos gêneros *Ascochita* e *Fusarium* (Hillocks, 1992; Juliatti; Ruano, 1997). A importância relativa de cada patógeno depende do tipo de solo e das condições ambientais após o plantio.

Os sintomas de tombamento são observados logo após a emergência das plântulas, na forma de lesões irregulares e deprimidas de coloração pardo-avermelhadas a pardo-escuras no hipocótilo, cotilédones e nas folhas primárias das plântulas; essas lesões, ao circundarem o hipocótilo, induzem o tombamento e a morte da plântula. Patógenos que causam tombamentos podem também afetar a radícula e a plúmula de plântulas em formação, matando estas antes mesmo de sua emergência. Nesses casos, o único sintoma visível é a redução do estande de plantas sadias (Suassuna; Coutinho, 2014). Ambos os sintomas são causados pela mesma gama de patógenos. Entretanto, algumas espécies de *Pythium* são os principais agentes causadores de morte de plântulas de algodoeiro antes de sua emergência do solo. Por outro lado, *R. solani* é o principal agente etiológico de tombamentos e de morte de plântulas após a emergência (Hillocks, 1992).

Quando as condições ambientais são favoráveis ao desenvolvimento da doença, ou seja, temperaturas entre 18 °C e 30 °C e alta umidade do solo, as perdas podem ser significativas, sendo, muitas vezes, necessário o replantio para obtenção de uma população ideal de plantas por unidade de área (Belmer et al., 1966).

Em geral, o controle do complexo de doenças de plântulas é feito por meio do tratamento de sementes com combinações de fungicidas, principalmente dos grupos das dicarboximidas, cloroaromáticos, dimetilditiocarbamatos, benzimidazóis, carboxanilidas, triazóis fenilpirrol e feniluréia. No entanto, principalmente por causa da poluição ambiental e das águas subterâneas, o uso de fungicidas está sendo submetido a exames mais criteriosos. Como maneira alternativa ou complementar ao controle químico, o controle biológico é uma das estratégias

investigadas em uma ampla variedade de culturas. Na cultura do algodoeiro, Elad et al. (1982) verificaram que *Trichoderma hamatum* e *Trichoderma harzianum* foram eficientes em controlar *R. solani* em ensaios conduzidos tanto em casa de vegetação, quanto no campo. No campo a severidade foi reduzida entre 47 a 60% em dois experimentos. Também Shanmugaiyah et al. (2009) descreveram que *Trichoderma viride*, além de controlar *M. phaseolina* e *R. solani*, estimulou o desenvolvimento de algodoeiro.

O poder germinativo das sementes do algodoeiro pode ser afetado por condições ambientais desfavoráveis durante o armazenamento bem como pela incidência de fungos patogênicos. O uso de *Trichoderma* como bioprotetores por meio da microbiolização de sementes é relatado na cultura do algodoeiro (Shanmugaiyah et al., 2009). Sementes da cultivar CNPA ITA 90, previamente submersas por três minutos numa suspensão de *T. harzianum* (1×10^6 conídios mL⁻¹), apresentaram velocidade de emergência e a massa seca e o comprimento de plântulas semelhantes às sementes submetidas a dois diferentes tratamentos químicos. Ainda, as sementes tratadas com o *Trichoderma* apresentaram porcentagens de germinação e de plântulas infectadas à baixa temperatura similares aos tratamentos químicos (Faria et al., 2003). Portanto, o processo de microbiolização de sementes permitiu boa germinação e emergência de plântulas de algodoeiro e proporcionou emergência mais vigorosa de plântulas.

O preparo, a formulação e a maneira de aplicação do agente de biocontrole é fundamental para o sucesso. Para controle de *R. solani* em campo artificialmente infestado, foram avaliados três formas de preparo de *Trichoderma* e testados durante quatro anos sucessivos. A preparação em farelo de trigo do isolado de *T. hamatum* TRI-4 preveniu significativamente o tombamento na cultura do algodoeiro (cultivar Stoneville 213) e, em três dos quatro anos de estudo, a população final de plantas foi similar à população de plantas em parcelas não inoculadas com o patógeno (Lewis; Papavizas, 1991).

O uso isolado de um produto à base de *Trichoderma* pode ter um efeito limitado. Para o uso combinado de controle biológico e químico, o agente de biocontrole deverá possuir apresentar resistência ao(s) fungicida(s) em uso simultâneo ou, de alguma forma, evitar o contato com o produto químico. Na cultura do algodoeiro um isolado de *Trichoderma virens* foi usado com sucesso em combinação com o fungicida metalaxil no tratamento de sementes, uma vez que o fungicida é eficiente no controle de oomicetos e sem efeitos sobre *Trichoderma* (Howell et al., 1997). Outra possibilidade é aplicar o agente de controle biológico protegendo-o do fungicida químico. Howel (2007) verificou que sementes de algodão (cultivar Suregrow 747), previamente tratadas com fungicida, posteriormente revestidas com polímero adesivo de látex (modelo Rhoplex 15BJ, Rohm and Haas, Filadélfia, PA) e, em seguida, tratadas com *T. virens* isolado G-6, em forma de grânulos secos ao ar, a uma taxa de 0,1 g/g de semente, foram adequadamente protegidas contra o tombamento. Essa abordagem permitiu o uso simultâneo

de *Trichoderma* e fungicidas tóxicos a *T. virens*, pois grande parte do princípio ativo do fungicida sistêmico foi provavelmente absorvida pela plântula em germinação, protegendo-a da infecção por *R. solani*, enquanto o agente de biocontrole foi protegido dos efeitos do fungicida restante pelo revestimento do polímero de látex na semente. Dessa forma, foi obtido êxito no controle tanto de tombamento em pré-emergência quanto em pós-emergência (Howell, 2007). O tombamento em pós-emergência (principalmente causado por *R. solani*) de plântulas de algodoeiro pode ser controlado com sucesso usando fungicidas sistêmicos. Entretanto, esses fungicidas possuem relativa eficiência no controle de tombamento em pré-emergência e o controle biológico aumenta a abrangência do controle.

Concomitante com suas atividades micoparasitas, *T. virens* também produz vários antibióticos. O antibiótico gliotoxina (Weindling, 1941), produzido pelas cepas “Q” de *T. virens*, apresenta amplo espectro de atividade contra bactérias, actinomicetos e fungos. Di Pietro et al. (1993) relataram que a gliotoxina age sinergicamente com a enzima quitinase nas atividades antifúngicas de *T. virens*. O antibiótico gliovirina (Howell; Stipanovic, 1983), produzido por cepas “P” desse fungo, embora intimamente relacionado à gliotoxina, possui um espectro de atividade muito mais restrito e não é eficaz contra bactérias, actinomicetos ou a maioria dos fungos. No entanto, gliovirina é um potente inibidor de oomicetos, como as espécies de *Pythium* e *Phytophthora*. Cepas “Q” de *T. virens* não produzem gliovirina e cepas “P” não produzem gliotoxina (Howell et al., 1993). Quando as estirpes “P” ou “Q” de *T. virens* são cultivadas em substratos com altas relações C/N, ambas produzem o composto, do tipo esteroide, viridiol. O viridiol tem pouca ou nenhuma atividade antibiótica, mas é uma potente fitotoxina quando colocada em contato com as raízes das plantas, podendo ser usada como herbicida (Howell; Stipanovic, 1984).

Essas informações são relevantes, pois em variedades de algodoeiro, suscetíveis a patógenos causadores de tombamento em pré-emergência, tratadas com cepas “P” de *T. virens* e plantadas em solo infestado, nenhuma emergência é observada. Essa diferença entre as linhagens “P” e “Q” não é aparente nas cultivares resistentes aos patógenos causadores de tombamento em pré-emergência. A impressão inicial com cultivares suscetíveis é que as cepas “P” não são capazes de controlar a doença. No entanto, quando as sementes tratadas com cepas “P” são plantadas em solo não infestado, ou em vermiculita esterilizada, elas ainda não emergem. Isso indica que as cepas “P” de *T. virens* são patogênicas para cultivares de algodão suscetíveis, enquanto que as cepas “Q” não (Howell, 2006). E qual seria a razão para essa observação? Uma comparação das atividades enzimáticas e da produção de viridiol (herbicida) por linhagens “P” e “Q” indica que há pouca ou nenhuma diferença entre as duas, e o tratamento de sementes com o antibiótico gliovirina parece não ter efeito sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas. A resposta está no fato de que as cepas “Q” induzem altos níveis de produção

de fitoalexina nas raízes do algodão, enquanto as cepas “P” não. Juntos, esses resultados indicam que tanto as linhagens “P” como as “Q” de *T. virens* são potenciais patógenos, mas que as raízes do algodão são capazes de conter invasões adicionais por linhagens “Q” através da produção de fitoalexinas induzidas. Cepas de “P” não induzem produção suficiente de fitoalexina pelas raízes do algodoeiro e, portanto, são muito menos contidas em sua invasão e destruição do tecido da planta hospedeira (Howell; Puckhaber, 2005). Em conjunto, as características exibidas por cepas de *T. virens* fazem dele um dos mais efetivos e versáteis agentes de biocontrole para plântulas e doenças radiculares de algodoeiro (Howell, 2006).

Murcha-de-fusarium

A murcha-de-fusarium do algodoeiro, também conhecida como fusariose, foi relatada em algodoeiro no Brasil pela primeira vez na região Nordeste em meados da década de 1930 (Krug, 1936), tendo sido disseminada para as demais regiões produtoras e foi responsável por uma fase de decadência da cotonicultura paulista, sobretudo na segunda metade da década de 1950. Atualmente, mais de 95% do algodão cultivado no Brasil está localizado no bioma cerrado, em áreas relativamente novas com essa cultura. Entretanto, no Estado do Mato Grosso, maior produtor nacional, estima-se que 3% das áreas afetadas com nematoides-das-galhas também estão infestadas com o agente causal da murcha-de-fusarium (Galbieri et al., 2016).

A doença é causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* que varia em patogenicidade, dependendo da cultivar em uso, tendo, portanto, diferentes raças. Das oito raças descritas desse patógeno no mundo (Davis et al., 2006), apenas a raça seis do patógeno foi relatada no Brasil (Armstrong; Armstrong, 1978).

A murcha-de-fusarium afeta o algodoeiro em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura. Em plântulas, ocorre o amarelecimento e murcha de folhas cotiledonares, escurecimento das nervuras, amarelecimento e necrose das primeiras folhas verdadeiras, e, em casos mais severos, morte das plântulas. Em plantas adultas, ocorre amarelecimento em áreas irregulares da superfície foliar, murcha de folhas e ramos, necrose e, ocasionalmente, morte da planta. Algumas plantas afetadas podem sobreviver à doença, emitindo novas brotações e estruturas reprodutivas próximas ao solo, mas, em geral, os ramos originados a partir desses novos brotos não são produtivos. Durante o processo infeccioso, as plantas perdem todas as suas folhas e as novas brotações caem, permanecendo apenas o caule enegrecido (Davis et al., 2006). As plantas que não morrem, sofrem severa redução de crescimento. Seccionando longitudinalmente caules e raízes, observa-se o escurecimento dos feixes vasculares; o lume dos vasos é obstruído pela formação de tiloses, pela presença de esporos e micélios do fungo e por substâncias produzidas pelo metabolismo do fungo nos vasos, sendo a principal causa do sintoma de murcha na planta (Suassuna; Coutinho, 2015).

F. oxysporum f. sp. *vasinfectum* pode sobreviver no solo por muito tempo na forma de estruturas de resistência (clamidósporos), bem como saprofiticamente em raízes de outras plantas. A dispersão do patógeno em curtas distâncias se dá por meio dos macro ou micro cónidios e é favorecida pelo movimento de partículas de solo contaminado, principalmente por meio de máquinas agrícolas, pelo vento e pela água; em longas distâncias, a dispersão ocorre principalmente por meio de sementes contaminadas (Suassuna; Coutinho, 2014). Apesar do progresso lento ao longo dos anos, uma vez o fungo instalado em determinada área é muito difícil a sua erradicação, devido à notável capacidade de sobrevivência dos clamidósporos, agravando o problema a cada safra à medida em que se amplia a distribuição do fungo na lavoura.

A murcha-de-fusarium é potencializada pela presença de nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Rotylenchulus* e *Pratylenchus* que aumentam a severidade, por causarem debilitação da planta e provocarem ferimentos nas raízes, facilitando a penetração de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* no seu sistema radicular (Paiva et al., 2001; Machado et al., 2009). Além dos nematoides, outras condições, como solos com alto teor de areia, baixo pH, fertilidade desequilibrada, temperaturas entre 25 °C e 32 °C e alta umidade, favorecem a doença.

O manejo da murcha-de-fusarium é realizado principalmente por meio do princípio da exclusão, evitando-se a introdução do patógeno em áreas isentas. Nestes casos, a utilização de sementes livres do patógeno, assim como o tratamento de sementes com fungicidas é fundamental. Outras táticas de manejo, como a rotação de culturas e o uso de cultivares resistentes, tem pouco efeito, pois o patógeno pode sobreviver por vários anos no solo inviabilizando o efeito da rotação e não existem cultivares completamente resistentes à murcha-de-fusarium disponíveis no mercado.

Apesar de pouco empregado, o uso de agentes de controle biológicos para patógenos habitantes de solo tem fundamental importância na supressão em áreas infestadas. É conhecido que diferentes isolados de espécies de *Trichoderma* têm várias estratégias para o antagonismo dos fungos, bem como vários efeitos indiretos sobre a saúde das plantas. Os possíveis mecanismos de antagonismo aplicados por isolados de *Trichoderma* incluem competição por nutrientes e nicho, antibiose e micoparasitismo. No caso de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, os alvos a serem perseguidos pelo agente de biocontrole são as estruturas de sobrevivência do patógeno, os clamidósporos, além de competição direta com o patógeno.

A competição por nutrientes, principalmente carbono, nitrogênio e ferro, pode resultar em controle biológico de patógenos de plantas. Em muitos casos em que a quantidade desses nutrientes se torna limitante para o patógeno, devido à intensa atividade microbiana, o solo torna-se supressivo. Foi demonstrado que espécies *Trichoderma* utilizam a competição para colonizar a rizosfera e obter nutrientes em detrimento de espécies do gênero *Fusarium*. Dessa

forma, conseguem controlar a germinação de esporos e o crescimento micelial de *F. oxysporum* (Tjamos et al., 1992). Os mesmos autores também observaram que o controle foi mais eficaz à medida que a concentração de nutrientes no solo diminuiu. Compostos de carbono e nitrogênio necessários para a germinação de clamidósporos de *F. solani* f. sp. *phaseoli* foram identificados por Cook e Schroth (1965). Também foi demonstrado o papel de diferentes fontes de carbono, tanto de origem sintética quanto excretados pela rizosfera de plantas, no estímulo à germinação de clamidósporos de *F. oxysporum* (Elad; Baker, 1985). Em baixos níveis, os nutrientes são limitantes e os efeitos competitivos de espécies de *Trichoderma* são evidentes, resultando em redução significativa na germinação de clamidósporos. No entanto, em altas concentrações de fontes de carbono ou na presença de excesso de exsudatos radiculares, a redução da murcha-de-fusarium em algodão pela cepa T-35 de *T. harzianum* foi completamente neutralizada (Sivan; Chet, 1989). Portanto, o uso de *Trichoderma* na supressão da murcha-de-fusarium do algodoeiro, por meio do mecanismo de competição, só terá resultados satisfatórios quando usado em solos de baixa fertilidade e baixo teor de matéria orgânica.

Além de competição, espécies de *Trichoderma* parasitam uma ampla gama de fungos e são capazes de detectar e crescer em direção aos fungos hospedeiros para suprimir seu desenvolvimento. A percepção de outros fungos em relativas distâncias e a expressão de enzimas que degradam a parede celular, principalmente quitinases, glucanases e proteases (Harman et al., 2004) tornam esse gênero de fungos competentes antagonistas. O micoparasitismo em *T. virens* foi associado à sua capacidade de sintetizar e secretar extracelularmente a enzima quitinase (Baek et al., 1999). Entretanto, parece não haver correlação entre a atividade enzimática e a capacidade de biocontrole contra *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Ordentlich et al., 1991), uma vez que diferentes cepas com boa capacidade de biocontrole tiveram diferentes taxas enzimáticas, principalmente na atividade de β -1,3- glucanase e quitinase. A atividade de biocontrole em nível da rizosfera deve envolver interações mais complexas, como o reconhecimento específico do fungo hospedeiro (Barak et al., 1985), produção de substâncias antibióticas (Bell et al., 1982) e, como discutido acima, competição por nutrientes (Sivan; Chet, 1989).

Além da colonização de raízes de algodoeiro por *T. virens* induzir a síntese de aldéidos terpenóides hemigossipol e desoxihemigossipol, também induz a síntese de fitoalexinas. Estas por sua vez protegem as raízes contra patógenos vasculares. O tratamento de sementes de algodoeiro com *T. virens* e a posterior colonização do sistema radicular em desenvolvimento suprimiu o desenvolvimento de sintomas da murcha-de-fusarium quando as plantas foram posteriormente inoculadas com o patógeno (Zhang et al., 1996).

Durante o processo de germinação, sementes de algodão liberam compostos que estimulam estruturas de sobrevivência dos patógenos habitantes de solo a germinar e, posteriormente, infectar a plântula. O tratamento de sementes com *T. virens* previne a infecção da plântula

por interromper o processo. O agente de biocontrole revestido na semente metaboliza os compostos que estimulam a germinação antes que estes estimulem os propágulos do patógeno no solo (Howell, 2002).

A capacidade das cepas “Q” em colonizar e penetrar na epiderme e no córtex das raízes de algodoeiro, além da capacidade de sintetizar proteínas elicitoras, pode levar à indução de aumento da atividade da peroxidase e síntese de fitoalexinas nas raízes. Esses fenômenos protegem o sistema radicular das plantas em desenvolvimento da infecção subsequente por patógenos causadores de podridão de raiz e murcha vascular. A capacidade das cepas de *T. virens* de metabolizar os compostos que estimulam a germinação de propágulos de patógenos, que são emitidos pela germinação de plântulas de algodão antes que elas atinjam propágulos de repouso do patógeno, também é um meio eficaz de controlar a doença de plântulas em pré-emergência, permitindo que a plântula escape da infecção porque o patógeno não é estimulado pela planta (Howell, 2006). Se os propágulos de patógenos são estimulados artificialmente para germinar, o tratamento de sementes com *T. virens* não garante à planta qualquer proteção contra doenças iniciais das plântulas. Além disso, a capacidade de *T. virens* sobreviver via tratamento de sementes de algodão revestidas de fungicidas sistêmicos (Howell et al., 1997) expandiu o espectro de atividade do fungo como agente de biocontrole.

Para entender os mecanismos de ação de *T. virens* envolvidos no controle biológico de doenças do algodoeiro, Howell (2006) inoculou sementes de algodoeiro e conduziu um ensaio de campo. A partir de amostras de raízes de plantas, esterilizadas na sua superfície, coletadas em diversos intervalos ao longo da safra, foi possível recuperar *T. virens* de raízes em todas as épocas de amostragem. O fungo colonizou a raiz principal e as raízes secundárias na camada mais superior do solo. No entanto, ao final da safra, o fungo foi encontrado principalmente na raiz principal e raízes primárias. Como as raízes foram rigorosamente esterilizadas na superfície, pressupõe-se que o fungo havia penetrado nas raízes.

A habilidade de penetrar raízes e se desenvolver de maneira endofítica foi demonstrada para *T. harzianum*. O fungo penetrou a epiderme e cresceu nas camadas externas do córtex da raiz, onde induziu respostas de defesa em pepino (Yedidia et al., 1999). A colonização de raízes de algodoeiro por *T. virens* induziu a síntese de altos níveis dos aldeídos terpenóides hemigossipol (HG) e desoxihemigossipol (dHG) que são intermediários na via que leva à síntese do dímero, gossipol (Howell, 2006). Tanto HG e dHG quanto gossipol são inibidores de *R. solani*, sendo que dHG possui duas vezes a toxicidade de HG e o gossipol possui pouco efeito inibitório. Entretanto, *T. virens* e *T. koningii* são resistentes à toxina HG (Howell et al., 2000). *T. virens* induz a síntese de terpenóides em raízes do algodoeiro pela produção de uma proteína de 18 kDa que provoca aumento da atividade da peroxidase e concentrações de terpenóides nas raízes inoculadas (Hanson; Howell, 2004). A habilidade de uma cepa de *T. virens*

em induzir a síntese de terpenóides em raízes de algodão foi crucial para sua eficácia como agente de biocontrole de doenças em plântulas de algodoeiro (Howell, 2006). As cepas que não induzem a síntese de terpenóides não protegem as raízes da infecção subsequente por um patógeno. No entanto, a proteção da raiz por *Trichoderma virens* não se estende ao hipocótilo. Nenhum aumento na atividade da peroxidase ou síntese de terpenóides foram detectados nas partes acima do solo de plantas de algodão tratadas com *T. virens*, sendo, portanto, uma resposta localizada (Howell, 2006).

Mancha-de-ramulária

O primeiro relato da ocorrência da mancha-de-ramulária na cultura do algodoeiro foi em Auburn, Alabama. Historicamente, no Brasil, a mancha-de-ramulária havia sido relatada como uma doença secundária (Cia, 1977; Cia; Salgado, 1997). No entanto, a mancha-de-ramulária emergiu como a mais importante doença do algodão, particularmente quando as áreas de cultivo aumentaram no cerrado, juntamente com o uso de novas e suscetíveis cultivares de algodão e, às vezes, monocultura (Suassuna; Coutinho, 2014). Além disso, as condições climáticas, como o período prolongado de alta umidade do ar e temperatura diurna variando de 25 °C a 30 °C, que prevalecem durante a estação de cultivo, favorecem o desenvolvimento da doença (Rathaiãh, 1977). Esses fatores devem ter contribuído para o aumento do inóculo inicial do patógeno ao longo dos anos, resultando em infecções cada vez mais precoces, tornando a doença epidêmica. Consequentemente, mais pulverizações com fungicidas são necessárias a cada safra nas áreas de plantio, aumentando os custos com o controle químico da doença e aumentando o risco de desenvolvimento de populações de patógenos resistentes a fungicidas. Atualmente, no Brasil, a mancha-de-ramulária exige até oito pulverizações de fungicida em cada safra em uma área superior a 1.000.000 hectares.

O estágio conidial do agente causal da mancha-de-ramulária é *Ramulariopsis pseudoglycines* (Sinônimos: *Ramularia areola* Atk., *Ramulariopsis gossypii* (Speg.) U. Braun, *Ramularia gossypii* (Speg.) Ciferi, *Cercospora gossypii* Speg.), anamorfo de *Mycosphaerella areola* Ehrlich & Wolf. O fungo se desenvolve em três etapas distintas durante o seu ciclo de vida. O estágio conidial ocorre em tecidos vivos, enquanto as folhas permanecem aderidas às plantas e por um curto período após a abscisão foliar. O estágio da espermogonia ocorre após a queda das folhas e é seguido pelo estágio ascogênico, que se desenvolve em folhas parcialmente deterioradas (Ehrlich; Wolf, 1932).

Os primeiros sintomas da doença surgem concomitantemente com o início da fase reprodutiva da planta, em geral, entre o aparecimento do primeiro botão floral até a abertura da primeira flor. Os sintomas da doença são lesões de formato angular com coloração branca. Em condições climáticas favoráveis, ocorre intensa esporulação do patógeno no centro das lesões,

dando um aspecto esbranquiçado às mesmas. Assim, aumenta o número de lesões e passam a ocupar quase todo o limbo foliar, podendo necrosar após o período de esporulação do patógeno. Alta severidade da doença induz desfolha precoce nas plantas (Suassuna; Coutinho, 2015).

R. pseudoglycines pode sobreviver em plantas espontâneas de algodoeiro, bem como em novas brotações de plantas sobreviventes de safra anteriores. Consequentemente, essas plantas remanescentes podem desenvolver o inóculo primário que estará disponível no início da nova safra. Além disso, a fase perfeita foi identificada em folhas de algodoeiro em decomposição em campos durante o período de entressafra (Mehta et al., 2016). Assim, o inóculo primário pode ser originado de conídios gerados pelo anamorfo desenvolvido em plantas espontâneas de algodoeiro e/ou rebrota de caule ou de ascósporos produzidos pelo teleomorfo em folhas de algodoeiro.

Para o manejo da mancha-de-ramulária, diversos métodos de controle podem ser utilizados, destacando a resistência genética, o controle químico e controle cultural. Plantios menos adensados e conduzidos de forma a evitar o sombreamento excessivo entre plantas e controle químico são as principais táticas utilizadas. Como a maioria das cultivares atualmente em uso no Brasil não possuem resistência completa à doença, o controle químico é uma tática comumente empregada para contenção da doença, devendo ser iniciado assim que as primeiras lesões forem identificadas nas folhas mais velhas. O monitoramento constante da lavoura é crucial visto que as primeiras lesões são de difícil identificação antes de ocorrer esporulação (Suassuna; Coutinho, 2015). Os danos causados pela doença estendem-se até o final do ciclo da cultura, sendo mais expressivos entre o início do florescimento e a abertura dos primeiros capulhos. Após o início de abertura de cápsulas, o controle químico não traz benefícios.

Apesar do relativo sucesso no controle químico da mancha-de-ramulária, existe uma preocupação crescente da sociedade com a produção de alimentos e fibras com reduzida ou mesmo sem a utilização de defensivos agrícolas químicos ou com a produção certificada, onde existe a garantia de que foram utilizados adequadamente. Para isso demanda-se outras estratégias de controle. Dentre as alternativas para o manejo de doenças, o controle biológico, apresenta ser uma ferramenta interessante, pois constitui uma prática agrícola ecologicamente sustentável (Morandi; Bettioli, 2009). As espécies do gênero *Trichoderma* são utilizadas com sucesso no controle de fitopatógenos habitantes do solo, por serem capazes de proteger plantas por meio de diferentes mecanismos de ação e por colonizar eficientemente o substrato e o sistema radicular de várias espécies de plantas (Harman et al., 2004; Woo et al., 2006). Além disso, esse gênero está entre os microrganismos mais resistentes às toxinas e produtos químicos naturais e sintetizados pelo homem, capazes até mesmo de degradar alguns desses compostos, tais como hidrocarbonetos e agrotóxicos (Harman, 2006; Woo et al., 2006). Outra importante característica desse gênero é que muitas de suas linhagens produzem esporos e antibióticos em abundância (Woo et al., 2006; Lucon et al., 2009).

A aplicação de *Trichoderma* via foliar para controle de patógenos que causam doenças na parte aérea de plantas não é uma prática comum comparada à aplicação em sementes e no solo, pela dificuldade no seu estabelecimento, bem como pela exposição às condições adversas e aos pesticidas químicos. Em folhas de morangueiro foi demonstrado que *T. atroviride* inibe o desenvolvimento de *B. cinerea* (Card et al., 2009). O ponto de entrada de *B. cinerea* no tecido vegetal é por meio de feridas, senescência de tecidos do hospedeiro ou aberturas naturais, como os estômatos e lenticelas, que são geralmente áreas ricas em nutrientes devido à exsudação de açúcares e aminoácidos. Neste caso, a colonização de ferimentos ou tecidos senescentes por *Trichoderma* gera uma competição direta por nutrientes com *B. cinerea*, evitando a infecção (Vos et al., 2015). Na cultura do algodoeiro, a aplicação foliar de *T. viride* reduziu a severidade da mancha-de-ramulária, tanto quando aplicado isoladamente ou em associação a fungicidas (Duarte et al., 2007; Freitas et al., 2007).

Entretanto, a simples substituição de um produto químico por um biológico não é a opção mais adequada, mas sim o desenvolvimento de um sistema de manejo integrado que inclua o controle de plantas voluntárias no período de entressafra, visando a redução do inóculo inicial, o plantio na época recomendada para a região de cultivo, a utilização de genótipos tolerantes ou resistentes à doença, o monitoramento dos sintomas da doença, visando a utilização do método de controle adequado e a utilização de fungicida e de agentes de biocontrole. Integrando a aplicação de *T. asperellum*, com o uso de fungicidas e a resistência genética das variedades, Silva et al. (2017) observaram reduções significativas na severidade da mancha-de-ramulária em ensaios conduzidos em campos sob alta pressão de inóculo, concluindo ser possível o uso dessas ferramentas no manejo integrado. Neste estudo, Silva et al. (2017) inicialmente observaram os efeitos da aplicação de fungicidas na severidade da doença em seis genótipos de algodão, tendo selecionado os genótipos BRS 293 e BRS 372 que se comportaram com suscetível e tolerante, respectivamente para estudos com controle biológico. Na sequência os autores verificaram que um produto à base de *T. asperellum* reduziu a severidade da mancha-de-ramulária tanto em variedade suscetível (BRS 293), quanto tolerante (BRS 372) à doença (Figura 1). Esses resultados claramente indicam o potencial da integração de métodos de controle da doença.

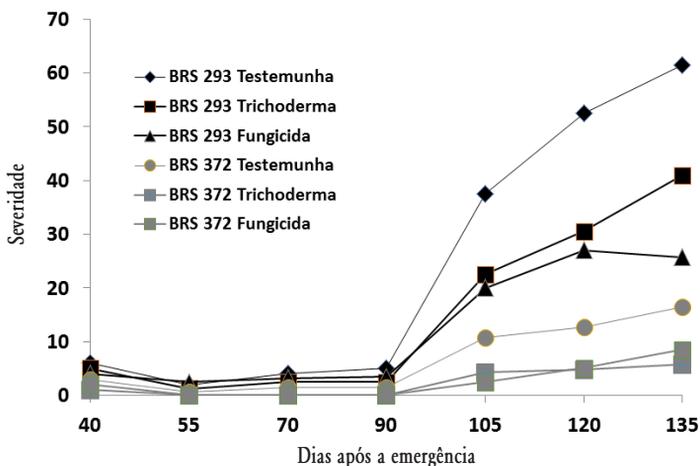


Figura 1. Severidade da mancha-de-ramulária em algodão tratado ou não com *T. asperellum* (Quality WG - Laboratório Farroupilha) ou com fungicida (Tetraconazole - Emerald, FMC) em Sapezal, Mato Grosso, em condições de campo na safra 2012/2013.

Fonte: adaptado de Silva et al., 2017

Mofobranco

A doença é causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Esse fungo é de ampla ocorrência em todo o mundo, com pelo menos 400 espécies de plantas hospedeiras (Boland; Hall, 1994). No Brasil, o agente causal do mofobranco em algodoeiro é comumente associado a perdas significativas de produção em lavouras de feijão (Charchar et al., 1994; Cardoso, 1994) e de soja (Yorinori, 1987). Em junho de 1996, no município de Paracatu, MG, em uma área plantada com algodoeiro, cultivar Deltapine 90, irrigada sob pivô central, foram observados sintomas de murcha, necrose e podridão úmida da haste, do pecíolo da folha e da maçã. No interior do capulho, em 95% das plantas inspecionadas, foram constatados micélio branco de aspecto cotonoso e escleródios escuros irregulares do patógeno. A partir do tecido infectado, foi feito isolamento e observou-se a formação de colônias brancas com escleródios negros, irregulares e de tamanho variável. Escleródios encontrados no interior de capulhos desenvolveram apotécios em, aproximadamente, 60 dias (Charchar et al., 1999). Estes autores afirmaram que considerando o grande número de plantas de algodão infectadas pelo fungo *S. sclerotiorum*, no campo, e a severidade dos sintomas observados em diferentes partes da planta, em determinadas circunstâncias, essa doença poderá tornar-se bastante nociva à cultura do algodoeiro no Brasil, devendo, portanto, ser preocupação constante do produtor, tanto na escolha da espécie a ser plantada como no manejo adequado, ao se verificar a presença do patógeno em determinada área.

Recentemente, a doença é observada em algodoeiro nos estados da Bahia e de Goiás, em áreas de pivô central, precedida por contínuos cultivos de feijão. A doença também tem sido observada em regiões de altitude em outros Estados, inclusive em áreas de algodão não irrigado, causando redução no estande de plantas e com alta severidade em plantas adultas.

As pétalas de flores de algodoeiro caídas da planta após a fecundação da flor compõem um substrato ideal para a germinação de escleródios de *S. sclerotiorum*. Outro agravante é o fato de a planta de algodoeiro formar um microclima, por um longo período, muito favorável para o desenvolvimento do patógeno. Devido à sobrevivência dos escleródios do fungo no solo, aliado ao fato de que o algodoeiro tem um prolongado período de floração, o manejo dessa doença em longo prazo é bastante dificultado.

Os sintomas da doença são murcha, necrose e podridão úmida em hastes pecíolos e maçãs. No interior do capulho, em geral, são constatados micélio branco de aspecto cotonoso e escleródios escuros irregulares são formados tanto internamente quanto na parte externa da maçã. Escleródios encontrados no interior de capulhos desenvolvem apotécios em, aproximadamente, 60 dias (Charchar et al., 1999). Ao contrário dos escleródios formados em outras plantas, como feijão e soja, os escleródios formados em algodoeiro são maiores, e, a partir destes, germinam muitos apotécios.

Alta umidade aliada a temperaturas variando entre 15 °C e 25 °C são condições que favorecem a doença. O fungo sobrevive no solo, por alguns anos, na forma de escleródios. Os ascósporos produzidos em apotécios, que são originados da germinação dos escleródios, correspondem ao inóculo primário do patógeno. As pétalas de flores caídas do algodoeiro após a fecundação da flor podem formar um substrato ideal para a germinação de escleródios de *S. sclerotiorum*. Ascósporos do fungo podem ser dispersos pelo vento e sobreviver por até 12 dias no campo. Escleródios podem ser dispersos em mistura ou aderidos às sementes ou por sementes infectadas. Os escleródios presentes no solo e nos restos de cultura também podem ser dispersos pela água ou implementos agrícolas.

Recentemente tem-se buscado reduzir os custos de produção de algodão, sendo o cultivo em segunda safra (safrinha), principalmente no Estado do Mato Grosso, uma alternativa viável. Atualmente, a maior área plantada com algodoeiro no Mato Grosso é em segunda safra, após a colheita de soja. Nesse contexto, a sucessão de cultivos suscetíveis ao mofo-branco pode aumentar a severidade da doença em áreas de ocorrência de *S. sclerotiorum*. Além do cultivo em segunda safra, também foram testados nos últimos anos maiores densidades de plantas, diminuindo-se o espaçamento das linhas, conhecido com sistema adensado de plantio (Kappes et al., 2016). Nesse sistema de cultivo, maiores incidência e severidade da doença ocorreram quando se cultivou algodoeiro com maior densidade (10 plantas/m, comparando-se com 8, 6 ou 4 plantas/m), bem como a cultivar FM 966, de menor porte, teve menor incidência e severi-

dade de mofo-branco do que cultivares de porte alto (Suassuna et al., 2009a). Em condições de infestação natural em campo, testando-se 34 diferentes genótipos de algodoeiro, todos foram suscetíveis à doença (Suassuna et al., 2009b).

A capacidade *S. sclerotiorum* formar, mesmo em condições adversas, estruturas de resistência (escleródios) que garantem sua sobrevivência por vários anos, limita o uso de espécies agrícolas na rotação de culturas. Não existem cultivares de algodoeiro resistentes e o controle químico nem sempre é eficaz. Nesse contexto, formulações comerciais à base dos fungos *T. harzianum* e *T. asperellum*, visando a redução de escleródios, podem ser aplicadas ainda na cultura da soja no final do ciclo (em sistema de segunda safra) ou no início do cultivo do algodoeiro (cultivo único), entretanto, antes do início do florescimento. Aplicações durante a entressafra devem ser evitadas devido às condições ambientais desfavoráveis ao estabelecimento de *Trichoderma* nessa época. A integração de medidas como controle biológico, controle químico durante o período de floração (em casos de alta severidade), rotação de culturas com plantas não hospedeiras, adoção do sistema de semeadura direta, além de outras práticas, devem ser implementadas para o manejo dessa doença.

Considerações finais

A cultura do algodoeiro demanda grande quantidade de defensivos químicos no manejo de adversidades de origem biótica, principalmente em ambiente tropical. O volume de pesticidas precisa ser reduzido, tanto do ponto de vista ambiental quanto econômico. Uma das possibilidades vislumbradas é a geração e/ou aplicação de tecnologias que estabeleçam equilíbrio biológico entre a população de fitopatógenos e agentes de controle biológico na cultura, garantindo estabilidade produtiva. Nesse contexto, fungos do gênero *Trichoderma*, conhecidos por sua atividade simbiótica com plantas cultivadas, exercem efeitos positivos no crescimento, desenvolvimento, produtividade e indução de respostas de defesa. Além disso, por serem micoparasitas, protegem as plantas diretamente contra fungos fitopatogênicos. Essas características tornam o gênero *Trichoderma* um excelente tema para exploração devido ao seu potencial.

Recentemente, foi proposto que a manipulação do microbioma da planta pode ser uma estratégia de biocontrole no campo (Berg et al., 2017). O uso de microrganismos capazes de modificar todo o microbioma da planta levará ao desenvolvimento de novas estratégias de biocontrole com base na população de microrganismos como um todo, ajudando as plantas a desenvolverem defesas contra patógenos. A diversidade do microbioma é crucial para a saúde da planta e pode mudar facilmente de benéfica para nociva (Yan et al., 2017). Microrganismos benéficos como fungos micorrízicos, bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos e bactérias endofíticos estão entre os organismos mais influentes na estrutura microbiótica da planta, dentre estes, espécies do gênero *Trichoderma*.

Referências

- ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, J. K. A new race (race 6) of the cotton-wilt *Fusarium* from Brazil. **Plant Disease Reporter**, v. 62, n. 5, p. 421-423, 1978.
- BAEK, J. M.; HOWELL, C. R.; KENERLEY, C. M. The role of extracellular chitinase from *Trichoderma virens* Gv29-8 in the biocontrol of *Rhizoctonia solani*. **Current Genetics**, v. 35, n. 1, p. 41-50, 1999.
- BAKER, R. Improved *Trichoderma* spp. for promoting crop productivity. **Trends of Biotechnology**, v. 7, n. 2, p. 34-38, 1989.
- BARAK, R.; ELAD, Y.; MIRELMAN, D.; CHET, I. Lectins: a possible basis for specific recognition of *Trichoderma* and *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, v. 75, n. 4, p. 458-462, 1985.
- BARROSO, P. A. V.; SUASSUNA, N. D.; PEDROSA, M. B.; MORELLO, C. L.; SILVA, J. L.; LAMAS, F. M.; BOGIANI, J. C. BRS 368RF: a glyphosate tolerant, midseason upland cotton cultivar for Northeast and North Brazilian savanna. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 4, p. 388-402, 2017.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- BELMER, E.; SALGADO, C.; CIA, E.; CAMPOS, H. Efeito do potencial de inóculo de *Colletotrichum gossypii* South. sobre o tombamento das mudinhas de algodoeiro. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 23, p. 325-328, 1966.
- BERG, G.; KÖBERL, M.; RYBAKOVA, D.; MÜLLER, H.; GROSCHE, R.; SMALLA, K. Plant microbial diversity is suggested as the key to future biocontrol and health trends. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 5, p. fix050, 2017.
- BETTJOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 22, n. 6, p. 280-283, 2011.
- BETTJOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; CORRÊA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. de C. do B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plants hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994.
- CARD, S. D.; WALTER, M.; JASPERS, M. V.; AZTEJNBERG, A.; STEWART, A. Targeted selection of antagonistic microorganisms for control of *Botrytis cinerea* of strawberry in New Zealand. **Australasian Plant Pathology**, v. 38, n. 2, p. 183-192, 2009.
- CARDOSO, J. E. Mofo branco. In: SARTORATO, A.; RAVA, C. A. (Ed.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1994. p. 111-122. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 50).
- CHARCHAR, M. J. D'A.; ANJOS, J. R. N. dos; OSSIFI, E. Ocorrência de nova doença do algodoeiro irrigado, no Brasil, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 6, p. 1101-1106, 1999.
- CHARCHAR, M. J. D'A.; NASSER, L. C. B.; GOMES, A. C.; IIZUCA, N. Incidência de doenças de plantas em áreas irrigadas com pivô central no Distrito Federal. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado (Planaltina, DF). **Relatório técnico anual 1987/1990**. Planaltina, 1994. p. 233-238.
- CIA, E. Ocorrência e conhecimento das doenças de algodoeiro anual *Gossypium hirsutum* L no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 3, n. 3, p. 167-193, 1977.
- CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: volume 2: doenças de plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Ceres, 1997. p. 33-48.
- COOK, R. J.; SCHROTH, M. N. Carbon and nitrogen compounds and germination of chlamydozoospores of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. **Phytopathology**, v. 55, p. 254-256, 1965.
- DAVIS, R. M.; COLYER, P. D.; ROTHROCK, C. S.; KOCHMAN, J. K. Fusarium wilt of cotton: diversity and implications for management. **Plant Disease**, v. 90, n. 6, p. 692-703, 2006.
- DI PIETRO, A.; LORITO, M.; HAYES, C. K.; BROADWAY, R. M.; HARMAN, G. E. Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. **Phytopathology**, v. 83, n. 3, p. 308-313, 1993.

- DRUZHININA, I. S.; CHENTHAMARA, K.; ZHANG, J.; ATANASOVA, L.; YANG, D.; MIAO, Y.; RAHIMI, M. J.; GRUJIC, M.; CAI, F.; POURMEHDI, S.; SALIM, K. A.; PRETZER, C.; KOPCHINSKIY, A. G.; HENRISSAT, B.; KUO, A.; HUNDLEY, H.; WANG, M.; AERTS, A.; SALAMOV, A.; LIPZEN, A.; LABUTTI, K.; BARRY, K.; GRIGORIEV, I. V.; SHEN, Q.; KUBICEK, C. P. Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. **PLoS Genetics**, v. 14, n. 4, e1007322, 2018.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.
- EHRlich, J.; WOLF, F. A. Arcolate mildew of cotton. **Phytopathology**, v. 22, p. 229-240, 1932.
- ELAD, Y.; KALFON, A.; CHET, I. Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seed-coating with *Trichoderma* spp. spores. **Plant and Soil**, v. 66, n. 2, p. 279-281, 1982.
- ELAD, Y.; BAKER, R. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. **Phytopathology**, v. 75, n. 9, p. 1053-1059, 1985.
- FARIA, A. Y. K.; ALBUQUERQUE, M. C. F. E.; CASSETARI NETO, D. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químico e biológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 121-127, 2003.
- GALBIERI, R.; VAZ, C. M. P.; SILVA, J. F. V.; ASMUS, G. L.; CRESTANA, S.; MATOS, E. S.; MAGALHÃES, C. A. S. Principais espécies de nematoides do algodoeiro no Brasil. In: GALBIERI, R.; BELOT, J. L. (Ed.). **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle**. Cuiabá: IMAmT, 2016. p. 37-89.
- GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M. D.; OLMEDO-MONFIL, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 109, n. 1, p. 6-16, 2019.
- HANSON, L. E.; HOWELL, C. R. Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*. **Phytopathology**, v. 94, n. 2, p. 171-176, 2004.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and biology of Trichoderma**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125-137.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.
- HILLOCKS, R. J. Seedling diseases. In: HILLOCKS, R. J. (Ed.). **Cotton diseases**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 1-38.
- HOWELL, C. R. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 92, n. 2, p. 177-180, 2002.
- HOWELL, C. R. Effect of seed quality and combination fungicide-*Trichoderma* spp. seed treatments on pre- and postemergence damping-off in cotton. **Phytopathology**, v. 97, n. 1, p. 66-71, 2007.
- HOWELL, C. R. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 178-180, 2006.
- HOWELL, C. R.; DEVAY, J. E.; GARBER, R. H.; BATSON, W. E. Field control of cotton seedling diseases with *Trichoderma virens* in combination with fungicide seed treatments. **Journal of Cotton Science**, v. 1, n. 1, p. 15-20, 1997.
- HOWELL, C. R.; HANSON, L. E.; STIPANOVIC, R. D.; PUCKHABER, L. S.; WHEELER, M. H. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. **Phytopathology**, v. 90, n. 3, p. 248-252, 2000.
- HOWELL, C. R.; PUCKHABER, L. S. A study of the characteristics of "P" and "Q" strains of *Trichoderma virens* to account for differences in biological control efficacy against cotton seedling diseases. **Biological Control**, v. 33, n. 2, p. 217-222, 2005.

HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens* and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 29, n. 3, p. 321-324, 1983.

HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Phytotoxicity to crop plants and herbicidal effects on weeds of viridiol produced by *Gliocladium virens*. **Phytopathology**, v. 74, n. 11, p. 1346-1349, 1984.

HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D.; LUMSDEN, R. D. Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, n. 4, p. 435-440, 1993.

JULIATTI, F. C.; RUANO, O. Algodão (*Gossypium hirsutum* L.): controle de doenças. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. p. 555-558.

KAPPES, C.; ZANCANARO, L.; FRANCISCO, E. A. B. Nitrogen and potassium in narrow-row cotton. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, e0150103, 2016.

KRUG, H. P. *Fusarium* como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. In: REUNIÃO DE PHYTOPATHOLOGISTAS DO BRASIL, 1., 1936, Rio de Janeiro. **Annaes...** Rio de Janeiro: Instituto de Biologia Vegetal, 1936. p. 319-321.

KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; MARTINEZ, D. A.; DRUZHININA, I. S.; THON, M.; ZEILINGER, S.; CASAS-FLORES, S.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K.; MUKHERJEE, M.; KREDICS, L.; ALCARAZ, L. D.; AERTS, A.; ANTAL, Z.; ATANASOVA, L.; CERVANTES-BADILLO, M. G.; CHALLACOMBE, J.; CHERTKOV, O.; MCCLUSKEY, K.; COULPIER, F.; DESHPANDE, N.; VON DÖHREN, H.; EBBOLE, D. J.; ESQUIVEL-NARANJO, E. U.; FEKETE, E.; FLIPPHI, M.; GLASER, F.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, E. Y.; GRUBER, S.; HAN, C.; HENRISSAT, B.; HERMOSA, R.; HERNÁNDEZ-OÑATE, M.; KARAFKA, L.; KOSTI, I.; LE CROM, S.; LINDQUIST, E.; LUCAS, S.; LÜBECK, M.; LÜBECK, P. S.; MARGEOT, A.; METZ, B.; MISRA, M.; NEVALAINEN, H.; OMANN, M.; PACKER, N.; PERRONE, G.; URESTI-RIVERA, E. E.; SALAMOV, A.; SCHMOLL, M.; SEIBOTH, B.; SHAPIRO, H.; SUKNO, S.; TAMAYO-RAMOS, J. A.; TISCH, D.; WIEST, A.; WILKINSON, H. H.; ZHANG, M.; COUTINHO, P. M.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; BAKER, S. E.; GRIGORIEV, I. V. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, p. R40, 2011.

LEWIS, J. A.; PAPAIVIZAS, G. C. Biocontrol of cotton damping-off caused by *Rhizoctonia solani* in the field with formulations of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens*. **Crop Protection**, v. 10, n. 5, p. 396-402, 1991.

LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A.; HARAKAVA, R. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 225-232, 2009.

MACHADO, L. P.; MICHEREFF, S. J.; FALLEIRO, B. A. S.; OLIVEIRA, M. G.; COUTINHO, W. M.; MORELLO, C. L.; SUASSUNA, N. D. Um método simples e rápido de seleção para resistência à murcha-de-fusário em genótipos de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 1, p. 51-55, 2009.

MEHTA, Y. R.; GALBIERI, R.; MARANGONI, M. S.; BORSATO, L. C.; RODRIGUES, H. P.; PEREIRA, J.; MEHTA, A. *Mycosphaerella areola*: the teleomorph of *Ramularia areola* of cotton in Brazil, and its epidemiological significance. **American Journal of Plant Sciences**, v. 7, n. 10, p. 1415-1422, 2016.

MERCADO de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano. Brasília, DF: Mapa. Publicado em: 21 mar. 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.

MORELLO, C. L.; SUASSUNA, N. D.; BARROSO, P. A. V.; SILVA, J. L.; FERREIRA, A. C. B.; LAMAS, F. M.; PEDROSA, M. B.; CHITARÁ, L. G.; RIBEIRO, J. L.; GODINHO, V. P. C.; LANZA, M. A. BRS 369RF and BRS 370RF: Glyphosate tolerant, high-yielding upland cotton cultivars for central Brazilian savanna. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, n. 4, p. 290-294, 2015.

ORDENTLICH, A.; MIGHELI, Q.; CHET, I. Biological control activity of three *Trichoderma* isolates against *Fusarium* wilts of cotton and muskmelon and lack of correlation with their lytic enzymes. **Journal of Phytopathology**, v. 133, n. 3, p. 177-186, 1991.

PAIVA, F. de A.; ASMUS, G. L.; ARAÚJO, A. E. de. Doenças. In: EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Campina Grande: Embrapa Algodão, 2001. p. 245-267.

RATHAIAH, Y. Spore germination and mold of cotton infection by *Ramularia areola*. **Phytopathology**, v. 67, n. 3, p. 351-357, 1977.

RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The combina-

tion of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 294, 2017.

SHANMUGAIAH, V.; BALASUBRAMANIAN, N.; GOMATHINAYAGAM, S.; MANOHARAN, P.T.; RAJENDRAN, A. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 11, p. 1220-1225, 2009.

SILVA, J. C.; SUASSUNA, N. D.; BETTIOL, W. Management of Ramularia leaf spot on cotton using integrated control with genotypes, a fungicide and *Trichoderma asperellum*. **Crop Protection**, v. 94, p. 28-32, 2017.

SILVA NETO, S. B.; PEREIRA, A. F.; MORELLO, C. L.; SUASSUNA, N. D. Melhoramento clássico e biotecnologia visando à superação de desafios. In: PICCOLI, G. V.; DANCIN, E.; LOPES, M. A. (Ed.). **Desafios do Cerrado: como sustentar a expansão da produção com produtividade e competitividade**. Cuiabá: AMPA, 2016. p. 215-252.

SIVAN, A.; CHET, I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. **Phytopathology**, v. 79, n. 2, p. 198-203, 1989.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo de doenças. In: BORÉM, A.; FREIRE, E. C. (Ed.). **Algodão: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2014. p. 250-270.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. In: FREIRE, E. C. (Ed.). **Algodoeiro no Cerrado do Brasil**. 3 ed. Brasília, DF: Positiva, 2015. p. 365-408.

SUASSUNA, N. D.; MORELLO, C. L.; PEDROSA, M. B.; BARROSO, P. A. V.; SILVA, J. L.; SUASSUNA, T. M. F.; PERINA, F. J.; SOFIATTI, V.; MAGALHÃES, F. O. C.; FARIAS, F. J. C. BRS 430 B2RF and BRS 432 B2RF: insect resistant and glyphosate-tolerant high-yielding cotton cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 221-225, 2018.

SUASSUNA, N. D.; FERREIRA, A. C. B.; MORELLO, C. L.; ARAÚJO, A. E. Incidência e severidade de mofo branco em cultivares de algodoeiro com diferentes densidades populacionais no espaçamento adensado em safrinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7., 2009, Foz do Iguaçu. **Sustentabilidade da cotonicultura brasileira e expansão dos mercados: anais**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009a. 1 CD-ROM.

SUASSUNA, N. D.; MORELLO, C. L.; FERREIRA, A. C. B.; ARAÚJO, A. E. Incidência e severidade de mofo branco em genótipos de algodoeiro cultivados em safrinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7., 2009, Foz do Iguaçu. **Sustentabilidade da cotonicultura brasileira e expansão dos mercados: anais**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009b. 1 CD-ROM.

TJAMOS, E.; PAPAIVAS, G.; COOK, R. **Biological control of plant diseases: progress and challenges for the future**. New York: Plenum Press, 1992. 462 p.

VOS, C. M. F.; DE CREMER, K.; CAMMUE, B. P. A.; DE CONINCK, B. The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 16, n. 4, p. 400-412, 2015.

WEINDLING, R. Experimental consideration of the mold toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. **Phytopathology**, v. 31, p. 991-1003, 1941.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, M.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.

WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.

YAN, Y.; KURAMAE, E. E.; DE HOLLANDER, M.; KLINKHAMER, P. G.; van VEEN, J. A. Functional traits dominate the diversity-related selection of bacterial communities in the rhizosphere. **International Society for Microbial Ecology Journal**, v. 11, n. 1, p. 56-66, 2017.

YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; CHET, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 1061-1070, 1999.

YORINORI, J. T. Avaliação de perdas. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisas de soja 1985/86**. Londrina, 1987. p. 197-222. (Embrapa Soja. Documentos, 20).

ZHANG, J.; HOWELL, C. R.; STARR, J. L. Suppression of *Fusarium* colonization of cotton roots and Fusarium wilt by seed treatments with *Gliocladium virens* and *Bacillus subtilis*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, n. 2, p. 175-187, 1996.

Uso do *Trichoderma* na cultura da batata

Wilson Story Venancio

Robinson Martins Venancio

Flávia de Oliveira Marzarotto

Vanessa Nathalie Modesto Boratto

Eduardo Gilberto Dallago

Ibraian Valério Boratto

O controle de doenças na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) representa percentual significativo no custo de produção, podendo muitas vezes, se mal planejado, inviabilizar a produção, isso se aplica tanto para patógenos de parte aérea quanto para patógenos de solo que interferem no desenvolvimento da cultura. Entre aqueles fungos que se destacam pelos prejuízos promovidos no cultivo da batata podemos eleger a *Rhizoctonia solani* como sendo de elevada importância e de difícil controle, promovendo distúrbios que reduzem a produção e interferem na qualidade final.

O fungo *R. solani* é um importante fungo de solo, necrotrófico (Mayo, et al., 2015) que persiste no solo por longos períodos, produzindo escleródios como estrutura de sobrevivência. Este fungo apresenta mais de 100 espécies que causam danos severos a muitas culturas agrícolas economicamente importantes, bem como espécies arbóreas em todo o mundo (Druzhinina; Kubicek, 2005). Ele possui ampla distribuição geográfica, considerado cosmopolita, atuando como saprófita no solo e como patógeno de plantas, com inúmeros hospedeiros e, entre outras doenças, causa tanto o cancro do caule como o descamação da batata (*Solanum tuberosum* L.), o que leva a reduções na produção e perdas na qualidade dos tubérculos. Apresenta catorze grupos de anastomoses geneticamente distintas (AG1 a AG13 e AGBI) com um grau único de especificidade do hospedeiro e reprodutivamente mostram-se incompatíveis entre si (Brewer; Larkin, 2005; Chen et al., 2016). É um fungo que causa doenças em plântulas, podridão radicular e morte em pré e pós-emergência (Gajera et al., 2016). Todos os anos, este fungo provoca enormes perdas de rendimento em mais de uma centena espécies hortícolas (Chen et al., 2016).

O controle de *R. solani* torna-se difícil devido à alta taxa de sobrevivência de escleródios, sua

ampla gama de hospedeiros e seu comportamento ecológico. Portanto, as estratégias para controlar *R. solani* são limitadas porque nenhuma cultivar apresenta resistência completa. Controles agrônômicos como a rotação de culturas são altamente confiáveis para combater esta doença, embora o hábito polífago de alguns isolados possa incluir as espécies de culturas rotacionadas. Fungicidas de amplo espectro também estão disponíveis, mas têm alta toxicidade e não são ecologicamente corretos. Além disso, os métodos de controle químico podem não ser viáveis nem econômicos para o controle de muitos patógenos transmitidos pelo solo. Dessa forma, a estratégia de biocontrole oferece uma alternativa ecologicamente correta para proteger as plantas desses fungos de solo (Abbas et al., 2017). Existem muitos estudos relatando que o controle biológico com o gênero *Trichoderma* (Teleomorph: *Hypocrea*) é eficaz no controle de *R. solani* (Brewer; Larkin, 2005), promovendo o crescimento das plantas e estimulando as respostas de defesa das plantas (Druzhinina et al., 2011). *Trichoderma* spp. são tipicamente fungos filamentosos aeróbios, facultativos e cosmopolitas que podem ser encontrados em grande número em solos agrícolas e em outros substratos, como madeira em decomposição (Druzhinina; Kubicek, 2005). O gênero *Trichoderma* apresenta uma gama notável de estilos de vida e interações com *R. solani* e pode ser usado como controle biológico de doenças de plantas (Anees et al., 2011).

Espécies do gênero *Trichoderma* vêm sendo utilizadas com sucesso no controle de fitopatógenos de solo, por serem capazes de proteger plantas por meio de diferentes mecanismos de ação (micoparasitismo, antibiose, competição e indução de resistência), e por colonizar eficientemente o substrato e o sistema radicular de várias espécies de plantas (Harman et al., 2004; Harman, 2006; Woo et al., 2006). Além disso, esse gênero está entre os microrganismos mais resistentes às toxinas e produtos químicos naturais e sintetizados pelo homem, capazes até mesmo de degradar alguns desses compostos, tais como hidrocarbonetos e pesticidas (Harman et al., 2004; Harman, 2006; Woo et al., 2006). Outra característica importante desse gênero é que muitas de suas linhagens são produtoras prolíficas de esporos e de poderosos antibióticos (Woo et al., 2006).

Trichoderma spp. e seus metabólitos extracelulares são explorados como agentes de biocontrole ou fungicidas biológicos visando controle de patógenos de plantas (Vinale et al., 2008). Esses metabólitos incluem metabólitos voláteis e solúveis em água e metabólitos secundários de baixo peso molecular (Eziashi et al., 2007; Schuster; Schmoll, 2010; Kotasthane et al., 2015). Kotasthane et al. (2015) coletaram 20 isolados de *Trichoderma* de diferentes localizações geográficas e descobriram que, dentre todos os isolados, um isolado de *Trichoderma viride* (T14) foi identificado como elevado produtor de fosfato inorgânico, AIA e sideróforo, apresentando elevado antagonismo contra *R. solani*, e habilidade para promoção de crescimento de plantas. A associação de proteínas de *Trichoderma* spp. estão envolvidas na síntese de metabólitos secundários deletérios, preenchimento, reconhecimentos, sinais de transdução e reprogramação

genética da expressão gênica, bem como no micoparasitismo de *R. solani* (Abbas et al., 2017). Trinta e cinco cepas de *T. viride* e *T. harzianum* foram testadas quanto à sua capacidade antagônica contra o patógeno *R. solani* por Krishnamurthy et al. (1999), destes isolados os autores verificaram para alguns isolados a inibição *in vitro* do crescimento desse patógeno através da ação da quitinase. O biocontrole de *R. solani* em tomates cultivados em casa de vegetação e em campo foi analisado utilizando *T. harzianum* onde os autores constataram redução de mortalidade e menores níveis de cancro nas plantas tratadas (Montealegre et al., 2010). França et al. (2015) avaliando a queima da bainha de arroz causada por *R. solani* observaram redução na severidade da doença, aumento na produtividade e no peso de grãos em plantas tratadas por *T. asperellum*. O tombamento (damping-off) em culturas cultivadas em estufa causadas por *R. solani* foi controlado com uma formulação de vários *Trichoderma* spp. avaliadas por Lewis e Lumsden (2001). Vinte e oito potenciais biocontroladores foram avaliados por Brewer e Larkin (2005) por apresentarem eficácia sobre *R. solani*, o fungo *T. virens* foi o que demonstrou um melhor controle do cancro em batata, porém os autores sugerem a combinação de biocontroladores para melhores resultados, sugerindo que essa abordagem pode melhorar a eficácia do biocontrole.

O mecanismo pelo qual as estirpes de *Trichoderma* mostram-se fitopatogênicas caracterizam-se em três tipos; competição direta por espaço ou nutrientes, como observado para *T. viride* e *T. harzianum* (Montealegre et al., 2010), *T. viride* (Silva et al., 2012), *T. harzianum*, *T. virens* e *T. atroviride* (Tsrer et al., 2001), isolados de *Trichoderma* spp. (Naeimi et al., 2011) e *T. asperellum* (Asad et al., 2014); produção de metabólitos de antibióticos de natureza volátil ou não volátil; e micoparasitismo direto de certas espécies de *Trichoderma* em fungos patogênicos de plantas (Daguerre et al., 2016). Vários genes tem sido clonados a partir de *Trichoderma* spp. e utilizados contra *R. solani*. O primeiro gene que foi isolado de *T. virens* foi o Tvsp1. Este gene foi clonado com sucesso e sua função analisada, descobrindo-se que ele codifica a enzima serina protease. Esta serina protease foi utilizada para controlar *R. solani* em mudas de algodão. Foi encontrada degradação da parede celular fúngica pela enzima serina protease (Pozo et al., 2004).

Para Bellows et al. (1999), doenças causadas por patógenos de plantas transmitidas pelo solo, o controle biológico ou biocontrole, refere-se à introdução de organismos que são antagônicos ao patógeno ou reduzem seus efeitos, ou a um aumento na densidade ou atividade de organismos antagônicos de ocorrência natural, resultando em uma redução da severidade da doença. Mecanismos de ação que sustentam o biocontrole incluem a destruição do patógeno diretamente (mecanismos incluem predação, micoparasitismo e/ou produção de compostos antibióticos) ou a exclusão do patógeno através da competição por recursos e a indução da resistência do hospedeiro.

Independente da forma em que o biocontrole seja introduzido no sistema, os mecanismos pelos quais a supressão da doença é alcançada tradicionalmente se resumem em quatro categorias gerais; competição, antibiose, micoparasitismo e indução de resistência de plantas, tendo ainda a promoção do crescimento, como um possível quinto mecanismo indireto de biocontrole (Handelsman; Stabb, 1996; Hoitink; Boehm, 1999; Bienkowski, 2012). Todos esses mecanismos de ação têm sido observados no controle das doenças causadas por *Rhizoctonia*, conforme detalhado por Bienkowski (2012).

Considerando a competição por nutrientes e espaço, um estudo realizado por Weinhold et al. (1972) demonstrou que a virulência de *R. solani* em plântulas de algodão depende do estado nutricional do micélio, mostrando que os fungos mais bem nutridos tornam-se mais patogênicos. Além disso, Dijst (1988) verificou que *R. solani* AG 3 produziu escleródios com maior massa em meio rico em nutrientes em comparação com meios pobres em nutrientes, e sugeriu que uma maior incidência de crosta preta após a destruição da haste pode resultar parcialmente do aumento da exsudação de nutrientes pela planta hospedeira. Portanto, concluiu que as interações que impedem o patógeno de acessar a nutrição exógena, a partir do solo ou dos exsudatos das plantas, diminuirão seu potencial patogênico.

A supressão de doenças causadas por *Rhizoctonia* por determinados microrganismos específicos é freqüentemente atribuída à produção de metabólitos secundários, que são diretamente tóxicos para o patógeno, caracterizando a antibiose (El-Tarabily; Sivasithamparam, 2006; Homma, 1996; Whipps, 2001). Os compostos implicados no biocontrole de *R. solani* são geralmente antibióticos ou enzimas que degradam a parede celular de fungos. Foi demonstrado que a capacidade de muitas cepas de rizobactérias na supressão de patógenos de plantas é dependente de sua capacidade de produzir metabólitos secundários que inibem diretamente os patógenos, e estes incluem antibióticos, sideróforos, bacteriocinas e cianeto (Homma, 1996). Cepas de *Trichoderma* são frequentemente investigadas para o biocontrole de doenças *Rhizoctonia*, e muitas produzem compostos inibitórios, como 6-pentyl-pirone, que inibe o crescimento de *R. solani* in vitro (Scarselletti; Faull, 1994), triconodermina, um composto antimicótico (Bertagnolli et al., 1998) e endocitinas e endoproteínas inibidoras de *R. solani* (Bertagnolli et al., 1996). Ainda sobre supressividade de solos, Sigüenza et al (2014) isolou quatro espécies do gênero *Trichoderma* em áreas de cultivo de batata, no Perú (distrito de Huamachuco). Os autores coletaram 17 amostras e destas, 11 apresentavam *Trichoderma* correspondendo a quatro espécies: *T. atroviride*, *T. viride*, *T. harzianum* e *T. pseudokonigii*.

Grosch et al. (2006) selecionaram 390 isolados fúngicos em uma série de ensaios in vitro e in vivo, e os seis primeiros candidatos ao controle de *Rhizoctonia* em plântulas de batata em um experimento em vaso e em um campo foram cepas de *Trichoderma reesei* e *T. viride*. Outro isolado de *T. viride* foi avaliado por Coley-Smith et al. (1991) apresentou o melhor desempenho

em nove isolados de *Trichoderma* para o controle da podridão em alface causada por *R. solani*, obtendo controle equivalente ao fungicida tolchlofos-methyl. Beagle-Ristaino e Papavizas (1985) verificaram que as aplicações em campo de um *T. viride* e um *T. virens* reduziram a severidade do cancro-da-haste de batata e a viabilidade de escleródios em tubérculos e em solo. As estirpes de *T. harzianum* são frequentemente citadas como supressores das doenças causadas por *R. solani*, incluindo o isolado T-22. Esse isolado, o T-22 reduziu o índice precoce de lesões de *Rhizoctonia* em experimentos em vaso, embora o antagonismo diminuísse ao longo do tempo e reduzisse a formação de crosta negra em tubérculos, reduzindo a proporção de tubérculos mal formados, subdimensionados ou não (Wilson et al., 2008). Outros isolados de *T. harzianum* reduziram o tombamento de feijão-vagem na estufa (Marshall, 1982) e reduziram a podridão-negra-da-raiz de plantas de morangueiro com aplicações em estufa e campo, resultando em maior produtividade (Elad et al., 1981). Outro isolado de *T. harzianum* reduziu a proporção de plantas de feijão com doença causada por *Rhizoctonia* em casa de vegetação e em experimentos de campo, mas o controle diminuiu à medida que a temperatura do solo aumentou (Elad et al., 1980). Outra cepa de *T. harzianum* reduziu o tombamento de sementes de algodão de forma tão eficaz quanto o fungicida pentacloronitrobenzeno, assim como uma cepa de *T. hamatum* (Elad et al., 1982). Mihuta-Grimm e Rowe (1986) demonstraram que outro isolado de *T. hamatum* proporcionou melhor controle de campo do tombamento em rabanete do que o pentacloronitrobenzeno.

Como estratégia para o biocontrole, Bienkowski (2012) cita que o micoparasitismo é atraente em princípio, pois envolve a destruição direta e direcionada do patógeno pelo agente de biocontrole. Existe um grande número de pesquisas explorando o potencial dos micoparasitas para controlar *R. solani*, e algumas das espécies mais comumente investigadas incluem *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride*, *T. virens*, *Laetia arvalis*, *Pythium nunn*, *Gliocladium roseum*, *Verticillium biguttatum* e *Stachybotrys elegans* (Boogert, 1996). Existem algumas problemas para micoparasitismo que limitam a aplicação deste modo de ação, como visto para *Verticillium biguttatum* que recebeu muita atenção como um potencial agente de controle biológico de *R. solani* em batata, mesmo sendo um agente dependente de *R. solani* para seu desenvolvimento natural (Boogert; Luttikholt, 2004; Boogert et al., 1990; Morris et al., 1995). A faixa ecológica de *V. biguattatum* é mais restrita que *R. solani*, portanto, seu hospedeiro pode escapar da infecção. O biocontrole de tombamento promovido por *Rhizoctonia* de rabanete por um isolado de *Trichoderma hamatum* foi reduzido pela presença de fungos termofílicos em meio recipiente contendo casca de madeira, potencialmente porque os fungos termofílicos forneceram um alvo alternativo para o micoparasitismo (Chung; Hoitink, 1990). Portanto, se as condições ambientais não forem favoráveis ou se houver hospedeiros alternativos, é improvável que o micoparasitismo suprima suficientemente o patógeno.

A indução de resistência também foi abordada por Bienkowski (2012), quando cita o trabalho de Lehtonen et al (2008), onde foi demonstrado que as plantas de batata respondem à infecção por cepas virulentas de *R. solani* por ativação sistêmica de uma série de genes de defesa, incluindo as enzimas hidrolisadoras de quitina, 1,3, - β -glucanase, que estão envolvidas na hidrólise das paredes celulares dos fungos, e que isto diminui a probabilidade de infecção das hastes subsequentes da parte aérea. Outros organismos não patogênicos que ativam as mesmas vias podem diminuir as doenças promovidas por *Rhizoctonia* em batata. Cardinale et al. (2006) demonstraram que o tombamento de rabanete causado por *Rhizoctonia* foi reduzido por uma cepa de *R. solani* hipovirulenta, que induziu resistência sistêmica e também competiu com uma cepa virulenta de *R. solani* por espaço e nutrientes. Esta abordagem também foi demonstrada para o controle da doença causadas por *Rhizoctonia* e em manchas foliares na cultura de milho (Pascual et al., 2000).

T. atroviride, por sua vez, tem sido demonstrado que inibe, em condições de laboratório, o crescimento micelial de *R. solani*, um dos agentes patogênicos mais importantes são transmitidos através do solo, cujo controle normalmente envolve a utilização de produtos químicos, que leva a um aumento nos custos da cultura e efeitos adversos na saúde humana e animal. Além disso, os patógenos podem desenvolver resistência contra produtos químicos, o que aumenta o desafio de proteger as plantas (Carisse et al, 2001; Grenville-Briggs et al., 2008; Lahlali; Hijri, 2010).

A principal causa da atividade de biocontrole de *Trichoderma* está relacionada com a produção de quitinases para desintegrar a parede celular de fitopatógenos fúngicos (Anand; Jayarama, 2009). Matroudi et al. (2009) testaram 30 isolados de *Trichoderma* e com base no nível máximo de quitinase, indicando que *T. atroviride* pode ser empregado como agente de controle biológico a campo contra *Sclerotinia sclerotiorum*. Woo e Lorito (2007) relatam várias espécies de *Trichoderma* são antagonistas de patógenos de plantas. Estas espécies são conhecidas por produzirem diferentes tipos de Enzimas de Degradação da Parede Celular (CWDEs), e centenas de antibióticos e compostos bioativos que ainda não estão caracterizados. *Trichoderma* spp. produzem abundantes compostos biologicamente ativos, incluindo os CWDEs e metabólitos secundários que ajudam na redução dos efeitos deletérios dos fitopatógenos e também promovem respostas positivas em plantas (Munir et al., 2013). Estes fungos produzem uma mistura de enzimas incluindo β -1,3-glucanases e quitinases que são antifúngicas por natureza. Ambas as enzimas antifúngicas cooperam entre si durante a atividade antagonista e também com outras enzimas relacionadas. Limon et al. (2004), verificaram que o *T. harzianum* é um fungo antagonístico comumente disperso no ambiente, geralmente correlacionado com as enzimas antifúngicas quitinases que degradam as paredes de células fúngicas. As enzimas quitinase produzidas por *T. harzianum* têm papel importante na atividade antagonista e indicam que

as enzimas quitinolíticas resultam na hidrólise da parede celular fúngica contendo quitina. Thrane et al. (2000) estudaram dois isolados do antagonista *Trichoderma* spp., P1 e T3, que produziram diferentes tipos de enzimas líticas em cultura líquida. A combinação dos dois isolados resultou em menor atividade do que cada isolado testado isoladamente e não houve diferenças significativas entre estes dois isolados quanto à capacidade de proteger as plântulas de pepino contra *P. ultimum*. O micélio fresco e seco do fungo patogênico *S. rolfsii* foi facilmente hidrolisado pelas enzimas chitinase e β -1,3-glucanase presente no filtrado de cultura de *T. harzianum* e estas enzimas reduziram o crescimento de *S. Rolfsii*.

Lucon et al. (2009), selecionaram e identificaram isolados de *Trichoderma* spp. para o controle do tombamento causado por *Rhizoctonia solani* (AG-4) em plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.), além de avaliar o efeito de concentrações crescentes e de combinações dos isolados mais eficientes no controle da doença. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, com 490 isolados. O tombamento das mudas foi avaliado uma semana após a aplicação à base das plântulas de substrato infestado com antagonista (1%) e patógeno (1%). Os doze isolados que proporcionaram mais de 85% de redução da doença foram testados em concentrações crescentes para o controle do patógeno (1%): 0,5; 1; 2; 3 e 4%. Também foi avaliado o efeito das combinações dos cinco isolados mais promissores. Dos 490 isolados testados 44 (9%) reduziram o tombamento. As concentrações de antagonistas superiores a 2% foram as mais efetivas no controle da doença. Apenas duas combinações resultaram no aumento do controle da doença. Os isolados mais efetivos foram identificados como *T. hamatum* (IB08, IB30, IB60), *T. harzianum* (IB34, IB35), *T. atroviride* (IB13), *T. spirale* (IB16, IB24) e *T. asperellum* (IB44).

Produtores de batata, assim como outros agricultores, tem grande responsabilidade na manutenção da sanidade de seus cultivos. Particularmente, a cultura da batata apresenta problemas muito sérios no aspecto fitopatológico, destacando-se enfermidades como a requeima e a pinta-preta, consideradas epidêmicas e de atenção constante no manejo, sendo que qualquer desatenção compromete o manejo e reflete-se na produção, fato este que cria uma certa dependência do manejo químico, permitindo que parte dela ou toda a responsabilidade pela sanidade dos cultivos seja fornecida graças ao uso correto desses produtos. De certa forma, essa filosofia de ação, tem prejudicado a adoção por outros métodos de controle, como a utilização de controle biológico, mantendo sua atenção nos principais problemas da cultura. Esta revisão nos permite observar que não só existem outros problemas, que podem se agravar por falta de manejo adequado, como também os principais problemas podem ser amenizados pela adequação de outras técnicas. A introdução de biocontroladores, no manejo de fungos necrotróficos, melhorando a biota do solo, permitirá também uma redução no inóculo de patógenos importantes nas áreas destinadas ao cultivo da batata.

Referências

- ABBAS, A.; JIANG, D.; FU, Y. *Trichoderma* spp. as antagonist of *Rhizoctonia solani*. **Journal of Plant Pathological Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 402-441, 2017.
- ANAND, S.; JAYARAMA, R. Biocontrol potential of *Trichoderma* sp. against plant pathogens. **International Journal of Agriculture Sciences**, v. 1, n. 2, p. 30-39, 2009.
- ANEES, M.; TRONSMO, A.; EDEL-HERMANN, V.; HJELJORD, L. G.; HÉRAUD, C.; STEINBERG, C. Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, v. 114, n. 9, p. 691-701, 2011.
- ASAD, S. A.; ALI, N.; HAMEED, A.; KHAN, S. A.; AHMAD, R.; BILAL, M.; SHAHZAD, M.; TABASSUM, A. Biocontrol efficacy of different isolates of *Trichoderma* against soil borne pathogen *Rhizoctonia solani*. **Polish Journal of Microbiology**, v. 63, n. 1, p. 95-103, 2014.
- BEAGLE-RISTAINO, J. E.; PAPAIVIZAS, G. C. Biological-Control of *Rhizoctonia* Stem Canker and Black Scurf of Potato. **Phytopathology**, v. 75, n. 5, p. 560-564, 1985.
- BELLOWS, T. S. Controlling soil-borne plant pathogens. In: BELLOWS, T. S.; FISHER, T. W. (Eds.). **Handbook of Biological Control: principles and applications of biological control**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 699-712.
- BERTAGNOLLI, B. L.; DALSOGLIO, F. K.; SINCLAIR, J. B. Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and of two antagonists, *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008. I. Possible correlations with inhibition of growth and biocontrol. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 48, n. 3, p. 145-160, 1996.
- BERTAGNOLLI, B. L.; DALY, S.; SINCLAIR, J. B. Antimycotic compounds from the plant pathogen *Rhizoctonia solani* and its antagonist *Trichoderma harzianum*. **Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift**, v. 146, n. 2-3, p. 131-135, 1998.
- BIENKOWSKI, D. **Biological control of Rhizoctonia diseases of potato**. 2012. 183 f. Thesis (Doctor of Phylosophy) - Lincoln University, Christchurch.
- BOOGERT, P. H. J. F. Mycoparasitism and biocontrol. In: SNEH, B.; JABAJIHARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Ed.). **Rhizoctonia Species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kulwer Academic Publishers, 1996. p. 485-493.
- BOOGERT, P. H. J. F.; JAGER, G.; VELVIS, H. *Verticillium biguttatum*, an Important Mycoparasite for the Control of *Rhizoctonia solani* in Potato. In: HORNBY, D. (Ed.). **Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens**. Wallingford: CABI, 1990. p. 77-91.
- BOOGERT, P. H. J. F.; LUTTIKHOLT, A. J. G. Compatible biological and chemical control systems for *Rhizoctonia solani* in potato. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, n. 2, p. 111-118, 2004.
- BREWER, M. T.; LARKIN, R. P. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. **Crop Protection**, v. 24, p. 939-950, 2005.
- CARDINALE, F.; FERRARIS, L.; VALENTINO, D.; TAMIETTI, G. Induction of systemic resistance by a hypovirulent *Rhizoctonia solani* isolate in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 69, n. 4, p. 160-171, 2006.
- CARISSE, O.; EL BASSAM, S.; BENHAMOU, N. Effect of microsphaeropsis sp. Strain P130A on germination and production of sclerotia of *Rhizoctonia solani* and interaction between the antagonist and the pathogen. **Phytopathology**, v. 91, n. 8, p. 782-791, 2001.
- CHEN, L., AI, P.; ZHANG, J.; DENG, Q.; WANG, S.; LI, S.; ZHU, J.; LI, P.; ZHENG, A. RSIADB, a collective resource for genome and transcriptome analyses in *Rhizoctonia solani* AG1 IA. **Database: The Journal of Biological Databases and Curation**, v. 2016, baw 031, 2016. DOI: 10.1093/database/baw031.
- CHUNG, Y. R.; HOITINK, H. A. J. Interactions between thermophilic fungi and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in a bark compost amended container medium. **Phytopathology**, v. 80, n. 1, p. 73-77, 1990.
- COLEY-SMITH, J. R.; RIDOUT, C. J.; MITCHELL, C. M.; LYNCH, J. M. Control of bottom rot disease of lettuce (*Rhizoctonia solani*) using preparations of *Trichoderma viride*, *T. harzianum* or tolclofos-methyl. **Plant Pathology**, v. 40, n. 3, p. 359-366, 1991.
- DAGUERRE, Y.; EDEL-HERMANN, V.; STEINBERG, C. Fungal genes and metabolites associated with the biocontrol of soil-borne plant pathogenic fungi. In: MÉRILLON, J.M.; RAMAWAT, K. (Ed.). **Fungal Metabolites**. Cham: Springer International Publishing, 2016. E-book. DOI: 10.1007/978-3-319-19456-1_27-1.

- DIJST, G. Formation of sclerotia by *Rhizoctonia solani* on artificial media and potato tubers. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 94, n. 5, p. 233-242, 1988.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: The genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 12, p. 896-906, 2011.
- DRUZHININA, I.; KUBICEK, C. P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters? **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 6, n. 2, p. 100-112, 2005.
- ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* in strawberry fields by *Trichoderma harzianum*. **Plant and Soil**, v. 60, n. 2, p. 245-254, 1981.
- ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 70, n. 2, p. 119-121, 1980.
- ELAD, Y.; KALFON, A.; CHET, I. Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seedcoating with *Trichoderma* spp. spores. **Plant and Soil**, v. 66, n. 2, p. 279-281, 1982.
- EL-TARABLY, K. A.; SIVASITHAMPARAM, K. Non-Streptomycete Actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, n. 7, p. 1505-1520, 2006.
- EZIASHI, E. I.; OMAMOR, I. B.; DIMARO-ORUADE, E. A.; OGUNKANMI, L. A. Control of phytotoxin from *Ceratocystis paradoxa* using *Trichoderma* species phytotoxins on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) sprouted seeds. **Plant Pathology Journal**, v. 6, n. 4, p. 324-329, 2007.
- FRANÇA, S. K. S.; CARDOSO, A. F.; LUSTOSA, D. C.; RAMOS, E. M. L. S.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 1, p. 317-324, 2015.
- GAJERA, H. P.; HIRPARA, D. G.; KATAKPARA, Z. A.; PATEL, S. V.; GOLAKIYA, B. A. Molecular evolution and phylogenetic analysis of biocontrol genes acquired from SCoT polymorphism of mycoparasitic *Trichoderma koningii* inhibiting phytopathogen *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 45, p. 383-392, 2016.
- GRENVILLE-BRIGGS, L. J.; ANDERSON, V. L.; FUGELSTAD, J.; AVROVA, A. O.; BOUZENZANA, J.; WILLIAMS, A.; WAWRA, S.; WHISSON, S. C.; BIRCH, P. R.; BULONE, V.; WEST, P. Cellulose synthesis in *Phytophthora infestans* is required for normal appressorium formation and successful infection of potato. **Plant Cell**, v. 20, n. 3, p. 720-738, 2008.
- GROSCH, R.; SCHERWINSKI, K.; LOTTMANN, J.; BERG, G. Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community. **Mycological Research**, v. 110, p. 1464-1474, 2006.
- HANDELSMAN, J.; STABB, E. V. Biocontrol of soilborne plant pathogens. **Plant Cell**, v. 8, n. 10, p. 1855-1869, 1996.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HOITINK, H. A. J.; BOEHM, M. J. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon. **Annual Review of Phytopathology**, v. 37, p. 427-446, 1999.
- HOMMA, Y. Antibiotics and siderophore producing bacteria. In: SNEH, B.; JABAJIHA JABAJIHARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Ed.). *Rhizoctonia Species*: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Dordrecht: Kulwer Academic Publishers, 1996. p. 445-453.
- KOTASTHANE, A.; AGRAWAL, T.; KUSHWAH, R.; RAHATKAR, O. V. In-vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter melon. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 3, p. 523-543, 2015.
- KRISHNAMURTHY, J.; SAMIYAPPAN, R.; VIDHYASEKARAN, P.; NAKKEERAN, S.; RAJESWARI, E. Efficacy of *Trichoderma* chitinases against *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. **Journal of Biosciences**, v. 24, n. 2, p. 207-213, 1999.
- LAHLALI, R.; HIJRI, M. Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants. **FEMS Microbiol Lett**, v. 311, p. 152-159, 2010.

- LEHTONEN, M. J.; SOMERVUO, P.; VALKONEN, J. P. T. Infection with *Rhizoctonia solani* induces defense genes and systemic resistance in potato sprouts grown without light. **Phytopathology**, v. 98, n. 11, p. 1190-1198, 2008.
- LEWIS, J. A.; LUMSDEN, R. D. Biocontrol of damping-off of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p. 49-56, 2001.
- LIMON, M. C.; CHACON, M. R.; MEJIAS, R.; DELGADO-JARANA, J.; RINCON, A. M.; CODOÓN, A. C.; BENITEZ, T. Increased antifungal and chitinase specific activities of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 by addition of a cellulose binding domain. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 5, p. 675-685, 2004.
- LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A.; HARAKAVA, R. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 225-232, 2009.
- MARSHALL, D. S. Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum concentration on damping-off of snap bean in acidic soils. **Plant Disease**, v. 66, n. 9, p. 788-789, 1982.
- MATROUDI, S.; ZAMANI, M. R.; MOTALLEBI, M. Antagonistic effects of three species of *Trichoderma* sp. on *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of canola stem rot. **Egyptian Journal of Biology**, v. 11, p. 37-44, 2009.
- MAYO, S.; GUTIERREZ, S.; MALMIERCA, M. G.; LORENZANA, A.; CAMPELO, M. P.; CASQUERO, P. A. Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article 685, 2015.
- MIHUTA-GRIMM, L.; ROWE, R. C. *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-off of radish in organic soil and comparison of four delivery systems. **Phytopathology**, v. 76, n. 3, p. 306-312, 1986.
- MONTEALEGRE, J.; VALDERRAMA, L.; SÁNCHEZ, S.; HERRERA, R.; BESOAIN, X.; PÉREZ, L. M. Biological control of *Rhizoctonia solani* in tomatoes with *Trichoderma harzianum* mutants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 2, p. 1-2, 2010.
- MORRIS, R. A. C.; COLEYSMITH, J. R.; WHIPPS, J. M. The ability of the mycoparasite *Verticillium biguttatum* to infect *Rhizoctonia solani* and other plantpathogenic fungi. **Mycological Research**, v. 99, n. 8, p. 997-1003, 1995.
- MUNIR, S.; JAMAL, Q.; BANO, K.; SHERWANI, S. K.; BOKHARI, T. Z.; KHAN, T. A.; KHAN, R. A.; JABBAR, A.; ANEES, M. Biocontrol ability of *Trichoderma*. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 6, n. 18, p. 1246-1252, 2013.
- NAEIMI, S.; OKHOVAT, S. M.; JAVAN-NIKKHAH, M.; VÁGVÖLGYI, C.; KHOSRAVI, V.; KREDICS, L. Biological control of *Rhizoctonia solani* AG1-1A, the causal agent of rice sheath blight with *Trichoderma* strains. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 49, n. 3, p. 287-300, 2011.
- PASCUAL, C. B.; RAYMUNDO, A. D.; HYAKUMACHI, M. Efficacy of hypovirulent binucleate *Rhizoctonia* sp. to control banded leaf and sheath blight in corn. **Journal of General Plant Pathology**, v. 66, n. 1, p. 95-102, 2000.
- POZO, M. J.; BAEK, J. M.; GARCIA, J. M.; KENERLEY, C. M. Functional analysis of tvsp1, a serine protease-encoding gene in the biocontrol agent *Trichoderma virens*. **Fungal Genetics Biology**, v. 41, n. 3, p. 336-348, 2004.
- SCARSELLETTI, R.; FAULL, J. L. In vitro activity of 6-pentyl-alpha-pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Mycological Research**, v. 98, p. 1207-1209, 1994.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787-799, 2010.
- SIGÜENAS, J. A.; ANGULO, R. C.; CRUZ, S. C.; VALVERDE, J. D.; PUELLES, C. M.; ESPINOZA, G. A.; RÍOS, M. M. *Trichoderma* species isolated of *Solanum tuberosum* soil cultivation from Huamachuco, Peru. 2012. **REBIOL**, v. 34, n. 2, p. 38-43, 2014.
- SILVA, J. C.; TORRES, D. B.; LUSTOSA, D. C.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Biocontrole de queima da bainha em arroz e promoção de crescimento por *Trichoderma* isolados da região Amazônica. **Revista de Ciências Agrárias - Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Science**, v. 55, n. 4, p. 243-250, 2012.
- THRANE, C.; JENSEN, D. F.; TRONSMO, A. Substrate colonization, strain competition, enzyme production in vitro, and biocontrol of *Pythium ultimum* by *Trichoderma* spp. Isolates P1 and T3. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, n. 3, p. 215-225, 2000.
- TSROR, L.; BARAK, R.; SNEH, B. Biological control of black scurf on potato under organic management. **Crop Protection**, v. 20, n. 2,

p. 145-150, 2001.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.

WEINHOLD, A. R.; DODMAN, R. L.; BOWMAN, T. Influence of exogenous nutrition on virulence of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 62, n. 2, p. 278-281, 1972.

WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.

WILSON, P. S.; KETOLA, E. O.; AHVENNIEMI, P. M.; LEHTONEN, M. J.; VALKONEN, J. P. T. Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. **Plant Pathology**, v. 57, n. 1, p. 152-161, 2008.

WOO, S. L.; LORITO, M. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: VURRO, M.; GRESSEL, J. (Ed.). **Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management**. Amsterdam: IOS: Springer Press, 2007. p. 107-130.

WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.

Uso de *Trichoderma* na cultura do feijão-comum

Murillo Lobo Junior

Tariane Alves Machado-Rosa

Alaerson Maia Geraldine

Introdução

No Brasil, as dimensões do país, a ampla gama de espécies cultivadas e seus respectivos problemas fitossanitários abriram inúmeras possibilidades de desenvolvimento de aplicação do controle biológico. A cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem sido diretamente beneficiada com a disponibilização de bioprodutos à base de *Trichoderma* spp. e outros microrganismos benéficos. Apesar do ciclo médio relativamente curto da cultura, em torno de 90 dias, esta espécie está sujeita ao ataque de uma série de patógenos de importância econômica, vários destes controlados insatisfatoriamente pelos tradicionais fungicidas sintéticos e resistência genética.

Estas dificuldades no manejo fitossanitário da cultura criaram demandas para a adoção do controle biológico, nas suas diversas formas de adoção. As ações de biocontrole conduzidas no Brasil e no exterior geralmente tratam do uso de antagonistas específicos para controle de um patógeno específico, numa estratégia de “aumentação” (Cruz, 2002), onde os esforços são feitos para aumentar a população de inimigos naturais por propagação e liberação ou por manipulação ambiental. Na “aumentação”, estão incluídas as práticas agrônômicas tradicionalmente realizadas para incrementar o número ou o efeito dos antagonistas, como tratamento de sementes e aplicações dirigidas ao sulco de plantio ou spray por barra de pulverização. São formas diversas de se inocular microrganismos benéficos ou liberá-los periodicamente de forma inundativa, para controle dos patógenos-alvo. Entre dezenas de fungos e bactérias que podem ser utilizados no biocontrole, várias espécies pertencentes ao gênero *Trichoderma* se destacam entre os antagonistas mais eficientes (Harman, 2000).

O controle biológico também pode ser obtido pela estratégia de “conservação”, onde há estímulo para preservar ou aumentar as populações de inimigos naturais pela manipulação ou manejo do agroecossistema. O biocontrole de doenças por “conservação” aparentemente é menos investigado do que os métodos de inundação, mas é o resultado visível de práticas de agricultura conservacionista, como o Sistema Plantio Direto e a Integração Lavoura-Pecuária. Podem ser incluídos nesta abordagem estudos de impacto ambiental e sobrevivência de antagonistas após sua aplicação, conforme sua interação com a comunidades de microrganismos do solo e os diferentes patógenos que coexistem nos sistemas produtivos.

Cenário da produção de feijão-comum no Brasil e suas doenças

De 2009 a 2019, observou-se uma queda da área cultivada com feijão comum no Brasil de 4,5 para 3,0 milhões de hectares (Conab, 2019) e, em contraste, aumento da produtividade média nas três diferentes safras (Figura 1). Cultivares mais produtivas, novos insumos e avanços no manejo da cultura são os principais responsáveis pela maior produtividade média mas, por outro lado, a intensificação dos cultivos foi acompanhada pelo aumento de problemas fitossanitários na cultura. Com a intensificação de cultivos onde o feijoeiro é rotacionado com mais uma ou duas culturas anuais (frequentemente soja e milho), ocorreu um aumento da pressão de doenças no campo. Nos sistemas de produção de sequeiro ou irrigados, há condições favoráveis para o desenvolvimento de um complexo de patógenos de ampla gama de hospedeiras e que sobrevivem no solo, podendo inviabilizar o cultivo do feijão comum.

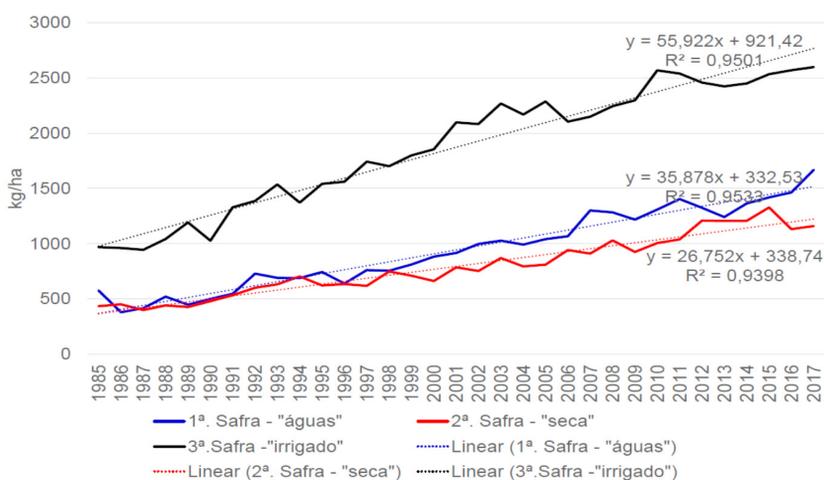


Figura 1. Evolução da produtividade média do feijão-comum em três safras, de 1985 a 2017.

Fonte: CONAB e Embrapa Arroz e Feijão.

Doenças como o mofo-branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e as doenças radiculares causadas pelos complexos de espécies de *Fusarium oxysporum* Schlttdl. e de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., além de *Rhizoctonia solani* Kuhn são as principais doenças radiculares do feijão comum, e que podem ser melhor manejadas com a inclusão de agentes de biocontrole. Outras doenças como mela, podridão-cinzenta-da-haste e os nematoides também são causadoras de perdas de produtividade e controláveis por bioagentes, mas que ainda contam com poucos estudos sistematizados sobre seu manejo com antagonistas, nesta cultura.

Apesar dos ganhos em produtividade e da oferta de tecnologias e insumos, o desenvolvimento destes sistemas produtivos não foi acompanhado por redução dos riscos. Em especial, os sistemas irrigados por pivô-central representam os casos mais conhecidos de acúmulo de diversos patógenos e pragas, beneficiados pela umidade fornecida pela irrigação e pela “ponte verde” formada pela sucessão de culturas hospedeiras. Dentre os problemas quase onipresentes principalmente no Centro-Sul do país, destaca-se o mofo-branco, sendo *S. sclerotiorum* uma “praga” não-quarentenária regulamentada para as culturas do feijão-comum, soja, algodão e girassol (Brasil, 2004), e que incide sobre mais de 400 espécies hospedeiras (Boland; Hall, 1994). O mofo-branco pode, em casos mais severos, matar as plantas afetadas causando perda total da lavoura e inviabilizar economicamente as áreas infestadas. Somente para seu controle químico no feijoeiro-comum, estima-se que o custo adicional com fungicidas atinja R\$ 650,00 ha⁻¹, e que sua eficiência em áreas com mais de 19 escleródios m⁻² seja limitada (Costa, 1997). A dependência de fungicidas específicos para o mofo branco junto às perdas na produção atingiram mais de R\$ 33 milhões, somente na safra irrigada de feijão em Goiás (Ricardo et al., 2008).

O mofo-branco é uma doença monocíclica e a redução do inóculo inicial (escleródios) no solo por fungos e bactérias constitui um fator crucial para seu controle (Bae; Knudsen, 2007; Zachow et al., 2011; Zeng et al., 2012b; Geraldine et al., 2013). Os resultados mais evidentes do controle biológico do mofo-branco são a redução do banco de escleródios no solo (Figura 2), menor severidade da doença e aumento do rendimento das culturas. O controle químico também é beneficiado pela redução do inóculo inicial, com melhor controle da doença. Estes resultados aumentam a confiabilidade do biocontrole e fomentam a sua inserção no manejo integrado da doença.

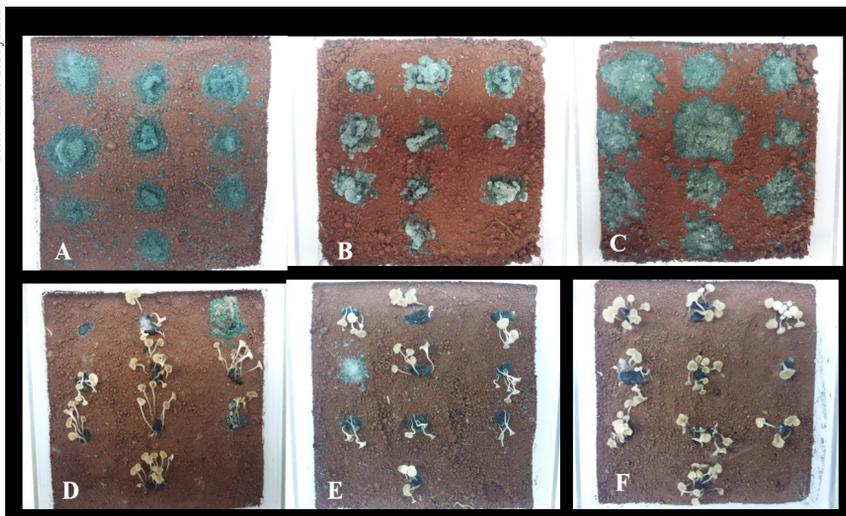


Figura 2. Diferenças entre cepas de *Trichoderma* spp. eficientes (A, B, C) e ineficientes (D, E) no micoparasitismo de escleródios de *S. sclerotiorum*. F = controle sem tratamentos.

Nas áreas irrigadas também se destacam outros patógenos habitantes do solo, como os fungos *F. solani* e *R. solani* e diversos fitonematoides, que causam danos no eixo principal e apodrecimento de raízes primárias. Estas espécies estão presentes, respectivamente, em 100% e 48% dos cultivos com feijoeiro-comum na Região Centro-Oeste (Lobo Jr.; Louzada, 2005). Com a perda de raízes primárias, as plantas não absorvem nutrientes e água apropriadamente, tornando-se raquíticas ou dependentes de adubações e irrigação mais intensivas, para compensar apenas parcialmente este complexo de doenças responsável por um potencial de perda superior a 40% da produtividade (Lobo Jr., 2005).

Fusarium oxysporum f. sp. *phaseoli* e *F. solani* formam clamidósporos como estruturas de resistência. Patógenos como *M. phaseolina* e *R. solani* apresentam microescleródios, que podem sobreviver no solo por vários anos. Os clamidósporos e escleródios podem ficar na superfície ou sob o solo, dificultando a ação de fungicidas. Esses patógenos também podem ser disseminados via sementes e implementos agrícolas infestados, o que facilita sua dispersão a longas distâncias. Tanto *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. solani* quanto *R. solani* sobrevivem por tempo indefinido no solo, pela colonização de matéria orgânica morta. Este complexo de patógenos radiculares reduz a eficiência do uso de nutrientes e elevam os custos de produção, reduzindo a rentabilidade dos cultivos. As consequências destas perdas afetam, além do produtor, participantes do agronegócio, consumidores e o meio ambiente.

O controle biológico é utilizado para redução do inóculo inicial e proteção de raízes

contra as podridões radiculares. Nos patossistemas aqui abordados, este método é caracterizado pelo uso de antagonistas que parasitam estruturas de resistência e hifas, e pela proteção de plantas por meio de colonização do sistema radicular, a rizocompetência (Figura 3). O método pode ser combinado com o manejo integrado do mofo-branco, inclusive para reduzir a dependência do uso de fungicidas sintéticos na agricultura convencional.

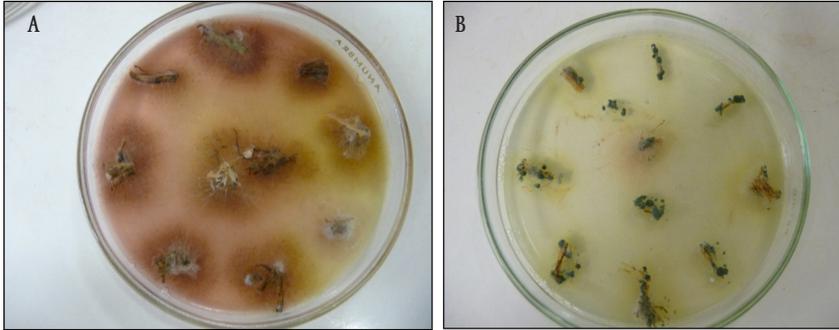


Figura 3. Colonização de raízes de feijão comum por *Fusarium solani* (A) e por *Trichoderma* spp. (B), de tratamentos cultivados no mesmo substrato infestado pelo patógeno.

Trichoderma como agente de biocontrole

A habilidade do gênero *Trichoderma* em controlar doenças de plantas foi descoberta na década de 1930 por Weindling (1932), e nos anos que se seguiram, centenas de estudos foram realizados demonstrando o potencial deste gênero no biocontrole. O gênero *Trichoderma* possui ampla distribuição em solos do mundo inteiro, em quase todos os tipos de solos. Este fungo é frequentemente agressivo na competição por nutrientes e exsudatos vegetais (Samuels, 2004). Sua presença também pode ser observada sobre restos de plantas colonizadas por patógenos, o que confirma o seu caráter parasita e seu potencial como agente de biocontrole.

As espécies de *Trichoderma* possuem várias características que favorecem a sua sobrevivência no solo, assim como os tornam vantajosos como agentes de biocontrole. São saprófitas, apresentando rapidez na colonização de substrato (Figura 4), possuem exigências nutricionais mínimas; produzem clamidósporos, que são estruturas de resistência para sobreviver sob condições climáticas adversas; produzem substâncias tóxicas (antibióticos), bem como enzimas degradadoras de parede celular de outros fungos (quitinases, glucanases, entre outras) sendo ainda capazes de degradar vários carboidratos estruturais e não estruturais (Geraldine et al., 2013; Troian et al., 2014).

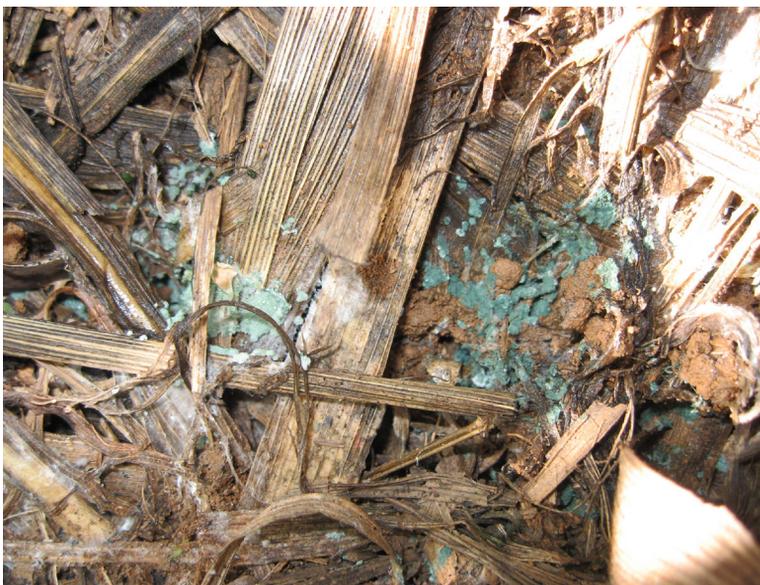


Figura 4. Colonização de palha em solo cultivado em Sistema Plantio Direto, por *Trichoderma* spp.

Existem mais de 250 espécies conhecidas do gênero *Trichoderma* (Bissett et al., 2015), mas algumas delas como *T. harzianum* e *T. asperellum*, habitantes naturais de solos, são as mais utilizadas para o biocontrole. Estas espécies também promovem a indução de defesas da planta contra patógenos diversos (Howell, 2003) e o crescimento de plantas pela síntese de fitohormônios como o ácido indol-3-acético (AIA).

O *Trichoderma* é o agente de biocontrole mais estudado no mundo (Lorito et al., 2010), devido a seus diversos mecanismos de ação, com centenas de estudos que endossam a sua eficiência no controle biológico e na promoção de crescimento vegetal. No Brasil, o número de produtos comerciais à base de *Trichoderma* legalmente registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) tem crescido, mas ainda é limitado. Desta forma, há a necessidade de realizar estudos sistematizados visando à exploração da diversidade deste antagonista nos solos brasileiros, para prospecção de novas cepas com alta eficiência na promoção do crescimento de plantas e no biocontrole de doenças.

Segundo Samuels e Hebbbar (2015), isolados de *T. harzianum*, sozinhos ou em combinação com outras espécies de *Trichoderma* ou adjuvantes químicos, tem sido utilizados no controle de doenças. Em levantamento realizado por Bettiol e Morandi (2009), foram identificadas 13 empresas que produziam e comercializavam *Trichoderma*. Nesta revisão, os autores relataram que os patógenos alvos dos produtos à base de *Trichoderma* incluem: *Fusarium* spp., *Pythium*

spp., *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina* spp., *Botrytis* spp., *Crinipellis* spp. e *S. sclerotiorum*, principalmente para as culturas de feijão-comum, soja, algodão, morango, cebola, alho, plantas ornamentais e cacau. A oferta de biofungicidas e nematicidas microbiológicos foi facilitada a partir de 2013, com a autorização de registro no Mapa dos novos produtos por alvo biológico. Atualmente, há diversas opções para controle de fungos e nematoides que incidem sobre o feijão comum, com prevalência de *T. harzianum* e *T. asperellum* para controle de patógenos fúngicos, conforme descrito no capítulo 2.

Os mecanismos de ação de *Trichoderma* spp. podem atuar de forma sinérgica, e dependem do isolado, do patógeno-alvo, da cultura agrícola e das condições ambientais como disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura e umidade. Várias espécies de *Trichoderma* são comumente encontradas na rizosfera, que compreende a zona de influência do solo que circunda as raízes. As raízes secretam compostos que atraem inúmeros microrganismos, entre antagonistas e fitopatógenos. A disponibilidade de nutrientes derivados dos exsudatos radiculares e a variedade de microrganismos, potenciais alvos para o *Trichoderma*, podem ter atraído os ancestrais deste gênero para se estabelecerem na rizosfera, facilitando a evolução das interações com a planta (Druzhinina et al., 2011).

Os mecanismos mais facilmente evidenciados nas interações antagonônicas entre *Trichoderma* e os fitopatógenos habitantes do solo são: micoparasitismo, antibiose e competição. No micoparasitismo o antagonista detecta o patógeno por estímulos químicos no solo, e cresce em sua direção, produzindo enzimas hidrolíticas que vão auxiliar na degradação da parede celular do patógeno. O micélio do *Trichoderma* se enrola na hifa ou estrutura de resistência do hospedeiro e, em seguida, inicia o processo de micoparasitismo. O bioagente penetra na parede celular do hospedeiro e utiliza o conteúdo celular como fonte de alimento através de enzimas hidrolíticas tais como quitinases, glucanases, e proteases que desempenham papéis fundamentais no controle biológico (Samuels; Hebbbar, 2015).

A análise comparativa dos genomas de *T. atroviride*, *T. virens* e *T. reesei* demonstrou que a capacidade micoparásita é inata ao gênero (Kubicek et al., 2011), mas durante a interação com *R. solani* as estratégias utilizadas por estas espécies de *Trichoderma* são diferentes (Atanasova et al., 2013). Além disso, os níveis de expressão de genes ligados ao biocontrole podem variar de acordo com a estrutura fúngica que está sendo parasitado, no caso, micélio, escleródios ou apotécios (Troian et al., 2014), demonstrando que há possibilidades de se ajustar a seleção de antagonistas para micoparasitismo, de acordo com o alvo desejado.

A antibiose é definida como a interação entre organismos na qual indivíduos de uma população secretam metabólitos capazes de inibir ou impedir o desenvolvimento dos indivíduos de uma população de outra espécie (Bedendo et al., 2011). *Trichoderma* produz metabólitos secundários, como antibióticos e enzimas hidrolíticas, voláteis ou não-voláteis, capazes de inibir

ou destruir propágulos de diferentes patógenos (Harman, 2000). Entre os diversos metabólitos produzidos, a 6-pentil-pirona (6PP) é um composto orgânico volátil comum de *Trichoderma*, responsável pelo aroma de coco e pigmentação amarela em algumas espécies (Hermosa et al., 2013), que inibe o crescimento de patógenos como *Fusarium oxysporum* (Rubio et al., 2009).

A antibiose tem papel importante no controle biológico de doenças radiculares, mas seus efeitos são difíceis de serem separados do micoparasitismo em condições de campo. Entretanto, Ethur et al. (2001), em testes *in vitro*, confrontaram diretamente espécies *Trichoderma* spp. e *S. sclerotiorum* e observaram que os agentes de biocontrole apresentaram até 93% de inibição do crescimento do patógeno, ainda que o bioagente possa utilizar também outras formas de antagonismo.

Além dos mecanismos clássicos - micoparasitismo e antibiose, as espécies de *Trichoderma* também podem inibir os fitopatógenos por outros meios, como competição por nutrientes e espaço (Chet, 1987). A competência rizosférica (ou rizocompetência) de *Trichoderma* avalia a habilidade do microrganismo de se estabelecer na rizosfera das plantas e competir com outros microrganismos (Howell, 2003). Este autor salienta que embora a rizocompetência não seja o principal mecanismo que favoreça o controle biológico, essa capacidade pode ser considerada um fator complementar.

No caso do feijão comum, a colonização do sistema radicular é uma premissa básica para a proteção de plantas e prevenção do ataque de nematoides e fungos causadores de podridões, onde é possível encontrar isolados de *Trichoderma* que reúnam esta e outras características desejáveis, como micoparasitismo e antibiose (Figura 5).

A relação simbiótica entre espécies de *Trichoderma* e a planta pode resultar na indução de resistência sistêmica (ISR) e na promoção de crescimento. A colonização de raízes ativa mecanismos de defesa em plantas. A indução de resistência a doenças por *Trichoderma* ocorre pelo desencadeamento de uma série de alterações morfológicas e bioquímicas na planta, levando à ativação dos seus mecanismos de defesa contra vários fitopatógenos. Nos últimos anos, inúmeros trabalhos de indução de resistência nas plantas por *Trichoderma* mostraram que é um mecanismo comum e importante no controle biológico (Gomes et al., 2015).

Os metabólitos secundários secretados, em baixas concentrações, atuam como padrões moleculares associados a microrganismos, que são reconhecidos pela planta iniciando uma cascata de sinalização mediado pelo ácido jasmônico e etileno para, posteriormente, ativação dos mecanismos de defesa da planta (Harman et al., 2004; Hermosa et al., 2012). Entre os exemplos de mecanismos de defesa, há a deposição de caloses e celulose nas paredes celulares e liberação de compostos fenólicos. Algumas respostas de defesa são ativadas somente após o ataque do patógeno, e podem resultar em resposta mais rápida e forte (Shoresh et al., 2010).



Foto: Murillo Lobo Junior.

Figura 5. Parcela de feijão comum tratada com *Trichoderma harzianum* com efeitos de micoparasitismo, antibiose, promoção de crescimento de plantas e rizocompetência (à esquerda) e testemunha (à direita), de ensaio em área comercial em Cristalina, GO.

***Trichoderma* como promotor do crescimento de plantas**

A promoção de crescimento de plantas por isolados de *Trichoderma* spp. foi descrita em diferentes culturas incluindo o feijão comum (Hoyos-Carvajal et al., 2009; Pedro et al., 2012), e pode ser facilmente observada como resultado do tratamento de sementes ou outras formas de aplicação (Figura 6). A promoção de crescimento em plantas por espécies de *Trichoderma* ocorre pela produção de giberelinas e de auxinas como o AIA (Hermosa et al., 2012), que favorecem o desenvolvimento de raízes laterais. A colonização radicular resultante aumenta o crescimento e desenvolvimento da raiz e da área foliar, incrementa produtividade das culturas, e como consequência, permite às plantas suportar melhor estresses abióticos como veranicos, além de auxiliar a absorção e utilização de nutrientes (Harman et al., 2004).



Figura 6. Promoção de crescimento de plântulas de feijão comum após tratamento de sementes com um isolado *Trichoderma* spp., e sua testemunha.

Em áreas comerciais com solo infestado por patógenos, a promoção do crescimento de plantas de feijão comum por *Trichoderma* também pode ser uma consequência do biocontrole pelos mecanismos de antibiose, micoparasitismo e competição. Na ausência de fitopatógenos, a capacidade de aumentar o crescimento e a produtividade de plantas pelo bioagente também pode ocorrer pela solubilização de nutrientes minerais como o fósforo, devido à ação da enzima fosfatase ácida (Harman et al., 2004).

A cepa T-22 de *T. harzianum*, por exemplo, pode solubilizar vários nutrientes como o fosfato de rocha, ferro, cobre, manganês e zinco, que podem ser limitantes para plantas em determinados solos (Altomare et al., 1999). Esta cepa produz o composto 6PP que em baixas concentrações regula o crescimento das plantas, contribuindo para a produção de sistemas radiculares mais extensos e desenvolvidos, que aumentam significativamente a altura da planta, a área foliar e a germinação das sementes (Hermosa et al., 2013; Nieto-Jacobo et al., 2017).

Conforme exposto acima, algumas espécies de *Trichoderma* podem sintetizar o hormônio vegetal AIA, influenciando diretamente o crescimento vegetal. Os hormônios vegetais são reguladores naturais de crescimento de plantas, influenciando os processos fisiológicos em baixas concentrações, e pode ser produzido por outros microrganismos além de *Trichoderma* spp., como bactérias e outros fungos.

O AIA está envolvido em processos fisiológicos incluindo o alongamento e a divisão celular, a diferenciação de tecidos, regulação das respostas de crescimento em direção da luz (fototropismo), respostas às forças da gravidade (gravitropismo) e respostas defensivas (Sant-

ner et al., 2009). Os exsudatos radiculares do feijão-comum e de outras espécies são fontes de L-triptofano, que é precursor da síntese de AIA. Estas características tornam a promoção de crescimento de plantas uma das características mais promissoras para exploração da diversidade de espécies de *Trichoderma*, e que possivelmente pode competir em interesse científico e exploração comercial com a sua aplicação no biocontrole (Harman, 2011). Porém, por se conhecer isolados que contém ambas características desejáveis, espera-se que o biocontrole e a promoção de crescimento de plantas atuem juntos proporcionando os benefícios do uso deste microrganismo benéfico.

O controle biológico como prática eficiente e ambientalmente amigável

A sociedade vem pressionando os setores de produção agrícola na direção do aumento da oferta de alimentos mais saudáveis, movida pela preocupação sobre os efeitos potencialmente nocivos que alguns insumos químicos representam para a saúde humana e o ambiente (Betiol; Morandi, 2009). Desta forma, o interesse científico no uso de microrganismos em uma agricultura sustentável e produtiva, de baixo impacto ambiental tem sido estimulado. O Brasil e outros países que têm na agricultura a base da sua economia percebem essa necessidade e apoiam a implantação de sistemas sustentáveis de produção, onde o controle biológico é uma ferramenta indispensável.

Segundo Berg (2009), os inoculantes microbianos têm várias vantagens sobre os produtos químicos e são mais seguros, por apresentarem danos ambientais reduzidos e risco potencialmente menor para a saúde humana. Os bioprodutos se decompõem mais rápido do que os insumos químicos convencionais, e podem ser utilizados em sistemas convencionais ou integrados de manejo de doenças. A adoção de agentes de biocontrole em safras sucessivas proporciona proteção em longo prazo, com benefícios que podem permanecer durante o ciclo de culturas anuais (Harman, 2000).

Nos últimos anos as pesquisas demonstraram que microrganismos como *Trichoderma* spp. podem influenciar as plantas de diferentes maneiras, fornecendo soluções promissoras para uma agricultura sustentável (Berg, 2009). A prospecção de isolados de *Trichoderma* com alto potencial como agentes de biocontrole e promotores de crescimento de plantas tem aumentado nos últimos anos. O desenvolvimento de bioprodutos no Brasil acompanha a pesquisa internacional, cujo desenvolvimento já disponibilizou para comercialização mais de 50 produtos agrícolas à base de *Trichoderma* até 2015, em países como Nova Zelândia (12 produtos), E.U.A. (9 produtos) e Vietnã (7 produtos) (Samuels; Hebbar, 2015). Sendo o Brasil o maior consumidor mundial de bioprodutos à base de *Trichoderma* (Lorito et al., 2010), e conforme o potencial de expansão deste mercado, o país deve manter sua posição neste ranking.

O mercado mundial de defensivos agrícolas biológicos tem índice de crescimento cinco

vezes superior ao da indústria de defensivo químico. Projeções realizadas pela Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABCBIO), demonstram que as vendas de bio-produtos podem crescer entre 15% a 20% nos próximos anos (ABCBIO, 2016). Enquanto os biofungicidas e nematocidas microbiológicos para a promoção do crescimento das plantas já são uma ferramenta disponível, no futuro, espera-se novos agentes de proteção contra estresses abióticos, gerados pela salinidade, déficit hídrico, inundação e metais pesados.

Conclui-se que os plantios de feijão-comum são altamente beneficiados pelo biocontrole de doenças por *Trichoderma*, como método para redução do banco de escleródios de *S. sclerotiorum* no solo, e proteção de raízes contra patógenos como espécies de *Fusarium* e *R. solani*. A seleção de novos antagonistas pode melhorar os níveis de controle já obtidos, e ser assistida por marcadores bioquímicos ou moleculares, associados, por exemplo, à produção de enzimas que degradam a parede celular dos patógenos (Geraldine et al., 2013; Troian et al. 2014). Atualmente conta-se com o potencial de micoparasitismo e morte de aproximadamente 70% do banco de escleródios de *S. sclerotiorum* no solo numa única safra por meio de antagonistas, e o biocontrole, associado a outras formas de manejo, permite obter níveis ainda maiores de controle do mofo branco. Considerando a importância de outros patossistemas, os incentivos para o avanço do conhecimento nesta área são muitos, e as possibilidades de obtenção de novos isolados com o potencial para o biocontrole estão longe de ser esgotadas.

Referências

- ABCBIO. Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico. **Mercado de defensivo agrícola biológico tem boas perspectivas no País**. 2016. Disponível em: <<http://www.abcbio.org.br/conteudo/publicacoes/mercado-de-defensivo-agricola-biologico-tem-boas-perspectivas-no-pais/>>. Acesso em: 23 Mar. 2017.
- ALTMARE, C.; NORVELL, W. A.; BORJKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295- 22. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, 1999.
- BAE, Y. S.; KNUDSEN, G. R. Effect of sclerotial distribution pattern of *Sclerotinia sclerotiorum* on biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 35, n. 1, p. 21-24, 2007.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W. H. Freeman, 1974. 433 p.
- BEDENDO, I. P.; MASSOLA JUNIOR, N. S.; AMORIM, L. **Controle cultural, físico e biológico de doenças de plantas**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). Manual de fitopatologia. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. p. 367-388.
- BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 1, p. 11-18, 2009.
- BETTJOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas**. In: MORANDI, M. A. B.; BETTJOL, W. (Ed.). Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.
- BISSETT, J.; GAMS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. J. Accepted Trichoderma names in the year 2015. **International Mycological Association Fungus**, United States, v. 6, n. 2, p. 263-295, 2015.

- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994.
- BRASIL. **Portaria nº 3**, de 05 de janeiro de 2004. Diário Oficial da União no 3, de 06 de janeiro de 2005, seção 1, p. 35-41.
- CHET, I. **Trichoderma - Application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne pathogenic fungi**. In: CHET, I. (Ed). *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. Nova York: Wiley and Sons, 1987. p. 137-160.
- COSTA, J. L. S. Soil inoculum density limiting the effectiveness of chemicals on the control of white mold on dry beans. In: *An integrated approach to combating resistance*, 1997. Harpenden - Herts. **Proceedings...**, 1997, p. 78-80.
- CRUZ, I. **Controle biológico em manejo integrado de pragas**. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORREA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores*. São Paulo: MANOLE, 2002. cap.32, p. 543.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, p. 749-759, 2011.
- ETHUR, L. Z.; CEMBRANEL, C. Z.; SILVA, A. C. F. D. Seleção de *Trichoderma* spp. visando ao controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, in vitro. **Ciência Rural**, v. 31, p. 885-887, 2001.
- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; ULHOA, C. J.; LOBO JUNIOR, M. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, v. 67, p. 308-316, 2013.
- GOMES, E. V.; COSTA, M. N.; AZEVEDO, R. R.; PAULA, R. G.; SILVA, F. L.; NORONHA, E. F.; ULHOA, C. J.; MONTEIRO, V. N.; CARDOZA, R. E. L.; GUTIERREZ, S.; SILVA, R. N. The Cerato-Platanin protein Epl-1 from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self-cell wall protection. **Scientific Reports**, v. 5, p. 17998, 2015.
- HARMAN, G. E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - Opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HARMAN, G. E. *Trichoderma* - not just for biocontrol anymore. **Phytoparasitica**, v. 39, n. 2, p. 103-108, 2011.
- HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, p. 69-80, 2013.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009.
- HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, p. 4-10, 2003.
- KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V. et al. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, p. R40, 2011.
- LOBO JUNIOR, M. **Controle de Podridões Radiculares no Feijoeiro Comum com o Fungicida Microbiano Trichodermitil**. In: Tarcísio Cobucci; Flávio Jesus Wruck. (Org.). *Resultados obtidos na Área Pólo de Feijão no período de 2002 a 2004*. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2005, p. 13-17.
- LOBO JUNIOR, M.; LOUZADA, G. A. S. Densidade de inóculo de *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani* em áreas cultivadas com o feijoeiro, na região Centro-Oeste. In: Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão, 2005, Goiânia. **Anais.. VIII Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão - Série Documentos n 182**, 2005. p. 170-173.
- LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational Research on *Trichoderma*: From 'Omics to the Field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-417, 2010.

- NIETO-JACOBO, M. F.; STEYAERT, J. M.; SALAZAR-BADILLO, F. B.; NGUYEN, D. V.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; DE SOUZA, J. T.; JIMENEZ-BREMONT, J. F.; OHKURA, M.; STEWART, A.; MENDOZA-MENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 102, 2017.
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and Gliocladium: biology, ecology, and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, n. 1, p. 23-54, 1985.
- PEDRO, E. A. S.; HARAKAWA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1589-1595, 2012.
- RICARDO, T. R.; WANDER, A. E.; LOBO JUNIOR, M. Custos associados ao mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em feijoeiro comum de 3ª safra em Goiás. In: X Congresso Nacional de Feijão, 2008, Campinas. **Documentos**. Campinas, SP: Instituto Agronômico de Campinas, 2008. v. 85. p. 787-790.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; REINO, J. L.; COLLADO, I. G.; MONTE, E. Thctf1 transcription factor of *Trichoderma harzianum* is involved in 6-pentyl-2H-pyran-2-one production and antifungal activity. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 1, p. 17-27, 2009.
- SANTNER, A.; CALDERON-VILLALOBOS, L. I. A.; ESTELLE, M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. **Nature Chemical Biology**, v. 5, n. 5, p. 301-307, 2009.
- SAMUELS, G. J. **Trichoderma: A guide to identification and biology**. Beltsville: Agricultural States Department of Agriculture, 2004.
- SAMUELS, G. J.; HEBBAR, P. K. **Developing Trichoderma-Based Products for Application in Agriculture**. In: SAMUELS, G. J.; HEBBAR, P. K. (Ed.). **TRICHODERMA: identification and agricultural applications**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 2015. p. 7-34.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.
- TROIAN, R. F.; STEINDORFF, A. S.; RAMADA, M. A. S.; ARRUDA, W.; ULHOA, C. J. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum*: evaluation of antagonism and expression of cell wall-degrading enzymes genes. **Biotechnology Letters**, v. 2, p. 1-6, 2014.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932.
- ZACHOW, C.; GROSCH, R.; BERG, G. Impact of biotic and a-biotic parameters on structure and function of microbial communities living on sclerotia of the soil-borne pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. **Applied Soil Ecology**, v. 48, n. 2, p. 193-200, 2011.
- ZENG, W.; KIRK, W.; HAO, J. Field management of Sclerotinia stem rot of soybean using biological control agents. **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 141-147, 2012.

Uso do *Trichoderma* em cereais

Wilson Story Venancio

Robinson Martins Venancio

Flávia de Oliveira Marzarotto

Vanessa Nathalie Modesto Boratto

Eduardo Gilberto Dallago

Ibraian Valério Boratto

O controle das principais doenças ocasionadas por fungos necrotróficos nas fases iniciais de desenvolvimento de cereais sempre foi uma tarefa difícil, ficando em grande parte à cargo dos produtos químicos disponibilizados em tratamento de sementes. Porém sua eficiência vem sendo reduzida, principalmente pelo uso continuado dos mesmos ativos, não ocorrendo renovação de moléculas e, com sistemas de distribuição dos produtos muito variável, percorrendo tecnologias mais avançadas como TSI (tratamento de sementes industrial) e as mais simples, desenvolvidas na propriedade, como os tambores rotativos. O que se constata, observando esses fatos, é que essa tecnologia precisa urgentemente de ajuda, para se manter efetiva e promover o benefício esperado.

O avanço na utilização de controle biológico, culminando com o desenvolvimento e disponibilização de novas cepas, tem se mostrado uma importante ferramenta no controle desses fungos necrotróficos. Aliado a isso, a pulverização no sulco de plantio, tecnologia já amplamente difundida e utilizada pelos agricultores, tem ajudado a melhorar o desempenho desses microorganismos, colocando-os em situação privilegiada para uma futura relação com as radículas, que ao iniciarem seu desenvolvimento entrarão em contato com esses biocontroladores iniciando as atividades desejadas. Esse sistema também permite um menor risco de perda dos agentes biológicos, evitando seu contato direto com os produtos químicos utilizados em TS (inseticidas e fungicidas, principalmente), reduzindo ainda riscos com calor excessivo, raios UV e outras perdas que poderiam ocorrer, caso fossem utilizados em área total, visando a cobertura da lavoura.

Distribuído por todo o mundo o gênero *Trichoderma* ocorre em praticamente todos os tipos de solos e ambientes naturais, principalmente naqueles contendo matéria orgânica (Pradebon, 2016). Este gênero, assim como *Gliocladium*, e bactérias do gênero *Bacillus* e *Pseudomonas* destacam-se como agentes biocontroladores mais pesquisados e utilizados na agricultura (Pereira et al., 2007). Esses agentes encontram-se também na rizosfera de plantas. Isso justifica a biotecnologia atribuída a esse grupo (Esposito; Silva, 1998). Fungos do gênero *Trichoderma* são biorreguladores e antagonistas naturais de vários fitopatógenos. Atuam como agentes de controle biológico, diminuindo ou até dispensando a necessidade de uso de fungicidas químicos (Melo, 1991, Harman, 2000). Esses fungos são considerados excelentes micoparasitas, atacando hifas e estruturas de reprodução e sobrevivência de patógenos de plantas, reduzindo assim a capacidade e o inóculo do patógeno para futuras infecções (Bettiol; Ghini, 1995). *Trichoderma* spp. são micoparasitas necrotróficos, que apresentam eficácia para o controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, atacando também aqueles com estruturas de resistências consideradas difíceis de serem atacadas por microorganismos, como escleródios, esporos e microescleródios (Melo, 1996). A indução de resistência também é um mecanismo do controle biológico. Esse processo acontece quando plantas são expostas a um agente indutor e tem seus mecanismos de defesa ativados, não apenas no local de indução, mas de forma mais ou menos generalizada (Romeiro, 1999).

Pesquisas com diferentes culturas comprovam essa capacidade e agregam informações sobre os mecanismos de ação desses bioagentes, destacando-se o micoparasitismo (Harman, 2000, Melo, 1998, Stadnik; Bettiol, 2000), competição por espaço e nutrientes (Benítez et al., 2004, Harman, 2000), antibiose (Stadnik; Bettiol, 2000), indução de resistência (Hwang; Benson, 2002, Romeiro, 2007, Sneh; Ichielevick-Auster, 1998) e promoção de crescimento (Carvalho Filho et al., 2008, Harman et al., 2004b, Lucon, 2009), contudo, ainda são pouco conhecidos os mecanismos de ação na promoção do crescimento em ausência de fitopatógenos. A produção em massa de *Trichoderma* tornou-se um foco de pesquisa e desenvolvimento industrial na busca de alternativas a tratamentos químicos para o controle de doenças de plantas ocasionadas por microrganismos presentes no solo e em sementes (Machado et al., 2012). Essas características tornam esse, um dos fungos mais pesquisados em condições de laboratório, casa de vegetação, estufa e campo (Altomare et al., 1999; Harman et al. 2004a; Resende et al., 2004; Delgado et al., 2007; Carvalho Filho et al., 2008; Louzada et al., 2009; Hoyos-Carvajal et al., 2009).

Os mecanismos de *Trichoderma* na promoção de crescimento vegetal, em ausência de fitopatógenos, ainda são pouco esclarecidos em comparação aos mecanismos de ação envolvendo o controle biológico (Pomella; Ribeiro, 2009). De acordo com pesquisa in vitro, realizada por Altomare et al. (1999), a promoção de crescimento em plantas promovida por *Trichoderma*

harzianum Rifai isolado T-22, está na sua habilidade de solubilizar nutrientes importantes para a planta. Segundo Baugh; Escobar (2007), a ação deste fungo como estimulador do crescimento é complexa e realizada por interações com fatores bioquímicos e produção de diversas enzimas e compostos benéficos. Entre as características do gênero *Trichoderma* está a capacidade de associar-se as raízes de plantas, através de mecanismos similares a fungos micorrízicos (Benítez et al., 2004), característica que pode ajudar nos esclarecimentos da promoção de crescimento das plantas. Segundo Harman (2000), muitas espécies de *Trichoderma* estudadas são capazes de produzir metabólitos tóxicos, como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir e destruir propágulos de fungos fitopatogênicos. *Trichoderma* produz aproximadamente 40 substâncias que possuem atividade antibiótica.

Em cultivos tropicais, as doenças radiculares têm recebido pouca atenção quando comparado às doenças foliares, principalmente quando os sintomas são confinados às raízes (Michereff et al., 2005). O controle de doenças radiculares é muito difícil, pois os patógenos coevoluiram com as plantas por milhões de anos e estão altamente adaptados ao solo em associação com o hospedeiro (Bruehl, 1987). As doenças radiculares são, geralmente, resultantes de um solo desequilibrado. Na maioria das vezes, a origem desse desequilíbrio está nos sistemas agrícolas adotados, que transformam os campos de cultivo em locais de elevada simplificação ecológica, tornando-os mais sujeitos às perturbações por alguns agentes, dentre os quais os fitopatógenos (Michereff et al., 2005). Os componentes físicos, químicos e biológicos do ambiente do solo têm um impacto direto no crescimento da planta e no desenvolvimento de doenças radiculares. Esses três componentes são interligados e a alteração do delicado balanço entre eles pode significar a diferença entre a produção de determinada cultura com sucesso ou com perdas devido às doenças radiculares (Wheeler; Rush, 2001).

Doença de planta no contexto do controle biológico inclui a interação planta, patógeno, ambiente e uma variedade de não patógenos que se encontram no sítio de infecção e que apresentam potencial para limitar ou aumentar a atividade do patógeno ou a resistência do hospedeiro. O biocontrole de doenças radiculares, apesar de complexo, tem tido sucesso porque a rizosfera é um ambiente mais facilmente manipulável que a filosfera (Andrews, 1992). A introdução de microrganismos adaptados ao microhabitat do patógeno é um dos aspectos mais relevantes para o sucesso de um programa de controle biológico de doenças de plantas (Bettiol, 1991). Misturas de antagonistas compatíveis podem aumentar a diversidade genética de sistemas de biocontrole, resultando em tratamentos mais persistentes na rizosfera, compreendendo diferentes mecanismos de controle, efetivos sob uma ampla gama de condições ambientais (Mariano et al., 2005). Desta forma, interações específicas entre isolados biocontroladores tendem a elevar a eficiência do controle biológico (De Boer et al., 1999; Pierson; Weller, 1994; Raupach; Kloepper, 1998).

Pufal (2017), utilizando tratamento de sementes com produtos biológicos (*Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* e *Trichoderma* spp.) e químicos, avaliou o controle da ferrugem e da mancha amarela sobre variáveis de rendimento em trigo. O autor constatou que o uso de *Trichoderma* spp. em tratamento de sementes, interferiu positivamente no controle da ferrugem da folha, porém, não se mostrou eficiente para o controle da mancha amarela do trigo. Ainda nesta mesma linha de pesquisa Pradebon (2016), avaliou a eficiência de produtos químicos e de controle biológico com a utilização de *Trichoderma* spp., aplicados em tratamentos de sementes e aplicação aérea, constatando que a aplicação de *Trichoderma* spp. no tratamento de sementes aliado ao controle químico de parte aérea proporcionou ganhos de rendimento. Para ele, o tratamento constituído por *Trichoderma* spp. na semente acrescido de tratamento químico na parte aérea foi o que apresentou maior rendimento (4.528 kg/ha), porém este tratamento não diferiu estatisticamente daqueles em que se utilizou tratamento químico em semente e parte aérea e químico mais biológico tanto na semente quanto na parte aérea. Para o autor a tendência da melhor resposta do tratamento com biológico na semente, aliado à aplicação de fungicida químico na parte aérea, pode ser atribuída à importante ação de metabólitos secundários produzidos pelo fungo na promoção de crescimento das plantas e na indução de resistência.

A sanidade de sementes de aveia preta (*Avena strigosa*) cv. BRS 139, foi avaliada por Barbieri et al. (2013), submetendo-as à tratamentos químicos, biológicos e mistura de ambos, sendo identificados os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus* e *Trichoderma*. Os resultados encontrados por esses autores mostraram que o produto químico isolado ou associado com biológico foram mais eficientes no controle dos fungos presentes, destacando que dos gêneros encontrados, a utilização de produto químico não inibiu a colonização com o *Trichoderma*, demonstrando a capacidade deste bioprotetor colonizar mesmo na presença de fungicida. Desta forma, de maneira conclusiva os autores demonstram que os tratamentos mais eficientes para o controle dos fungos presentes consistiram do uso isolado do fungicida (flutriafol) e de seu uso associado ao produto biológico (flutriafol + *Trichoderma* spp.). Resultados similares foram observados por Ethur et al. (2006), que verificaram que o bioprotetor *Trichoderma* isolado ou associado ao controle químico (thiran) favoreceu a sanidade das sementes de aveia preta, centeio e nabo forrageiro, sendo que para este último promoveu incremento na altura de plântulas. Segundo Henning et al., (2009) os fungicidas biológicos e alguns produtos formulados com isolados de *Trichoderma* spp., apresentam amplitude de ação no antagonismo a fungos e bactérias. Esses microrganismos são atóxicos ao homem e aos animais. Além dos efeitos de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de plantas, determinadas linhagens podem estimular o crescimento e o florescimento de plantas hortícolas.

Milanesi (2012), visou quantificar e correlacionar populações de *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. em solos compactados cultivados por aveia preta e soja, testar a eficiência *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. versus *Fusarium* spp., além de quantificar a produção de deoxinivalenol e zearalenona, realizou coletas no município de Victor Graeff, RS, nos meses de maio de 2009 e maio e novembro de 2010. A autora identificou as espécies *T. koningiopsis*, *T. tomentosum* e *T. asperellum*, e constatou que o fato de tanto o patógeno quanto a maioria dos antagonistas terem sido obtidos dos mesmos pontos de coleta a campo pode ter contribuído com o bom desempenho dos antagonistas, visto estes estarem mais adaptados a condições de estresse no ambiente (compactação). Em conclusão, todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram com potencial de controle de *Fusarium* spp., sendo que na cultura de aveia preta destacaram-se como promotores de crescimento radicular, incrementando o peso fresco de plântulas.

A utilização de *Trichoderma* spp., isolado ou em mistura com bactérias promotoras de crescimento, foi avaliada por Cadore et al. (2016) na cultura de arroz (*Oryza sativa* L.) com o objetivo de verificar a influência na germinação e no desenvolvimento inicial das plantas da cv. IRGA 424 RI. Os autores observaram um incremento no percentual de germinação para as doses de 0,1 ml de *Trichoderma* spp., associadas ou não à dose de 0,05 ml de *Azospirillum*, concluindo que as doses isoladas ou combinadas desses microrganismos aumentam a percentagem de germinação e não alteram a massa de matéria fresca e seca e o comprimento da parte aérea, em avaliações realizadas aos 14 dias após a semeadura. Esses dados foram confirmados com base nos resultados de Machado et al. (2011) para o uso de formulados à base de microrganismos, podendo estes estimular a germinação de sementes e o desenvolvimento da cultura, sendo que esses autores ainda relatam que estirpes de *Trichoderma* podem colonizar raízes de plantas, estimulando o desenvolvimento, bem como protegendo as raízes contra possíveis infecções. Esses estudos permitiram aos autores concluir que, tanto isoladamente, quanto em conjunto com *Trichoderma harzianum*, a utilização de cepas de rizóbios promove o aumento do nitrogênio mineral absorvido e da massa vegetal da parte aérea das plantas de aveia preta.

A utilização de *T. harzianum* associado ou não a fungicidas em tratamento de sementes na cultura de milho foi estudado por Scudeler; Venegas (2012), tanto a campo quanto em casa de vegetação, que observaram diferença significativa para o índice de velocidade de emergência (I.V.E.) quando o biocontrolador foi aplicado isoladamente, na dose de 10 g/ha do produto comercial, mostrando-se mais eficiente que o uso de químicos ou químicos e biológicos. Nesta mesma linha de pesquisa, Luz (2001) demonstrou através de experimentos a campo, em Passo Fundo, RS, que *T. harzianum* aumentou significativamente a emergência e o rendimento de grãos em milho, enfatizando que o tratamento biológico pode proporcionar melhor emergência da cultura de milho. Embora essa característica venha sendo estudada e admitida como promissora, nem todos os resultados são concordantes, pois Resende et al. (2004), en-

contraram redução no índice de velocidade de emergência quando inocularam *T. harzianum* em sementes de milho. A influência do uso de *T. harzianum* e *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento da cultura de milho também foi avaliada por Wagatsuma et al (2012), em condições de casa de vegetação, em Umuarama, PR. Os tratamentos dos organismos isolados ou combinados foram avaliados em dois híbridos, sendo avaliados altura de plantas, diâmetro de colmo e massa seca da parte aérea. Os autores, neste caso, concluíram que a inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* ou *T. harzianum*, proporcionaram maior altura de plantas após 63 dias da inoculação. Diferença significativa para o tratamento de plantas de milho com *A. brasilense* e/ou *T. harzianum*, sendo que, o tratamento sem produto acumulou menos massa seca na parte aérea quando comparada às plantas proveniente de sementes inoculadas, foram observados por Harman et al. (1989), e, ainda, os pesquisadores verificaram aumento significativo no crescimento das plantas de milho oriundas de sementes inoculadas com *Trichoderma*. Harman (2000) inoculou *T. harzianum* em sementes de milho doce e teve com resultado uma maior abundância de raiz comparado com o tratamento sem inoculação, mas o rendimento da cultura não foi afetado.

Trabalhos realizados no período de 2012 a 2016 na região dos Campos Gerais, no Estado do Paraná, no município de Palmeira, junto a produtores e, também na Estação Experimental Agrícola Campos Gerais - EEACG, procuraram avaliar os efeitos bioprotetores da utilização de *Trichoderma* spp. nas culturas de aveia-branca, aveia-preta e trigo, monitorando seus efeitos sobre a severidade de doenças provocadas por fungos necrotróficos e, ainda, seu efeito sobre a cultura da soja, avaliada através do acompanhamento da incidência de mofo-branco (*S. sclerotiorum*). Os tratamentos foram efetuados inicialmente em cobertura total do solo e posteriormente tanto em tratamento de sementes quanto em cobertura de solo. O que se observou, nesse período, é que os cereais de inverno, de maneira geral, apresentaram maior uniformidade de desenvolvimento e menor incidência de podridões, quando comparados a áreas sem a aplicação de *Trichoderma*. Além disso, nos cultivos posteriores, quando se cultivou a cultura de soja nestas áreas, observou-se redução na incidência de mofo-branco. Atualmente, os produtores mais tecnificados, que apresentam elevados índices de produtividade tanto nas lavouras de inverno quanto de verão, vem colocando como investimento básico a utilização de produtos biológicos na implantação de suas culturas, seja através da aplicação em área total, no tratamento de sementes ou no tratamento em sulco de plantio, técnica essa que tem demonstrado os resultados mais promissores. O manejo integrado, instalado nas lavouras de inverno, tem se mostrado importante ferramenta na redução tanto de doenças importantes como o mofo-branco nas culturas de verão como soja e feijão, mas também reduzindo a incidência de podridões ou morte antecipada nessas mesmas culturas promovidas por gêneros como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina* entre outros.

Referências

- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- ANDREWS, J. H. Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology*, v. 30, p. 603-635, 1992.
- BARBIERI, M.; ÁVILA, V. S.; MACIEL, C. G.; NOAL, G.; MUNIZ, M. F. B.; DÖRR, A. C. Qualidade sanitária de sementes de aveia preta cv. BRS 139 (*Avena strigosa* SCHREB) submetidas ao envelhecimento acelerado. *REMOA*, v. 13, n. 13, p. 2828-2836, 2013.
- BAUGH, C. L.; ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. *Rice Farm Magazine*, p. 1-4, 2007.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CONDÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BETTIOL, W. (Org.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 1991. p. 338.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 717-727.
- BRUEHL, G. W. **Soilborne Plant Pathogens**. New York: MacMillan, 1987.
- CADORE, L. S.; SILVA, N. G.; VEY, R. T.; SILVA, A. C. F. Inoculação de sementes com *Trichoderma harzianum* e *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial de arroz. *Enciclopédia Biosfera*, v. 13, n. 24, p. 1725-1731, 2016.
- CARVALHO FILHO, M. R.; MELLO, S. C. M.; SANTOS, R. P.; MENÉZES, J. E. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na produção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 226).
- DE BOER, M.; VAN DER LUIS, I.; VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of fusarium wilt of radish. *European Journal of Plant Pathology*, v. 105, p. 201-210, 1999.
- DELGADO, G. V.; MARTINS, I.; MENÉZES, J. E.; MACEDO, M. A.; MELLO, S. C. M. **Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. in vitro**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 12 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 214).
- ESPOSITO, E.; SILVA, M. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critic Rev Microbiol.*, v. 24, p. 89-98, 1998.
- ETHUR, L. Z.; ROCHA, E. K.; MILANESI, P.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E. Sanidade de sementes e emergência de plântulas de nabo forrageiro, aveia preta e centeio submetidas a tratamentos com bioprotetor e fungicida. *Ciência e Natura*, v. 28, n. 2, p. 17-27, 2006.
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, v. 84, n. 4, p. 376-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, v. 2, p. 43-56, 2004a.
- HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Plant Physiology*, v. 94, n. 2, p. 146-153, 2004b.
- HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G.; STASZ, T. E. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix promoting to improve biological seed treatments. *Plant Disease*, v. 73, p. 631-637, 1989.
- HENNING, F. A.; MERTZ, L. M.; ZIMMER, D.; TEPLIZKY, M. D. F. Qualidade fisiológica, sanitária e análise de isoenzimas de sementes de aveia-preta tratadas com diferentes fungicidas. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 31, n. 3, p. 063-069, 2009.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control*, v. 51, p. 409-416, 2009.

- HWANG, J.; BENSON, D. M. Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of *Poinsettia* with *Burkholderia* and binucleate *Rhizoctonia*. *Plant Disease*, v. 86, p. 47-53, 2002.
- LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAÚNA L. M. Potencial antagonístico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes ecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. *Biota Neotropica*, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009.
- LUCON, C. M. M. Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp (em linha). **Infobibos, Informações Tecnológicas**, 2009. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm> Acesso em: 30 mar. 2019.
- LUZ, W. C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. *Fitopatologia Brasileira*, v. 26, p. 16-20, 2001.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MACHADO, R. G.; SÁ, E. L. S.; DAMASCENO, R. G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES, T.; CAMARGO, F. A. O.; REARTES, D. S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. *Revista Ciência e Natura*, v. 33, n. 2, p. 111-126, 2011.
- MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle biológico de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. Recife: UFRPE: Imprensa Universitária, 2005. p. 303-322.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle Biológico**. Jaguaruina: Embrapa Meio Ambiente, 1998. v. 1, p. 17-60.
- MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguaruina: Embrapa-CNPDA, 1991. p.135-156.
- MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 4, p. 261-295, 1996.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M.; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. Recife: UFRPE: Imprensa Universitária, 2005. p. 1-18.
- MILANESI, P. M. **Aspectos biológicos da interação *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. em solo compactado de aveia preta e soja sob plantio direto**. 2012. 131p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria.
- PEREIRA, A. I. A.; CURVELO, C. R. S.; BANDEIRA, C. M. **Controle biológico na agricultura**. Areia, PB: Movimento Agroecológico, 2007. 175 p.
- PIERSON, E. A.; WELLER, D. M. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress Take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathology*, v. 84, p. 940-947, 1994.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas: uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguaruina: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 238-244.
- PRADEBON, P. R. **Avaliação de aplicação de *Trichoderma* spp. na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 2016. 29 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí.
- PUFAL, J. R. **Tratamento de sementes e fungicidas foliares no controle da ferrugem e da mancha amarela e sobre variáveis de rendimento em trigo**. 2017. 49 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo.
- RAUPACH, G. S.; KLOEPPER, J. W. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology*, v. 88, p. 1158-1163, 1998.
- RESENDE, M. L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, R. G.; VIEIRA, A. R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004.
- ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de doenças de plantas: procedimentos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 172 p.

SCUDELER, F.; VENEGAS, F. *Trichoderma harzianum* associado ou não a fungicidas em tratamento de sementes na cultura do milho (*Zea mays* L.). Valinhos, SP. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 5, p. 9-19, 2012.

SNEH, B.; ICHIELEVICH-AUSTER, M. Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) isolates. **Phytoparasitica**, v. 26, n. 1, p. 27-38, 1998.

STADNIK, M. J.; BETTIOL, W. Controle biológico de oídeos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Controle biológico**: v.3. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 95-112.

WAGATSUMA, E.; SANTOS, J. I.; ROGÉRIO, F.; SILVA, T. R. B. Influência de *Azospirillum brasilense* e *Trichoderma harzianum* na cultura do milho. Cascavel, PR. **Cultivando Saber**, v. 5, n. 3, p. 132-141, 2012.

WHEELER, T.; RUSH, C. M. Soilborne diseases. In: MALOY, O. C.; MURRAY, T. D. (Eds.) **Encyclopedia of Plant Pathology**. New York: John Wiley & Sons, 2001. p. 933-947.

Mofo-branco em soja - ensaios cooperativos

<i>Maurício Conrado Meyer</i>	<i>Mônica Cagnin Martins</i>
<i>Hercules Diniz Campos</i>	<i>Wilson Story Venancio</i>
<i>Claudia Vieira Godoy</i>	<i>Luciana Celeste Carneiro</i>
<i>Carlos Mitinori Utiamada</i>	<i>Luís Henrique Carregal Pereira da Silva</i>
<i>José Nunes Junior</i>	<i>Alfredo Riciere Dias</i>
<i>Marcio Marcos Goussain Junior</i>	<i>Edson Pereira Borges</i>
<i>David de Souza Jaccoud Filho</i>	<i>Margarida Fumiko Ito</i>
<i>Fernando Cezar Juliatti</i>	

Introdução

O mofo-branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, é uma doença muito antiga e que afeta inúmeras culturas de importância econômica no mundo (Jaccoud Filho et al., 2017).

No Brasil, sua incidência na cultura da soja aumentou consideravelmente há pouco mais de uma década, sendo estimado que cerca de 28% da área brasileira de produção de soja esteja infestada pelo patógeno (Meyer et al., 2018). A doença pode reduzir a produtividade da soja em até 70% nas áreas de maior incidência, se não forem adotadas medidas integradas de manejo (Meyer et al., 2017).

A principal característica de *S. sclerotiorum* é a formação de escleródios, estruturas de sobrevivência que permanecem no solo, e constituem a fonte de inóculo inicial para a cultura subsequente. A germinação dos escleródios no solo pode ocorrer de duas formas: miceliogênica - quando ocorre a formação de micélio através de microporos dos escleródios, ou carpogênica - quando há formação de apotécios (Görgen et al., 2010; Reis et al., 2019).

A infecção das plantas de soja ocorre principalmente pelos ascósporos do fungo, que são produzidos nos apotécios, decorrentes da germinação carpogênica dos escleródios. Esses ascósporos colonizam preferencialmente as pétalas, que servem de substrato para o desenvolvimento do patógeno e o início da infecção nas hastes e nos pecíolos (Grau; Hartman, 2015).

Em condições de campo, escleródios podem ser parasitados por fungos e bactérias, podendo perder a viabilidade. Dentre esses microrganismos, algumas espécies do fungo *Trichoderma* e da bactéria *Bacillus* se destacam entre os antagonistas mais eficientes para controle de patógenos habitantes do solo (Görgen et al., 2010). Existem mais de 30 formulações comerciais de biofungicidas registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Mapa e em uso nas lavouras de soja no Brasil (Agrofit, c2003). A aplicação de antagonistas deve ser realizada antes da germinação dos escleródios, ou seja, quando os escleródios se encontram em repouso no solo (Meyer, 2013; Meyer et al., 2013).

Para a eficiência do controle biológico, condições de ambiente semelhantes às que favorecem a germinação dos escleródios (alta umidade no solo, temperatura do ar entre 15 °C e 25 °C e pouca incidência de luz solar) são necessárias para o estabelecimento dos agentes de biocontrole, cujas estruturas de reprodução são ainda mais sensíveis e dependentes dessas condições. Por essa razão, o sistema de semeadura direta sobre palha de gramíneas tem se mostrado um pré-requisito para o sucesso dessa medida de controle (Campos et al., 2010; Görgen et al., 2010; Reis et al., 2019).

A rede de ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco na cultura da soja foi idealizada e proposta no V Congresso Brasileiro de Soja, em 2009, sendo constituída por diversas instituições públicas e privadas de pesquisa e pelas empresas fabricantes de produtos biológicos.

Com o objetivo de gerar informações sobre a eficiência de biofungicidas para subsidiar as recomendações de manejo da doença, os ensaios cooperativos tiveram início na safra 2009/10. Os resultados foram incompletos nos dois primeiros anos, por causa da baixa pressão da doença e da avaliação apenas do efeito de controle da doença na planta, deixando-se de avaliar o efeito dos biofungicidas sobre a viabilidade dos escleródios, que é o principal alvo do controle biológico no patossistema *S. sclerotiorum* - soja.

A partir da safra 2012/13, o método de avaliação do ensaio foi redefinido e aprimorado, conforme apresentado no capítulo 13 desse livro, atendendo a necessidade de verificar o efeito dos tratamentos sobre a viabilidade dos escleródios. A partir da safra 2015/16 não compuseram mais as análises conjuntas, os dados de incidência de mofo-branco na soja, produtividade da soja e produção de escleródios nas plantas.

Resultados da rede de ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco em soja

Os resultados apresentados a seguir foram publicados originalmente em Meyer et al. (2016a e 2016b).

Safra 2012/13

Na safra 2012/13, o ensaio em rede foi conduzido em oito locais, nos estados de Goiás (quatro ensaios), do Mato Grosso do Sul (um ensaio), de Minas Gerais (um ensaio) e do Paraná (dois ensaios), em sistema de semeadura direta sobre palhada de gramíneas. Os tratamentos avaliados são apresentados na Tabela 1.

A incidência de mofobranco na testemunha (13,1%) não foi elevada o suficiente para detectar algum possível efeito adicional de eficiência de controle biológico, em relação ao tratamento com o fungicida fluazinam (Tabela 2).

Nas análises de germinação carpogênica, com exceção do tratamento T4 (*Trichoderma asperellum*), todos os demais superaram a testemunha na redução da produção de apotécios, com uma aplicação dos agentes de biocontrole, apresentando controle de 11% a 17%. Com duas aplicações, somente os tratamentos com *T. harzianum* (T2), *T. asperellum* (T4), *B. pumilus* (T7) e lignosulfonato (T5) apresentaram maiores reduções na germinação carpogênica que a testemunha (T1), com índices de controle variando de 19% a 24% (Tabela 3).

Quanto à colonização de escleródios por *Trichoderma* spp., não houve incremento com uma aplicação de biofungicida mas, com duas aplicações, todos os tratamentos apresentaram maiores percentuais de escleródios colonizados, superando a testemunha (T1) na ordem de 13% a 26% (Tabela 3).

Comparando-se os percentuais de escleródios inviáveis no tratamento testemunha (T1), observou-se um aumento de cerca de seis vezes na mortalidade dos escleródios que permaneceram mais tempo no campo (amostras coletadas após a segunda aplicação), em relação aos que foram coletados mais cedo. Contudo, o incremento do percentual de escleródios inviáveis, em relação à testemunha, ocorreu em apenas dois tratamentos (T4 - *T. asperellum* e T5 - lignosulfonato) após a primeira aplicação de biofungicidas, variando de 7,1% a 9,3%. Com duas aplicações, esse incremento ocorreu em quatro tratamentos (T3 - *T. asperellum*, T4 - *T. asperellum*, T6 - *T. harzianum* e T7 - *B. pumilus*), variando de 7,1% a 9,3% (Tabela 3).

Tabela 1. Produto comercial, ingrediente ativo, épocas de aplicação, dose do produto comercial (p.c.) e concentração de ingrediente ativo (i.a.), dos tratamentos avaliados no ensaio cooperativo de controle biológico de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, safra 2012/13.

Produto Comercial (p.c.)	Ingrediente ativo (i.a.)	Épocas de aplicação				Dose p.c. L-kg / ha	Concentração ¹ i.a
		1º	2º	3º	4º		
1 Testemunha	-	-	-	-	-	-	-
2 Trichodemil, Koppert	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	-	1	2X 10 ⁹
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%
3 Trichodermax, Novozymes	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	-	-	1	1,5X 10 ⁹
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%
4 Quality, Farroupilha	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	-	-	0,1	1X 10 ¹⁰
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%
5 PNR ² , Nortox	Lignosulfonato	V2	V4	-	-	1	-
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%
6 Ecotrich, Ballagro	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	-	0,1	1X 10 ¹⁰
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%
7 PNR ² , Bayer	<i>Bacillus pumilus</i>	V2	V4	-	-	4	14,35 g/L
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%
8 Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%

¹ Concentração mínima de conídios de *Trichoderma* ou UFC por mL ou g de produto. ² PNR= produto não registrado no Mapa para a cultura da soja.

Tabela 2. Análise conjunta das avaliações de incidência de mofo-branco em estádio R6 (Incid.) e percentual relativo de controle (%C), da produtividade da soja (Prod.) e redução de produtividade (% RP), da massa de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (M. Esc.) e o percentual relativo de produção de escleródios (%RP Esc) dos ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco em soja, safra 2012/13.

Tratamentos	Incid. ¹	% C	Prod. ²	% RP	M. Esc. ³	%RP Esc	
1. Testemunha	-	13,1 a	0	3293 b	12	3005 a	0
2. Trichodemil/ Frownicide	<i>T. harzianum</i> /fluazinam	1,8 c	86	3715 a	1	486 b	84
3. Trichodermax/ Frownicide	<i>T. asperellum</i> /fluazinam	1,2 c	91	3692 a	1	302 b	90
4. Quality/ Frownicide	<i>T. asperellum</i> /fluazinam	1,6 c	87	3612 a	4	486 b	84
5. PNR ⁴ / Frownicide	lignosulfonato/ fluazinam	1,2 c	91	3640 a	3	358 b	88
6. Ecotrich/ Frownicide	<i>T. harzianum</i> /fluazinam	0,9 c	93	3745 a	0	158 b	95
7. PNR ⁴ / Frownicide	<i>B. pumilus</i> /fluazinam	7,2 b	45	3630 a	3	301 b	90
8. Frownicide	fluazinam	1,6 c	87	3733 a	0	402 b	87
C.V (%)		37,4		7,97		49,7	

¹Média de três locais; ²média de quatro locais; ³média de dois locais; ⁴PNR= produto não registrado no Mapa para a cultura da soja. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 3. Viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* após uma e duas aplicações de biofungicidas, avaliada por meio dos percentuais de germinação carpogênica, colonização de escleródios por *Trichoderma* spp. e escleródios inviáveis, e seus respectivos percentuais de controle (%C) e diferenciais ($\Delta\%$) em relação à testemunha sem aplicação de agentes de biocontrole, safra 2012/13.

Tratamentos		Germinação carpogênica (%)		Colonização por <i>Trichoderma</i> (%)				Escleródios inviáveis (%)					
		1 aplic. ¹	% C	2 aplic. ¹	% C	1 aplic. ²	$\Delta\%$	2 aplic. ²	$\Delta\%$	1 aplic. ³	$\Delta\%$	2 aplic. ⁴	$\Delta\%$
1. testemunha	-	63,5 a	0	49,2 ab	0	43,3 a	36,7 d			5,0 cd		31,5 c	
2. Trichodermil	<i>T. harzianum</i>	55,0 b	13	39,7 c	19	30,0 b	0	60,3 ab	24	8,9 abcd	3,9	33,6 c	2,1
3. Trichodermax	<i>T. asperellum</i>	56,0 b	12	46,3 b	6	18,3 c	0	63,1 a	26	3,7 d	0	38,9 ab	7,4
4. Quality	<i>T. asperellum</i>	58,7 ab	8	40,0 c	19	36,7 b	0	58,1 b	21	12,1 ab	7,1	38,6 ab	7,1
5. PNR ⁵	lignosulfonato	56,5 b	11	37,2 c	24	11,7 c	0	49,9 c	13	14,3 a	9,3	34,7 bc	3,2
6. Ecotrich	<i>T. harzianum</i>	52,7 b	17	54,2 a	0	13,3 c	0	52,2 c	16	5,7 bcd	0,7	38,9 ab	7,4
7. PNR ⁵	<i>B. pumilus</i>	54,0 b	15	38,2 c	22	43,3 a	0	51,3 c	15	11,1 abc	6,1	40,3 a	8,8
C.V (%)		12,5		14,0		30,7		16,2		92,7		23,7	

¹Média de cinco locais; ²Média de seis locais; ³Média de três locais; ⁴Média de seis locais; ⁵PNR= produto não registrado no Mapa para a cultura da soja. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Safra 2013/14

O ensaio cooperativo de controle biológico de mofa-branco em soja, da safra 2013/14, foi conduzido em dez locais nos estados de Goiás (cinco ensaios), do Mato Grosso do Sul (um ensaio), de Minas Gerais (um ensaio), do Paraná (dois ensaios) e da Bahia (um ensaio).

Foram realizadas duas aplicações dos agentes de biocontrole no início do estágio vegetativo, sendo os tratamentos compostos por quatro formulações de propágulos de *T. harzianum*, uma de *T. asperellum*, uma de *B. subtilis* e uma formulação de lignosulfonato proveniente de extrato vegetal, seguidas de uma aplicação de fluazinam em estágio R1. Também foi mantido um tratamento sem controle da doença e um tratamento apenas com a aplicação de fluazinam (Tabela 4).

Tabela 4. Produto comercial, ingrediente ativo, épocas de aplicação, dose do produto comercial (p.c.) e concentração de ingrediente ativo (i.a.), dos tratamentos avaliados no ensaio cooperativo de controle biológico de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, safra 2013/14.

Produto Comercial (p.c.)	Ingrediente ativo (i.a.) 1º	Épocas de aplicação			Dose p.c.	Concentração
		2º	3º	L-kg ha ⁻¹	i.a. ¹	
1 Testemunha	-	-	-	-	-	-
2 Trichodermil, Koppert	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	1	2X 10 ⁹
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
3 PNR, Koppert	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	1	2X 10 ⁹
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
4 PNR, Simbiose	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	1	1X 10 ⁹
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
5 Quality, Farroupilha	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	-	0,1	1x 10 ¹⁰
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
6 PNR, Nortox	Lignosulfonato	V2	V4	-	1	-
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
7 Ecotrich, Ballagro	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	0,1	1x 10 ¹⁰
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
8 Serenade, Bayer	<i>Bacillus subtilis</i>	V2	V4	-	4	14,35 g/L
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
9 Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%

¹Concentração mínima de conídios ou UFC por mL ou g de produto. PNR= produto não registrado no Mapa para a cultura da soja.

Foi observada incidência média de 26,7% de mofo-branco no tratamento sem controle da doença (T1), nos locais de maior homogeneidade de resultados. Todos os tratamentos, tanto aqueles com aplicação de biofungicidas e fluazinam (T2 a T8), quanto o tratamento que recebeu somente fluazinam (T9), superaram a testemunha sem controle (T1) na redução da incidência de mofo-branco, mas não diferiram entre si. Os percentuais de controle da doença variaram de 48% a 63% (Tabela 5).

Cinco locais compuseram a análise dos resultados de produtividade da soja, observando-se uma redução de 13% de produtividade no tratamento controle T1. Assim como observado para incidência de mofo-branco, todos os tratamentos foram superiores à testemunha sem controle (T1), mas não diferiram entre si (Tabela 5).

Para massa de escleródios produzida por tratamento, apenas um local apresentou resultados consistentes (Ponta Grossa, PR), e foi registrado a produção de até 8,9 kg de escleródios por hectare, mas não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos, nem mesmo em relação à testemunha sem controle (T1) (Tabela 5).

Tabela 5. Análise conjunta das avaliações de incidência da doença em estágio R6 (Incid.) e percentual relativo de controle (%C), da produtividade da soja (Prod.) e redução de produtividade (%RP), da massa de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (M. Esc.) e o percentual relativo de produção de escleródios (%RP Esc) dos ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco em soja – safra 2013/14.

Tratamentos	Incid. ¹	%C	Prod. ²	%RP	M. Esc. ³	%RP Esc	
1. Testemunha	-	26,7 a	0	2856 b	13	8897 a	0
2. Trichodermil/ Frownicide <i>T. harzianum</i> / fluazinam		11,5 b	57	3218 a	2	8471 a	5
3. PNR ⁴ / Frownicide <i>T. harzianum</i> / fluazinam		11,7 b	56	3263 a	1	6046 a	32
4. PNR ⁴ /Frownicide <i>T. harzianum</i> / fluazinam		12,3 b	54	3156 a	4	4698 a	47
5. Quality/ Frownicide <i>T. asperellum</i> / fluazinam		11,9 b	55	3159 a	4	4205 a	53
6. PNR ⁴ / Frownicide lignosulfonato / fluazinam		13,1 b	51	3291 a	0	8104 a	9
7. Ecotrich/ Frownicide <i>T. harzianum</i> / fluazinam		10,4 b	61	3289 a	0	8536 a	4
8. Serenade/ Frownicide <i>B. subtilis</i> / fluazinam		13,8 b	48	3159 a	4	4228 a	52
9. Frownicide fluazinam		9,8 b	63	3155 a	4	6273 a	29
C.V. (%)		54,8		11,0		53,2	

¹Média de três locais; ²Média de seis locais; ³Média de um local. ⁴PNR= produto não registrado no Mapa para a cultura da soja. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados das análises de germinação carpogênica dos escleródios de *S. sclerotiorum* mostraram que todos os tratamentos com agentes de biocontrole reduziram o percentual de formação de apotecios, ocorrendo redução de 12% a 22% com uma aplicação nos tratamentos T2, T3 e T5, e uma variação de 52% a 63% de redução com duas aplicações dos tratamentos T6, T7 e T8 (Tabela 6).

Os resultados de quantificação da colonização de escleródios por *Trichoderma* spp. revelaram que o tratamento T2 apresentou os maiores percentuais de colonização para uma e duas aplicações, sendo acompanhado dos tratamentos T3, T4 e T5 apenas para uma aplicação (Tabela 6).

O tratamento T5 apresentou os maiores percentuais de escleródios inviáveis para uma e duas aplicações, com 90% e 65%, respectivamente, acompanhado do tratamento T6, com 83% de escleródios inviáveis apenas para uma aplicação (Tabela 6).

Tabela 6. Viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* após uma e duas aplicações de biofungicidas, avaliada em caixas gerbox com solo, através dos percentuais de germinação carpogênica, colonização de escleródios por *Trichoderma* spp. e percentual de escleródios inviáveis e seus respectivos percentuais de controle (C%) e diferenciais (%) em relação à testemunha sem aplicação de agentes de biocontrole. Safra 2013/14.

Tratamentos	Germinação carpogênica ¹ (%)				Colonização por <i>Trichoderma</i> spp. ¹				Escleródios inviáveis ¹			
	1 aplic.	C (%)	2 aplic.	C (%)	1 aplic.	(%)	2 aplic.	(%)	1 aplic.	(%)	2 aplic.	(%)
1. Testemunha	70,8 a	0	52,8 a	0	43,0 d	-	47,5 e	-	17,8 e	0	29,9 e	0
2. Trichodermil (<i>T. harzianum</i>)	60,0 cd	15	29,6 cd	44	71,8 a	67	88,6 a	86	22,6 cd	27	43,0 b	44
3. PNR ² (<i>T. harzianum</i>)	55,4 d	22	31,9 bcd	40	66,0 ab	53	83,8 b	76	22,2 cd	25	37,0 cd	24
4. PNR ² (<i>T. harzianum</i>)	63,2 bc	11	38,8 b	27	63,0 ab	47	73,6 c	55	19,6 de	11	40,3 bc	35
5. Quality (<i>T. asperellum</i>)	62,0 bcd	12	36,1 bc	32	64,5 ab	50	74,6 c	57	33,7 a	90	49,2 a	65
6. PNR ² (lignosulfonato)	63,8 bc	10	20,1 e	62	56,8 bc	32	63,5 d	34	32,4 a	83	33,3 de	11
7. Ecotrich (<i>T. harzianum</i>)	65,5 abc	7	25,2 de	52	42,5 d	0	59,9 d	26	28,8 b	62	31,8 e	6
8. Serenade (<i>B. subtilis</i>)	66,9 ab	6	19,8 e	63	47,3 cd	10	63,4 d	33	25,5 bc	44	42,0 b	40
C.V.(%)	13,9		24,7		17,6		7,9		15,3		11,5	

¹Média de dez locais; ²PNR= produto não registrado no Mapa para a cultura da soja; aplic. = aplicação. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Safra 2014/15

O ensaio cooperativo de controle biológico de mofo-branco em soja da safra 2014/15 foi conduzido em dez locais nos estados de Goiás (cinco ensaios), do Mato Grosso do Sul (um ensaio), de Minas Gerais (um ensaio), do Paraná (dois ensaios) e da Bahia (um ensaio).

O delineamento experimental do ensaio foi alterado nessa safra, e foi utilizado blocos completos casualizados, com parcelas experimentais de, no mínimo, seis linhas de 10 m de comprimento, divididas em subparcelas de seis linhas de 5 m de comprimento, e quatro repetições. Os tratamentos com os produtos de biocontrole foram aplicados em toda a parcela experimental, havendo aplicação do fungicida fluazinam apenas na metade de cada parcela (subparcela). Os tratamentos foram compostos por três formulações de *T. harzianum*,

uma formulação de *T. asperellum*, uma formulação de *B. pumilus*, uma formulação de *B. amyloliquefaciens* e uma associação de L-aminoácidos com lignossulfonato de origem vegetal (Tabela 7).

Tabela 7. Ingrediente ativo, produto comercial, concentração de ingrediente ativo (i.a.), dose do produto comercial (p.c.) e épocas de aplicação dos tratamentos avaliados no ensaio cooperativo de controle biológico de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, safra 2014/2015.

Produto Comercial (p.c.)	Ingrediente ativo (i.a.) ¹	Épocas de aplicação			Dose p.c. i.a. ¹	Concentração
		2 ^o	3 ^o	L-kg ha ⁻¹		
1 Testemunha	-	-	-	-	-	-
Frownicide (sp) ²	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
2 Trichodermil (pt) ³	<i>T. harzianum</i> , Koppert	V2	V4	-	1	2X 10 ⁹
Frownicide (sp)	fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
3 PNR ⁴ (pt)	<i>T. harzianum</i> , Simbiose	V2	V4	-	1	1X 10 ⁹
Frownicide (sp)	fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
4 Quality (pt)	<i>T. asperellum</i> , Farroupilha	V2	V4	-	0,1	1x 10 ¹⁰
Frownicide (sp)	fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
5 PNR + PNR (pt)	L-aminoácidos + lignossulfonato, Nortox	V2	V4	-	0,25+0,5	-
Frownicide (sp)	fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
6 Ecotrich (pt)	<i>T. harzianum</i> , Ballagro	V2	V4	-	0,1	1x 10 ¹⁰
Frownicide (sp)	fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
7 PNR (pt)	<i>B. pumilus</i> , Bayer	V2	V4	-	4	14,35 g/L
Frownicide (sp)	fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
8 PNR (pt)	<i>B. amyloliquefaciens</i> , BASF	V2	V4	-	0,5	5,5x 10 ¹⁰
Frownicide (sp)	fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
9 Frownicide (sp)	fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%

¹Concentração mínima de conídios de *Trichoderma* por mL ou g de produto; ²sp= tratamento aplicado na subparcela; ³pt= tratamento aplicado em parcela total; ⁴PNR= produto não registrado no Mapa para a cultura da soja.

Na safra 2014/15 a incidência de mofo-branco foi extremamente baixa, afetada principalmente pela escassez de chuvas no período de pré-florescimento até o início de formação de grãos da soja. Dos dez locais onde foram conduzidos os ensaios, cinco não apresentaram incidência da doença, dois apresentaram incidência abaixo de 10%, e três locais apresentaram incidência acima de 20%, sendo esses últimos utilizados nas análises conjuntas.

Não foram observadas diferenças para incidência de mofo-branco entre os tratamentos

nas subparcelas que receberam aplicação do fungicida fluazinam. A testemunha absoluta (T1), sem aplicação de biofungicidas e de fluazinam, apresentou incidência de 23,4%, sendo este valor média de apenas dois locais. Não houve diferença de incidência entre os tratamentos nas subparcelas sem fluazinam, mas esses superaram a testemunha T1, com percentual de controle variando de 44% a 77% (Tabela 8).

Para produtividade da soja, não houve diferença entre os tratamentos, independentemente da aplicação de fluazinam (Tabela 8).

Tabela 8. Análise conjunta das avaliações de incidência da doença em estágio R6 (Incid.) e percentual relativo de controle (%C), da produtividade da soja (Prod.) e redução de produtividade (% RP), dos ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, das subparcelas com e sem aplicação de fluazinam em estágio R1 – safra 2014/15.

Tratamentos		Com fluazinam		Sem fluazinam		Com fluazinam		Sem fluazinam	
		Incid. ¹	%C	Incid. ¹	%C	Prod. ²	%RP	Prod. ²	%RP
1. Testemunha	-	6,09 a	0	23,4 a	0	3852 a	4,6	3773 a	2,8
2. Trichodemil	<i>T. harzianum</i>	7,50 a	0	9,5 b	60	4039 a	0,0	3674 a	5,4
3. PNR ³	<i>T. asperellum</i>	5,16 a	15	10,0 b	57	3892 a	3,6	3883 a	0,0
4. Quality	<i>T. asperellum</i>	4,38 a	28	11,1 b	53	3832 a	5,1	3849 a	0,9
5. PNR	aminoac.+ lignosulf.	6,41 a	0	9,5 b	60	3866 a	4,3	3754 a	3,3
6. Ecotrich	<i>T. harzianum</i>	6,88 a	0	11,9 b	49	3963 a	1,9	3842 a	1,1
7. PNR	<i>B. pumilus</i>	3,75 a	38	12,5 b	47	3987 a	1,3	3783 a	2,6
8. PNR	<i>B. amylolique- faciens</i>	5,63 a	8	13,1 b	44	4031 a	0,2	3801 a	2,1
9. Frownicide	fluazinam	5,63 a	8	5,5 b	77	3555 a	12,0	3854 a	0,7
C.V. (%)		72,8		50,0		7,5		7,5	

¹Média de dois locais; ²Média de dois locais; ³PNR= produto não registrado no Mapa para a cultura da soja. Incid. = incidência. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados das análises de germinação carpogênica dos escleródios de *S. sclerotiorum* mostraram que todos os tratamentos com agentes de biocontrole reduziram o percentual de formação de apotécios em relação ao tratamento controle (T1), ocorrendo redução de 49% a 75% com uma aplicação nos tratamentos, e uma variação de 55% a 89% de redução com duas aplicações de biofungicidas (Tabela 9).

Os tratamentos T2 e T4 apresentaram os maiores percentuais de colonização de escleródios por *Trichoderma* spp. nas avaliações realizadas após uma aplicação e, após duas aplica-

ções, as maiores taxas de colonização ocorreram com os tratamentos T3 e T4 (Tabela 9).

Todos os tratamentos com uma aplicação de biofungicidas proporcionaram aumento na mortalidade de escleródios em relação à testemunha (T1), apresentando percentuais de 32% a 51%. Nos tratamentos com duas aplicações, apenas o tratamento T3 não diferiu do controle T1, sendo o maior índice de escleródios inviáveis (44%) observado no tratamento T7 (Tabela 9).

Tabela 9. Viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* após uma e duas aplicações de biofungicidas, avaliada em caixas gerbox com solo, por meio dos percentuais de germinação carpogênica, colonização de escleródios por *Trichoderma* spp. e percentual de escleródios inviáveis e seus respectivos percentuais de controle (C%) e diferenciais (%) em relação à testemunha sem aplicação de agentes de biocontrole. Safra 2014/15.

Tratamentos	Germinação carpogênica (%)				Colonização por <i>Trichoderma</i> spp. ¹				Escleródios inviáveis ¹			
	1 aplic. ¹		2 aplic. ²		1 aplic. ³		2 aplic. ⁴		1 aplic. ⁵		2 aplic. ⁶	
		C (%)		C (%)		(%)		(%)		(%)		(%)
1. Testemunha	45,1 a	0	10,6 a	0	26,1 f	-	43,9 e	-	29,8 c	-	38,5 e	-
2. <i>T. harzianum</i>	12,0 c	73	4,8 b	55	59,0 a	126	75,0 b	71	41,0 ab	38	44,8 cd	16
3. <i>T. asperellum</i>	20,3 bc	55	4,5 bc	57	43,9 c	68	76,3 ab	74	40,8 ab	37	41,6 de	8
4. <i>T. asperellum</i>	17,6 bc	61	1,2 d	89	55,7 ab	113	80,0 a	82	44,9 a	51	48,1 bc	25
5. Aminoac. + lignosulf.	23,0 b	49	1,9 cd	82	32,5 e	24	64,9 cd	48	40,6 b	36	48,7 bc	26
6. <i>T. harzianum</i>	11,1 c	75	2,8 bcd	73	52,9 b	103	74,6 b	70	40,8 ab	37	50,0 b	30
7. <i>B. pumilus</i>	13,1 c	71	2,4 bcd	77	35,7 de	37	61,8 d	41	40,3 b	35	55,4 a	44
8. <i>B. amyloliquefaciens</i>	12,0 c	73	1,2 d	89	37,0 d	42	67,1 c	53	39,2 b	32	49,8 b	29
C.V.(%)	68,9		60,7		13,2		10,3		15,5		12,6	

¹Médias de quatro locais; ²Médias de três locais; ³Médias de nove locais; ⁴Médias de dez locais; ⁵Médias de nove locais; ⁶Médias de nove locais; aplic. = aplicação. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Safra 2015/16

Os ensaios da safra 2015/16 foram instalados em 13 locais distribuídos nos Estados de Goiás (sete ensaios), da Bahia (um ensaio), do Mato Grosso do Sul (um ensaio), do Mato Grosso (um ensaio), de Minas Gerais (um ensaio) e do Paraná (dois ensaios).

Foram realizadas duas aplicações dos agentes de biocontrole no início do estágio vegetativo, nos estádios V2 e V4 das plantas, respectivamente. Os tratamentos foram compostos por quatro formulações de propágulos de *T. harzianum*, duas de *T. asperellum*, uma de *B. subtilis*, uma de *B. pumilus*, e um tratamento testemunha, sem aplicação de biofungicidas (Tabela 10).

A partir da safra 2015/16, em comum acordo com as empresas e pesquisadores participantes dos ensaios, não foram mais realizadas as análises conjuntas dos efeitos dos tratamentos com biofungicidas sobre o controle da doença, a produtividade da soja e a produção de escleródios na planta, pelo fato desses parâmetros não representarem o efetivo alvo de controle.

Tabela 10. Tratamentos com biofungicidas, ingrediente ativo, épocas de aplicação, doses dos produtos comerciais e concentração de ativos do ensaio cooperativo de controle biológico de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, safra 2015/16.

Produto comercial (p.c.)	Ingrediente ativo (i.a.)	Épocas de aplicação		Dose p.c.	Conc.
		1º	2º	L·kg ha ⁻¹	i.a. ¹
1. Testemunha	-	-	-	-	-
2. Trichodermil, Koppert	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	1	2 x(10) ⁹
3. StimuControl S, Simbiose	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	1	1x(10) ⁹
4. Quality, Farroupilha	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	0,1	1x(10) ¹⁰
5. Predatox, Ballagro	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	1	2x(10) ⁹
6. Ecotrich, Ballagro	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	0,1	1x(10) ¹⁰
7. PNR ² , Bayer	<i>B. pumilus</i>	V2	V4	4	14,35 g L ⁻¹
8. Serenade, Bayer	<i>B. subtilis</i>	V2	V4	2	13,68 g L ⁻¹
9. TrichoderMax, Novozymes	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	1	1,5x(10) ⁹

¹Concentração mínima de conídios ou UFC do agente de biocontrole por mL ou g de produto; ²PNR = produto não registrado para a cultura da soja no Mapa.

Não foi observada redução da germinação carpogênica com uma aplicação de biofungicida, em nenhum dos tratamentos. Com duas aplicações, com exceção dos tratamentos T3 e T5 (formulações de *T. harzianum*), os demais tratamentos apresentaram redução da germinação carpogênica em relação à testemunha T1, com percentuais de redução variando de 67% a 100% (Tabela 11).

Quanto à colonização de escleródios por *Trichoderma* spp. nos tratamentos com uma aplicação, apenas o tratamento T9 (*T. asperellum*) diferiu da testemunha T1. Nas amostras que receberam duas aplicações, os tratamentos T6 (*T. harzianum*) e T9 (*T. asperellum*) superaram a testemunha T1, com maiores percentuais de colonização por *Trichoderma* spp. (Tabela 11).

Com exceção do tratamento T3 (*T. harzianum*), os demais não diferiram da testemunha T1 para inviabilização de escleródios com uma aplicação de biofungicida. Com duas aplicações, os tratamentos T6 (*T. harzianum*) e T8 (*B. subtilis*) promoveram os maiores índices de mortalidade de escleródios. Os tratamentos T4 (*T. asperellum*), T5 (*T. harzianum*) e T7 (*B. pumilus*) também apresentaram similaridade, de inviabilização de escleródios, com os tratamentos T6 e T8, mas não diferiram da testemunha T1 (Tabela 11).

Tabela 11. Germinação carpogênica, percentual de controle (C%), colonização de escleródios por *Trichoderma* spp. e escleródios inviáveis nos ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) - safra 2015/16.

Tratamentos	Germinação carpogênica (%)				Colonização por <i>Trichoderma</i> spp. (%)		Escleródios inviáveis (%)							
	1 aplic. ¹	C (%)	2 aplic. ²	C (%)	1 aplic. ³	2 aplic. ¹	1 aplic. ³	2 aplic. ¹						
1. Testemunha	24,6	a	0	14,2	a	0	8,5	b	16,5	bc	8,6	b	9,0	c
2. <i>T. harzianum</i>	21,1	a	14	4,6	b	68	16,3	ab	23,2	bc	13,3	ab	11,9	bc
3. <i>T. harzianum</i>	24,9	a	0	8,1	ab	43	12,0	b	15,5	bc	20,2	a	9,1	c
4. <i>T. asperellum</i>	15,0	a	39	4,7	b	67	17,6	ab	21,9	bc	13,2	ab	13,3	abc
5. <i>T. harzianum</i>	26,0	a	0	5,2	ab	64	13,3	ab	14,0	c	11,9	ab	14,7	abc
6. <i>T. harzianum</i>	17,5	a	29	4,7	b	67	12,2	b	37,4	a	15,3	ab	21,1	ab
7. <i>B. pumilus</i>	21,2	a	14	0,0	b	100	19,6	ab	13,8	c	13,8	ab	18,3	abc
8. <i>B. subtilis</i>	20,3	a	17	3,1	b	79	14,6	ab	28,0	ab	11,9	ab	22,6	a
9. <i>T. asperellum</i>	15,1	a	39	0,9	b	94	24,0	a	37,4	a	15,5	ab	13,5	abc
C.V.(%)	78,1		140,1				91,7		57,5		88,6		64,4	

Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ¹Médias de seis locais; ²Médias de três locais; ³Médias de oito locais; aplic. = aplicação.

Discussão e conclusões dos resultados da rede de ensaios cooperativos – safras 2012/13 a 2015/16

As condições de ambiente do solo, favoráveis à colonização e infecção dos escleródios de *S. sclerotiorum* pelos agentes de biocontrole, são fundamentais para o sucesso do controle biológico de mofo-branco na cultura da soja. Esse ambiente será ideal quanto mais constantes

se mantenham umidade alta do solo (acima de 60% da capacidade de campo), temperaturas amenas na superfície do solo (até 25 °C) e sombreamento da superfície do solo com cobertura verde ou com palha de gramíneas.

O sistema de semeadura direta sobre palha é um pré-requisito para se alcançar a eficiência do controle biológico de mofo-branco, proporcionando o adequado condicionamento de solo para o estabelecimento dos microrganismos antagonistas de *S. sclerotiorum*, sejam nativos ou introduzidos por meio da aplicação de produtos formulados.

A oscilação dos resultados dos ensaios aqui apresentados, tanto entre as safras quanto entre os ensaios de uma mesma safra, não está relacionado à eficiência do *Trichoderma* no controle da doença, mas demonstra que existe a dependência de condições ambientes específicas para o sucesso do estabelecimento do agente de biocontrole.

Não foi observado ganho de produtividade da soja nos ensaios com a utilização de biofungicidas, porém, a ação dos biofungicidas sobre os escleródios de *S. sclerotiorum* foi positiva, promovendo redução do percentual de germinação carpogênica de até 24% na safra 2012/13, de até 63% na safra 2013/14, de até 89% na safra 2014/15 e de até 100% na safra 2015/16. Considerando-se as formulações à base de *Trichoderma* spp., esses percentuais foram de até 19% na safra 2012/13, até 52% na safra 2013/14, até 89% na safra 2014/15 e de até 94% na safra 2015/16, propiciando, assim, a redução da fonte de inóculo inicial para a cultura subsequente. Em condições de alta infestação por *S. sclerotiorum*, o manejo integrado, com a associação do controle químico se faz necessário, pois, mesmo que poucos, os apotécios formados são capazes de produzir ascósporos suficientes para infectar as plantas.

A tabela 12 apresenta um comparativo dos percentuais de inibição das germinações carpogênica e miceliogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* obtidos na rede de ensaios. Comparando-se a testemunha sem aplicação com os demais tratamentos, os biofungicidas apresentaram a inibição da germinação carpogênica, variando entre 42% a 88%, quando analisadas as médias de três safras. Entretanto, para a germinação miceliogênica dos escleródios, os dados demonstram que não houve incrementos na inibição da germinação com a aplicação de biofungicidas.

Considerando que a infecção da soja por *S. sclerotiorum* ocorre principalmente em decorrência da germinação carpogênica, por meio dos ascósporos, o efeito dos agentes de biocontrole na inibição da germinação dos escleródios é de grande importância para o manejo da doença e para a redução de inóculo inicial ao longo dos anos, e deve ser integrado às demais medidas de controle. A viabilidade da integração do controle biológico no manejo do mofo-branco em soja deve ser melhor estudada, principalmente com relação aos seus mecanismos de ação e ao posicionamento adequado quanto ao momento da aplicação dos biofungicidas. Dessa forma, o controle biológico, como ferramenta do manejo integrado do mofo-branco,

visa a redução do inóculo inicial *S. sclerotiorum* e, conseqüentemente, o incremento do potencial produtivo da cultura da soja.

Tabela 12. Comparativo dos percentuais de controle em relação ao tratamento sem controle (testemunha), referente à inibição das germinações carpogênica e miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, em função de duas aplicações de agentes de biocontrole, nos ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco em soja, em três safras.

Parâmetro/ Safra	Tratamento	Trichodermil (<i>T. harzianum</i>)	Quality (<i>T. asperillum</i>)	Ecotrich (<i>T. harzianum</i>)	PNR (<i>T. harzianum</i>)	PNR (<i>B. pumilus</i>)	Serenade (<i>B. subtilis</i>)	PNR (lignosulfonato)
Inibição da Germinação Carpogênica (%)								
Safra 2013/14		44	32	52	27	n.a.	63	62
Safra 2014/15		55	89	73	57	77	n.a.	82
Safra 2015/16		68	67	67	43	100	79	n.a.
Média		56	63	64	42	88	71	72
Inibição da Germinação Miceliogênica (%)								
Safra 2012/13		0	0	15	n.a.	0	n.a.	6
Safra 2013/14		0	0	0	0	n.a.	0	0
Safra 2014/15		0	0	0	0	0	n.a.	0
Média		0	0	5	0	0	0	2

PNR = produto não registrado no Mapa para a cultura da soja; n.a.= não avaliado.

Referências

- AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: Mapa, c2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons/>. Acesso em: fev. 2019.
- CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. C. P.; MEYER, M. C.; SILVA, J. R. C.; NUNES JUNIOR, J. Mofo-branco na cultura da soja e os desafios da pesquisa no Brasil. *Tropical Plant Pathology*, v. 35, p. C-CI, 2010. Suplemento.
- GÖRGEN, C. A.; HIKISHIMA, M.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. (Ed.). *Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura*. Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 73-104.
- GRAU, C. R.; HARTMAN, G. L. *Sclerotinia stem rot*. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. *Compendium of soybean diseases and pests*. 5th ed. St. Paul, MN: APS, 2015. p. 59-62.

JACCOUD FILHO, D. S.; NASSER, L. C. B.; HENNENBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; JULIATTI, F. C. Mofobranco: introdução, histórico, situação atual e perspectivas. In: JACCOUD FILHO, D. S.; HENNENBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G. (Eds.). **Mofobranco**. Ponta Grossa: Todapalavra, 2017. p. 29-73.

MEYER, M. C. Resultados da rede de ensaios de controle biológico de mofobranco em soja. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13., 2013, Bonito. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2013. 1 CD-ROM.

MEYER, M. C.; MACHADO, T. A.; CRUZ, G. P. O.; ROCHA, M. B.; VENANCIO, W. S.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L. C.; CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. C. P.; BORGES, E. P. Efeito de tratamentos para biocontrole de mofobranco sobre a viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 33., 2013, Londrina. **Resumos expandidos...** Brasília, DF: Embrapa, 2013. p. 124-126.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. (Eds.). **Ensaio cooperativos de controle biológico de mofobranco na cultura da soja - safras 2012 a 2015**. Londrina: Embrapa Soja, 2016a. 46 p. (Embrapa Soja, Documentos, 368).

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; SILVA, L. H. C. P. da; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.; NUNES JUNIOR, J.; VENANCIO, W. S.; PIMENTA, C. B.; BORGES, E. P.; JACCOUD FILHO, D. S.; CARNEIRO, L. C.; JULIATTI, F. C. **Ensaio cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja**: resultados sumarizados da safra 2015/2016. Londrina: Embrapa Soja, 2016b. 5 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 124).

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; PIMENTA, C. B.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, L. H. C. P.; SATO, L. N.; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.; TORMEN, N. R.; BALARDIN, R. S.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para controle de mofobranco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2016/17**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 5 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 133).

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; SEII, A. H.; DIAS, A. R.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; SILVA, L. H. C. P.; SATO, L. N.; MARTINS, M. C.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para controle de mofobranco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2017/18**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 5 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 140).

REIS, E. M.; ZANATTA, M.; REIS, A. C. **Mofobranco da soja**. Passo Fundo: Berthier, 2019. 96 p.

Uso do *Trichoderma* na cultura da banana

Christiana de Fátima Bruce da Silva

Ana Iraidy Santa Brígida

Carlos Alberto Kenji Taniguchi

Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Introdução

A banana (*Musa* spp.) é uma frutífera de importância socioeconômica em todo mundo. Segundo a FAO, o Brasil tem-se destacado, como o quarto maior produtor da fruta, com 6,17 milhões de toneladas (Banana, 2017). No país, as regiões Sudeste e Nordeste apresentaram-se como as principais produtoras, totalizando 65,77% da produção nacional (Banana, 2019). Nestas regiões, a produção de bananas tem-se concentrado principalmente nos polos de fruticultura irrigada, no qual apresentam alto nível tecnológico, bem como, em condições de agricultura de subsistência.

Durante o seu sistema de produção tem-se constatado que as plantas apresentam alta exigência de nutrientes, principalmente o nitrogênio (N) e potássio (K), necessitando de adubação adequada e abundante, para apresentar pleno desenvolvimento e produção. Em função do teor de K no solo, da idade da planta e da expectativa de produtividade, as recomendações das adubações nitrogenada e potássica podem chegar a 500 kg ha⁻¹ de N e a 750 kg ha⁻¹ de K₂O. Aliado a isso, outro problema marcante enfrentado pela cultura são as doenças que acometem as plantas no campo, tais como as manchas-foliares (sigatoka-amarela e sigatoka-negra), manchas vasculares (mal-do-panamá e moko-da-bananeira), galhas e lesões nas raízes (nematoses); e, as doenças na fase de pós-colheita (antracoses e podridões). Para o manejo dessas enfermidades, várias táticas têm sido empregadas, como o uso de variedades resistentes, eliminação de fonte de inóculo, bem como o uso de defensivos agrícolas. A adoção desses produtos deve ser conduzida racionalmente, pois alguns dos defensivos são altamente tóxicos ao meio ambiente e o mercado consumidor tem exigido cada vez mais a produção sustentável das frutas. Além

disso, a aplicação desses produtos sem a supervisão de um técnico qualificado, podem ocasionar a seleção de “estirpes” resistentes dos patógenos bem como, a contaminação do solo, das águas e do homem.

Para um manejo sustentável na cultura da banana, os tratamentos culturais nos pomares, como a utilização de adubos solúveis e defensivos agrícolas, devem ser conduzidos utilizando os princípios do manejo integrado, adotando diferentes medidas alternativas aos tratamentos convencionais. Uma das estratégias seria a adoção do controle biológico e dos fungos promotores de crescimento, como os do gênero *Trichoderma*. Portanto, a seguir, serão descritas as espécies de *Trichoderma* utilizadas para promoção de crescimento, bem como para o controle biológico das principais doenças incidentes na bananeira. Além disso, serão relatados os principais mecanismos de ação desse microrganismo, para promover a bioestimulação das plantas e o biocontrole dos patógenos. Serão também discutidos os principais produtos registrados para utilização na cultura da bananeira.

Principais espécies, ocorrência e mecanismos de ação de *Trichoderma*

Existem mais de 200 espécies de *Trichoderma* envolvidas tanto na promoção de crescimento de plantas, como no controle biológico de patógenos, nas culturas agrícolas (Atanasova et al., 2013). Para a bananeira, algumas espécies merecem destaque por serem utilizadas como bioestimulantes e/ou biocontroladores, tais como: *T. atroviride* (Waele et al., 2006; Xia et al., 2011; Cavero et al., 2015), *T. harzianum* (Moraes et al., 2006; Acosta-Suárez et al., 2013), *T. asperellum* (Xia et al., 2011; Taribuka et al., 2017), *T. gamsii*, *T. koningiopsis* (Taribuka et al., 2017), *T. longibrachiatum* (Mendes et al., 2015), *T. brevicompactum* e *T. virens* (Xia et al., 2011). Dentre as espécies, as mais utilizadas e com maior eficiência são *T. harzianum* e *T. asperellum*, por apresentarem alta competência rizosférica (Friedl; Druzhinina, 2012). Estas espécies têm sido encontradas em diferentes ambientes nos cultivos das bananeiras, tais como solo (Michereff et al., 2005; Vinale et al., 2008; Xia et al., 2011) e endofiticamente nas plantas (Pocasangre et al., 2000; Zum-Felde et al., 2002; Sikora et al. 2008; Xia et al., 2011). No caso do solo, *Trichoderma* tem preferência pelos úmidos, sem a incidência direta de raios solares e com temperaturas amenas (20 a 25 °C) e com pH mais ácido (Bhale; Rajkonda, 2012; García-Núñez et al., 2012). Em condições extremas, estes microrganismos têm a sua eficiência reduzida ou até mesmo anulada (Halfeld-Vieira et al., 2016).

A intensificação parece afetar negativamente a distribuição do fungo. O sistema de uso do solo reconhecidamente afeta seus atributos e conseqüentemente, a ocorrência de *Trichoderma*. Solos com altos teores de C, N, Mg e Fe, como os de florestas, favorecem a ocorrência desses fungos (Okoth et al., 2009). A ocorrência de espécies de *Trichoderma* também foi correlacionada positivamente com teores de Ca, Mg e Mn de solos sob diversos

maneios (Bulluck III et al., 2002). A utilização de *T. koningii* no controle do mal-do-pé do trigo foi mais eficiente em solos com maiores teores de Fe ou argila e menor pH ou teores de P-disponível (Duffy et al., 1997). Na rizosfera, *Trichoderma* são atraídos pelos exsudatos radiculares, nos quais favorecem a sua persistência ou competência em colonizar a região de atuação das raízes. Os microrganismos com grande capacidade de colonização são os mais indicados para uso como antagonistas aos patógenos e, promotor do crescimento das plantas (Vinale et al., 2008; López-Búcio et al., 2015). No sistema de produção da bananeira estes microrganismos devem também apresentar boa capacidade de adaptação ao agroecossistema, nos quais estão inseridos (Lucon, 2014). Outra característica essencial é que haja compatibilidade das espécies de *Trichoderma*, com os insumos rotineiramente utilizados no cultivo das bananeiras, como parte de um programa de manejo integrado da cultura (Lucon, 2014; Mendes et al., 2015).

Nos nichos ecológicos, nos quais as espécies de *Trichoderma* estão adaptadas, as mesmas utilizam diferentes mecanismos importantes para promoção do crescimento e antagonismo na cultura da bananeira. Os principais mecanismos envolvidos no controle biológico são a antibiose, indução de resistência, produção de metabólitos (enzimas e compostos orgânicos voláteis), micoparasitismo e competição por nutrientes e espaço (Harman et al., 2004; Vinale et al., 2008; Sarandón; Flores, 2014; Lee et al., 2016). Em um estudo, o fungo endofítico *Trichoderma* foi utilizado para o controle do nematoide carvenícola *Radopholus similis*. Observou-se que através do micoparasitismo do antagonista, houve a adesão dos conídios, germinação e colonização do corpo do nematoide, imobilizando-o. O manejo da nematose conseguiu ser eficiente (Hernández, 2003). Os isolados de *Trichoderma* podem também realizar alterações nos sítios de infecção e, conseguir adaptar o seu metabolismo a estas condições. Alguns isolados são capazes de realizar mudanças no pH nos sítios de infecção, proporcionando reduções na agressividade de patógenos (Benítez et al., 2004).

Para a promoção de crescimento os microrganismos utilizam diferentes mecanismos, podendo-se destacar: produção de hormônios (ácido indolacético, citocininas, giberelinas, ácido abscísico), aumento na solubilização de nutrientes (fosfato, ferro, cobre, manganês e zinco) e, incrementos na eficiência do uso de nutrientes, como o nitrogênio (Harman et al., 2004; Lucon, 2014). A promoção de crescimento de plantas com a aplicação de *T. harzianum* ocorre diretamente, com aumento do desenvolvimento das raízes, quanto em combinação com mecanismos indiretos, como solubilização de minerais via processos de acidificação, redução, quelatação e hidrólise (Li et al., 2015). A utilização de misturas de isolados de *Trichoderma*, com diferentes mecanismos de ação é estratégia interessante para o manejo das enfermidades e promoção de crescimento de bananeiras. Estas combinações podem favorecer a proteção das plantas, ainda mais se os microrganismos atuarem sinergicamente (Machado et al., 2012).

Estudos em desenvolvimento na Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Estado do Ceará tem como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma*, oriundos da rizosfera de bananeiras, para o manejo do mal-do-panamá e promoção de crescimento de bananeiras (Figura 1).

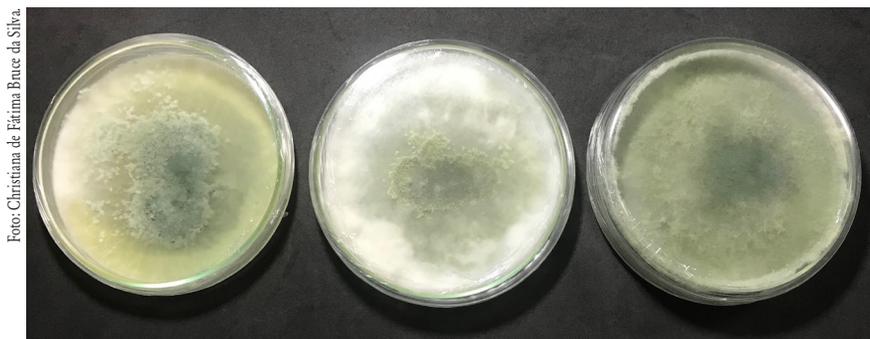


Foto: Christiana de Fátima Bener da Silva.

Figura 1. Isolados de *Trichoderma* sp., provenientes da rizosfera de bananeiras, com potencial para promoção de crescimento e controle de doenças na cultura da banana.

Nestes estudos, o interessante é que os isolados selecionados apresentem mecanismos de ação complementares, possibilitando assim a sua introdução na cadeia da bananicultura na região.

Promoção de crescimento de bananeiras por *Trichoderma*

As espécies de *Trichoderma* são importantes por promoverem o desenvolvimento das plantas, possibilitando incrementos na absorção de nutrientes pelas raízes (Harman et al., 2004; López-Búcio et al., 2015; Lee et al., 2016). Estes microrganismos bioestimulantes são encontrados e melhor adaptados a solos ácidos, com presença de nutrientes e matéria orgânica (Harman et al., 2010; Sarandón; Flores, 2014). A composição da matéria orgânica parece ser crucial para o solo comportar-se como condutivo ou supressivo a sua atividade na rizosfera das plantas. Os fatores bióticos podem também ter influência na competência rizosférica dos microrganismos no solo (Simon; Sivasithamparam, 1989; Kavoo-Mwangi et al., 2013). Na rizosfera, *Trichoderma* podem interagir com outros microrganismos, como as rizobactérias e os fungos micorrízicos arbusculares, possibilitando efeitos positivos no desenvolvimento das plantas (Kavoo-Mwangi et al., 2013). Os isolados de *Trichoderma* por apresentarem alta competitividade rizosférica são capazes de aderir, reconhecer e desenvolver-se facilmente nas raízes das plantas. Estes microrganismos são resistentes às intempéries do solo, sobrevivendo à condições adversas. Por exemplo, *Trichoderma* é capaz de resistir a competição com os patógenos pelos sítios de infecção; e, até mesmo podem ficar expostos a compostos tóxicos

liberados pelas plantas, em resposta de defesa, contra os patógenos. Estas características só comprovam os benefícios da utilização destes microrganismos na agricultura (Benitez et al., 2004; Machado et al., 2012).

A bananeira apresenta fases durante o seu sistema de produção, nas quais são interessantes a participação de microrganismos bioestimuladores (Weber et al., 2000; Mia et al., 2005). Uma das fases é a aclimatização, considerada fundamental na produção de mudas (Carvalho et al., 2014). Nesta fase, as plantas apresentam uma baixa taxa de sobrevivência, pois as mesmas possuem ainda poucas reservas nutricionais e sistema radicular frágil. A associação com microrganismos, como *Trichoderma* é interessante e propicia ganhos na produção. Esta interação protege as mudas de condições estressantes, que possam vir a ocorrer na aclimatização (Marín-Guirao et al., 2016). Estudos têm demonstrado o papel fundamental das espécies de *Trichoderma*, para o desenvolvimento de bananeiras (Kavoo-Mwangi et al., 2013; Taribuka et al., 2017). A utilização de *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. koningiopsis* e *T. gamsii* possibilitou ganhos nas mudas como: altura das plantas, diâmetro do pseudocaule, número de folhas, massa fresca da parte aérea, massa fresca e comprimento das raízes (Taribuka et al., 2017). Em outro estudo, *T. harzianum* incrementou a solubilidade de nutrientes para as plantas como o fosfato, zinco, cobre, ferro e manganês, além de estimular a secreção de enzimas, importantes na promoção de crescimento (Altomare et al., 1999). A presença de altos níveis de carbono no solo correlacionou com os incrementos de até 60% no crescimento de plantas, quando submetidas a inoculação por *Trichoderma* (Kavoo-Mwangi et al., 2013).

Além de promover o crescimento, *Trichoderma* também favorece um melhor desenvolvimento das plantas, em condições de estresses abióticos (hídrico, salino ou térmico). As plantas, nestas condições quando inoculadas com *Trichoderma*, conseguem tolerar o estresse sem perda de produtividade (Harman et al., 2004; Lucon, 2014). Estudos em desenvolvimento na Embrapa Agroindústria Tropical tem como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma*, oriundos da rizosfera de bananeiras, para a promoção de crescimento de bananeiras (figura 2).

Fotos: Christiana de Fátima Bruce da Silva.



Figura 2. Mudanças de bananeira, com 1 mês de aclimatização em substrato estéril, sob condições de telado na Embrapa Agroindústria Tropical. (A) Mudanças suplementadas com isolado de *Trichoderma* sp. (9,2 g/4,5 kg de substrato estéril); (B) Mudanças suplementadas com adubo de liberação lenta (22g/4,5kg de substrato estéril).

Manejo das doenças na cultura da bananeira com *Trichoderma*

A bananeira é afetada por um grande número de doenças resultando na redução da sua produtividade. As enfermidades de ocorrência marcante nos bananais são as manchas-foliáreas, murchas-vasculares, galhas e lesões nas raízes. Outras enfermidades de grande importância para a cultura são aquelas que se expressam na pós-colheita, como as antracoses e podridão-de-coroa (Cordeiro et al., 2016). A dificuldade de manejo das doenças, principalmente as ocasionadas por patógenos do solo tem estimulado a adoção de táticas de controle alternativo. Uma das alternativas seria a utilização de fungos biocontroladores, presentes na rizosfera das plantas, para contribuir num programa de manejo integrado das doenças (Papavizas, 1985; Nel et al., 2006). Estudos recentes indicam a importância dos microrganismos biocontroladores na agricultura, dado o potencial que possuem para minimizar o uso de fertilizantes e defensivos, diminuição dos custos de produção, além da sustentabilidade ambiental (Fernandes, 2009).

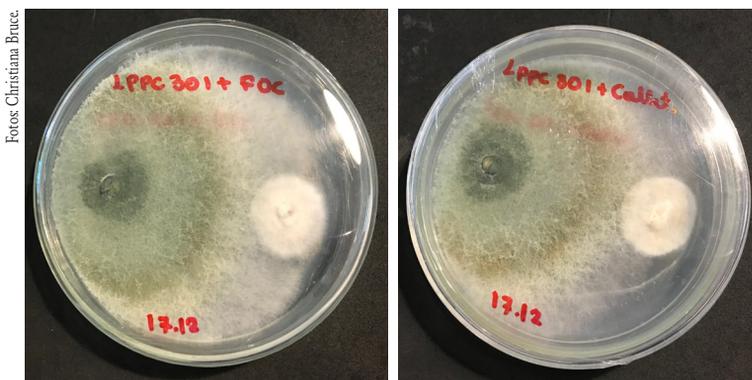
Na utilização dos antagonistas é imprescindível o seu estabelecimento no sistema solo-planta, mais precisamente na rizosfera. A grande atividade dos microrganismos nos solos que apresentam altos níveis de matéria orgânica tem proporcionado a seleção de isolados mais eficientes em colonizar a rizosfera (Vinale et al., 2008). Além disso, os antagonistas contribuem também para aumentar a supressividade dos solos, reduzindo a intensidade das doenças nas culturas (Halfeld-Vieira et al., 2016). Dentre os antagonistas utilizados para o controle de doenças destaca-se *Trichoderma*. Este fungo é utilizado principalmente no manejo de enfermi-

dades ocasionadas por patógenos de solo, na cultura da bananeira (Halfeld-Vieira et al., 2016). Os principais mecanismos de *Trichoderma* para o controle dos patógenos são a antibiose, produção de enzimas e competição, por nutrientes e espaço (Milanesi et al., 2013). Na rizosfera, quando estão estabelecidos, com alta competitividade rizosférica, ocorre o fenômeno da supressividade nos solos. Muitas enfermidades, como as nematoses podem ser suprimidas na presença desta microbiota (Zum-Felde et al., 2002).

Vários relatos na literatura destacam a importância do uso de *Trichoderma*, para o manejo das doenças na cultura da bananeira (Waele et al., 2006; Cavero et al., 2015; Taribuka et al., 2017). Para patógenos do sistema radicular os estudos têm avançado consideravelmente (Waele et al., 2006; Taribuka et al., 2017). Por exemplo, bananeiras tratadas preventivamente com isolados de *Trichoderma* apresentaram aos dois meses após inoculação, reduções na população do nematoide cavernícola nas raízes (Waele et al., 2006). Ainda para as nematoses, a inoculação de bananeiras com isolados de *T. atroviride* permitiu o controle de 80% da enfermidade (Stolf, 2006). Para o manejo do mal-do-panamá, a utilização de *Trichoderma* já é uma realidade crescente (Mendes et al., 2015; Taribuka et al., 2017). Espécies de *Trichoderma* obtidas das raízes de bananeira foram avaliadas quanto a capacidade de induzir resistência a enfermidade. A intensidade da doença em plantas inoculadas com as espécies *T. asperellum* e *T. harzianum* foi de 8,33%. Adicionalmente, um isolado de *T. harzianum* proporcionou também incrementos no desenvolvimento das bananeiras. O estado de indução foi constatado pela presença e/ou atividade de compostos como, os fenólicos, peroxidase e lignificação (Taribuka et al., 2017). Outros metabólitos importantes também podem ser ativados em resposta a colonização por *Trichoderma*, tais como fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (Vinale et al., 2008). Os resultados confirmam o potencial de uso de *Trichoderma*, na supressão do mal-do-panamá. A aplicação via fertirrigação de *T. longibrachiatum* em bananais, aliado a outras práticas culturais, como a manutenção dos brotos nas touceiras, controle de plantas daninhas e adubação adequada, proporcionou plantas sintomáticas em 9,8% da área cultivada (Mendes et al., 2015). Uma das estratégias que aumenta a eficiência no controle de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* em bananeiras é a aplicação dos antagonistas em adubos orgânicos, que atuam como substrato para a sua multiplicação (Saravanan et al., 2003). A utilização de adubos orgânicos inoculados com diferentes antagonistas, aplicados isoladamente ou associados, foi eficiente no controle do *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, possivelmente devido ao acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (quitinase e a β -1,3-glucanase), à supressão da população de patógenos, e regulação da comunidade microbiana para melhoria das condições fungísticas (Zhang et al., 2014).

Alguns trabalhos tem também destacado a importância de *Trichoderma*, para o manejo de doenças foliares (Acosta-Suárez et al., 2013; Cavero et al., 2015). *T. harzianum* inibiu o crescimento micelial de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da sigatoka-negra, através da

competição por espaço e nutrientes. A produção de enzimas com atividade lítica, atuando nas hifas do patógeno, são possibilidades que também não podem ser descartadas (Acosta-Suárez et al., 2013). Para o manejo da sigatoka-negra, o potencial de 29 isolados de *Trichoderma* foram investigados, em campo. Nos ensaios, *T. atroviride* foi responsável em reduzir a severidade da doença (66%), sendo tão efetivo quanto o fungicida azoxystrobina (Cavero et al., 2015). Para as antracoses e podridões de pós-colheita, o antagonista também vem sendo adotado com sucesso (Krauss, 1998; Mortuza; Ilag, 1999; Alvindia; Hirooka, 2011). Frutos de banana tratados com isolados de *T. viride* apresentaram reduções na severidade da podridão da coroa de 29 a 65%. Os frutos apresentaram menores incidência da doença, quando o antagonista era aplicado preventivamente. Nos ensaios, ainda houve inibições no crescimento micelial e na germinação dos conídios (77%), com destaque para *T. harzianum*. O antagonista atuou por micoparasitismo direto, pois por meio das análises de microscopia pode-se verificar o enrolamento das hifas, granulação no citoplasma e desintegração das paredes das hifas de *Lasiodiplodia theobromae* (Mortuza; Ilag, 1999). Para a antracnose (*Colletotrichum musae*) isolados de *Trichoderma* foram capazes de reduzir em até 84%, o crescimento micelial do patógeno. No desenvolvimento de lesões nos frutos observaram-se reduções acima de 50%, quando os mesmos foram tratados com *Trichoderma* (Oliveira et al., 2016). Estudos em desenvolvimento no laboratório de Patologia Pós-colheita da Embrapa Agroindústria Tropical tem como objetivo selecionar diferentes isolados de *Trichoderma*, oriundos da rizosfera e da carposfera de bananas, para o manejo de doenças da bananeira. A atividade antifúngica desses isolados está sendo testada in vitro (figura 3).



Fotos: Christiana Bruce

Figura 3. Inibição do crescimento micelial realizada por *Trichoderma* sp. contra patógenos da bananeira (*Musa* spp.). (A) Isolado de *Trichoderma* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal do mal-do-panamá (B) Isolado de *Trichoderma* contra *Colletotrichum musae*, agente causal da antracnose.

Portanto, para um manejo efetivo das doenças, o recomendado é que os isolados de *Trichoderma* sejam viáveis, com competência rizosférica e apresentem diferentes mecanismos de ação. As aplicações devem ser conduzidas preventivamente, antes do estabelecimento do patógeno. Esta ação promove uma vantagem competitiva ao antagonista, frente ao patógeno. No caso das mudas de banana, *Trichoderma* pode ser incorporado no substrato de plantio ou pulverizados, a depender do patógeno-alvo. Já no campo, *Trichoderma* pode ser aplicado via fertirrigação (Lucon, 2014).

Considerações finais

As espécies de *Trichoderma* são importantes bioestimuladores de crescimento de plantas e biocontroladores de doenças importantes na cultura da banana, nas suas diferentes fases de produção. As espécies que se destacam com os princípios ativos mais utilizados e eficientes para a bananeira são *T. harzianum* e *T. asperellum*. A adoção pelos produtores do controle biológico na cultura da bananeira será importante auxiliar no manejo integrado de doenças, além de propiciar frutos sem resíduo para o consumidor final.

Referências

- ACOSTA-SUÁREZ, M.; PICHARDO, T.; ROQUE, B.; CRUZ-MARTÍN, M.; MENA, E.; LEIVA-MORA, M.; CASTRO, R.; ALVARADO-CAPO, Y. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. **Biocología Vegetal**, v. 13, n. 4, p. 231-235, 2013.
- ALTMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphate and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- ALVINDIA, D. G.; HIROOKA, Y. Identification of *Clonostachys* and *Trichoderma* spp. from banana fruit surfaces by cultural, morphological and molecular methods. **Mycology**, v. 2, n. 2, p. 109-115, jun. 2011.
- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, n. 121, p. 1-15, 2013.
- BANANA. In: AGRIANUAL 2019. São Paulo: Informa Economics FNP, 2019. p.157.
- Banana. In: FAO. 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#search/banana>>. Acesso em: nov. 2018.
- BHALE, U. N.; RAJKONDA, J. N. Evaluation of distribution of *Trichoderma* species in soils of Marathwada region of Maharashtra during 2007-2011. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v. 42, n. 4, p. 505-508, 2012.
- BENITEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BULLUCK III, L. R.; BROSIUS, M.; EVANYLO, G. K.; RISTAINO, J. B. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical Properties on organic and conventional farms. **Applied Soil Ecology**, v. 19, n. 2, p. 147-160, 2002.
- CARVALHO, A. C. P. P.; ARAÚJO, J. D. M.; BERTINI, C. H. C. M.; BEZERRA, A. M. E.; PESSOA, P. F. A. P. **Redução de Custos na Produção de Mudas Micropropagadas de Bananeira cv. Williams**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2014. 7 p. (Circular Técnica, 45).

- CAVERO, P. A. S.; HANADA, R. E.; GASPAROTTO, L.; COELHO NETO, R. A.; SOUZA, J. T. Biological control of banana black Sigatoka disease with *Trichoderma*. *Ciência Rural*, v. 45, n. 6, p. 951-957, 2015.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; HADDAD, F. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (Eds.). **O agronegócio da banana**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 547-575.
- DUFFY, B. K.; OWNLEY, B. H.; WELLER, D. M. Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii*. *Phytopathology*, v. 87, n. 11, p. 1118-1124, 1997.
- FERNANDES, T. P. **Bactérias endofíticas no crescimento de mudas de bananeira cultivar Prata Anã**. 2009. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Universidade de Montes Claros - Unimontes, Janaúba.
- FRIEDL, M. A.; DRUZHININA, I. S. Taxon-specific metagenomics of *Trichoderma* reveals a narrow community of opportunistic species that regulate each other's development. *Microbiology*, v. 158, n. 1, p. 69-83, 2012.
- GARCÍA-NÚÑEZ, H. G.; ROMERO-GÓMEZ, S. J.; GONZÁLEZ-ESQUIVEL, C. E.; NAVA-BERNAL, E. G.; MARTÍNEZ-CAMPOS, A. R. Isolation of native strains of *Trichoderma* spp. from horticultural soils of the Valley of Toluca, for potential biocontrol of *Sclerotinia*. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 15, n. 2, p. 357-365, 2012.
- HALFELD-VIEIRA, B. A.; MARINHO-PRADO, J. S.; NECHET, K. L.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 853 p.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HARMAN, G. E.; OBREGÓN, M. A.; SAMUELS, G. J.; MATTEO, L. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed World. **Plant Disease**, v. 94, n. 8, p. 928- 939, 2010.
- HERNÁNDEZ, A.M. Utilización de hongos endofíticos provenientes de banano orgánico para el control biológico del nemátodo barrenador *Radopholus similis* Cobb, Thorne. 2003. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba.
- KAVOO-MWANGI, A. M.; KAHANGI, E. M.; ATEKA, E.; ONGUSO, J.; MUKHONGO, R. W.; MWANGI, E. K.; JEFWA, J. M. Growth effects of microorganisms based commercial products inoculated to tissue cultured banana cultivated in three different soils in Kenya. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 152-162, 2013.
- KRAUSS, U.; BIDWELL, R.; INCE, J. Isolation and preliminary evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of crown rot of banana. **Biological Control**, v. 13, n. 2, p. 111-119, 1998.
- LÓPEZ-BÚCIO, J.; RAMÓN, P. F.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 109-123, 2015.
- LEE, S.; YAP, M.; BEHRINGER, G.; HUNG, R.; BENNETT, J. W. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 7, p. 1-14, 2016.
- LI, R. X.; CAI, F.; PANG, G.; SHEN, Q. R.; LI, R.; CHEN, W. Solubilization of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. **Plos One**, v. 10, n. 6, p. 1-16, 2015.
- LUCON, C. M. M. ***Trichoderma*: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura**. São Paulo: Instituto Biológico, 2014. 35 p.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANYONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MARÍN-GUIRAO, J. I.; RODRIGUEZ-ROMERA, P.; LUPION-RODRIGUEZ, B.; CAMACHO-FERRE, F.; TELLO-MARQUINA, J. C. Effect of *Trichoderma* on horticultural seedlings' growth promotion depending on inoculum and substrate type. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 4, p. 1095-1102, 2016.
- MENDES, H. T. A.; ANJOS, D. N.; SÃO JOSÉ, A. R.; ARCIGA, G. V. Utilização de formas alternativas de desbaste químico no superbrotaamento de bananeira. **Revista Agrogeambiental**, v. 7, n. 3, p. 51-58, 2015.
- MIA, M. A. B.; SHAMSUDDIN, Z. H.; WAHAB, Z.; MARZIAH, M. High-yielding and quality banana production through plant growth-promoting rhizobacterial inoculation. **Fruits**, v. 60, n. 3, p. 179-185, 2005.

- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: UFRPE: Imprensa Universitária, 2005. 398 p.
- MILANESI, P. M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; REINIGER, L. R. S.; ANTONIOLLI, Z. I.; JUNGES, E.; LUPATINI, M. Detecção de *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. e antagonismo de *Trichoderma* sp. em soja sob plantio direto. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3219-3233, 2013.
- MORAES, W. S.; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J. D. Incidence of mushrooms in post harvest of banana (*Musa* spp.) 'Prata Anã' (AAB). **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 1, p. 67-70, 2006.
- MORTUZA, M. G.; ILAG, L. L. Potential for Biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in banana fruits by *Trichoderma* species. **Biological Control**, v. 15, n. 3, p. 235-240, 1999.
- NEL, B.; STEINBERG, C.; LABUSCHAGNE, N.; VIJJOEN, A. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and biological control organisms for suppressing fusarium wilt of banana. **Plant Pathology**, v. 55, n. 2, p. 217-223, 2006.
- OKOTH, S. A.; OKOTH, P.; MUYA, E. Influence of soil chemical and physical properties on occurrence of *Trichoderma* spp. in Embu, Kenya. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 11, n. 2, p. 303-312, 2009.
- OLIVEIRA, E. S.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 340-350, 2016.
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and potential and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, p. 23-54, 1985.
- POCASANGRE, L.; SIKORA, R. A.; VILICH, V.; SCHUSTER, R. P. Survey of banana endophytic fungi from Central America and screening for biological control of the burrowing nematode (*Radopholus similis*). **InfoMusa**, v. 9, n. 1, p. 3-5, 2000.
- SARANDÓN, S. J.; FLORES, C. C. **Agroecología**: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. Buenos Aires: UNLP, 2014. 467 p.
- SARAVANAN, T.; MUTHUSAMY, M.; MARIMUTHU, T. Development of integrated approach to manage the fusarial wilt of banana. **Crop Protection**, v. 22, n. 9, p. 1117-1123, 2003.
- SIKORA, R. A.; POCASANGRE, L.; FELDE, A. Z.; NIERE, B.; VU, T. T.; DABABAT, A. A. Mutualistic endophytic fungi and in-plant suppressiveness to plant parasitic nematodes. **Biological Control**, v. 46, n. 1, p. 15-23, 2008.
- SIMON, A.; SIVASITHAMPARAM, K. Pathogen suppression: a case study in biological suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 21, n. 3, p. 331-337, 1989.
- STOLF, E. C. Efeito de re-inoculações de fungos endofíticos sobre o controle do nematoide cavernícola da bananeira (*Radopholus similis*). 2006. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) - Centro Agrônomo Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba.
- TARIBUKA, J.; WIBOWO, A.; WIDYASTUTI, S. M.; SUMARDIYON, C. Potency of six isolates of biocontrol agents endophytic *Trichoderma* against fusarium wilt on banana. **Journal of Degraded of Mining Lands Management**, v. 4, n. 2, p. 723-731, 2017.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- XIA, X.; LIE, T. K.; QIAN, X.; ZHENG, Z.; HUANG, Y.; SHEN, Y. Species diversity, distribution, and genetic structure of endophytic and epiphytic *Trichoderma* associated with banana roots. **Microbial Ecology**, v. 61, n. 3, p. 619-625, 2011.
- WAELE, D. D.; STOFFELEN, R.; KESTEMONT, J. Effect of associated plant species on banana nematodes. **InfoMusa**, v. 15, n. 1-2, 2006.
- WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Bactérias diazotróficas em mudas de bananeira. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 2277-2285, 2000.
- ZHANG, N.; HE, X.; ZHANG, J.; RAZA, W.; YANG, X. M.; RUAN, Y. Z.; SHEN, Q. R.; HUANG, Q. W. Suppression of fusarium wilt of banana with application of bio-organic fertilizers. **Pedosphere**, v. 24, n. 5, p. 613-624, 2014.

ZUM-FELDE, A.; POCASANGRE, L.; SIKORA, R. A. The potential use of microbial communities inside suppressive banana plants for banana root protection. In: TURNER, D. W.; ROSALES, F. E. (Eds.). Proceedings of an International Symposium held in San José, 2005, San José. **Banana root system**: Towards a better understanding for its productive management. [Montpellier: INIBAP, Turrialba: MUSALAC; San José: Corbana, 2005]. p. 169-177.

Uso do *Trichoderma* na cultura do cacau

Jorge Teodoro de Souza

Edna Dora Martins Newman Luz

Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

Júlio Carlos Pereira da Silva

Introdução

O Brasil é o quinto maior produtor de cacau do mundo e os estados da Bahia e Pará lideram a produção nacional. O cultivo do cacau no Brasil ocorre sob a sombra de espécies arbóreas nativas em um sistema conhecido como “cabruca”. Este sistema ecológico ajuda a proteger o remanescentes da Mata Atlântica, um dos mais diversos e ameaçados biomas do mundo (Muller; Gama-Rodrigues, 2007).

As doenças do cacau são a causa mais importante das perdas de produtividade do cacau. Cerca de 40% da produção mundial de cacau é perdida anualmente para cinco doenças: monilíase causada por *Moniliophthora roreri*, vassoura-de-bruxa, causada por *Moniliophthora perniciosa*, podridão-parda, causada por *Phytophthora* spp.; morte-de-ponteiros causada por *Ceratobasidium theobromae*; e inchaço-do-fruto causada pelo vírus do broto de cacau inchado (CSSV) (Guyton et al., 2003; Ten Hoopen; Krauss, 2016). No Brasil, as principais doenças do cacau são a vassoura-de-bruxa, podridão parda e a murcha-de-ceratocystis ou mal-do-facão (*Ceratocystis cacaofunesta*) (Oliveira; Luz, 2005; Engelbrecht; Harrington, 2005).

No presente capítulo abordaremos o controle biológico de doenças do cacau por espécies de *Trichoderma*, com foco principal em vassoura de bruxa que é a doença mais importante no Brasil e para a qual há produto registrado e em uso no país.

Controle biológico da vassoura-de-bruxa

A vassoura de bruxa, causada pelo basidiomiceto *M. perniciosa*, é a principal doença no cultivo de cacau no Brasil (Pereira et al., 1990). Desde a sua introdução na Bahia em 1989, o fungo chegou a reduzir aproximadamente 75% da produção de cacau no Estado da Bahia (Anderbrhan et al., 1999; Oliveira; Luz, 2005). O patógeno infecta todos os tecidos meristemáticos da planta. Os tecidos meristemáticos infectados apresentam hiperplasia e hipertrofia, que são causadas pelo desequilíbrio hormonal induzido pelo patógeno. O sintoma típico nas brotações infectadas é a formação de ramos curtos e agrupados em forma de vassouras. Frutos infectados podem ter lesões necróticas em sua superfície e as sementes no interior serem destruídas e impróprias para a indústria de chocolate (Silva et al., 2002; Souza et al., 2018). Os únicos propágulos infecciosos do fungo são os basidiósporos, e estes são produzidos nos basidiocarpos formados na superfície dos tecidos infectados.

Várias publicações sobre o uso potencial de agentes de controle biológico contra a vassoura-de-bruxa na America Latina estão disponíveis, a maior parte delas se baseia em *Trichoderma* spp. (Ten Hoopen; Krauss, 2016; Souza et al., 2018).

As espécies de *Trichoderma* já citadas como potenciais agentes de controle biológico de doenças do cacau incluem *T. asperellum*, *T. martiale*, *T. ovalisporum*, *T. paucisporum*, *T. theobromicola* e *T. stromaticum* (Sanogo et al., 2002; Holmes et al., 2004; Samuels et al., 2006; Tondje et al., 2007; Hanada et al., 2008). Há uma grande diversidade de espécies de *Trichoderma* associadas ao cacau no Brasil. Almeida et al., (2018) encontraram 21 espécies, sendo 16 conhecidas e 5 espécies novas. No entanto, o potencial dessas espécies para o controle biológico de doenças do cacau ainda é pouco explorado.

Dentre todas as espécies identificadas em cacau, há espécies com potencial para controle da podridão-parda e mal-do-facão (descritas neste capítulo), mas para o controle da vassoura-de-bruxa, a mais eficiente tem sido *T. stromaticum* (Souza et al., 2006). Este fungo é um parasita de *M. perniciosa* e também pode colonizar plantas de cacau endofiticamente. Ramos e frutos afetados pelo patógeno são colonizados por *T. stromaticum*, que micoparasita *M. perniciosa*, provocando a redução da produção de basidiocarpos. A colonização dos tecidos infectados também provoca a decomposição acelerada dos tecidos infectados (Souza et al., 2008). No Brasil, o controle biológico da vassoura-de-bruxa baseia-se na aplicação do produto comercial Tricovab, que contém como ingrediente ativo conídios de *T. stromaticum*.

O controle destas doenças não é tarefa fácil, exigindo dos produtores a adoção conjunta de medidas de controle cultural, químico e biológico. Neste capítulo, vamos discutir tanto os aspectos práticos e teóricos do controle biológico das doenças do cacau. Maior atenção será dada ao controle da vassoura-de-bruxa por ser esta a doença de maior importância para o Brasil e também pelo maior número de estudos.

Origem e biologia de *Trichoderma stromaticum*

O fungo *T. stromaticum* foi isolado pela primeira vez de uma vassoura de bruxa em cacau na região amazônica do Brasil e identificado como *Trichoderma viride* (Bastos, 1986), mais tarde renomeado *T. polysporum* (Costa et al., 1996) e, finalmente, *T. stromaticum* (Samuels et al., 2000). O fungo parece ser o agente de biocontrole mais promissor contra *M. perniciosa* (Souza et al., 2018). Na natureza, o fungo é normalmente encontrado em associação com tecidos infectados comportando-se como um micoparasita do patógeno (Figuras 1B,C).

Um estudo sobre a diversidade genética de *T. stromaticum* mostrou que existem dois grupos relacionados entre todos os isolados encontrados em cacau. O Grupo I (GI) foi encontrado na Colômbia e no Estado da Bahia, enquanto o Grupo II (GII) ocorreu na Amazônia brasileira, incluindo o Estados do Pará e de Rondônia, no Equador e no Peru (Souza et al., 2006). Entretanto, um dos isolados de GII foi introduzido pela CEPLAC no Estado da Bahia para o controle da vassoura-de-bruxa (Costa et al., 1996). Portanto, o Estado da Bahia é o único local conhecido onde ambos os grupos genéticos ocorrem. Mais tarde estudos mostraram que os isolados GII são encontrados como endófitos no cacau e outras espécies relacionadas, como o cupuaçu e *Herrania* spp. Curiosamente, nenhum representante do GI foi encontrado como endófito, embora as buscas não tenham sido exaustivas.

Vassouras mortas e frutos doentes velhos podem ser colonizados por *T. stromaticum*, que parasita o micélio de *M. perniciosa*. Assim, o agente de biocontrole reduz a produção de basidiocarpos (Figura. 1B), diminui a fonte de inóculo e, conseqüentemente, ocorre a redução da doença (Hjorth et al., 2003). Apesar de saprofítico, aparentemente este fungo tem baixa capacidade competitiva no solo, mas é competitivo na colonização de ramos afetados por *M. perniciosa*, as denominadas vassouras secas, colonizando e produzindo conídios na superfície de tecidos (ramos, frutos e folhas) contendo micélio de *M. perniciosa* (Sanogo et al., 2002), e também pode, ser cultivado em meio de cultura (Figura. 1A). Estudos sobre o efeito das condições climáticas em *T. stromaticum* indicam que este fungo necessita de aproximadamente 23 °C e umidade relativa superior a 90% para efetivamente colonizar as vassouras no campo (Loguercio et al., 2009). Conídios são produzidos na superfície do estroma e este fungo tem a capacidade de se reproduzir sexuadamente, podendo ser observada a formação de peritécios de cor amarela na superfície do tecido colonizado (Figura 1D, E).

O micoparasitismo é o principal modo de ação de *T. stromaticum* (Bastos, 1986). Outros modos de ação, como a indução de resistência e produção de antibióticos, comum entre espécies de *Trichoderma* não parecem estar relacionados com a ação de biocontrole exercida por *T. stromaticum* (Souza et al., 2008), apesar de ter sido relatada a produção de peptabióticos por

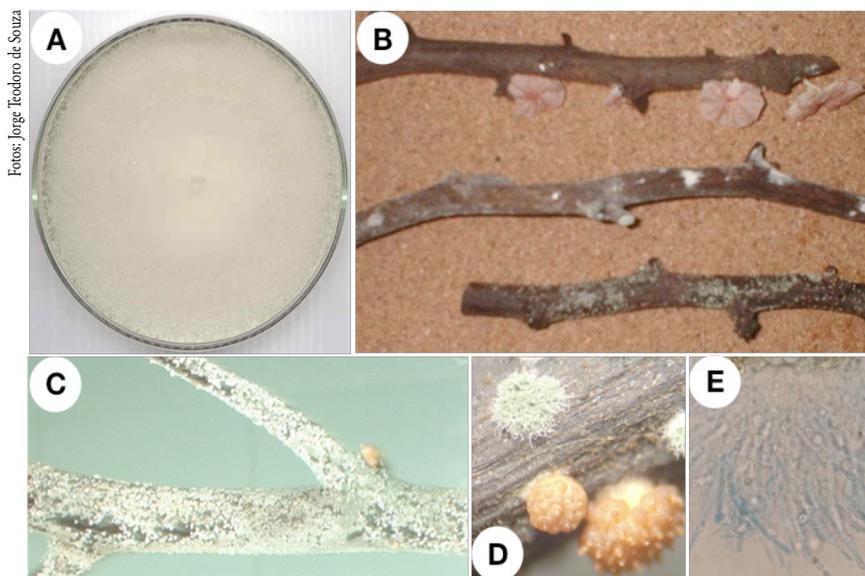


Figura 1. Aspectos morfológicos de *Trichoderma stromaticum*. (A) Crescimento de *T. stromaticum* em placa de Petri contendo meio batata-dextrose-agar; (B) Colonização de vassouras secas e a supressão da produção de basidiocarpos por *T. stromaticum*; (C) Detalhe da colonização de uma vassoura; (D) Reprodução assexuada (conídios esverdeados) e sexuada (peritécios amarelos) de *T. stromaticum* na superfície de uma vassoura colonizada; (E) Ascosporos e ascas de *T. stromaticum* produzidos no interior dos peritécios.

T. stromaticum (Krause et al., 2006).

O fungo só é encontrado na América Latina, e em associação com o cacau, sugerindo que o cacauzeiro co-evoluiu com o patógeno *M. perniciosa* e com o agente de bicontrolre *T. stromaticum*. Acredita-se que o *T. stromaticum* ocorra em cultivos de outros países da América Latina e, portanto, pode ser estudado para o controle da vassoura-de-bruxa nas diferentes localidades onde a doença ocorra.

Aplicação de *Trichoderma stromaticum* no campo

Aplicações de esporos de *T. stromaticum* sobre vassouras e frutos contendo *M. perniciosa* no solo de plantações já mostraram eficiência na redução da formação de basidiocarpos em até 99% quando as vassouras estão na superfície do solo e de 89% quando estão nas copas das árvores (Costa et al., 1996; Hjorth et al., 2003). Adicionalmente, os resultados de um ensaio de campo durante 2 anos mostraram que o Tricovab aumentou o rendimento de cacau em 30% com seu uso como única medida de controle da doença (Pomella et al., 2007).

Entretando, conforme mencionado, o mecanismo de controle exercido por *T. stromaticum* sobre *M. pernicioso* é o micoparasitismo e, portanto, as plantas tratadas não ficam protegidas contra novas infecções. Neste sentido, em um ensaio de campo conduzido por 3 anos, foi proposto um programa de aplicação em que os tratamentos alternados com cúpricos (para proteger os tecidos sadios) e *T. stromaticum* (para reduzir o inoculo inicial) reduziram a formação de ramos com sintomas e produziram um maior número de frutos por árvore (Medeiros et al., 2010). O tratamento com fungicida cúprico também reduziu a incidência da doença em frutos em relação a outros métodos em até 60%. O rendimento estimado de amêndoas também foi maior para o tratamento combinado, sendo esta a combinação de tratamentos que resultou em aumento na rentabilidade do produtor desde o primeiro ano de instalação do ensaio.

Em plantações de cacau abandonadas ou negligenciadas, a adoção de estratégias de manejo da doença juntamente com a aplicação adequada de fertilizantes parecem ser o caminho para assegurar um rendimento economicamente viável (Krauss; Soberanis, 2002; Medeiros et al., 2010).

No Peru, trabalhos demonstraram que *T. stromaticum* reduziu o número de frutos infectados com *M. pernicioso* em 48% (Krauss; Soberanis, 2002). No entanto, sua eficácia foi mais pronunciada em áreas com menor incidência da doença. Infelizmente, o fungo não afetou a podridão-negra e a monilíase-do-fruto causadas por *Phytophthora* spp. e *M. rozeri*, respectivamente. Isto confirma a especificidade do micoparasita para *M. pernicioso* no controle da vassoura-de-bruxa. No Equador, onde *T. stromaticum* é nativo, o fungo foi produzido em larga escala e está sendo avaliado em condições de campo para controlar a doença (C. Suarez, comunicação pessoal).

No Brasil, a CEPLAC recomenda aplicar o Tricovab quatro vezes, em intervalos mensais, de maio a agosto, para o manejo da doença causada por *M. pernicioso*. Isso corresponde à estação chuvosa das principais regiões produtoras. A concentração efetiva recomendada é de 1×10^{11} conídios/ha pulverizados em 300 L de água. A eficácia é melhorada quando são tomadas precauções para garantir que o fungo possa colonizar ativamente as vassouras mortas. Deve-se considerar que o agente biocontrolador é sensível à radiação UV e à seca. Para aplicações durante a seca, pode ser adicionado óleo vegetal emulsionável agrícola na calda de aplicação. O Tricovab pode ser pulverizado com um pulverizador costal, mas as vassouras no topo da copa das árvores podem ser alcançadas de forma mais eficiente por um pulverizador motorizado. O Tricovab deve ser pulverizado sobre as vassouras de ramos e frutos doentes das árvores para reduzir a formação de basidiocarpos e não há necessidade de fazer a poda a priori. Esta prática foi denominada de *biological pruning* ou poda biológica, tendo em vista que reduz os custos com mão de obra com a remoção das vassouras e queima como era realizada no passado. Além

do mais, a manutenção do tecido micoparasitado garante aumento da pressão de inóculo de *T. stromaticum* na área o que aumenta o residual de ação do produto (Pomella et al., 2007; Medeiros et al., 2010).

Controle biológico da podridão-parda

No Brasil, foram avaliados 103 fungos endofíticos oriundos de cacauzeiros e cupuaçuzeiros (*T. grandiflorum*) dos Estados do Amazonas e Bahia para o controle da podridão-parda causado por *Phytophthora* spp. Após diversos ensaios comprovou-se que o isolado mais eficiente pertencia a uma nova espécie descrita como *T. martiale* (Hanada et al., 2008). Essa espécie reduziu a severidade da podridão-parda e também foi capaz de colonizar o tronco de cacauzeiros por 80 dias (Hanada et al., 2008; 2009). Estudos posteriores demonstraram também que fungicidas a base de hidróxido de cobre ou fosetil-Al poderiam ser aplicados juntamente com o isolado de *T. martiale*, desde que o preparo da caldo fosse realizada no momento da aplicação (Hanada et al., 2009). Em Camarões, um isolado de solo de *T. asperellum* mostrou potencial para o controle da podridão-parda causada por *P. megakarya*, um patógeno mais virulento que as espécies de *Phytophthora* que ocorrem no Brasil (Tondje et al., 2007).

Controle biológico da monilíase-do-cacauzeiro

Outra doença importante é a monilíase-do-cacauzeiro. A doença é causada por *M. rozeri*, ainda não ocorre no Brasil, entretanto, representa uma das pragas com alto risco de ser introduzida nas áreas de produção na região Amazônica, tendo em vista que, a doença ocorre em diversos países limítrofes do Brasil. No Peru, as espécies *T. theobromicola* e *T. paucisporum* foram descritas como micoparasitas de *M. rozeri* e endofíticas em cacauzeiro (Samuels et al., 2006). No entanto, poucos estudos foram feitos para o desenvolvimento de produtos formulados a partir dessas espécies e o manejo da doença se baseia exclusivamente em práticas culturais e o uso de fungicidas.

Controle biológico do mal-do-facão

Doenças de menor importância econômica como o mal-do-facão, causado por *C. cacaofunesta* tem sido pouco estudadas quanto ao controle por espécies de *Trichoderma*. Em um estudo preliminar, diferentes isolados de *Trichoderma* foram capazes de inibir a germinação de esporos e o crescimento micelial de *C. cacaofunesta*, mas não se observou um controle significativo quando testados em mudas de cacauzeiro (Rodrigues et al., 2018).

Um dos desafios no controle do mal-do-facão é que o patógeno encontra-se colonizando o interior dos tecidos da planta (Santos et al., 2013), onde aparentemente *Trichoderma* não apresenta a mesma velocidade de colonização do tecido doente. Desta forma, a alternativa

seria o tratamento preventivo com isolados de *Trichoderma*, que possuem capacidade de indução de resistência de plantas, representando uma importante estratégia no controle da doença, devendo ser associada ao controle genético (Sanches et al., 2008), controle químico e outras práticas culturais (Ram et al., 2004).

Considerações finais

Os fungos do gênero *Trichoderma* são geralmente encontrados em madeira em decomposição e em solos. Este gênero dentre os agentes de controle biológico é o mais utilizado atualmente, controlando um amplo espectro de doenças de plantas, mas na cultura do cacau, a adoção se restringe apenas ao controle da vassoura-de-bruxa.

T. stromaticum é a espécie com maior potencial para o controle da vassoura-de-bruxa, tanto por sua especificidade ao patógeno, bem como, por sua capacidade de colonização endofítica. Adicionalmente, existe a disponibilidade do biofungicida Tricovab.

O Tricovab, biofungicida desenvolvido pela CEPLAC possui atualmente registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Devido a importância econômica da doença, a produção do biofungicida ainda não consegue atender à demanda pelo produtor rural. Desta forma, seria desejável que a iniciativa privada ou cooperativa de produtores despertassem interesse pelo setor. Além da necessidade de investimentos em pesquisa para o manejo das demais doenças que ocorrem na cultura do cacau, como por exemplo, as mencionadas anteriormente.

Referências

- ALMEIDA, K. A.; ARMESTO, C.; MONTEIRO, F. P.; DE SOUZA, J. T. Diversity of *Trichoderma* species isolated from dead branches and sapwood of *Theobroma cacao* trees. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, p. 90-94, 2018.
- ANDEBRHAN, T.; FIGUEIRA, A.; YAMADA, M. M.; CASCARDO, J.; FURTEK, D. B. Molecular fingerprinting suggests two primary outbreaks of witches' broom disease (*Crinipellis perniciosa*) of *Theobroma cacao* in Bahia, Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 105, p. 167-175, 1999.
- BASTOS, C. N. Mycoparasitic nature of the antagonism between *Trichoderma viride* and *Crinipellis perniciosa*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 50-54, 1986.
- COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L.; CAZORLA, I. M. Controle biológico da vassoura-de-bruxa do cacau na Bahia com *Trichoderma polysporum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 397, 1996.
- ENGELBRECHT, C. J. B.; HARRINGTON, T. C. Interesterility, morphology and taxonomy of *Ceratocystis fimbriata* on sweet potato, cacao and sycamore. **Mycologia**, v. 97, p. 57-69, 2005.

- GUYTON, B.; LUMSDEN R. D.; MATLICK, B. K. Strategic plan for sustainable cocoa production. **The Manufacturing Confectioner**, v. 83, p. 55-60, 2003.
- HANADA, R. E.; DE SOUZA, J. T.; POMELLA, A. W. V.; HEBBAR, P. K.; PEREIRA, J. O.; ISMAIEL, A.; SAMUELS, G. J. *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. **Mycological Research**, v. 112, p. 1335-1343, 2008.
- HANADA, R. E.; POMELLA, A. W. V.; SOBERANIS, W.; LOGUERCIO, L. L.; PEREIRA, J. O. Biocontrol potential of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao. **Biological Control**, v. 50, p. 143-149, 2009.
- HOLMES, K. A.; SCHROERS, H. J.; THOMAS, S. E.; EVANS, H. C.; SAMUELS, G. J. Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin of South America. **Mycological Progress**, v. 3, p. 199-210, 2004.
- HJORTH, S.; POMELLA, A. W. V.; HOCKENHULL, J. R.; HEBBAR, P. K. Biological control of witch's broom disease, (*Crinipellis perniciosa*), with the co-evolved fungus, *Trichoderma stromaticum*: testing different delivery regimes. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 14, 2003, [Lagos. **Proceedings...** Accra: COPAL, 2003. v. 2.] p. 691-697.
- KRAUSE, C.; KIRSCHBAUM, J.; BRÜCKNER, H. Peptaibiotics: an advanced, rapid and selective analysis of peptaibiotics-peptaibols by SPELC-ES-MS. **Amino Acids**, v. 30, p. 435, 2006.
- KRAUSS, U.; SOBERANIS, W. Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. **Biological Control**, v. 24, p. 82-89, 2002.
- LOGUERCIO, L. L.; SANTOS, L. S.; NIELLA, G. R.; MIRANDA, R. A. C.; SOUZA, J. T.; COLLINS, R. T.; POMELLA, A. W. V. Canopy-microclimate effects on the antagonism between *Trichoderma stromaticum* and *Monilophthora perniciosa* in shaded cacao. **Plant Pathology**, v. 58, p. 1104-1115, 2009.
- MEDIROS, F. H. V.; POMELLA, A. W. V.; DE SOUZA, J. T.; NIELLA, G. R.; VALLE, R.; BATEMAN, R. P.; FRAVEL, D.; VINYARD, B.; HEBBAR, P. K. A novel, integrated method for management of witches' broom disease in Cacao in Bahia, Brazil. **Crop Protection**, v. 29, p. 704-711, 2010.
- MULLER, M. W.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Sistemas agroflorestais com o cacauero. In: VALLE, R. R. (Ed.). **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. Itabuna: Vital, 2007. v. 1, p. 246-271.
- OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. **Identificação e manejo das principais doenças do cacauero no Brasil**. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC/SEFT, 2005. 132 p.
- PEREIRA, J. L.; RAM, A.; FIGUEIREDO, J. M.; ALMEIDA, L. C. C. The first occurrence of witches' broom disease in the principal cocoa growing region of Brazil. **Tropical Agriculture**, v. 67, p. 188-189, 1990.
- POMELLA, A. W.; SOUZA, J. T.; NIELLA, G. R.; BATEMAN, R. P.; HEBBAR, P. K.; LOGUERCIA, L. L.; LUMSDEN, R. D. *Trichoderma stromaticum* for management of witch's broom of cacao in Brazil. In: VINCENT, C.; GOETTEL, M. S.; LAZAROVITS, G. (Eds.). **Biological Control: A Global Perspective: Case Studies from Around the World**. [S. l.]: CABI, 2007. p. 210-217.
- RAM, A.; VALLE, R. R.; DE FREITAS, D. B. Controle de cancro ou murcha de Ceratocystis do cacauero na Bahia, Brasil. Centro de Pesquisas do Cacau, Ilhéus, BA (Brasil). **Agrotropica**, v. 16, p. 111-114, 2004.
- RODRIGUES, G. S.; MAGALHÃES, D. M. A.; COSTA, A. M.; LUZ, E. D. M. N. Antagonismo de *Trichoderma* spp. ao agente etiológico da Murcha de *Ceratocystis* em cacauero. **Summa Phytopathologica**, v. 44, p. 72-78, 2018.
- SAMUELS, G. J.; PARDO-SCHULTHEISS, R.; HEBBAR, K. P.; LUMSDEN, R. D.; BASTOS, C. N.; COSTA, J. C.; BEZERRA, J. L. *Trichoderma stromaticum* sp. nov. a parasite of the cacao witches' broom pathogen. **Mycological Research**, v. 104, p. 760-764, 2000.
- SAMUELS, G. J.; SUAREZ, C.; SOLIS, K.; HOLMES, K.; THOMAS, S. E.; ISMAIEL, A.; EVANS, H. *Trichoderma theobromicola* and *T. paucisporum*: two new species isolated from cacao in South America. **Mycological Research**, v. 110, p. 381-392, 2006.
- SANCHES, C. L. G.; PINTO, L. R. M.; POMELLA, A. W. V.; SILVA, S. D. V. M.; LOGUERCIO, L. L. Assessment of resistance to *Ceratocystis cacaofunesta* in cacao genotypes. **European Journal of Plant Pathology**, v. 122, p. 517-528, 2008.

- SANOGO, S.; POMELLA, A. W. V.; HEBBAR, P. K.; BAILEY, B.; COSTA, J. C. B.; SAMUELS, G. J.; LUMSDEN, R. D. Production and germination of conidia of *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of *Crinipellis pernicioso* on cacao. **Phytopathology**, v. 92, p. 1032-1037, 2002.
- SANTOS, R. M. F.; SILVA, S. D. V. M.; SENA, K.; MICHELI, F.; GRAMACHO, K. P. Kinetics and histopathology of the Cacao-Ceratomyces cacaofunesta interaction. **Tropical Plant Biology**, v. 6, p. 37-45, 2013.
- SILVA, S. D. V. M.; LUZ, E. D. M. N.; ALMEIDA, O. C.; GRAMACHO, K. P.; BEZERRA, J. L. Redescrção da sintomatologia causada por *Crinipellis pernicioso* em cacauero. **Agrotropica**, v. 14, p. 1-28, 2002.
- SOUZA, J. T.; POMELLA, A. W. V.; BOWERS, J. H.; PIROVANI, C. P.; LOGUERCIO, L. L.; HEBBAR, P. K. Genetic and biological diversity of *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the cacao witches' broom pathogen. **Phytopathology**, v. 96, p. 61-67, 2006.
- SOUZA, J. T.; BAILEY, B. A.; POMELLA, A. W. V.; ERBE, E. F.; MURPHY, C. A.; BAE, H.; HEBBAR, P. K. Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. **Biological Control**, v. 46, p. 36-45, 2008.
- SOUZA, J. T.; MONTEIRO, F. P.; FERREIRA, M. A.; GRAMACHO, K. P.; LUZ, E. D. M. N. Cocoa diseases: witches' broom. In: UMAHARAN, P. (Ed.). **Achieving sustainable cultivation of cocoa**. [Port of Spain]: Burleigh Dodds Publishing, 2018. p. 239-269.
- TONDJE, P. R.; ROBERTS, D. P.; BON, M. C.; WIDMER, T.; SAMUELS, G. J.; NYEMB-TSCHOMBE, E.; NDOUMBE-NKENG, M.; BATEMAN, R. P.; FONTEM, D.; HEBBAR, K. P. Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in Cameroon. **Biological Control**, v. 43, p. 202-212, 2007.
- TEN HOOPEN G. M.; KRAUSS U. Biological control of cacao diseases. In: BAILEY, B.; MEINHARDT, L. (Eds.). **Cacao Diseases**. Basel: Springer Nature, 2016. p. 511-566.

Uso do *Trichoderma* em hortaliças

Paula Steilmann

Suélen Mazon

Thiago de Oliveira Vargas

Introdução

A olericultura no Brasil hoje é uma atividade de grande importância social, econômica, industrial e alimentar. De maneira geral, a produção de hortaliças está concentrada na agricultura familiar, no entanto o setor vem crescendo e expandindo a produção por todos os estados do Brasil.

A produção de hortaliças enfrenta vários desafios, como a mão de obra intensiva, a alta demanda por hortaliças frescas, dependentes de condições controladas de armazenamento e a grande variedade de produtos que o setor varejista precisa oferecer todos os dias. Sendo que grande parte destes produtos são altamente perecíveis, onde a melhor qualidade pode estar relacionada ao momento da colheita e condições de cultivo. Dessa forma, o manejo empregado para o controle de pragas e doenças é fundamental para a obtenção de produtos de qualidade.

Além dos desafios já citados, inerentes a mão de obra e a comercialização, a produção de culturas hortícolas está sujeita a infecção por fungos, bactérias, vírus e nematoides, os quais, podem reduzir significativamente o rendimento e a qualidade destes produtos. Atualmente o controle destas doenças é realizado basicamente através da utilização de produtos químicos, no entanto, é crescente no cenário atual a procura por alimentos livres de agroquímicos, o que de certa forma é ainda mais acentuado para o setor de hortaliças, visto que são produtos consumidos *in natura*. Neste contexto a ascensão do mercado de produtos naturais e orgânicos segue uma tendência mundial de aumento da demanda por produtos livres de químicos persistentes no meio ambiente, que conseqüentemente podem causar graves conseqüências para a saúde humana e para os ecossistemas naturais (Dias et al., 2015).

Como consequência da alta demanda por produtos orgânicos, a utilização de produtos biológicos para o controle de patógenos é crescente no cenário atual, o que tem impulsionado a pesquisa por microrganismos agentes de controle biológico. As espécies de *Trichoderma* são as mais estudadas e utilizadas para o manejo de fitopatógenos, isso ocorre por muitos motivos, dentre eles é importante citar a facilidade com que estes fungos são encontrados e isolados do ambiente, e além disso, devido à facilidade de cultivo *in vitro*, pois apresentarem crescimento rápido em um grande número de substratos, o que facilita os estudos e a produção em grande escala (Papavizas et al., 1982). Vale ressaltar ainda a ampla variedade de mecanismos de ação, característica essa que o torna tão eficiente no controle de uma grande diversidade de microrganismos fitopatogênicos. Espécies de *Trichoderma* spp. são capazes de controlar fitopatógenos por meio de competição por espaço e nutrientes, micoparasitismo, antibiose, indução de resistência em plantas a patógenos, promoção de crescimento de plantas e micoparasitismo de estruturas de resistência, que em geral são difíceis de serem destruídos (Melo, 1998; Machado et al., 2012).

Vários produtos à base de *Trichoderma* spp. são comercializados no Brasil classificados como fungicidas microbiológicos, os quais, vem sendo muito utilizados no cultivo de hortaliças em sistema orgânico e convencional, principalmente para o manejo de patógenos habitantes de solo. Dessa forma esse capítulo irá abordar o uso de *Trichoderma* spp. no cultivo de hortaliças de frutos, folhosas e tuberosas no Brasil e no mundo.

Hortaliças de frutos

Trichoderma spp. já foram estudados como agentes de controle biológico empregados no manejo de doenças de inúmeras culturas. Os produtos comerciais desenvolvidos a partir de isolados de *Trichoderma* spp. são utilizados no cultivo convencional em conjunto com produtos químicos, ou ainda, como alternativa para o controle de doenças no sistema orgânico de produção (Figura 1).

Várias doenças são responsáveis por limitar a produção das hortaliças de frutos, sendo de origem bacteriana, fúngica, virótica ou ainda aquelas causadas por nematoides. No entanto, um importante grupo de patógenos para estas culturas são os patógenos habitantes de solo, como *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp. entre outros, os quais, causam graves perdas de produção em muitos cultivos. Apesar da grande diversidade, esses patógenos compartilham algumas características básicas, dentre elas a forma de infecção, que ocorre através de órgãos subterrâneos, mas também podem alcançar as partes superiores da planta (Katan, 2017).

Dentre as doenças causadas por patógenos habitantes de solo, o mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é uma das doenças de plantas mais importantes das



Figura 1. Cultivo de tomate comercial orgânico em sistema protegido, plantas com aplicação de produto formulado à base de *Trichoderma harzianum* no município de Verê - PR.

culturas olerícolas (Reis et al., 2018). Na cultura do tomateiro é uma das doenças de maior poder destrutivo quando cultivado sob pivô central (Lopes; Ávila, 2005). Em estudo realizado no estado de Goiás, testando a aplicação de três isolados de *Trichoderma* spp. (dois isolados de *T. harzianum* e um de *T. viride*) e fungicidas químicos (fluazinam 1,0 L ha⁻¹ e procimidona 1,5 kg ha⁻¹) aplicados através da irrigação por gotejamento em tomateiro para o manejo do mofo branco, os fungicidas não controlaram a doença, enquanto que os agentes de controle biológico reduziram a incidência em cerca de 80%, podendo ser uma ferramenta importante no manejo integrado da doença (De Aguiar et al., 2014).

Outra doença importante causada por patógeno habitante de solo é a murcha-de-fusário causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, a qual, consiste em um dos principais problemas fitossanitários da cultura do tomateiro (Lopes; Ávila, 2005). Este fungo infecta as plantas pelas raízes e coloniza o sistema vascular, estas características tornam essa doença uma enfermidade de difícil controle. Fungos do gênero *Trichoderma* spp. têm sido estudados como potenciais agentes para o biocontrole da murcha-de-fusário, com trabalhos em laboratório, casa de vegetação e a campo (Li et al. 2017; Ethur et al., 2008).

O tratamento de sementes pode ser uma opção para o controle de patógenos habitantes de solo. Ethur et al., (2008) realizou o tratamento de sementes de tomateiro para o controle da murcha-de-fusário com um isolado de *T. harzianum* e com o fungicida thiram, e observou que o tratamento com o agente de controle biológico de forma isolada proporcionou um controle de 56%, enquanto que o fungicida controlou apenas 15% da doença, além disso, o tratamento com *T. harzianum* apresentou menor porcentagem de plântulas anormais e maior desenvolvimento de radícula. No estudo realizado por Li et al., (2017) foram isoladas diferentes espécies de *Trichoderma* spp. e testadas quanto a sua capacidade antagonista a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se destacando o isolado *T. asperellum* como capaz de diminuir a severidade da

doença em 69,5%.

A fusariose ou murcha-do-pepineiro, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, é uma das principais doenças em pepineiro cultivado a campo e em ambiente protegido, onde é ainda mais comum e agressiva (Blancard et al., 1996; Zambolim et al., 2000). Ethur et al. (2012) testaram diferentes isolados de *T. asperellum* para o controle da fusariose através do tratamento de sementes, onde houve até 46% de controle da doença, enquanto que o tratamento com o fungicida thiram controlou a doença em apenas 28%. Outra doença em pepineiro causada por patógeno habitante de solo é o tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani* AG4-AH1, para o controle deste patógeno observou-se eficiência de produtos biológicos comerciais no controle do tombamento de plântulas em três cultivares na região sudoeste do Paraná, e constatou-se que para todas os tratamentos com *T. harzianum* as plântulas se igualaram a testemunha sem patógeno, tendo em vista que na testemunha com patógeno ocorreu tombamento pré-emergência e as plântulas que emergiram tombaram em até 12 dias, não restando plantas sobreviventes ao final do experimento (Figura 2).



Figura 2. A) Testemunha sem tratamento, com sintoma de tombamento de plântulas em pré e pós-emergência em solo infestado com *R. solani*. B) Solo infestado com *R. solani* e tratado com produto a base de *T. harzianum* formulação pó molhável. C) Solo infestado com *R. solani* e tratado com produto a base de *Trichoderma harzianum* formulação líquida.

Trichoderma spp. também podem ser empregados no controle de doenças de parte aérea. Em tomateiro, os fungos *T. harzianum* e *Gliocladium viride* foram testados para o controle do mofo-cinza causado por *Botrytis cinerea* e constatou-se que os isolados foram eficazes em cultivo protegido, por meio de aplicações foliares semanais (Lisboa et al., 2007). Ainda para a mesma doença Elad (2000), testou a eficiência de um isolado de *T. harzianum* e observou que a incidência alcançou altos índices nas plantas utilizadas como controle, no entanto, com a aplicação de *T. harzianum* a incidência foi reduzida em até 77%.

Para doenças em parte aérea, estudos estão avançando em resultados com a indução de

resistência. A atividade de peroxidase em plantas de melão foi aumentada em sete vezes oito horas após o tratamento com celulase obtido de *T. longibrachiatum*, e se estendeu até 120 horas após o tratamento, da mesma forma, a atividade da enzima quitinase foi ativada após seis horas do tratamento, tendo o pico máximo em 48 e 72 horas após o tratamento das plantas de melão (Martinez et al., 2001).

Resultados experimentais revelaram que o tratamento de sementes de tomateiro com esporos de *T. asperellum* aumentou a atividade enzimática de fenilalanina amônia-liase em 57,19%, peroxidase em 105,1% e polifenoloxidase em 21,75% em plantas tratadas em relação ao controle, além disso, cortes de hastes com coloração histoquímica mostraram aumento da deposição de lignina em plantas tratadas (Singh et al., 2016). Em estudo realizado por Chowdappa et al., (2013) observaram que *T. harzianum* inibiu o crescimento micelial de *Alternaria solani* e *Phytophthora infestans*, bem como promoveu o aumento significativo do crescimento de raízes e brotações, área foliar e índice de vigor de plântulas em tomateiro. Em relação a indução de resistência, os mesmos autores verificaram que houve incremento de ácido indolacético em 54,34% e de ácido giberélico em 67,59% em plantas inoculadas com *T. harzianum*, em comparação com controles não inoculados, além disso, as enzimas polifenol oxidase, peroxidase e superóxido dismutase aumentaram a atividade em 67,77%, 59,93% e 46,69%, respectivamente.

Em estudo realizado por You et al. (2016) 28 isolados de *Trichoderma* spp. foram testados quanto ao potencial de biocontrole sobre *B. cinerea* e promoção da germinação de sementes de tomateiro, os autores observaram que os isolados de *T. harzianum* e *T. koningiopsis* promoveram o crescimento de plantas de tomate, através da produção de giberelinas e ácido indol-3-acético, e induziram resistência sistêmica contra *B. cinerea*. Além disso, os mesmos autores verificaram que os isolados de *T. harzianum* suprimiram a esporulação de *B. cinerea* em média em 63%.

O aumento nos níveis de ácido indolacético e de ácido giberélico são alguns dos principais mecanismos com os quais os agentes de biocontrole promovem crescimento de brotos, raízes e área foliar em plantas de tomateiro (Chowdappa et al., 2013). Acredita-se que esses hormônios estimulem a captação de mais nutrientes no solo traduzem os sinais entre os órgãos vegetais e os integram para produzir respostas de defesa adequadas, a estresses bióticos ou abióticos (Ghanashyam; Jain, 2009).

A espécie *T. asperellum* já foi identificada como capaz de promover o crescimento de plântulas aumentando significativamente a massa seca em 28,6%, de solubilizar $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e produzir sideróforos (Li et al., 2017). Em outro estudo, foi observado aumento nos parâmetros vegetativos em plantas tratadas com *T. asperellum* em relação à planta não tratada após 60 dias, houve aumento de 50 e 83,7% do comprimento da parte aérea e comprimento da raiz ob-

servados nas plantas tratadas em comparação com as plantas controle, assim como, o aumento do teor total de clorofila (Patel; Saraf, 2017). Em estudo realizado por Fontenelle et al. (2011) avaliando a capacidade de 28 isolados de *Trichoderma* spp. em promover o crescimento de plantas de tomate, observou-se que doze isolados promoveram o aumento da massa de matéria seca da planta acima de 100%.

O agente de biocontrole *T. harzianum* foi testado quanto a capacidade de promoção de crescimento em plantas de pepino no solo e sob condições de crescimento hidropônico, constatando aumento de 30% na emergência de plântulas após 8 dias da semeadura. Ainda no mesmo estudo, constatou-se que após 28 dias, as plantas exibiram um aumento de 95 e 75% na área e comprimento da raiz, respectivamente, e um aumento de 80% na massa seca, o incremento de 45% no comprimento da parte aérea (Yedidia et al., 2001). Sementes de diferentes culturas de hortaliças de frutos foram tratadas com diferentes concentrações de esporos de *T. asperellum* e resultou em aumento da massa fresca foi de 29,69% em tomate, 67,06% em berinjela, 88,18% em pimenta e 67,83% em quiabo (Singh et al., 2016).

Alguns isolados de *Trichoderma* spp. podem penetrar as raízes das plantas e viver como microrganismos endofíticos (Kleifeld; Chet, 1992). Além disso, isolados de *Trichoderma* spp. foram relatados como capazes de produzir compostos bioestimulantes, semelhantes a hormônios, que podem aumentar a absorção de nutrientes pelas plantas (Harman, 2006; Lopez-Mondejar et al., 2011). Dessa forma, a aplicação de microrganismos benéficos em sementes para a produção de mudas pode promover o estabelecimento rápido após o transplântio para alcançar melhores rendimentos (Colla et al., 2015). Avaliando o efeito bioestimulante de *T. atroviride* em hortaliças, constatou que o isolado foi capaz de produzir sideróforos e compostos do tipo auxina sob uma ampla gama de condições de pH do substrato (5,5-8,0), além disso observou-se que houve um aumento de massa seca de raiz, índice de clorofila e fluorescência de clorofila em alface, tomate e abobrinha (Colla et al., 2015). Em condições de casa de vegetação, a massa seca da parte aérea foi significativamente aumentada em 167%, 56%, 115%, 68% e 58% em alface, melão, pimentão, tomate e abobrinha, respectivamente, o que foi associado ao aumento no nível de absorção dos nutrientes P, Mg, Fe, Zn e B (Colla et al., 2015).

Da mesma forma, os agentes de biocontrole podem auxiliar na adaptação de plantas em condições de estresse, alterando alguns processos metabólicos, como na tolerância ao estresse causado pelo frio (Chepsergon et al., 2016) ou pela salinidade (Gal-Hemed et al., 2011). Algumas linhagens de *Trichoderma* spp. colonizam as raízes das plantas e são capazes de induzir mudanças significativas na expressão gênica, o que pode levar a um aumento no crescimento vegetativo, também em condições de estresses bióticos e abióticos (Ghorbanpour et al., 2018).

A maioria das cultivares de tomate são consideradas plantas sensíveis ao frio, o que torna o cultivo restrito a regiões de clima ameno. Em estudo realizado no Irã o fungo *T. harzianum*

foi aplicado em plantas, as quais, foram testadas quanto à tolerância ao frio, os resultados obtidos indicam que os tratamentos reduziram os efeitos adversos causados pelo estresse, onde plantas colonizadas por *T. harzianum* exibiram níveis menores de extravasamento de eletrólitos, o que sugere que o fungo protege as membranas através da indução da produção de prolina que teve maior produção em plantas tratadas com *T. harzianum* (Ghorbanpour et al., 2018). Este fato é confirmado por estudos proteômicos e transcriptômicos que revelam que ocorrem alterações moleculares em decorrência da interação de plantas com metabólitos de *Trichoderma* (Marra et al., 2006) e / ou colonização de raízes (Shoresh; Harman 2008).

Estudos realizados na região do Mediterrâneo buscando agentes de controle biológico halotolerantes, identificou isolados de *Trichoderma* spp. com grande potencial de indução de resistência a *Pseudomonas syringae* pv. *Iachrimans* em plântulas de pepino (Gal-Hemed et al., 2011). Além disso, os autores selecionaram 29 cepas de isolados de *Trichoderma* pertencentes às espécies *T. atroviride*, *T. harzianum* e *T. asperelloides* com potencial para utilização como agentes de controle biológico em regiões áridas irrigadas (Gal-Hemed et al., 2011).

Hortaliças folhosas

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa de maior consumo no país (Resende et al., 2018). Essa cultura, assim como as demais é alvo de uma grande variedade de fitopatógenos, dentre eles os patógenos habitantes de solo são responsáveis por grandes reduções na produtividade. Dessa forma, a introdução de produtos à base de *Trichoderma* spp. no manejo dessa cultura, tem grande potencial no controle dessas doenças, tendo em vista, a sua habilidade de desenvolvimento no solo e fácil estabilização no ambiente. Dias et al., (2013) testaram em condições de casa de vegetação a capacidade de 10 isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *R. solani* em alface, onde o isolado T-03 (10^9 conídios.mL⁻¹) se equiparou à testemunha não inoculada com o patógeno e em comparação com a testemunha inoculada observou-se redução da incidência do tombamento de plântulas de 86,3%.

O fungo *Sclerotinea sclerotiorum* também é um patógeno habitante de solo importante para esta cultura. Foi constatado que a presença de *S. sclerotiorum* no substrato utilizado para a produção de mudas diminui significativamente a porcentagem de germinação de sementes de alface, porém a aplicação de *T. asperillum* e *T. harzianum* no solo reduz esse efeito, além disso, é capaz de promover ganhos de comprimento da parte aérea nas plântulas de alface de até 1,16 cm ou 34% (Silva et al., 2015).

Isolados fúngicos de *T. hamatum*, *T. virens* e *T. rossicum* foram avaliados quanto a capacidade de suprimir o mofo-branco causado por *S. sclerotiorum*, através da incorporação de suspensões de esporos em substrato de plantio, os isolados *T. hamatum* e *T. virens* reduziram a doença em 30 e 50% sob alta pressão de doença (Rabeendran et al., 2006). Ainda no mesmo

estudo, em experimentos a campo, o mofo-branco nas parcelas não tratadas chegou a 77% de plantas infectadas na colheita, e nas parcelas tratadas com *T. hamatum* houve uma redução na incidência da doença de 92% (Rabeendran et al., 2006).

Além de fungos habitantes de solo, a cultura da alface é muito sensível aos nematoides, que podem causar grandes prejuízos a cultura. Entretanto, a aplicação de produtos biológicos via solo, como por exemplo produtos com formulação a base de *Trichoderma* spp. vêm apresentando excelentes resultados (Figura 3).

Fotos: Jaime Maia dos Santos.



Figura 3. Raízes de alface infectadas com o nematoide de galha (*Meloidogyne* spp.). As duas plantas à esquerda foram tratadas com *Trichoderma* spp. e a direita não possuem tratamento.

Os efeitos benéficos exercidos por estes microrganismos dependem dentre outros aspectos, do seu estabelecimento no ambiente e capacidade de se adaptar as novas condições e também da densidade de inoculo sobrevivente após a aplicação. Após a adição de isolados de *T. atroviride* e *T. harzianum* ao solo, no manejo da cultura da alface, constatou-se através de multiplex-PCR e testes convencionais de plaqueamento de amostras de solo e posterior contagem de colônias que estes isolados persistem no solo por até dois anos, com quantidade estimada de 10^3 UFC g de solo⁻¹ a 10^5 UFC g de solo⁻¹ (Oskiera et al., 2017). No estudo realizado por Smolinska et al. (2014), testando resíduos e subprodutos agroindustriais orgânicos a base de bagaço de maçã e morango, cebola seca e farinha de canola como substrato para *T. harzianum*, constataram que a mistura de resíduos orgânicos facilitou o armazenamento e as aplicações do antagonista, promoveram o crescimento de plântulas de salsinha em 378%, além de aumentar a população microbiana do solo e facilitar a adaptação de *T. harzianum* no solo.

Também é importante mencionar o cultivo de hortaliças em sistema hidropônico, o qual tem-se difundido em todo o Brasil, principalmente para a cultura de alface. No entanto, muitos patógenos podem ser disseminados facilmente através da solução nutritiva, dentre eles os fungos do gênero *Pythium* spp. Pringsheim, tem merecido atenção por grandes perdas na produtividade (Owen-Going et al., 2003; Sutton et al., 2006). A eficiência de um produto comercial a base de *Trichoderma* sp. no controle de *P. aphanidermatum* em cultivo hidropônico de alface foi comprovada, observou-se que nos tratamentos com o produto as plantas apresentaram aumento de mais de 400% no comprimento das radículas e de 61% no número de plântulas sobreviventes, indicando redução da doença.

As crucíferas também representam um grupo importante dentro das hortaliças folhosas. A hérnia das crucíferas causada pelo patógeno *Plasmodiophora brassicae* é uma das principais limitações para a produção de repolho. Por este motivo, um estudo realizado na Colômbia objetivou explorar o efeito de *T. koningiopsis* (como o produto formulado em pó) sobre a doença e o crescimento de plantas de repolho cultivadas em campo com histórico da doença. Observou-se que as parcelas tratadas com *T. koningiopsis* apresentaram menor incidência e severidade da doença e a maior matéria seca de plantas (Botero et al., 2015). Bactérias também são responsáveis pela redução na produtividade de brassicas, como é o caso da bactéria gram negativa *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* que causa a doença conhecida como podridão-mole. Os fungos do gênero *Trichoderma* spp. também já foram estudados para o controle dessa doença, no entanto, a ação antibacteriana não está totalmente elucidada. Sabe-se que tais fungos são capazes de produzir substâncias antimicrobianas, as quais podem atuar diretamente sobre os microrganismos e também sobre as plantas, induzindo respostas de defesa.

Trichokonins são substâncias produzidas por *Trichoderma* spp., as quais, desempenham um papel fundamental no controle de doenças de plantas (Li et al., 2014). Estas substâncias foram testadas quanto a capacidade de controlar a podridão-mole do repolho chinês, onde constatou-se que o composto Trichokonins aumentou a resistência das plantas contra a infecção por *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, no entanto, este composto não inibiu o crescimento do patógeno *in vitro*, mesmo em altas concentrações. Entretanto, por meio de análises bioquímicas constatou-se que este composto aumentou a produção de espécies reativas de oxigênio e das atividades das enzimas catalase, polifenoloxidase e peroxidase, indicando que tais compostos induzem a resistência no repolho chinês contra a infecção por *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Li et al., 2014).

Hortaliças tuberosas

Da mesma forma como para as culturas citadas anteriormente, para as hortaliças tuberosas a maior parte dos estudos utilizando *Trichoderma* spp. para o controle de doenças está dire-

cionada ao manejo de patógenos habitantes de solo. Dentre os patógenos mais importantes para estas culturas, destacam-se *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii*, *F. oxysporum* f. sp. *cepae* e *Pythium* spp.

A podridão-branca causada pelo fungo *S. cepivorum* é uma das doenças mais importantes e destrutivas das aliáceas, em todas as regiões de cultivo. Com o cultivo intensivo em áreas contaminadas, as perdas devido à doença podem chegar a 100%, tornando o local impróprio para o cultivo (Nunes; Kimati, 2004). O fungo *Trichoderma* spp. vem sendo utilizado no controle de várias doenças de plantas de importância agrícola e apresenta-se como uma das melhores alternativas para o controle da podridão-branca, em cultivos de alho e cebola. Dilbo et al., 2015 verificaram que a utilização *Trichoderma* spp. no manejo de *S. cepivorum* também tem sido associada a fungicidas químicos, onde os resultados revelam que a eficácia de fungicidas Apron Star 42 WS e tebuconazole, quando testados isoladamente foi menor do que aqueles tratados com *Trichoderma* spp. (*T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. oblongisporum* e *T. viride*) de forma isolada, ou com os tratamentos combinados (Figura 4).



Figura 4. A) Efeito dos tratamentos com *T. viride* e o patógeno *S. cepivorum* (a), o fungicida Apron Star 42 WS e o patógeno *S. cepivorum* (b) em comparação com o controle absoluto (c) na gravidade da doença causada por *Sclerotium cepivorum*. B) Efeito do tratamento combinando o fungicida Apron Star 42 WS, o patógeno e os agentes de controle biológico *T. hamatum* e *T. viride* na severidade da doença causada por *Sclerotium cepivorum*.

Ainda em relação ao mesmo patógeno, Clarkson et al. (2004) mostraram que os isolados *T. viride* e *T. pseudokoningii* degradaram 80% dos esclerócios presentes em solo argiloso, sendo uma importante característica deste antagonista, tendo em vista, que as estruturas de resistência são importantes fontes de inóculo para a ocorrência da doença.

Outro patógeno do mesmo gênero é o *S. rolfsii*, o qual é bastante agressivo, causa a podridão-de-esclerócio em várias culturas de hortaliças, entre elas o alho (*Allium sativum*). Em estudo realizado por Souza (2012), constatou-se que o tratamento com *T. harzianum* diminuiu o número de plantas infectadas, aumentou a matéria seca de parte aérea e raiz em comparação com a testemunha, e também diminuiu o número de esclerócios produzidos por *S. rolfsii*.

O fungo habitante de solo *F. oxysporum* f. sp. *cepae* causa a podridão-basal, também conhecida como bico-branco ou fusariose. A podridão-basal ocorre em todo o mundo, sendo um dos principais problemas da cultura da cebola durante a cura no campo e armazenamento (Pereira et al., 2014; Galeano et al., 2014). Para o controle desta doença sementes de cebola foram tratadas com pó seco de *T. harzianum* e com o fungicida prochloraz (1,35 ml.kg⁻¹ semente), descrito como o mais eficaz para o controle da doença, e constatou-se que o tratamento com o agente de controle biológico reduziu a incidência em nível comparável ao fungicida, em casa de vegetação e a campo, e além disso, o tratamento com *T. harzianum* também aumentou o diâmetro dos bulbos de cebola (Coskuntuna; Özer, 2008). Para a cultura da cenoura a eficiência da aplicação de *Trichoderma* sp. já foi comprovada também contra o patógeno *Pythium* spp. Em experimentos a campo que testaram um tratamento químico mefenoxam na dosagem de 0,5 L ha⁻¹ em duas aplicações, em comparação com tratamento à base de *T. atroviride* na dosagem de 5 kg ha⁻¹ aplicado na data da semeadura, o agente biológico foi eficaz impedindo novas infecções por *Pythium* sp. na cultura da cenoura.

S. sclerotiorum é patogênica a inúmeras culturas, dentre elas a cultura da cenoura, onde a doença geralmente não tem sintoma no campo sendo que os danos maiores ocorrem durante o período de armazenamento (Kora et al., 2005). A aplicação de fungicidas químicos e biológicos no campo pode diminuir a gravidade da doença durante o armazenamento, no entanto, pesquisadores têm sido motivados a buscar alternativas de controle que diminuam o número de aplicações e consequentemente os custos de produção. Ojaghian et al., (2018) introduziram o gene Chit42 de *T. harzianum* em plantas de cenoura, este gene é responsável pela produção da enzima quitinase que degrada a quitina presente na parede celular dos fungos. Através da inserção deste gene, a severidade da doença foi diminuída em 78% após três e seis dias e em 81% após 12 dias (Ojaghian et al., 2018). Este estudo demonstra que além dos métodos tradicionais de controle biológico já citados com a utilização de *Trichoderma* spp., este fungo apresenta grande potencial para ser utilizado no melhoramento genético de plantas, onde o uso de plantas resistentes ou moderadamente resistentes é uma ferramenta importante para o manejo integrado de doenças em hortaliças.

É importante citar ainda, que resultados promissores têm sido alcançados com a associação entre espécies de *Trichoderma* spp. e substratos orgânicos, que podem facilitar o estabelecimento do fungo no ambiente e além disso, pode servir como fonte de nutriente para as plantas. Os fungos *T. harzianum*, *T. flavus* e *T. asperellum* foram testados em associação a turfa e farelo de arroz para avaliar o seu efeito sobre o tombamento de plântulas de beterraba causado por *R. solani*, promovendo o aumento de até 204% no número de plântulas sem sintoma (Kakvan et al., 2013). Ainda neste sentido, para o controle do tombamento de plântulas de beterraba causado por *R. solani*, um produto comercial a base do fungo *T. harzianum* foi testado em associação a biofumigação com pó e extrato de canola, sendo constatado que a associação aumenta o controle da doença, reduz a concentração de inóculo do patógeno no solo e aumenta a atividade microbiana do solo, em casa de vegetação e a campo (Figura 5).



Figura 5. Plântulas de beterraba de um experimento com solo biofumigado com extrato de canola a 12% sem (A) e com (B) *Trichoderma harzianum*.

Considerações finais

A constante evolução na preocupação com as formas de cultivo, as consequências com o meio ambiente, com a saúde humana e a ineficiência dos produtos químicos tradicionais são as principais motivações para o uso de produtos biológicos e para pesquisas por novos agentes de controle biológico. Em relação a utilização prática destes produtos, cabe aos extensionistas e profissionais da área técnica entenderem a importância e a eficiência destes produtos e levar esse conhecimento até os produtores de hortaliças. No entanto, apesar de termos no mercado vários produtos registrados a base de *Trichoderma* spp. ainda existe uma grande lista de patógenos que pode ser estudada. Adicionalmente, para as principais culturas hortícolas é necessário que novas pesquisas sejam realizadas em condições de campo.

Referências

- BLANCARD, D.; LECOQ, H.; PITRAT, M. **Enfermedades de las cucurbitáceas**: Observar, identificar, luchar. Madrid: Mundi-prensa, 1996. 301 p.
- BOTERO, A.; GÓMEZ, I.; BENÍTEZ, E.; GARCÍA, C. Liming with dolomite reduces the efficacy of the biocontrol fungus *Trichoderma koningii* against cabbage clubroot. **Agron. Colomb.**, v. 33, n. 1, p. 49-57, 2015.
- CHEPSEKON, J.; MWAMBURI, L. A.; KIPROP, K. E. Ability of *Trichoderma harzianum* from Semi Arid Soils to Enhance Antioxidant Defense of Maize Seedlings under Water Stress. **British Microbiology Research Journal**, v. 17, n. 3, p. 1-9, 2016.
- CHOWDAPPA, P.; KUMAR, S. P. M.; LAKSHMI, M. J.; UPRETI, K. K. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, v. 65, p. 109-117, 2013.
- CLARKSON, J. P.; MEAD, A.; PAYNE, T.; WHIPPS, J. M. Effect of environmental factors and *Sclerotium cepivorum* isolate on sclerotial degradation and biological control of white rot by *Trichoderma*. **Plant Pathology**, v. 53, p. 353-362, 2004.
- COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; DI MATTIA, E.; EL-NAKHEL, C.; CARDARELLI, M. Co inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 3, p. 1706-1715, 2015.
- COSKUNTUNA, A.; ÖZNER, N. Biological control of onion basal rot disease using *Trichoderma harzianum* and induction of antifungal compounds in onion set following seed treatment. **Crop Protection**, v. 27, p. 330-336, 2008.
- DE AGUIAR, R. A.; CUNHA, M. G.; JUNIOR, M. L. Management of white mold in processing tomatoes by *Trichoderma* spp. and chemical fungicides applied by drip irrigation. **Biological Control**, v. 74, n. 2, p. 1-5, 2014.
- DIAS, P. P.; BERBARA, R. L. L.; FERNANDES, M. C. A. Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* por biopreparados de isolados de *Trichoderma* spp. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 4, p. 258-262, 2013.
- DILBO, C.; ALEMU, M.; LENCHO, A.; HUNDUMA, T. Integrated Management of Garlic White Rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) Using Some Fungicides and Antifungal *Trichoderma* Species. **Journal of Plant Pathol and Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 2-9, 2015.
- ELAD, Y. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. **Crop Protection**, v. 19, n. 8, p. 709-714, 2000.
- ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; CAMARGO, R. F.; FLORES, M. G. V.; CRUZ, J. L. G.; MENEZES, J. P. *Trichoderma harzianum* no desenvolvimento e na proteção de mudas contra a fusariose do tomateiro. **Ciência e Natura**, v. 30, p. 57-69, 2008.
- ETHUR, L. Z.; LUPATINI, M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; LORENTZ, L. H. *Trichoderma asperellum* na produção de mudas contra a fusariose do pepineiro. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 4, p. 73-84, 2012.
- FONTENELLE, A. D. B.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HAKAWA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v. 30, n. 11, p. 1492-1500, 2011.
- GALEANO, P.; GONZÁLEZ, P. H.; FRAGUAS, L. F.; GALVÁN, G. A. Age-related resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and associated enzymatic changes in seedlings of *Allium cepa* and *A. fistulosum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 5, p. 374-383, 2014.
- GAI-HEMED, I.; ATANASOVA, L.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S.; VITERBO, A.; YARDEN, O. Marine Isolates of *Trichoderma* spp. as Potential Halotolerant Agents of Biological Control for Arid-Zone Agriculture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 15, p. 5100-5109, 2011.
- GHANASHYAM, C.; JAIN, M. Role of auxin-responsive genes in biotic stress responses. **Plant Signaling and Behavior**, v. 4, p. 846-848, 2009.
- GHORBANPOUR, A.; SALIMI, A.; GHANBARY, M.; PIRDASHTI, H.; DEHESTANI, A. The effect of *Trichoderma harzianum* in mitigating low temperature stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. **Scientia Horticulturae**, v. 230, n. 2, p. 134-141, 2018.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.

- KAKVAN, N.; HEYDARI, A.; ZAMANIZADEH, H. R.; REZAEI, S.; NARAGHI, L. Development of new bioformulations using *Trichoderma* and *Talaromyces* fungal antagonists for biological control of sugar beet damping-off disease. **Crop Protection**, v. 53, p. 80-84, 2013.
- KAIAN, J. Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. **Journal of Plant Pathology**, v. 99, p. 305-315, 2017.
- KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma harzianum* - interaction with plants and effect on growth response. **Plant and Soil**, v. 144, n. 2, p. 267-272, 1992.
- KORA, C.; MCDONALD, M. R.; BOLAND, G. J. Epidemiology of sclerotinia rot of carrot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 27, n. 2, p. 245-258, 2005.
- LI, H.; LUO, Y.; ZHANG, X.; SHI, W.; GONG, Z.; SHI, M.; CHEN, L.; CHEN, X.; ZHANG, Y.; XIAO-YAN, C. Trichokonins de *Trichoderma pseudokoningii* SMF2 induzem resistência contra Gram-negativo *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* em repolho chinês, **FEMS Microbiology Letters**, v. 354, n. 1, p. 75-82, 2014.
- LI, Y.; HWANG, S.; HUANG, Y.; HUANG, C. Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and *Fusarium* wilt of tomato. **Crop Protection**, v. 110, p. 275-282, 2017.
- LISBOA, B. B.; BOCHESI, C. C.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, J. R. K.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A. M. R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.
- LOPES, A. C.; ÁVILA, C. A. **Doenças do Tomateiro**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2005. 151 p.
- LÓPEZ-MONDÉJAR, R.; ROS, M.; PASCUAL, J. A. Mycoparasitism-related genes expression of *Trichoderma harzianum* isolates to evaluate their efficacy as biological control agent. **Biological Control**, v. 56, n. 1 p. 59-66, 2011.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MARRA, R.; AMBOSINO, P.; CARBONE, V.; VINALE, F.; WOO, S. L. Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens using a proteome approach. **Current Genetics**, v. 50, n. 4, p. 307-321, 2006.
- MARTINEZ, C.; BLANC, F.; LE CLAIRE, E.; BESNARD, O.; NICOLE, M.; BACCOU, J. Salicylic Acid and Ethylene Pathways Are Differentially Activated in Melon Cotyledons by Active or Heat-Denatured Cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*. **Plant Physiology**, v. 127, n. 1, p. 334-344, 2001.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. de (Eds.). **Controle Biológico**. Jaguaruina: Embrapa Meio Ambiente, 1998. p. 17-60.
- NUNES, M. E. T.; KIMATI, H. **Doenças do alho e cebola**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. Piracicaba: Ceres, 2004. p. 49-64.
- OJAGHIAN, S.; WANG, L.; XIE, G. L.; ZHANG, J. Z. Increased resistance against storage rot in transgenic carrots expressing chitinase chit42 from *Trichoderma harzianum*. **Scientia Horticulturae**, v. 234, p. 81-86, 2018.
- OSKIERA, M.; SZCZECZAK, M.; ST POWSKA, A.; SMOLI SKA, U.; BARTOSZEWSKI, G. Monitoring of *Trichoderma* species in agricultural soil in response to application of biopreparations. **Biological Control**, v. 113, p. 65-72, 2017.
- OWEN-GOING, N.; SUTTON, J. C.; GRODZINSKI, B. Relationships of *Pythium* isolates and sweet pepper plants in single-plant hydroponic units. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 25, n. 3, p. 155-167, 2003.
- PAPAVIZAS, G. C.; LEWIS, J. A.; ABD EL MOITY, T. H. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 126-132, 1982.
- PATEL, S.; SARAF, M. Biocontrol efficacy of *Trichoderma asperellum* MSST against tomato wilting by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 50, n. 5, p. 228-238, 2017.
- PEREIRA, R. B.; OLIVEIRA, V. R.; PINHEIRO, J. B. **Diagnose e manejo de doenças fúngicas na cultura da cebola**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2014. 16 (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 133). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007653/1/CT133.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2019.

- RABEENDRAN, N.; JONES, E. E.; MOOT, D. J.; STEWART, A. Biocontrol of *Sclerotinia* lettuce drop by *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma hamatum*. **Biological Control**, v. 39, n. 3, p. 352-362, 2006.
- REIS, A.; LOURENÇO JUNIOR, V.; LOPES, C. A. Mofo branco em hortaliças no Brasil. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. **Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. Recife: EDUFPE, 2018. 219 p.
- RESENDE, G. M.; YURI, J. E.; COSTA, N. D. **Instruções Técnicas da Embrapa Semiárido: cultivo de alface-crespa no Submédio do Vale do São Francisco**. Petrolina, PE: Embrapa, 2018. 2 f.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. **Plant Physiol.**, v. 147, p. 2147-2163, 2008.
- SILVA, G. B. P.; HECKLER, L. I.; SANTOS, R. F.; DURIGON, M. R.; BLUME, E. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 4, p. 33-42, 2015.
- SINGH, V.; UPADHYAY, R. S.; SARMA, B. K.; SINGH, H. B. *Trichoderma asperellum* spore dose depended modulation of plant growth in vegetable crops. **Microbiological Research**, v. 193, p. 74-86, 2016.
- SMOLINSKA, U.; KOWALSKA, B.; KOWALCZYK, W.; SZCZECZ, M. The use of agro-industrial wastes as carriers of *Trichoderma* fungi in the parsley cultivation. **Scientia Horticulturae**, v. 179, n. 2, p. 1-8, 2014.
- SOUZA, G. T. **Controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho (*Allium sativum*) e cebola (*Allium cepa* L.) por *Trichoderma***. 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - Programa de Pós Graduação em Agronomia, Brasília.
- SUTTON, J. C.; SOPHER, C. R.; OWEN-GOIN, T. N.; LIU, W.; GRODZINSKI, B.; HALL, J. C.; BENCHIMOL, R. L. Etiology and epidemiology of *Pythium* root rot in hydroponic crops: current knowledge and perspectives. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 307-321, 2006.
- YEDIDIA, I.; SRIVASTVA, A. K.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil**, v. 235, n. 2, p. 235-242, 2001.
- YOU, J.; ZHANG, J.; WU, M.; YANG, L.; CHEN, W.; LI, G. Multiple Criteria-based Screening of *Trichoderma* isolates for Biological Control of *Botrytis cinerea* on Tomato. **Biological Control**, v. 101, p. 31-38, 2016.
- ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; LOPES, C. A.; VALE, F. X. R. Doenças de hortaliças em cultivo protegido. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. (Eds.) **Controle de doenças de plantas: hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. p. 373-407.

Uso do *Trichoderma* na cultura da maçã

Rosa Maria Valdebenito Sanhueza

Vinicius Adão Bartnicki

A cultura da macieira (*Malus domestica* Bork) é suscetível ao ataque de muitos patógenos nas diversas fases da sua produção, tanto na parte aérea, no sistema radicular e nos frutos. Nos frutos a suscetibilidade pode ocorrer antes da colheita, durante o processo de formação dos frutos, e no pós colheita, durante o beneficiamento, armazenamento, transporte e comercialização.

As doenças podem ser causadas por uma variedade de patógenos que podem ser beneficiados ou dependerem da presença de ferimentos naturais, ou de ferimentos produzidos durante o manejo dos pomares, ou ainda por organismos que têm infecção direta na planta. Alguns desses patógenos infectam as plantas, podendo os sintomas ser evidenciadas ainda no campo, e em outras situações, onde causam infecções que permanecem quiescentes e os sintomas se manifestam nos órgãos afetados após um longo período.

Nas abordagens e táticas de controle se incluem práticas culturais e de controle químico, no entanto, na última década, vêm aumentando a incorporação de insumos alternativos ao manejo das doenças nas áreas de produção de maçãs.

O controle biológico de fitopatógenos associados às doenças da macieira, com uso de estirpes de *Trichoderma*, tem sido relatado com o objetivo de privilegiar as características deste grupo de fungo de possuírem crescimento rápido e esporulação abundante, fatores importantes para ocupação previa dos sítios de infecção e colonização dos patógenos. Esta forma de utilização das estirpes de *Trichoderma* se complementa com a produção de metabólitos, e o micoparasitismo o que contribuirão para a redução do inóculo inicial dos patógenos.

Os primeiros trabalhos de controle biológico de fitopatógenos na cultura da macieira foram desenvolvidos na década de 70, sendo estudado a colonização por estirpes de *Trichoderma* para o controle preventivo de fitopatógenos que colonizavam as flores, e que penetravam por ferimentos nos frutos. Posteriormente, nos anos 80, houve grande aumento de trabalhos de pesquisa de controle de fungos de solo que causavam danos no sistema radicular e no tronco de macieira, e de uso das estirpes antagonônicas em associação à outros métodos de controle, principalmente, métodos físicos e químicos.

Nos últimos anos, ocorreu uma evolução considerando o uso de *Trichoderma* como agente de biocontrole em diversas patologias na cultura da macieira (Batta, 2004; Bordbar et al., 2010, Quaglia et al., 2011, González-Estrada et al, 2018).

***Trichoderma* para controle de patógenos de maçãs em pós-colheita**

Diversas espécies de *Trichoderma* são citadas pela sua eficiência no controle de patógenos em várias frutas. Dentre elas são citadas os patossistemas morango versus *Botrytis cinerea*, citros versus *Penicillium italicum*, quivi versus *B. cinerea*, banana versus *Colletotrichum musae*, goiaba versus *Rhizopus* spp. Os mecanismos de ação associados ao controle desses fungos incluem competição, antibiose, micoparasitismo, ação de enzimas líticas e a indução dos mecanismos de defesa do hospedeiro (González-Estrada et al., 2018).

A eficiência de *Trichoderma* no controle dos fungos que causam podridões de maçãs pode ser melhorado quando associado diferentes estirpes, e/ou quando se integra o agente biocontrole com outros métodos de controle, tais como com uso de produtos alternativos e o uso de técnicas de encapsulamento em biopolímeros como, por exemplo, o uso de quitosana juntamente com métodos físicos (Batta, 2004).

A podridão-calicular de maçãs é causada pela infecção *B. cinerea*, ocorre no início da primavera sob condições de baixa temperatura, nos primeiros estádios da formação dos frutos. Neste caso, Tronsmo; Raa (1977) demonstraram que a pulverizando flores de macieira com conídios de *T. pseudokoningii* previamente à inoculação artificial de *B. cinerea*, propiciaram a redução da podridão das maçãs. Estudos feitos com inoculação natural, porém, não confirmaram os resultados e os autores atribuíram o insucesso à pouca tolerância do antagonista à baixa temperatura, condição frequente durante a infecção no período da floração das macieiras. Segundo os autores, o baixo controle seria causado porque o isolado de *T. pseudokoningii* não desenvolve em temperatura abaixo de 9 °C e a temperatura mínima dos ciclo de avaliação foi de 7,7 °C, condição desfavorável para o agente de controle biológico e ainda favorável para a ocorrência da infecção causada por *B. cinerea*.

Outros resultados sobre o controle eficiente de *B. cinerea* em maçãs, tanto em campo como em câmara fria, foram obtidos por Tronsmo; Dennis (1977) por meio de pulverização

das macieiras na floração com isolados de *T. harzianum* e de *T. viride* e com inóculo natural. Neste caso, o controle biológico apresentou eficiência similar de controle que o obtido pelo fungicida diclofluanid, padrão em uso pelos produtores de maçãs. Contudo, em outras regiões produtoras este tipo de controle teve eficiência variável ou não houve controle.

Em relatos posteriores, Tronsmo; Ystaas (1980) visando o controle biológico de *B. cinerea* na macieira usaram um isolado de *Trichoderma harzianum* tolerante a baixa temperatura, viabilizando desta forma, a colonização das flores e dos frutos, favorecendo a competição com o patógeno.

Outra abordagem de controle foi a associação de um isolado de *T. harzianum* resistente a fungicida, juntamente com o fungicida. O fungicida vinclozolin em uma dose menor foi pulverizado em plantas de macieiras visando obter a redução significativa dos danos causados por esta doença. O mecanismo de ação do agente de biocontrole foi de competição por sítio de colonização (Tronsmo, 1991).

A utilização de diferentes isolados de *Trichoderma* no controle dos principais fitopatógenos associados as podridões de maçãs em pós-colheita foi avaliado e obteve-se resultados promissores. Durante o armazenamento das maçãs, no transporte e comercialização os patógenos que causam maiores danos são *Penicillium expansum* agente causal do mofo-azul; *Botrytis cinerea* agente causal do mofo-cinzento e *Neofabraea* sp. agente causal da podridão -olho-de-boi (Wilson; Ogawa, 1979). O fungo *P. expansum* pode crescer, esporular e infectar a fruta nas câmaras frias (0 °C) sem luz e, somente inicia a infecção por ferimentos ou tecidos danificados. Já os dois últimos patógenos podem infectar maçãs com ou sem ferimentos no campo, apresentar infecção latente e a podridão dos frutos ocorrer nas câmaras frias. Estes dois patógenos não esporulam nas condições de frigorificação das maçãs. Contudo, *B. cinerea* consegue também infectar outros frutos próximos ao inicialmente colonizado, formando as vezes 'ninhos' de maçãs com mofo-cinzento.

Trabalhos relativos ao controle das podridões de frutos de maçãs com tratamento com *Trichoderma*, após da colheita, foram relatados por Batta (2004). Os ensaios visaram o controle de *B. cinerea* em maçãs da cultivar Golden Delicious, e para isso desenvolveram e avaliaram uma formulação de emulsão oleosa (água/óleo) com conídios de *Trichoderma harzianum*, cepa Th2, tratando a fruta com ou sem ferimentos. Os resultados mostraram que, na avaliação conduzida na temperatura de 20 °C, o produto diminuiu preventivamente a severidade do mofo-cinzento e este efeito se manteve durante 16 dias. O antagonista não apresentou efeito curativo, mas exerceu efeito erradicante pela diminuição da produção de conídios dos patógenos nas lesões.

O controle preventivo de *Penicillium expansum* em maçãs foi avaliado por Quaglia et al. (2011), comparando isolados de diversas espécies de *Trichoderma*. Os resultados de controle do mofo-azulado foram de 70,6%, 70,6%, 71,8% e 59,3% para os isolados *T. atroviride* cepa

P1, *T. harzianum* cepa T22, *T. harzianum* cepa T67, *T. reesei* cepa T34, *Trichoderma* spp. cepa 8009, respectivamente. Demonstrando existir variação de eficácia de controle de *P. expansum* entre os isolados avaliados.

Na podridão-olho-de-boi o controle do patógeno em pós colheita mostrou ser eficaz somente quando foram utilizados isolados antagonistas de *T. harzianum* tolerantes ao frio e utilizados em pulverização das macieiras em pré-colheita das frutas. Verificou-se que a redução obtida com esse tratamento foi de 75% a 91% dessa podridão em uma cultivar de elevada suscetibilidade (Hjeljord; Tronsmo, 1998).

O antagonismo de *T. virens* ao *P. expansum* em maçãs foi efetivo e reduziu a severidade da podridão mofo-azulado em 58,4%. Neste caso foi demonstrado que os antagonistas aumentaram a atividade enzimática da peroxidase, da catalase e da β -1,3-glucanase além de aumentar a concentração de compostos fenólicos. Nesta situação o máximo deste efeito foi verificado após 4 a 6 dias. Estes resultados mostraram que um importante mecanismo de ação envolvido no controle de *P. expansum* pelos isolados de *T. virens* é a ativação dos mecanismos de defesa da fruta (Bordbar et al., 2010).

Desta forma, os trabalhos conduzidos para controle de patógenos de maçãs, demonstram que para se obter sucesso no controle, os antagonistas devem ser capazes de se estabelecer e agir nas mesmas condições que ocorre a infecção causada pelos patógenos, e que os mecanismos de ação associados ao controle dos patógenos na fruta podem ser por competição, antibiose e indução dos mecanismos de defesa.

Colonização de ferimentos nas plantas de macieira durante o procedimento de poda dos ramos ou do tronco

A possibilidade de isolados de *Trichoderma* de pré-colonizar os ferimentos provocados pela poda das plantas, visando evitar a colonização pelos patógenos, têm sido explorado em culturas perenes.

O maior objetivo dos estudos de controle de patógenos de ferimentos em fruteiras e outras plantas tem sido o basidiomiceto *Chondrostereum purpureum* associado ao prateado das fruteiras cujo principal sintoma é a colonização e a obstrução do sistema vascular das plantas.

Trichoderma viride formulado como uma pasta para proteção de ferimentos da poda, foi efetiva no controle de *C. purpureum* nas ameixeiras, no entanto, não apresentou eficiência no controle do prateado na macieira e no pessegueiro (Spiers; Brewster, 1997).

A avaliação da proteção de cortes de poda pela colonização com *Trichoderma* também foi avaliada na macieira para controle de *Neonectria ditissima*, patógeno responsável pelo cancro europeu das pomáceas. Nesta cultura Corke; Hunter (1979) obtiveram sucesso no controle do patógeno com isolados de *Trichoderma* e relataram que não houve coincidência na seleção de

isolados *in vitro* e nas plantas de macieiras.

Os resultados apresentados, sugerem que para que haja a proteção de ferimentos das plantas, deve haver uma adaptação de isolados antagonistas a cada espécie de hospedeiro, sendo nesse sentido, a seleção *in vivo* uma ferramenta necessária.

Podridões de raízes da macieira

As podridões de raízes da macieira são constatadas em todas as regiões produtoras de maçãs e, no Brasil, em levantamento feito no Rio Grande do Sul, demonstrou-se que a perda pode variar de 0,5 a 12% das plantas por ano (Valdebenito-Sanhueza et al., 1988). Nas principais podridões se incluem a podridão-do-colo causada, principalmente, por *Phytophthora cactorum* e a podridão-branca-das-raízes causada por *Rosellinia necatrix*. Os patógenos podem infectar as mudas nos viveiros ou nos pomares e o controle químico é difícil e de eficiência variável (Sharma et al., 2014). As áreas onde se retiraram plantas infectadas dificilmente são novamente ocupadas.

Podridão-branca-das-raízes

O patógeno pode infectar mais de 170 espécies de plantas e é amplamente distribuída no mundo. Regiões com solos ácidos e com alta percentagem de matéria orgânica favorecem o desenvolvimento da doença. (Agarwala; Sharma, 1971; Sousa et al., 1995). Para redução dos danos causados por esta doença se recomendava o uso de Brometo de metila para controle do patógeno no solo infectado para viabilizar o replantio e o uso de benzimidazóis para proteção das plantas. Devido os riscos que o uso deste produto tem para o homem e o ambiente, a utilização já foi proibida em diversos países.

Nas alternativas de controle do patógeno no solo foram realizados estudos com estirpes antagonicas de *T. harzianum*, associada à solarização do solo durante 3 meses em Israel (Sztejnberg et al., 1987) e de dois anos em Portugal (Sousa et al., 1993).

A obtenção no Brasil de mutantes de *T. viride*, resistentes ao benomil, bem como a associação de *T. viride* à bentonita sódica, em casa de vegetação, para uso no controle de *R. necatrix*, foram relatadas como alternativas promissoras ao brometo de metila para o controle desta doença (Valdebenito Sanhueza et al., 2002).

A dificuldade de controle do patógeno no solo, sugere a integração do controle químico e o biológico, bem como com outros métodos de controle.

Podridão-do-colo

Os sintomas podem estar localizadas na região do colo, na inserção das raízes principais, na raiz pivotante e, às vezes, no extremo distal das raízes. Nas podridões iniciais observam-se

tecidos amarelados a marrom-avermelhados, localizados no córtex das raízes. As lesões avançadas são marrom-escuras, avermelhadas e úmidas. Na região afetada os tecidos são facilmente destacáveis com a mão, desfiando-se e a epiderme apresenta-se separada dos tecidos internos. O lenho das raízes apodrecidas permanece duro e escurecido.

A doença é causada por espécies de *Phytophthora* e nas mais frequentes se encontra *P. cactorum*. O patógeno sobrevive na forma de oósporos ou micélio nos tecidos doentes, ou ainda como oósporos, no solo.

O controle é conseguido com desinfestação do solo após o arranquio das plantas doentes e colonização do solo com *Trichoderma*. Em áreas com alta incidência da doença deve-se promover o tratamento das plantas vizinhas às mortas, com fungicidas sistêmicos específicos, como fosetil Al e metalaxil. Esses fungicidas somente são efetivos quando utilizados no início dos sintomas. Existe a necessidade de uso do manejo integrado do controle biológico e outros métodos no manejo dessa doença, o que pode reduzir as perdas e obter eficiência parcial das práticas recomendadas. Bactérias e fungos foram avaliados quanto aos efeitos antagônicos a *P. cactorum*.

Os trabalhos de seleção de estirpes antagônicas a *P. cactorum* foram relatados na década de 80 e inicialmente associaram avaliações de estirpes de diferentes espécies de *Trichoderma* tanto *in vitro* como em casa de vegetação.

Assim, Orlikowski; Schmidle (1985) relataram o sucesso do biocontrole de *P. cactorum* com isolados de *Trichoderma*.

Smith et al., (1990) propuseram um método de seleção de antagonistas a *P. cactorum* em plântulas de macieira. As plântulas foram cultivadas em substrato infestado com o patógeno e tratado com cada candidato a antagonista. Os isolados selecionados para o trabalho foram aqueles que conseguiram crescer a 10 °C pelo menos 20% mais do que os outros e incluíram *T. virens* e *T. harzianum*, *T. koniingi*, *T. hamatum* e *T. viride*. O teste foi avaliado aos 14 dias com intervalos de 72h de irrigação. Após esse período foi avaliado o peso e as lesões presentes no hipocótilo e nas raízes. Se verificou aumento de peso em comparação com as plântulas inoculadas e controle do patógeno com onze isolados que incluíram *T. virens*.

Isolados de *Trichoderma* de várias regiões, foram obtidos por Roiger; Jeffers (1991), os quais fizeram a triagem de 223 isolados, para detecção de antagonistas em plântulas de macieira, incorporando os isolados na forma de suspensão de conídios ou desenvolvidos em substrato orgânico. Os resultados mostraram que seis isolados utilizados em fermentação semi-sólida e cinco isolados utilizados como suspensão de conídios aumentaram a sobrevivência das plântulas. Entre os isolados avaliados, sobressaíram os isolados TW.055 de *T. virens* com 30 dias de sobrevivência, os isolados TW.105 e TW.189 de *T. koniingi* com 24 dias e TW.138 de *T. harzianum* com 22 dias, enquanto a testemunha sobreviveu 19 dias.

No Brasil o objetivo do controle de *P. cactorum* com *Trichoderma* foi a seleção de antagonistas *in vitro* para caracterizar a taxa de crescimento, de esporulação e a detecção de micoparasitismo e antibiose. A seguir, foi realizada a triagem de isolados quanto ao antagonismo e controle de *P. cactorum* em vasos com solo inoculado com o patógeno e com cada antagonista candidato. Após a comparação de métodos para produção massal, se optou pelo uso de sementes de sorgo esterilizadas e colonizadas pelo antagonista *T. viride* para assegurar a colonização do solo nos dias após o plantio das mudas (Valdebenito-Sanhueza, 1986). A seguir os ensaios foram avaliados em solo com infestação natural e artificial. A avaliação da sobrevivência ou não do patógeno foi determinada utilizando plântulas de macieiras. Embalagens de polietileno contendo as sementes de sorgo inoculadas foram distribuídas aos produtores para os novos plantios. (Valdebenito-Sanhueza, 1987).

Considerações finais

Trichoderma possui muitas vantagens como agente de controle biológico por ter crescimento rápido, grande produção de conídios e uma grande quantidade de enzimas que são induzidas na presença de fitopatógenos, é micoparásita e ainda no solo, tem vantagens em relação aos patógenos, no processo de competição de nutrientes, interferindo desta forma negativamente no estabelecimento e multiplicação dos patógenos (González-Estrada et al., 2019).

Outra vantagem deste gênero, por ser simbiote de plantas possui a característica de bioestimulante, podendo promover o crescimento das plantas e estimular as defesas das mesmas através de regulação hormonal e a produção de muitos metabólitos secundários (Guzmán-Guzmán et al., 2019).

Trichoderma é um agente de biocontrole com vários benefícios técnicos e ecologicamente corretos para sua aplicação no manejo de doenças em diferentes culturas (González-Estrada et al., 2018). Nos últimos tempos o potencial da utilização de *Trichoderma* vem sendo demonstrado mais efetivamente, superando assim, os problemas de formulação ou pelo desconhecimento técnico do potencial pelos agricultores.

Referências

- AGARWALA, R. K.; SHARMA, V. C. Epidemiology and control of root rot disease of apple trees caused by *Dematophora necatrix*. *Indian National Science Academy Proceeding*, v. 37, p. 285-290, 1971.
- BATTA, Y. A. Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in invert emulsion on postharvest decay of apple blue mold. *International Journal of Food Microbiology*, n. 96, p. 281-288, 2004.
- BORDBAR, F. T.; ETEBARIAN, H. R.; SAHEBANI, N.; ROHANI, H. Control of postharvest decay of apple fruit with *Trichoderma virens* isolates and induction of defense responses. *Journal of Plant Protection Research*, v. 2, n. 50, p. 146-152, 2010.

- CORKE, A. T.; HUNTER, T. Biocontrol of *Nectria galligena* infection of pruning wounds on apple shoots. *J. Hort. Sci.*, n. 54, p. 47-55, 1979.
- GONZÁLEZ-ESTRADA, R.; BLANCAS-BENÍTEZ, F.; MONTAÑO-LEYVA, B.; MORENO-HERNÁNDEZ, C.; ROMERO-ISLAS, L. C.; ROMERO-ISLAS, J.; AVILA-PEÑA, R.; RAMOS-GUERRERO, A.; FONSECA-CANTABRANA, A.; GUTIERREZ-MARTINEZ, P. A. Review Study on the Postharvest Decay Control of Fruit by Trichoderma. In: SHAH, M. M. (Ed.). *Trichoderma: The Most Widely Used Fungicide*. [S. l.]: IntechOpen, e2019. DOI: 10.5772/intechopen.82784. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/online-first/a-review-study-on-the-postharvest-decay-control-of-fruit-by-trichoderma>>. Acesso em: 02 set. 2019.
- GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M. D.; OLMEDO-MONFIN, V.; HERRERA, E. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. *Phytopathology*, v. 109, p. 6-16, 2019.
- HJELJORD, L.; TRONSMO, A. Trichoderma and Gliocladium in biological control: An overview. In: HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma and Gliocladium*: volume 2: Enzymes, Biological Control and commercial applications. [S. l.]: CRC Press, 1998. p. 131-151.
- ORLIKOWSKI, L. B.; SCHMIDLE, A. On the biological control of *Phytophthora cactorum* with *Trichoderma viride*. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, v. 37, p. 78-79, 1985.
- QUAGLIA, M.; EDERLI, L.; PASQUALINI, S.; ZAZZERINI, A. Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum* Link. on apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, n. 59, p. 307-315, 2011.
- ROIGER, D. J.; JEFFERS, S. N. Evaluation of *Trichoderma* spp. for Biological Control of *Phytophthora* Crown and Root Rot of Apple Seedlings. *Phytopathology*, v. 81, p. 910-917, 1991.
- SHARMA, I. M.; NEGI, H. S.; SHARMA, S. Integrated Management of collar rot in apple caused by *Phytophthora cactorum*. *Indian Phytopathology*, v. 67, n. 2, p. 168-173, 2014.
- SOUZA, A. J. T.; MELO, E. M. P. F.; FERRAZ, J. F. P. Efeito da solarização na supressão de *Rosellinia necatrix* num solo naturalmente infestado. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 16, p. 262-265, 1993.
- SOUZA, A. J. T.; GUILLAUMIN, J. J.; SHARPLES, G. P.; WHALLEY, A. J. S. *Rosellinia necatrix* and white root rot of fruit trees and other plants in Portugal and nearby regions. *Mycologist*, v. 9, p. 31-33, 1995.
- SMITH, V. L.; WILCOX, W. F.; HARMAN, G. E. Potential for Biological Control of *Phytophthora* Root and Crown Rots of Apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. *Phytopathology*, v. 80, p. 880-885, 1990.
- SPIERS, A. G.; BREWSTER, D. T. Evaluation of chemical and biological treatments for control of *Chondrostereum purpureum* infection of pruning wounds in willows, apples, and peaches. *New Zealand of Crop and Horticultural Science*, v. 25, p. 19-31, 1997.
- SZTEJNBERG, A.; FREEMAN, S.; CHET, I.; KATAN, J. Control of *Rosellinia necatrix* in soil in apple orchard by solarization and *Trichoderma harzianum*. *Plant disease*, v. 71, p. 365-369, 1987.
- TRONSMO, A.; DENNIS, C. The use of *Trichoderma* species to control strawberry fruit rots. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, v. 83, p. 449-455, 1977.
- TRONSMO, A.; RAA, J. Antagonistic action of *Trichoderma pseudokoningii* against the apple pathogen *Botrytis cinerea*. *Journal of Phytopathology*, v. 89, p. 216-220, 1977.
- TRONSMO, A. Biological and integrated controls of *Botrytis cinerea* on apple with *Trichoderma harzianum*. *Biological Control*, v. 6, n. 1, p. 59-62, 1991.
- TRONSMO, A.; YSTAAS, J. Biological control of *Botrytis cinerea* on apple. *Plant Disease*, v. 64, p. 1009-1011, 1980.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Uso de *Trichoderma* no solo de replantio de macieiras afetadas por podridão de raízes. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 1., 1986, Piracicaba. *Anais...* Campinas: Fundação Cargill, 1986, p. 77.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Uso de formaldeído e *Trichoderma* para prevenir a recolonização do solo por *Phytophthora cactorum* em pomares de macieiras. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 2., 1987, Piracicaba. *Anais...* Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 55.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; PERAZZOLO, A.; ALIPRANDINI, H. Losses due to root rots in apple orchards in Rio Grande do Sul, Brazil. *Acta Horticulturae*, v. 232, p. 213-218, 1988.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; BERNARDI, J.; HOFFMANN, A.; NACHTIGALL, G. R.; GHINI, R. Manejo integrado de *Rosellinia necatrix* em macieiras. In: ENFRUTE-ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 5., 2002, Fraiburgo. *Anais...* [S. l.]: EPAGRI, 2002. p. 179-184.
- WILSON, E. E.; OGAWA, J. M. Fungal, bacterial and certain non parasitic diseases of fruit and nut in California. [S. l.]: UC, 1979. p. 18-19.

Uso do *Trichoderma* na cultura do melão

Christiana de Fátima Bruce da Silva

Laís Lacerda Brasil de Oliveira

Alan Bernard Oliveira de Sousa

Jonatas Rafael Lacerda Rebouças

Introdução

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma olerícola cultivada em vários estados do território brasileiro. Devido as condições climáticas favoráveis, a região Nordeste tem se destacado como a maior produtora dessa cucurbitácea no país, com 94% da produção nacional (Melão, 2018). Entretanto, a cultura tem sofrido com alguns problemas, como a utilização de grandes quantidades de adubos solúveis e, a restrição hídrica. Apesar de ser uma cultura irrigada, a escassez de chuvas nos últimos anos, nos Estados do Nordeste, tem propiciado o aparecimento de estresses abióticos, como a salinidade nos solos agricultáveis.

O cultivo intensivo e sucessivo do meloeiro também tem favorecido o surgimento de problemas fitossanitários, que acarretam danos e perdas econômicas consideráveis na cultura. Dentre os entraves, as enfermidades ocasionadas por patógenos radiculares tem sido um problema marcante e de difícil manejo, principalmente porque muitos patógenos produzem estruturas de resistência, como os clamidósporos e os escleródios que podem sobreviver nos solos por muitos anos. Aliado a isso, os plantios do meloeiro comumente ocorrem sem rotação de áreas, favorecendo a viabilidade e efetividade do inóculo dos patógenos, durante várias safras de cultivo. As doenças mais prevalentes nos cultivos de meloeiro são o cancro das hastes (*Didymella bryoniae*), a podridão-branca (*Macrophomina phaseolina*), a murcha de sclerotium (*Sclerotium rolfsii*), a murcha de fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*), o declínio do meloeiro (*Monosporascus cannonballus*) e a podridão radicular de fusarium (*Fusarium solani*). Além das nematoses, ocasionadas por espécies de *Meloidogyne* e *Pratylenchus*.

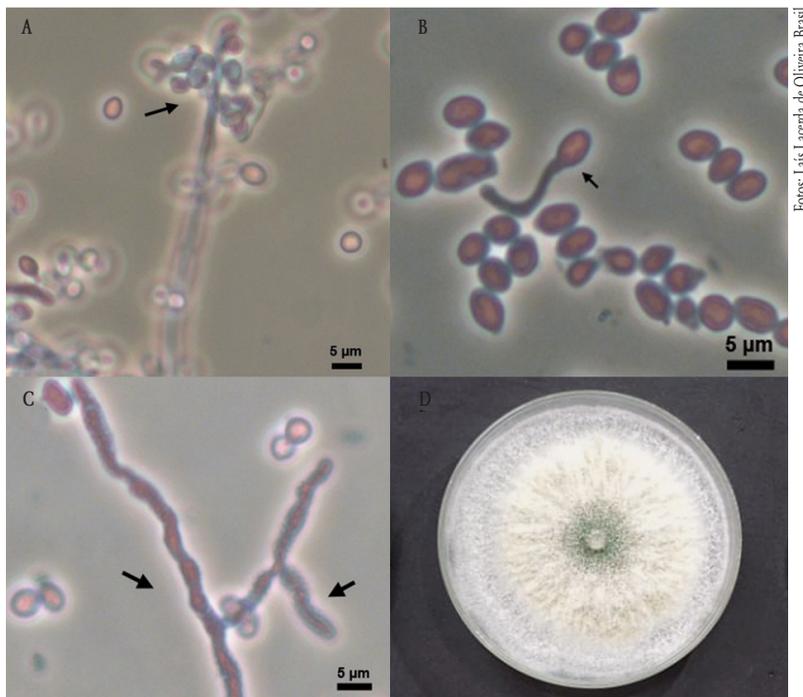
Atualmente, no controle das enfermidades radiculares do meloeiro são empregados alguns defensivos agrícolas altamente tóxicos ao meio ambiente (Agrofit, c2003) e, muitos dos quais não são registrados para a cultura. Além disso, a aplicação indiscriminada desses produtos podem ocasionar a seleção de “estirpes” resistentes dos patógenos bem como, a contaminação do solo, das águas e do homem. Portanto, para um manejo racional das enfermidades, o interessante é a utilização de táticas integradas e sustentáveis de controle, para reduzir a utilização de defensivos agrícolas. Uma das alternativas seria a adoção do controle biológico e dos fungos promotores de crescimento, como os do gênero *Trichoderma*.

Portanto, à seguir serão descritas as principais espécies de *Trichoderma* utilizadas para promoção de crescimento, tolerância a condições de estresses abióticos, bem como para o controle biológico das doenças incidentes no meloeiro. Adicionalmente, serão também discutidos os produtos à base de *Trichoderma* registrados para utilização na cultura do melão e, os impactos do uso desses microrganismos nos novos cenários da agricultura moderna.

Principais espécies, ocorrência e mecanismos de ação de *Trichoderma*

Na literatura, há relatos de mais de 200 espécies de *Trichoderma* envolvidas tanto na promoção de crescimento de plantas, como no controle biológico de patógenos, em diferentes culturas agrícolas (Atanasova et al., 2013). No caso do melão, algumas espécies merecem destaque por serem utilizadas como bioestimulantes e/ou biocontroladores, tais como: *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* e *T. viride* (Bettiol; Morandi, 2009; Gava; Menezes, 2012; Boughalleb-M'hamdi et al., 2018), *T. virens*, *T. pseudokoningii* e *T. hamatum* (Zhang et al., 1999; Martínez-Medina et al., 2014), *T. polysporum* (Gava; Pinto, 2016), *T. koningii* (Gava; Menezes, 2012), *T. erinaceum* (Boughalleb-M'hamdi et al., 2018) e *T. ganense* (Martínez-Medina et al., 2014). Dentre os isolados de *Trichoderma* é importante considerar também que existe variabilidade em relação à atividade de biocontrole, espectro de ação contra hospedeiros, propriedades fisiológicas e bioquímicas, como também a adaptação ecológica e ambiental (Silva; Mello, 2007).

O fungo *Trichoderma* é conhecido por ser um microrganismo saprófita amplamente distribuído em vários nichos ecológicos. Tem sido encontrado sobrevivendo e colonizando diferentes ecossistemas, como o solo, a matéria orgânica decomposta e a rizosfera das plantas (Papavizas, 1985; Baugh et al., 2007). Tem-se observado que *Trichoderma*, apresenta grande capacidade de competir na rizosfera, colonizando rapidamente os substratos, nos quais estão relacionados. É um fungo que apresenta rápido e profuso crescimento, produzindo estruturas assexuais: conídios, conidióforos em fíalides (Figura 1) e clamidósporos. Com os clamidósporos, o fungo pode sobreviver por longos períodos no solo. Já as estruturas sexuais são os ascósporos, que estão contidos em peritécios (Papavizas, 1985; Costa et al., 2009).



Fotos: Lais Lacerda de Oliveira Brasil

Figura 1. Ciclo assexual do fungo *Trichoderma*. Imagens obtidas com Microscópio de luz (40x). (A) Conidióforos com fiálide e conídios; (B) Conídio germinando; (C) Hifas. (D) Crescimento micelial de *Trichoderma* em placa de Petri, contendo meio batata dextrose ágar (BDA).

O seu desenvolvimento no sistema solo/planta pode sofrer interferência de vários fatores, dentre os quais destacam-se as características físico-químicas do solo, conteúdos de sais e matéria orgânica, bem como a presença de outros microrganismos. O fungo *Trichoderma* é também conhecido por solubilizar os minerais, disponibilizando-os para as plantas (Papavizas, 1985; Michereff et al., 2005; Kubicek et al., 2008; Bettioli; Morandi, 2009).

Para promover o crescimento das plantas e o controle biológico dos patógenos, *Trichoderma* tem apresentado vários mecanismos que são importantes para sua competitividade rizosférica, tais como: micoparasitismo (Papavizas, 1985; Atanasova et al., 2013), indução de resistência nas plantas (Harman et al., 2004), produção de antibióticos, sideróforos, bem como a competição por nutrientes e espaço (Papavizas, 1985; Benítez et al., 2004; Bettioli; Morandi, 2009; Lee et al., 2016). Dentro desse contexto, constatou-se em um estudo que o principal mecanismo de ação de *T. harzianum* envolvido na redução da germinação dos clamidósporos

de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, agente causal da murcha do meloeiro foi a competição por nutrientes (Sivan; Chet, 1989). Entretanto, outros mecanismos pode estar relacionados a capacidade de promoção do crescimento e controle biológico pelas espécies de *Trichoderma*. Por exemplo, a produção de metabólitos voláteis podem ter ação direta na germinação dos conídios dos patógenos e indiretamente, estimular as defesas das plantas (Benítez et al., 2004; López-Bucio et al., 2015; Lee et al., 2016). Os isolados de *Trichoderma* apresentam também produção de diferentes enzimas, principalmente as relacionadas a degradação da parede celular dos patógenos e, também metabólitos secundários (Benitez et al., 2004; Harman et al., 2004; Vinale et al., 2008) envolvidos na promoção de crescimento e no controle biológico.

A seguir serão melhor detalhados os dois principais mecanismos de ação promovidos pelas espécies de *Trichoderma*: a promoção do crescimento de plantas e o controle biológico dos patógenos, que incidem na cultura do melão.

Promoção de crescimento em meloeiros por *Trichoderma*

O fungo do gênero *Trichoderma* é conhecido por apresentar mecanismos voltados tanto para o controle biológico de doenças bem como, para promoção de crescimento de plantas (Bettiol; Morandi, 2009). No caso da promoção de crescimento, *Trichoderma* é considerado como fungo promotor de crescimento de plantas, um microorganismo que naturalmente apresenta característica de bioestimulante (Machado et al., 2012; López-Búcio et al., 2015). Esta ação bioestimulante tem favorecido o desenvolvimento das plantas e a tolerância a estresses bióticos e abióticos, resultando em aumentos nas produtividades da culturas agrícolas (Bettiol; Morandi, 2009).

As diferentes espécies de *Trichoderma* bioestimulantes são amplamente encontradas no solo, principalmente sobrevivendo saprofiticamente. É um fungo com alta competência rizosférica, capaz de colonizar as raízes, eficientemente e, proporcionar o crescimento das plantas nas quais estão associadas (Baugh et al., 2007). Na rizosfera são atraídos pelos exsudatos das raízes, ocorrendo o reconhecimento, adesão, penetração e colonização. As plantas colonizadas reagem sintetizando e acumulando compostos como: fitoalexinas, flavonóides, fenóis, terpenos e outros com ação antimicrobiana (Harman et al., 2004). Nesta associação com as raízes o fungo produz enzimas, hormônios (ácido indolacético, ácido abscísico, citocininas e ácido giberélico) aumentando a eficiência e a disponibilidade de nutrientes para as plantas (Machado et al., 2012).

Para promover o crescimento de plantas, como o meloeiro, *Trichoderma* apresenta diferentes mecanismos de ação. Um desses mecanismos bastante importante para o desenvolvimento das plantas é a solubilização do fosfato. O fósforo é um dos elementos minerais mais escassos nos solos, além de constituir-se como insumo agropecuário de custo elevado (López-Búcio

et al., 2015). Por exemplo, plantas de meloeiro, após a suplementação com formulação a base de *T. harzianum* apresentaram incrementos nos conteúdos de fósforo. Enquanto que, houve decréscimos de nutrientes como nitrogênio e potássio, mas que não chegou a afetar o desenvolvimento dos meloeiros. Estas reduções podem estar relacionadas com a competição das plantas com o microrganismo, pelos macronutrientes no solo. Como resultado do uso do microrganismo bioestimulante, ocorreram reduções no período de crescimento das mudas na fase de sementeira, incrementando a capacidade produtiva (Martínez-Medina et al., 2009). Outras espécies de *Trichoderma* também destacam-se como promissoras no desenvolvimento dessa cucurbitácea. Por exemplo, plantas de meloeiro inoculadas com as espécies de *T. viride* e *T. erinaceum* apresentaram incrementos em variáveis relacionadas a promoção de crescimento, como comprimento, massa fresca e seca das raízes. Estas plantas apresentaram desenvolvimento pleno, mesmo na presença dos patógenos *F. solani* f. sp. *cucurbitae* e *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Boughalleb-M'hamdi et al., 2018).

Outra alternativa sustentável de uso do *Trichoderma*, como promotor de crescimento no meloeiro é a suplementação dos solos, com compostos à base de plantas associados com esse microrganismo. A associação de espécies de *Trichoderma* com estes materiais é interessante, pois o fungo atua como bioestimulante das plantas e biocontrolador dos patógenos. Por exemplo, a adição de compostos de citros, juntamente com *T. harzianum* teve efeito na resposta de defesa de meloeiros, em condições de telado. Foi constatado uma ação bioestimulante e também um incremento de várias enzimas envolvidas na indução de resistência, como a peroxidase. Além disso, foram observados ganhos na massa fresca das plantas, após a fase de aclimatização (Bernal-Vicente et al., 2015). Já em outro estudo, a suplementação com composto cítrico reduziu a intensidade da murcha de Fusarium, ocasionada por *F. oxysporum* f. sp. *melonis* e promoveu também o crescimento de mudas de meloeiro (Bernal-Vicente et al., 2008). A microbiolização de sementes com *T. harzianum*, associado com a suplementação com *Brassica nigra* também favoreceu o crescimento de mudas de meloeiro. A combinação dessa aplicação incrementou o comprimento das raízes das plantas em 20%. Além disso, houve disponibilização de nitrogênio para as plantas, devido a ação do microrganismo (Galleti et al., 2015).

O fungo *Trichoderma* pode também interagir com outros microrganismos, proporcionando o crescimento das plantas e o biocontrole de patógenos no meloeiro. Por exemplo, a associação entre fungos micorrízicos arbusculares e *T. harzianum* revelou significante aumento de vários hormônios relacionados a promoção de crescimento, tais como ácido indolacético, ácido salicílico, ácido jasmônico e ácido abscísico. Adicionalmente houve incrementos também na massa fresca das plantas (20%), quando comparado com as plantas controle (Martínez-Medina et al., 2011a). Entretanto, a interação *Trichoderma* e fungos micorrízicos pode ser deletéria

tanto para a planta, como para um dos microrganismos bioestimulantes. Em um estudo observou-se que a co-inoculação do fungo micorrízico *Glomus intraradices* com *T. harzianum* promoveu efeitos deletérios em meloeiros. As plantas não apresentaram crescimento e houve efeitos negativos na micorrização (Santander; Olave, 2014). O que se tem constatado é que o fungo *T. harzianum* micoparasita as hifas e esporos do *Glomus* e, pode também secretar metabólitos tóxicos ao fungo micorrízico (Rousseau, 1996).

De maneira geral, a aplicação de bioestimulantes a base de espécies de *Trichoderma* tem-se constituído estratégia interessante, para um manejo integrado e sustentável, reduzindo os níveis de adubação química e proporcionando ganhos de produtividade na cultura do meloeiro (figura 2).



Foto: Jonas Rafael Lacerda Rebouças

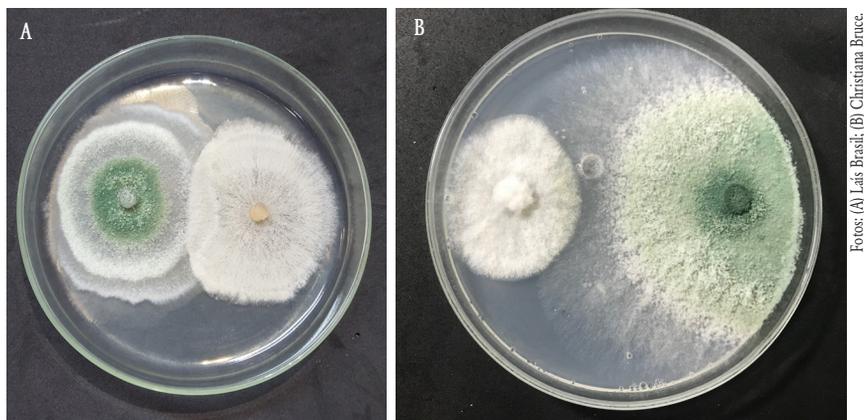
Figura 2. Microbiolização de sementes e incorporação no solo, da formulação à base de *Trichoderma*, em cultivos de meloeiro na região Nordeste.

Manejo das doenças na cultura do melão com *Trichoderma*

O cultivo intensivo e sucessivo do meloeiro nas regiões produtoras tem propiciado o aumento da intensidade de doenças, principalmente as radiculares. Adicionalmente constata-se que, práticas de manejo inadequadas da irrigação e a não remoção de fontes de inóculo das áreas, tem contribuído também para o incremento dos problemas fitossanitários. Dessa forma, para o manejo racional das doenças radiculares, muito tem sido discutido sobre a adoção de práticas sustentáveis, que promovam a supressividade dos solos a estas enfermidades. Aliado a isso, a utilização dos defensivos agrícolas para manejo deste grupo de doenças tem demonstrado baixa eficiência (Gava; Menezes, 2012; Gava; Pinto, 2016). No caso da cultura do melão, poucos são os produtos que são registrados para o controle dessas enfermidades (Agrofit,

c2003). Portanto, uma das alternativas para manejo sustentável e integrado das doenças radiculares seria o uso do fungo biocontrolador *Trichoderma*, associado também a outros tratamentos culturais na cultura do melão (Michereff et al., 2005; Gava; Menezes, 2012).

As doenças radiculares tem limitado o plantio dessa cucurbitácea nas áreas produtoras do Nordeste Brasileiro (Gava; Menezes, 2012). Alguns estudos tem demonstrado que, a utilização de diferentes espécies de *Trichoderma* para o controle de patógenos radiculares no meloeiro já é uma realidade crescente (Figura 3) (Zhang et al., 1999; Suárez-Estrella et al., 2007; Gava; Menezes, 2012). Estes microrganismos podem ser utilizados no campo, com aplicações no solo, substratos, sementes, material de propagação ou na parte aérea da plantas, bem como em cultivo protegido (Ubalua; Otti, 2007; Lucon, 2014). Os principais mecanismos envolvidos para controle dos patógenos, incluem a produção de enzimas, como as quitinases, proteases e glucanases (Harman, 2006; Nawrocka et al., 2018); indução de resistência das plantas, contra os patógenos (Martinez et al., 2001; Nawrocka et al., 2018), produção de compostos voláteis e não voláteis (López-Bucio et al., 2015); competição por nutrientes e nichos de colonização (Benitez et al., 2004; Baugh; Escobar, 2007); e, modificação da rizosfera, como por exemplo alterando o pH do solo, impossibilitando que muitos fatores de patogenicidade dos patógenos não sejam sintetizados (Machado et al., 2012).



Fotos: (A) Lais Brasil; (B) Christiana Bruce.

Figura 3. Inibição do crescimento micelial por *Trichoderma harzianum* contra patógenos do meloeiro (*Cucumis melo*). (A) Isolado de *T. harzianum* (esquerda) contra *Rhizoctonia solani* (direita), agente causal de tombamentos de mudas; (B) Isolado de *T. harzianum* (direita) contra *Fusarium pallidoroseum* (esquerda), agente causal da podridão em frutos de melão.

Em cultivos experimentais de melão no município de Bebedouro, Estado de Pernambuco, localizado no Vale do São Francisco, a microbiolização de sementes de meloeiro com as espécies *T. koningii* e *T. polysporum* permitiram reduzir a incidência de doenças, como o tombamento

e a murcha. Os isolados de *Trichoderma* foram capazes de colonizar efetivamente a rizosfera dos meloeiros (Gava; Menezes, 2012). Em outro estudo, a inoculação de *T. harzianum* em mudas, reduziu em 85% a incidência da murcha do meloeiro, ocasionada por *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Suárez-Estrella et al., 2007). Para patógenos como *Monosporascus cannonballus*, a microbiolização de sementes com *T. virens* em condições de sementeira, permitiu reduções consideráveis da colonização do patógeno em mudas (Zhang et al., 1999). Enquanto que, para *M. phaseolina* a inoculação preventiva com os biocontroladores *T. harzianum* e *T. viride*, proporcionou os menores índices de severidade da doença, quando comparados com as plantas não inoculadas (Boughalleb-M'hamdi et al., 2018). A espécie *T. harzianum* tem reduzido também a porcentagem de infecção de *F. solani* (10%), *Pythium aphanidermatum* (5%) e *R. solani* (5%), em meloeiros tipo cantaloupe (El-Kolaly; Abdel-Sattar, 2013).

Com relação aos nematoides, o antagonista *T. longibrachiatum* inoculado via água de irrigação, tem propiciado excelente controle de *M. incognita*, *M. hapla*, *M. arenaria* e *M. javanica*, de ocorrência marcantes nas áreas produtoras. Além do manejo dos patógenos de solo, várias espécies de *Trichoderma* tem sido utilizadas também para o controle de doenças da parte aérea, como o oídio (*Podosphaera xanthii*). A utilização de *Trichoderma* spp. quando aplicados preventivamente reduziram a severidade do oídio, sendo também recomendado para o manejo integrado desta enfermidade de importância para os cultivos de melão (Costa et al., 2003; Tavares et al., 2004).

Dessa forma, para um manejo sustentável e integrado é interessante também associar os fungos biocontroladores, com medidas de controle cultural, como a incorporação de matéria orgânica no solo. Este material proporciona a melhoria nas condições físicas, químicas e biológicas do solo, além de permitir um melhor estabelecimento dos antagonistas na rizosfera das plantas. Por exemplo, a incorporação de *Crotalaria juncea* e *T. harzianum* no solo reduziu a sobrevivência do patógeno *F. solani*. Ainda foi possível constatar incrementos na massa fresca e seca da parte aérea de meloeiros (Fonsêca Neto et al., 2016). A interação de sementes microbiolizadas com *T. polysporum* e a fertirrigação com composto líquido incrementou o controle da murcha de fusarium (32,2%), além de propiciar ganhos na produção de frutos de melão (27%) (Gava; Pinto, 2016). Outra associação interessante, para redução de enfermidades no meloeiro é a utilização de espécies de *Trichoderma*, com os fungos micorrízicos arbusculares. A inoculação de plantas de meloeiro com *T. harzianum* e *Glomus intraradices* promoveu reduções da incidência da murcha do meloeiro (Martínez-Medina et al., 2011a, b).

Mudanças climáticas e os impactos no uso de *Trichoderma*

Com o crescimento contínuo das emissões de gases causadores do efeito estufa, observa-se também o aumento das temperaturas em todo planeta. Caso a concentração de CO₂ atmosférico continue aumentando, existe a probabilidade da temperatura média do planeta incremen-

tar 4 °C, até o ano 2100 (Intergovernamental..., 2014). Além do aquecimento, as mudanças no clima também se relacionam à distribuição da precipitação que tende a ser mais escassas em regiões que já apresentam baixa oferta hídrica. Dessa forma, mudanças nos padrões de precipitação e de temperatura podem afetar a produção agrícola, podendo ser mais grave em regiões de agricultura de subsistência (Lipper et al., 2014).

Por outro lado, o CO₂ é um elemento fundamental na fotossíntese das plantas. Maiores concentrações desse gás na atmosfera resultam, até certo ponto, em aumentos da produção vegetal (Fagundes et al., 2010; Pimentel, 2011). Este fato é observado principalmente em plantas C₃, quando comparadas as plantas C₄. Nas plantas C₃ há a presença da enzima ribulose 1-5 bifosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), que é responsável pela carboxilação primária, envolvendo o processo metabólico que governa a fotossíntese. No caso das plantas C₄, a resposta ao aumento da concentração de CO₂ atmosférico é menor, pois esse grupo de plantas possui mecanismos mais eficientes para utilização do CO₂ na fotossíntese (Taiz; Zeiger, 2004).

O aumento da temperatura, tende a favorecer uma maior demanda hídrica das espécies vegetais, além de influenciar diretamente na atividade fotossintética (Assad et al., 2004), podendo assim afetar negativamente a produção vegetal. O aumento da temperatura atmosférica, pode também, resultar em interferências na eficiência de antagonistas/bioestimuladores, em competir na rizosfera das plantas (Weller et al., 2002; Boughalleb-M'hamdi et al., 2018).

O *Trichoderma*, por exemplo, apesar de ser um gênero encontrado em vários ambientes, pode apresentar características limitantes ao seu desenvolvimento. A temperatura ótima de crescimento para a maioria dos isolados está compreendida entre 25 a 30 °C. Em temperaturas entre 10 e 17 °C, observa-se diminuição considerável no crescimento micelial do fungo (Bomfim et al., 2010). Em ensaios in vitro, conduzidos na Embrapa Agroindústria Tropical em Fortaleza, Estado do Ceará foi possível observar que isolados de *Trichoderma*, incubados na temperatura de 40 °C não apresentaram crescimento micelial. Na temperatura de 30 °C, fungo apresentou pleno desenvolvimento (Figura 4).

Em vários estudos, constatam-se que as temperaturas mais extremas interferem no desenvolvimento do fungo (Bomfim et al., 2010; Auler et al., 2013). Os isolados de *Trichoderma*, com capacidade para atuar como biocontroladores e bioestimulantes em plantas, devem ser capazes de se adaptar a temperaturas diversas (Ghini; Hamada, 2008). Principalmente, por que as temperaturas nos cultivos de melão no Nordeste, alcançam facilmente os 40 °C (Figueirêdo et al., 2017). Aqueles isolados de *Trichoderma* mais adaptados a estas condições extremas serão mais efetivos e terão maior sucesso no manejo da cultura do melão. Dessa forma, os estudos de “busca” de biocontroladores/bioestimulantes para uso nos cultivos de melão tem incrementado consideravelmente, nos últimos anos no Nordeste Brasileiro.

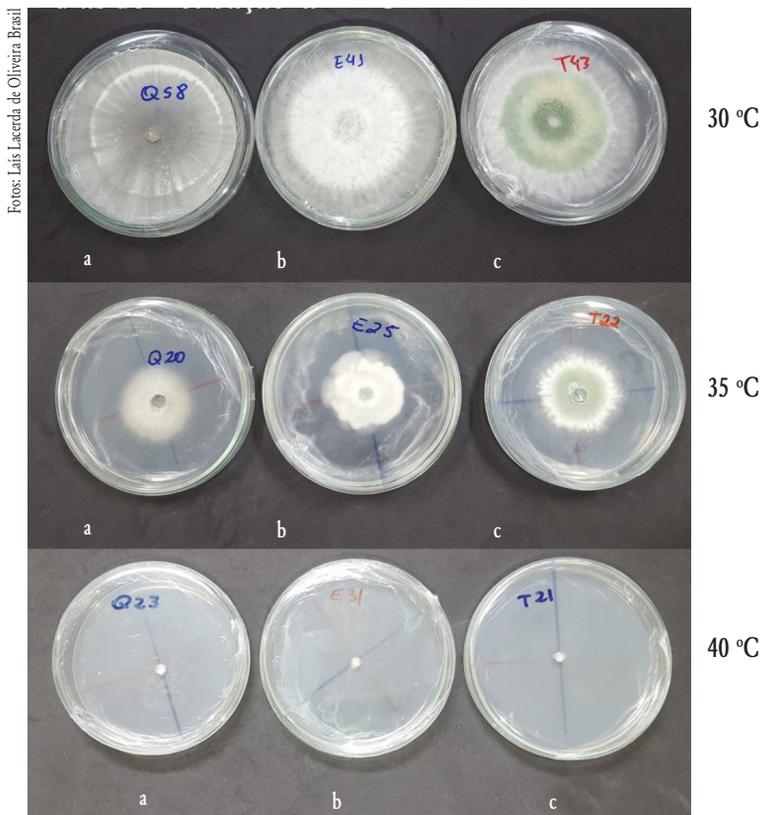


Figura 4. Isolados de *Trichoderma* incubados em incubadoras tipo B.O.D, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, com 48 horas de crescimento micelial. (A): *Trichoderma asperellum*, (B): *Trichoderma harzianum* e (C): *Trichoderma harzianum*.

Produtos registrados para utilização no manejo de doenças do melão

Para a cultura do melão, atualmente existem produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento à base de diferentes espécies de *Trichoderma*, recomendados para patógenos fúngicos, como *R. solani* e *M. phaseolina* e, para nematoides, como *Pratylenchus zaei*, *P. brachyurus* e *Meloidogyne incognita* (Tabela 1).

Tabela 1. Produtos biológicos à base de espécies de *Trichoderma*, para o controle de doenças do melão.

Produto Comercial	Princípio ativo	Alvo Biológico	Doença
Trichodermil SC 1306	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Trichodermil Super SC 1306	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Quality	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Trichodermax EC	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Predatox	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Organic WP	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Stimucontrol	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Ecotrich WP	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Majestic	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Rizoderma	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Bio Zenon	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Daytona	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Natucontrol	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Bio-Hulk	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento
Tricho-Turbo	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	tombamento

Fontes: Agrofit, c2003.

Considerações finais

A utilização de diferentes espécies de *Trichoderma*, como biocontrolador de patógenos e bioestimulante de plantas é estratégia interessante, para um manejo integrado e sustentável na cultura do meloeiro. A adoção desse fungo “probiótico” no solos e nas plantas proporcionam a redução dos níveis de adubação química bem como, do aporte de defensivos agrícolas. Dessa forma, esta alternativa sustentável de manejo, resulta também em ganhos de produtividade na cultura do melão.

Referências

- AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: Mapa, c2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: mar. 2019
- ASSAD, E. D.; PINTO, H. S.; JÚNIOR, J. Z.; ÁVILA, A. M. H. Impacto das mudanças climáticas no zoneamento agroclimático do café no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, n. 11, p. 1057-1064, 2004.
- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. *BMC Genomics*, v. 14, n. 121, p. 1-15, fev. 2013.
- AULER, A. C. V.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. *Revista Agro ambiente On-line*, v. 7, p. 359-365, 2013.
- BAUGH, C. L.; ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bioaugmentation. *Rice Farm Magazine*, v. 1, n. 4, 2007. 4 p.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BERNAL-VICENTE, A.; ROS, M.; TITTARELLI, F.; INTRIGLIOLO, F.; PASCUAL, J. A. Citrus compost and its water extract for cultivation of melon plants in greenhouse nurseries. Evaluation of nutritive and biocontrol effects. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 18, p. 8722-8728, 2008.
- BERNAL-VICENTE, A.; PASCUAL, J. A.; TITTARELLI, F.; HERNÁNDEZ, J. A.; DIAZ-VICANCOS, P. *Trichoderma harzianum* T-78 supplementation of compost stimulates the antioxidant defence system in melon plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 95, n. 11, p. 2208-2214, 2015.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341 p.
- BOMFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B.; DIAS, N. O. Avaliação antagonista *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. *Summa Phytopathologica*, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.
- BOUGHALLEB-M' HAMDI, N.; SALEM, I. B.; M' HAMDI, M. Evaluation of the efficiency of *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aspergillus* species as biological control agents against four soil-borne fungi of melon and watermelon. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, v. 28, n. 25, p. 1-12, 2018.
- COSTA, V. S. O.; MENEZES, C. A. F.; COSTA, N. D. Práticas de controle do oídio do meloeiro no Vale do São Francisco. *Horticultura Brasileira*, v. 21, n. 2, p. 334, jul. 2003.
- COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L.; SANTOS FILHO, L. P.; ALVES, M. C.; MOURA, E. M. Controle Biológico da vassoura-de-bruxa do cacauzeiro na Bahia, Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 245-266.
- EL-KOLALY, G. A. A.; ABDEL-SATTAR, M. A. Biological and chemical control of the sudden wilt disease of cantaloupe in Egypt. *Journal of American Science*, v. 9, n. 11, p. 100-108, 2013.
- FAGUNDES, J. D.; PAULA, G. M.; LAGO, I.; STRECK, N. A.; BISOGNIN, D. A. Aquecimento global: efeitos no crescimento, no desenvolvimento e na produtividade de batata. *Ciência Rural*, v. 40, n. 6, p. 1464-1472, 2010.
- FIGUEIRÊDO, M. C. B.; GONDIM, R. S.; ARAGÃO, F. A. S. **Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 302 p.
- FONSÊCA NETO, J.; DANTAS, A. M. M.; SILVA, F. H. A.; CRUZ, B. L. S.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; NASCIMENTO, S. R. C. Efeito de adubo verde e *Trichoderma harzianum* na sobrevivência de *Fusarium solani* e no desenvolvimento do meloeiro. *Revista Agro@ambiente On-line*, v. 10, n. 1, p. 44-49, 2016.
- GALLETI, S.; FORNASIER, F.; CIANCHETTA, S.; LAZZERI, L. Soil incorporation of brassica materials and seed treatment with *Trichoderma harzianum*: Effects on melon growth and soil microbial activity. *Industrial Crops and Products*, v. 75, p. 73-78, 2015.

- GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.
- GAVA, C. A. T.; PINTO, J. M. Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlect f. sp. *melonis* using seed treatment with *Trichoderma* spp. and liquid compost. *Biological Control*, v. 97, p. 13-20, 2016.
- GHINI, R.; HAMADA, E. **Mudanças climáticas**: impactos sobre doenças de plantas no Brasil. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 331 p.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate change 2014**: impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: global and sectoral aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change Cambridge. New York: Cambridge University Press, 2014. 1132 p.
- KUBICEK, C. P.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S. Fungal genus *Hypocrea/Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *Journal of Zhejiang University -Science B*, v. 9, n. 10, p. 753-763, 2008.
- LEE, S.; YAP, M.; BEHRINGER, G.; HUNG, R.; BENNETT, J. W. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. *Fungal Biology and Biotechnology*, v. 3, n. 7, p. 1-14, 2016.
- LIPPER, L.; THORNTON, P.; CAMPBELL, B. M.; BAEDEKER, T.; BRAIMOH, A.; BWALYA, M.; CARON, P.; CATTANEO, A.; GARRITY, D. P.; HENRY, K.; HOTTLE, R.; JACKSON, L.; JARVIS, A.; KOSSAM, F.; MANN, W.; MCCARTHY, N.; MEYBECK, A.; NEUFELDT, H.; REMINGTON, T.; SEN, P.T.; SESSA, R.; SHULA, R.; TIBU, A.; TORQUEBIAU, E. Climate-smart agriculture for food security. *Nature Climate Change*, v. 4, p. 1068-1072, 2014.
- LÓPEZ-BÚCIO, J.; RAMÓN, P. F.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 109-123, 2015.
- LUCON, C. M. M. *Trichoderma*: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura. São Paulo: Instituto Biológico, 2014. 35 p.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANYONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MARTINEZ, C.; BLANC, F.; LE CLAIRE, E.; BESNARD, O.; NICOLE, M.; BACCOU, J. C. Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon cotyledons by active or heat-denatured cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*. *Plant Physiology*, v. 127, n. 1, p. 334-344, 2001.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ROLDAN, A.; PASCUAL, J. A. Performance of a *Trichoderma harzianum* bentonite-vermiculite formulation against *Fusarium* wilt in seedling nursery melon plants. *Hortscience*, v. 44, n. 7, p. 2025-2027, 2009.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ROLDÁN, A.; ALBACETE, A.; PASCUAL, J. A. The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. *Phytochemistry*, v. 72, n. 2/3, p. 223-229, 2011a.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ROLDÁN, A.; PASCUAL, J. A. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* under conventional and low input fertilization field condition in melon crops: Growth response and *Fusarium* wilt biocontrol. *Applied Soil Ecology*, v. 47, n. 2, p. 98-195, 2011b.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ALGUACIL, M. D. M.; PASCUAL, J. A.; VAN WEES, S. C. M. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. *Journal of Chemical Ecology*, v. 40, n. 7, p. 804-815, 2014.
- MELÃO. In: AGRIANUAL 2018. São Paulo: Informa Economics FNP, 2018. p.163.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE: Imprensa Universitária, 2005. 398 p.
- NAWROCKA, J.; MATOLEPSZA, U.; SZYMCAK, K.; SZCZECZ, M. Involvement of metabolic components, volatile compounds, PR proteins, and mechanical strengthening in multilayer protection of cucumber plants against *Rhizoctonia solani* activated by *Trichoderma atroviride* TRS25. *Protoplasma*, v. 255, n. 1, p. 359-373, 2018.

- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, p. 23-54, set. 1985.
- PIMENTEL, C. Metabolismo de carbono de plantas cultivadas e o aumento de CO₂ e de O₃ atmosférico: situação e previsões. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p. 1-12, 2011.
- ROUSSEAU, A. Mycoparasitism of the extramatrical phase of *Glomus intraradices* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 86, n. 5, p. 434-443, 1996.
- SANTANDER, C.; OLAVE, J. Efecto de la interacción del hongo micorrízico arbuscular (AMF) *Glomus intraradices* y *Trichoderma harzianum* sobre la producción de plantines de melón en zonas áridas. **IDESIA**, v. 32, n. 2, p. 21-28, 2014.
- SILVA, J. B. T.; MELLO, S. C. M. (Coord.). **Utilização de Trichoderma no controle de fungos fitopatogênicos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 17 p. Disponível em: <<https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=189682&biblioteca=vazio&busca=%20Utiliza%C3%A7%C3%A3o%20de%20Trichoderma%20no%20controle%20de%20fungos%20fitopatog%C3%AAnicos&qFacets=%20Utiliza%C3%A7%C3%A3o%20de%20Trichoderma%20no%20controle%20de%20fungos%20fitopatog%C3%AAnicos&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>>. Acesso em: fev. 2019.
- SIVAN, A.; CHET, I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. **Phytopathology**, v. 79, n. 2, 198-203, 1989.
- SUÁREZ-ESTRELLA, F.; VARGAS-GARCIA, C.; LOPEZ, M. J.; CAPEL, C.; MORENO, J. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. **Crop Protection**, v. 26, n. 1, p. 46-53, jan. 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- TAVARES, S. C. H.; COSTA, N. D.; NEVES, R. A. F.; SILVA, P. C. G. C.; LIMA, M. L. C.; MENEZES, C. A. F. Práticas de controle químico e biológico do oídio no meloeiro em subsídio a produção integrada. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, jul. 2004.
- UBALUA, A. O.; OTI, E. Antagonistic properties of *Trichoderma viride* on post-harvest cassava root rot pathogens. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 21, p. 2447-2450, 2007.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- ZHANG, J. X.; BRUTON, B. D.; HOWELL, C. R.; MILLER, M. E. Potential of *Trichoderma virens* for biocontrol of root rot and vine decline in *Cucumis melo* L. caused by *Monosporascus cannonballus*. **Subtropical Plant Science**, v. 51, p. 29-37, 1999.
- WELLER, D. M.; RAAIJMAKERS, J. M.; GARDENER, B. B. M.; THOMASHOW, L. S. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 309-348, 2002.

Uso do *Trichoderma* na cultura do morango

Suélen Mazon

Paula Steilmann

Thiago de Oliveira Vargas

Introdução

O morango (*Fragaria ananassa*) é uma cultura amplamente cultivada no mundo, sendo a China o país que lidera a produção com 3 milhões de toneladas, seguida dos Estados Unidos com 1,4 milhão toneladas por ano (Morango, 2017). Já a produção brasileira vem crescendo, com a adoção de novas práticas de cultivo e materiais genéticos, aperfeiçoando o cenário do cultivo do morango e aumentando a área cultivada.

O morangueiro é uma cultura promissora no mercado tanto para consumo *in natura* quanto para a industrialização, sendo um fruto apreciado mundialmente, visto a sua aparência atraente e sabor agradável, além de seu alto valor nutracêutico. Os consumidores, cada vez mais preocupados com a saúde, buscam consumir morangos sem resíduos de agrotóxicos, visto que o mesmo é o segundo alimento com mais resíduo de agrotóxicos no Brasil. Dados de 2013 e 2015 demonstram que 63,4% das amostras analisadas apresentaram contaminação por agrotóxicos (Anvisa, 2016). Isto em virtude de ser uma cultura suscetível a vários patógenos, insetos-pragas e ao desequilíbrio nutricional, onde se realiza o uso de uma elevada carga de insumos químicos e agrotóxicos, pois segundo Darolt (2008), é realizado em torno de 45 aplicações de agrotóxicos durante o ciclo da cultura.

Assim, buscando produzir frutos que não apresentem resíduos químicos, cresce o uso de produtos biológicos para o controle de doenças na cultura, sendo que os agentes de biocontrole permitem o avanço na proteção e qualidade das plantas, reduzindo as aplicações de agrotóxicos (Bisutti et al., 2017), favorecendo a produção de alimentos saudáveis, preservando o meio ambiente e proporcionando o manejo sustentável de doenças. Além disso, muitos fungicidas

químicos têm perdido a eficiência sobre os patógenos, o que se deve em grande parte à diversidade dos microrganismos, capacidade de adaptação e resistência crescente (Matei et al., 2011).

Entre os agentes de controle biológico os fungos do gênero *Trichoderma* spp. são os mais estudados. O grande potencial de biocontrole dos fungos do gênero *Trichoderma* spp. foi reconhecido em 1920 (Harman, 2006), no entanto, as pesquisas com estes microrganismos têm aumentado com os avanços da engenharia genética (Blasczyk et al., 2014). Algumas estirpes destes fungos têm sido relatadas como eficientes no controle de uma grande variedade de plantas cultivadas, e também na promoção do crescimento das plantas (Benítez et al., 2005; Savazzini; Longa, 2009).

A eficiência no controle de doenças de plantas se deve principalmente aos múltiplos mecanismos de ação, como a competição por espaço ou nutrientes (Savazzini; Longa, 2009; Verma et al., 2007) produção de metabólitos antibióticos, voláteis ou não voláteis (Savazzini; Longa, 2009; Verma et al., 2007; Sid-Ahmed et al., 2003) e micoparasitismo (Savazzini; Longa, 2009; Verma et al., 2007). Além disso, o uso de *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrole apresenta aspectos vantajosos também em relação a facilidade de isolamento, cultivo e caracterização (Sharma et al., 2011).

Por estes e outros motivos estes microrganismos vêm sendo amplamente estudados, buscando selecionar cepas com características de interesse e com potencial para aplicação no controle de doenças. Dentre as espécies relatadas, os fungos *T. harzianum* e *T. viride* são os mais estudados, onde são utilizadas como biopesticidas e biofertilizantes (Kumar et al., 2014b; Woo et al., 2014), promotores de crescimento e indutores de resistência a doenças em plantas (Woo et al., 2014; Sharma; Singh, 2014). Sendo *T. harzianum* o principal antagonista utilizado no manejo de doenças de plantas na agricultura devido a sua relação custo-efetividade e efeitos mínimos sobre o equilíbrio ecológico (Kumar et al., 2014a).

Uso do *Trichoderma* spp. no cultivo do morangueiro

O morango é uma cultura sujeita a ocorrência de vários patógenos e ataques de inseto-praga, desde o estágio das mudas até na pós-colheita dos frutos. As doenças que ocorrem nos frutos reduzem o rendimento, sendo as mais comuns causadas por *Botrytis cinerea* e *Phytophthora cactorum*. Entretanto, as doenças como podridões na raiz e manchas foliares, reduzem o rendimento indiretamente, definhando a planta e podendo levar a morte. Os patógenos que atacam o sistema radicular são os fungos *P. cactorum* e *P. fragariae*, para os patógenos que causam doenças foliares destacam-se os fungos *Mycosphaerella fragariae* e *Diplocarpon earliana* (Bisutti et al., 2017).

Assim, um grande aliado à prevenção e controle de ataque de patógenos no morangueiro, são os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* spp., que estão entre os mais utilizados

como agentes de biocontrole de doenças vegetais em todo o mundo. Sendo que no cultivo do morangueiro, o *Trichoderma* spp. pode ser utilizado em todo o procedimento de cultivo, desde o preparo do solo até o controle de patógenos da parte aérea e pós-colheita.

Uso do *Trichoderma* spp. no preparo do solo e substrato para o cultivo do morangueiro

Atualmente, a produção de morango é realizada adotando diferentes meios de cultivo e práticas culturais. Sendo o mais conhecido e praticado, o cultivo no solo em canteiros elevados com o uso de mulching, plástico ou material palhoso. No entanto, em muitos locais, vêm se adotando o cultivo fora do solo, em sistema de bancada, com o uso de substrato.

Quando realiza-se o plantio do morango no solo, a primeira etapa realizada pelos produtores é preparação do solo para receber as mudas de morangueiro previamente cultivadas. Neste processo, umas das práticas de manejo utilizadas é a desinfestação do solo, visto que o mesmo pode ser habitado por um grande número de patógenos, os quais podem colonizar as raízes das mudas recém transplantadas em resposta a exsudatos radiculares, debilitando a mesma e levando a mortalidade.

Dessa forma, por muitos anos uma das práticas adotadas para a erradicação do inóculo de patógenos habitantes de solo, era a realização do processo de fumigação com o brometo de metila. Contudo, este produto químico é altamente tóxico, sendo que seu uso foi proibido através do Protocolo de Montreal, onde o Brasil comprometeu-se em abolir o uso até o ano de 2015, por meio da Instrução Normativa nº 1, de 10 de setembro de 2002 (BRASIL, 2002). Desde então busca-se outras formas de controlar os patógenos habitantes do solo, por meio do uso de produtos químicos permitidos, alternativas culturais, como a rotação de culturas, o uso de cultivares resistentes, a solarização e biofumigação do solo (Martin; Bull, 2002).

Desta maneira, com o olhar voltado para produção de alimentos saudáveis e preservação do meio ambiente, uma das alternativas à fumigação realizada com produtos químicos, é a utilização do agente de biocontrole, o *Trichoderma* spp., realizando o processo denominado biofumigação. Com essa tática de controle, além de combater agentes patogênicos, busca promover o equilíbrio ecológico do solo, favorecendo a microbiota e conferindo benefícios posteriormente ao desenvolvimento das plantas (Harman, 2006). Esse processo de biofumigação com *Trichoderma* spp. pode ser executado em associação a solarização, visto que muitas espécies do gênero *Trichoderma* spp. resistem a altas temperaturas (Porrás et al., 2007a). A combinação entre estas táticas de manejo aumenta o rendimento de morangos em 78,2% (Porrás et al., 2007b), melhoram as condições da rizosfera, além de reduzir a população do fungo *P. cactorum*, causador da podridão da coroa.

Além do uso do *Trichoderma* spp. em cultivos realizados no solo, em sistemas de cultivo com diferentes formulações de substratos, os fungos do gênero *Trichoderma* spp. também podem ser utilizados. Em nossos experimentos, cultivando morango de base agroecológica, em sistema de bancada, obtivemos o substrato através do processo da compostagem, no qual misturamos 30% de solo, este retirado de mata. Neste processo, realizamos a solarização e posteriormente a biofumigação do substrato composto, utilizando o *Trichoderma harzianum*, na concentração de 2 mL por litro de água.

***Trichoderma* spp. no preparo de mudas ao cultivo do morangueiro**

Após a escolha e o preparo do local de cultivo, a obtenção e plantio das mudas é uma prática importante para garantir o sucesso da produção de morangos. Atualmente, as mudas de morangueiro comercializadas em maior proporção são mudas de raiz nua, as quais, consequentemente estão mais sujeitas ao ataque de patógenos, pois pode ocorrer a fragmentação das raízes no momento do transplântio, tornando-se portas de entrada para patógenos habitantes de solo, além das condições que as mesmas estavam armazenadas. Assim, é recomendável realizar a imersão das raízes em solução de *Trichoderma* spp. antes do plantio das mudas, pois o mesmo irá combater e prevenir o ataque de agentes patogênicos presentes no meio, aumentando a taxa de sobrevivência e também acelerando o desenvolvimento inicial das plantas no campo (Verdial et al., 2009).

Estudos avaliando o tratamento de mudas de morangueiro com a aplicação de *T. harzianum* ($1,4 \times 10^{10}$ esporos mL⁻¹), *Bradyrhizobium japonicum* ($7,5 \times 10^9$ cel mL⁻¹) e incorporação de silício, Richter et al., (2016) verificaram que o tratamento utilizando apenas *T. harzianum* proporcionou o maior diâmetro e acúmulo de matéria fresca e seca da coroa, pela possível presença de fitohormônios, estimulados pela aplicação de *T. harzianum*. Além de promover o crescimento das plantas, trabalhos demonstram o sucesso da prática em relação a incidência de doenças. Pastrana et al., (2016) verificou que o tratamento preventivo (pré-plantio) através da imersão das raízes de morangueiro em solução de *T. asperellum* foi mais eficiente que o tratamento curativo (pós-plantio), reduzindo da incidência de podridão-decarvão (*Macrophomina phaseolina*) em até 44% em câmara de crescimento e em até 65% em condições de campo, e da podridão-da-raiz e podridão-da-coroa causada por *Fusarium solani*, em até 100% em câmara de crescimento e 81% em condições de campo.

Porras et al., (2009) analisando a aplicação de *Trichoderma* spp. via sistema de irrigação por gotejamento e imersão das raízes das mudas de morangueiro, para o controle de antracnose (*Colletotrichum* spp.), demonstra que os tratamentos reduziram a incidência do patógeno e, consequentemente, mortalidade de plantas entre 58,6 e 63,5% em relação ao controle, e não foram observadas diferenças entre as mudas imersas na solução de *Trichoderma* spp. ou com

aplicação do antagonista via irrigação por gotejamento.

Deste modo, a realização da prática de imersão das raízes em solução de *Trichoderma* spp. favorece a colonização da rizosfera das plantas, prevenindo o ataque de patógenos, garantido o sucesso de controle das doenças pelo agente biocontrole.

De forma prática, o agricultor ao receber as mudas de morangueiro, estas de raiz nua, realiza o preparo da solução de *Trichoderma harzianum*, utilizando a dose de 1 mL por litro de água e realiza a imersão das raízes nesta mistura, após realiza o plantio.

***Trichoderma* spp. no controle de patógenos habitantes do solo no morangueiro**

Após o plantio das mudas e ao longo do ciclo de cultivo são realizados tratamentos para o combate de agentes patogênicos. O morangueiro está sujeito ao ataque de vários patógenos habitantes de solo, que ocasionam as principais podridões de raízes e coroa, os mais frequentes são: *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., e *Rhizoctonia* spp., sendo os sintomas mais comuns o escurecimento e deterioração do sistema radicular, declínio no vigor da planta e considerável redução no rendimento, levando a mortalidade da planta hospedeira.

Assim, uma opção para prevenir e controlar o ataque desses patógenos, é a utilização de produtos à base de *Trichoderma* spp., contribuindo com a diminuição do emprego de produtos químicos, de maneira a ofertar frutos de maior qualidade e livres de resíduos químicos.

Avaliando o efeito antagônico de *T. harzianum* contra *R. solani* em morangueiro, Asad-Uz-Zaman et al., (2015) observaram uma redução de 71,97% do crescimento radial de *R. solani* em comparação a outros produtos químicos. Em outro estudo avaliando o controle do patógeno *R. fragariae* por meio de isolados de *Trichoderma* spp. em comparação com um fungicida químico, mostram que os fungos *T. harzianum* e *T. viride* apresentaram somente 18,25 e 8,25% de plantas com sintomas de murcha, entretanto, o fungicida químico apresentou somente 3,25% de plantas com sintomas da doença (Aziz; Marzani, 2017), portanto, o uso do controle biológico, embora em alguns casos não seja tão eficaz quanto os fungicidas, é um método alternativo e seguro ao controle de doenças de plantas.

Isolados de *T. harzianum*, *T. viride* e *T. hamatum* (3×10^7 esporos/ml) aumentaram o teor de fenóis totais, de clorofila e também o rendimento de frutos de morango em comparação ao controle, e além disso reduziram a incidência das doenças radiculares (Figura 1) causadas por *R. solani*, *F. solani*, *F. oxysporum* e *M. phaseolina* na pré e pós-emergência de plantas de morango (Ahmed; El-Fiki, 2017).



Figura 1. Sintomas de escurecimento vascular em caule de morangueiro (direita), causados por patógenos de solo.

Ainda para o controle da antracnose, foi relatada a capacidade de espécies de *Trichoderma* spp. em micoparasitar hifas de *Colletotrichum* spp., isolados de morangueiro, *in vitro*.

A combinação de fungos micorrízicos (*Glomus mosseae* e *Acaulospora laevis*) e *T. viride* sobre o crescimento e produção de morango foi estudada por Chauhan et al., (2010). Onde os autores evidenciaram que a combinação entre *A. laevis* e *T. viride*, promove um aumento na altura de plantas, peso da parte aérea, peso seco da parte aérea, peso de raiz fresca, clorofila total e teor de fósforo na raiz em relação ao controle sem aplicação, conferindo maior rendimento de plantas de morango.

Um estudo para avaliar o desempenho do fungo *Trichoderma* spp. no crescimento e rendimento de morango foi realizado, utilizando quatro concentrações de *Trichoderma* spp. (T0: testemunha; T1: 100 g/m²; T2: 200 g/m² e T3: 300 g/m²), sendo que a maior produção e qualidade de frutos foi encontrada no tratamento T1 e menores valores para o tratamento testemunha (Uddin et al., 2017). Assim, o uso do *Trichoderma* contribuiu para o crescimento e desenvolvimento das plantas de morangueiro, refletindo no rendimento do mesmo, onde o uso de maiores concentrações não reflete em ganho para a cultura.

***Trichoderma* spp. no controle de patógenos da parte aérea e pós-colheita no morangueiro**

Os produtos disponíveis formulados com *Trichoderma* spp. são indicados para o controle de patógenos habitantes de solo, onde os mesmos são aplicados no solo, via sistema de irrigação por gotejamento ou aspersão. Entretanto, muitos trabalhos avaliam a aplicação via foliar, buscando o controle de doenças da parte aérea e de pós-colheita.

A produção de morangueiro em ambiente protegido proporciona frutos de qualidade e prolonga a produção, sendo uma forma de cultivo que auxilia no controle de várias doenças como o mofo cinzento e antracnose, entretanto, é visto um aumento da ocorrência de oídio (Xiao et al., 2001). Trabalhos avaliando o potencial do *Trichoderma* spp. no controle do oídio (*Sphaerotheca macularis*) em comparação a eficácia do uso de fungicidas químicos, demonstraram que o agente de biocontrole *T. harzianum* T39 apresentou maior atividade contra o oídio em morangueiro, porém, o maior controle foi visto pelo uso de fungicidas químicos, sugerindo-se aplicações intercaladas de agentes de biocontrole e fungicidas químicos para controle da doença (Pertot et al., 2008), buscando assim, realizar o manejo integrado.

O mofo cinzento causado pelo fungo *Botrytis cinerea* é uma importante doença da cultura do morangueiro, a qual acomete os frutos de morango (Figura 2). Essa doença, além de se manifestar a campo, ocorre na pós-colheita diminuindo a qualidade de frutos e o tempo de prateleira dos mesmos. Kowalska (2011) estudando a aplicação de *T. asperellum* na incidência de *B. cinerea*, concluiu que o uso de *T. asperellum* como um agente de controle biológico para doenças pós-colheita, prolonga o armazenamento em até 7 dias após a colheita, com ausência de *B. cinerea*, além disso, o isolado promoveu o maior desenvolvimento das plantas de morangueiro a campo. Robinson-Boyer et al. (2009) avaliando duas espécies de *Trichoderma* e *B. subtilis* para o controle de *B. cinerea*, demonstrou que os produtos à base de *T. atroviride* e *T. harzianum* foram mais eficazes para o controle do mofo cinzento no morangueiro em comparação ao *B. subtilis*. A aplicação do isolado de *T. harzianum* na pós-colheita em frutos de morango, demonstrou a eficiência do agente de biocontrole para o combate do mofo-cinzento (Cruz et al., 2018).

Estudos demonstram que produtos constituídos de isolados de *T. harzianum*, aplicados sozinhos ou combinados, foram efetivos no controle da antracnose (*Colletotrichum acutatum*) e do mofo-cinzento (*B. cinerea*) em plantas de morango, considerando diferentes épocas de aplicação e dosagens (Freeman et al., 2004). Devido aos múltiplos mecanismos de ação exercidos por fungos do gênero *Trichoderma* spp., antagonismo, antibiose e micoparasitismo, a utilização de diferentes isolados em conjunto pode resultar em uma maior eficiência no controle de patógenos (Vos et al., 2015).

Como demonstrado anteriormente, isolados de *Trichoderma* spp. são eficientes no controle do mofo-cinzento, no entanto, há necessidade de aplicações frequentes. Dessa forma, as abelhas podem ser usadas para disseminar agentes de controle biológico para a cultura-alvo. Em estudo realizado nos EUA, abelhas foram utilizadas como vetores de uma formulação comercial de *T. harzianum* para o controle de *B. cinerea* em morangueiros. Para verificar a eficiência da deposição do antagonista, o método de disseminação por abelhas foi comparado com aplicação por aspersão e foram coletadas flores ao longo do experimento, constatando

que os tratamentos das abelhas geralmente tinham metade da densidade de *T. harzianum* em comparação com a aspersão. No entanto, durante os 4 anos do estudo, a eficiência de *T. harzianum* depositado pelas abelhas proporcionou melhor controle de *B. cinerea*. Além disso, o *T. harzianum* aplicado pelas abelhas proporcionou controle do mofo-cinzento igual ou melhor do que fungicidas comerciais aplicados na floração (Kovach et al., 2000). Em outro estudo realizado em Israel, testou-se a habilidade de abelhas para disseminar propágulos de *T. harzianum* também para o controle de *B. cinerea* em morangueiro cultivamos em campo, durante o inverno. Observou-se que em níveis baixos a médios de doença, o tratamento com *T. harzianum* aplicado por abelhas foi mais eficiente que a aplicação de fungicidas, no entanto, em altos níveis de doença, nem o controle químico nem o biológico foram eficazes. Além disso, constatou-se que a aplicação do antagonista por abelhas chegou a 200 m de distância da colmeia (Shafir et al., 2006).



Fotos: Acervo pessoal dos autores

Figura 2. Frutos de morango atacadas por *B. cinerea*, causador da doença mofo-cinzento

Os produtos disponíveis no mercado a base de *Trichoderma* spp. são encontrados na forma de solução concentrada ou em grânulos dispersíveis em água, assim, tem-se estudado a ação dessas diferentes formulações, solução concentrada e grânulos dispersíveis, e dos metabólitos de *T. harzianum* sobre o desenvolvimento de *B. cinerea*, demonstrando que, em teste de antagonismo *in vitro*, a formulação em grânulos dispersíveis em água apresentou maior eficiência de controle do crescimento micelial de *B. cinerea* (Figura 3). A atividade de biocontrole exercida pelo fungo antagonista pode ocorrer indiretamente, competindo por espaço e nutrientes, ou ainda modificando as condições encontradas no meio de cultivo, produzindo antibióticos, inativando as enzimas do patógeno ou, diretamente, mediante o micoparasitismo (Hartman, 2004).

Este mesmo estudo avaliou a ação de aplicações de produtos à base de *T. harzianum* em pré-colheita sobre o desenvolvimento da doença mofo cinzento em pós-colheita, demonstrando a eficiência dos produtos utilizados em preservar o processo de deterioração dos frutos,

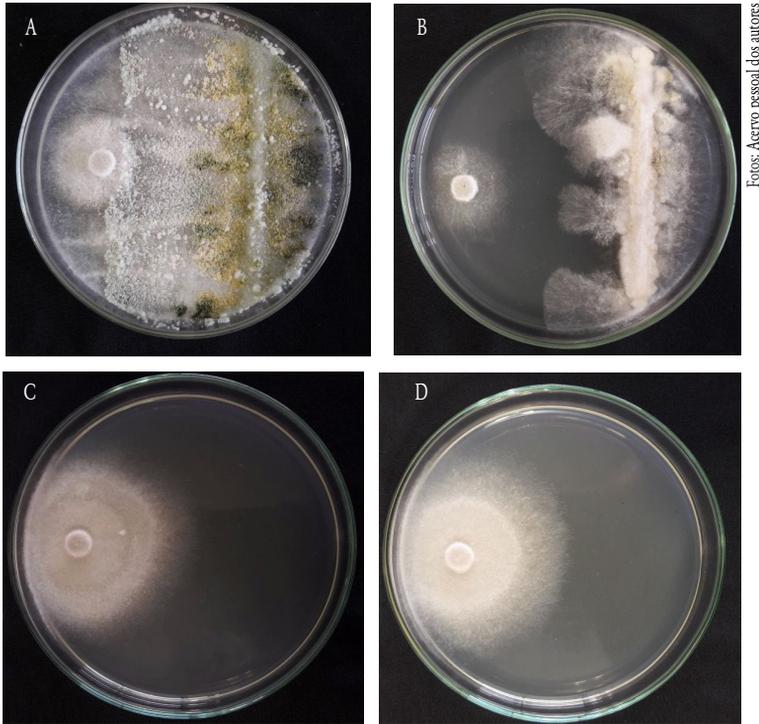


Figura 3. Inibição do crescimento micelial de *B. cinerea* por meio da ação direta dos produtos biológicos a base de *T. harzianum*. Sendo a) Grânulos dispersíveis em água, b) solução concentrada, c) metabolitos de *T. harzianum* misturados no meio de cultura e d) o controle.

aumentando o período de armazenamento (Figura 4).

Além do combate dos patógenos que acometem o morangueiro, a expressão de genes antifúngicos de *T. harzianum*, tem sido usados para conferir resistência às plantas. Um estudo foi desenvolvido avaliando plantas de morango transgênicas com o gene da β -1,3-glucanase gene *bgn13.1* de *T. harzianum*. As plantas foram aclimatadas e posteriormente, inoculado o *C. acutatum*, resultando em plantas com menos sintomas de antracnose na folha e coroa do que as plantas que não possuíam o gene *bgn13.1* (Mercado et al., 2015).

Fotografado pelo autor



Figura 4. Incidência de mofo cinzento em frutos de morango submetidos ao tratamento pré-colheita com aplicação de produtos à base de *Trichoderma harzianum* nas formulações de a) Grânulos dispersíveis em água, b) solução concentrada e c) Metabolitos e em comparação com a testemunha (d).

Considerações finais

O uso de produtos biológicos é crescente de forma geral, e assim, estudos que demonstrem a eficiência da aplicação destes produtos na cultura do morangueiro poderão motivar o uso pelos agricultores e tornar a produção livre de agrotóxico, além do aumento da demanda por alimentos saudáveis. Sendo que, os agentes de biocontrole atingem nichos de mercado onde os produtos químicos não podem operar, que é a agricultura sustentável, onde busca a

preservação do meio ambiente e a oferta de produtos saudáveis, agregando valor aos mesmos.

O emprego do *Trichoderma* spp. no cultivo do morangueiro é uma alternativa eficaz, prática e segura, que confere proteção as plantas, do início do cultivo a pós-colheita, contribuindo para frutos de qualidade, sem resíduos químicos, além de proporcionar o crescimento e desenvolvimento das plantas. Dessa forma, são necessários novos estudos abrangendo outros patógenos que atingem a cultura, assim como métodos de aplicação que alcancem as diferentes formas de cultivo.

Referências

- AHMED, M. F. A.; EL-FIKI, I. A. I. Effect of Biological Control of Root Rot Diseases of Strawberry Using *Trichoderma* spp. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v.7, n. 3, p. 482-492, 2017.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**, 2016. < http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/rel_anual_2001-2006.pdf >. Acesso em 14 jun. 2019.
- ASAD-UZ-ZAMAN, M.D.; BHUIYAN, M. R.; KHAN, M. A. I.; BHUIYAN, M. K. A.; LATIF, M. A. L. Integrated options for the management of black root rot of strawberry caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Comptes Rendus Biologies**, v. 338, n. 2, p.112-120, 2015.
- AZIZ, B. A.; MARZANI, Q. A. Molecular identification and management of *Rhizoctonia fragariae* the pathogen of black root rot of strawberry plant. **Science Journal of University of Zakho**, v. 5, n.2, p.172-177, 2017.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n.4, p. 249-260, 2005.
- BLASCZYK, L.; SIWULSKI, M.; SOBIERSKI, K.; LISIECKA, J.; JEDRYCZKA, M. *Trichoderma* spp. Application and prospects for use in organic farming and industry. **Journal of Plant Protection Research**, v. 54, n. 4, p. 309-317, 2014.
- BISUTTI, I. L.; PELZ, J.; BÜTTNER, C.; STEPHAN, D. Field assessment on the influence of RhizoVital® 42 fl. and Trichostar® on strawberries in the presence of soil-borne diseases. **Crop Protection**, v. 96, p. 195-203, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 1, de 10 de setembro de 2002**. Brasília, DF, 2002. Disponível em:<https://www.mma.gov.br/estruturas/ozonio/_arquivos/instrucaonormativa01sda_130.pdf>. Acesso em: 18 nov. 2019.
- CHAUHAN, S.; KUMAR, A.; MANGLA, C.; AGGARWAL, A. Response of Strawberry plant (*Fragaria ananassa* Duch.) to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma viride*. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 2, p. 213-218, 2010.
- CRUZ, A.F.; BARKA, G. T.; SYLLA, J.; REINEKE, A. Biocontrol of strawberry fruit infected by *Botrytis cinerea*: Effects on the microbial communities on fruit assessed by next-generation sequencing. **Journal of Phytopathology**, v. 166, p. 403-411, 2018.
- DAROLT, M. R. Morango orgânico: opção sustentável para o setor. **Revista Campo & Negócio-Hortifrutí**, n. 34, p.58-61, 2008.
- FREEMAN, S.; MINZ, D.; KOLESNIK, I.; BARBUL, O.; ZVEIBIL, A.; MAYMON, M.; NITZANI, Y.; KIRSHNER, B.; RAV-DAVID, D.; BILU, A.; DAG, A.; SHAFIR, S.; ELAD, Y. *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. **European Journal of Plant Pathology**, v.110, n. 4, p.361-370, 2004.
- HARMANN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, p.190-194, 2006.
- KOVACH, J.; PETZOLDT, R.; HARMAN, G. E. Use of Honey Bees and Bumble Bees to Disseminate *Trichoderma harzianum* 1295-22 to Strawberries for *Botrytis* Control. **Biological Control**, v. 18, n. 3, p. 235-242, 2000.
- KOWALSKA, J. Effects of *Trichoderma asperellum* [T1] on *Botrytis cinerea* [Pers.: Fr.], growth and yield of organic strawberry. **Acta Scientiarum Polonorum: Hortorum Cultus**, v. 10, n.4, p.107-114, 2011.

- KUMAR, V.; SHAHID, M.; SRIVASTAVA, M.; SONIKA, P.; SINGH, A.; SHARMA, A. Role of secondary metabolites produced by commercial *Trichoderma* spp. and their effect against soil borne pathogens. **Biosensors**, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2014a.
- KUMAR, S.; THAKUR, M.; RANI, A. *Trichoderma*: Mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 5, p. 3838-3852, 2014b.
- MARTIN, F. N.; BULL, C. T. Biological approaches for control of root pathogens of strawberry. **Phytopathology**, v.92, p.1356-1362, 2002.
- MATEI, S.; MATEI, G. M.; CORNEA, P.; POPA, G. Characterization of soil *Trichoderma* isolates for potential biocontrol of plant pathogens. **Factori i procese pedogenetice din zona temperate**, v. 10, p. 29-37, 2011.
- MERCADO, J. A.; BARCELO, M.; PLIEGO, C.; REY, M.; CABALLERO, J. L.; MUNOZ-BLANCO, J.; RUANO-ROSA, D.; LOPEZ-HERRERA, C.; SANTOS, B. L.; ROMERO-MUNOZ, F.; PLIEGO-ALFARO, F. Expression of the β -1,3-glucanase gene *bgn13.1* from *Trichoderma harzianum* in strawberry increases tolerance to crown rot diseases but interferes with plant growth. **Transgenic Research**, v.24, n.6, p. 979-989, 2015.
- MORANGO. In: FAOSTAT: Statistics Division. FAO, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/>>. Acesso em: 29 set. 2018.
- PASTRANA, A. M.; BASALLOTE-UREBA, M. J.; AGUADO, A.; AKDI, K.; CAPOTE, N. Biological control of strawberry soil-borne pathogens *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*, using *Trichoderma asperellum* and *Bacillus* spp. **Phytopathologia Mediterranea**, v.55, n.1, p.109-112, 2016.
- PERTOT, I.; ZASSOB, R.; AMSALEMA, L.; BALDESSARIB, M.; ANGELIB, G.; ELAD, Y. Integrating biocontrol agents in strawberry powdery mildew control strategies in high tunnel growing systems. **Crop Protection**, v. 27, p. 622-631, 2008.
- PORRAS, M.; BARRAU, C.; ROMERO, F. Effects of soil solarization and *Trichoderma* on strawberry production. **Crop Protection**, v. 26, p. 782-787, 2007a.
- PORRAS, M.; BARRAU, C. E.; ROMERO, F. Controle biológico da antracnose com *Trichoderma* em campos de morango. **Acta Horticulturae**, v. 842, p. 351-354, 2009.
- PORRAS, M.; BARRAU, C.; ARROYO, F. T.; SANTOS, B.; BLANCO, C.; ROMERO, F. Reduction of *Phytophthora cactorum* in strawberry fields by *Trichoderma* spp. and Soil Solarization. **Plant Disease**, v. 91, n. 2, p.142-146, 2007b.
- RICHTER, A. F.; ROHRIG, B.; RAMOS, R. F.; SOBUCKI, L.; TONIN, J.; SCHNEIDER, E. P. Crescimento da parte aérea de mudas de morangueiro através da inoculação de *Trichoderma*, rizóbio e incorporação de silício. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**, v.8, p. 1-11, 2016.
- ROBINSON-BOYER, L.; JEGER, M. J.; XU, X.; JEFFRIES, P. Management of strawberry grey mould using mixtures of biocontrol agents with different mechanisms of action. **Biocontrol Science and Technology**, v.19, n.10, p.1051-1065, 2009.
- SAVAZZINI, F.; LONGA, C. M. O. Impact of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride*SC1 on soil microbial communities of a vineyard in northern Italy. **Soil Biology Biochemistry**, v. 41, n.7, p. 1457-1465, 2009.
- SID-AHMED, A.; EZZIYANI, M.; PÉREZ-SÁNCHEZ, C.; CANDELA, M. E. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annum*) plants. **European Journal Plant Pathology**, v. 109, p. 418-426, 2003.
- SHAFIR, S.; DAG, A.; BILU, A.; ABU-TOAMY, M.; ELAD, Y. Honey bee dispersal of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T39: effectiveness in suppressing *Botrytis cinerea* on strawberry under field conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 116, n. 2, p. 119-128, 2006.
- SHARMA, P.; VIGNESH, K. P.; RAMESH, R.; SARAVANAN, K.; DEEP, S.; SHARMA, M.; MAHESH, S.; DINESH, S. Biocontrol genes from *Trichoderma* spp.: A review. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 8, p.19898-19907, 2011.
- SHARMA, K.K., SINGH, U.S. Cultural and morphological characterization of rhizospheric isolates of fungal antagonist *Trichoderma*. **Journal of Applied and Natural Science**. v. 6, n. 2, p. 451-456, 2014.
- UDDIN, A. J.; HUSSAIN, M. S.; RAHMAN, S. S.; RONI, H. A. M. Potential of *Trichoderma* as consistent plant growth stimulators of strawberry. **International Journal of Business, Social and Scientific Research**, v.5, n. 2, p. 155-158, 2017.

VERDIAL, M. F.; TESSARIOLI NETO, J.; MINAMI, K.; SCARPARE FILHO, J. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; SCARPARE, F. V.; BARELA, J. F.; DEL AGUILA, J. S.; KLUGE, R. A. Fisiologia de mudas de morangueiro produzidas em sistema convencional e em vasos suspensos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n. 2, p. 524-531, 2009.

VERMA, M.; BRAR, S. K.; TYAGI, R. D.; SAHAIV, K.; PREVOST, D.; VALÉRO, J. R.; SURAMPALLID, R. Y. Bench-scale fermentation of *Trichoderma viride* on wastewater sludge: rheology, lytic enzymes and biocontrol activity. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, p.764-771, 2007.

VOS, C. M. F.; CREMER, K. D.; CAMMUE, B. P. A.; CONINCK, B. D. The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 16, n. 4, p.400-412, 2015.

XIAO, C. L.; CHANDLER, C. K.; PRICE, J. F.; DUVAL, J. R.; MERTELY, J. C.; LEGARD, D. E. Comparison of epidemics of Botrytis fruit rot and powdery mildew of strawberry in large plastic tunnel and field production system. **Plant Disease**, v. 85, n. 8, p. 901-909, 2001.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. Trichoderma-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, p. 71-126, 2014.

Uso do *Trichoderma* na cultura da uva

Marcus André Kurtz Almança

Júlio César Tonello

Carine Rusin

Renato Vasconcelos Botelho

Introdução

No Brasil, a produção de uvas está concentrada nas regiões Sul, Sudeste, Centro Oeste e Nordeste, sendo que o estado do Rio Grande do Sul representa 64,85% da área cultivada do Brasil, com 47.383 ha plantados. No estado do Rio Grande do Sul, a viticultura é realizada em diferentes regiões tais como, Serra gaúcha, Campos de cima da Serra, Campanha gaúcha e Serra do sudeste. Na Serra gaúcha atualmente são plantados aproximadamente 37.900 ha, entre uvas viníferas, americanas e híbridas, o que corresponde a 51,0% da área plantada no Brasil (Rosa, 2016; IBGE, 2018; Mello et al., 2017).

Na viticultura brasileira, um dos principais entraves é a ocorrência de doenças, acarretando perdas qualitativas e quantitativas na produção de uvas, vinhos, sucos e derivados. Dentre essas doenças, as fúngicas representam a sua maioria e ocorrem em todas as regiões produtoras, mesmo que estas estejam situadas em diferentes climas e condições ambientais. De maneira geral as doenças fúngicas mais importantes tendem a ser as mesmas nestas regiões, sendo as principais o míldio (*Plasmopara viticola*), o oídio (*Erysiphe necator*), a antracnose (*Elsinoe ampelina*), a escoriose (*Phomopsis viticola*), a podridão-cinzenta (*Botryotinia fuckeliana*), a podridão da uva madura (*Glomerella cingulata*) e as doenças de tronco, tais como: fusariose (*Fusarium oxysporum* f.sp. *herbemontis*), esca (*Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium* spp., *Fomitiporia* spp.) Petri (*Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium* spp.), pê-preto (*Cylindrocarpon* spp., *Ilyonectria* spp., *Campylocarpon* spp., *Dactylonectria* spp., entre outras) e podridão-descendente (*Botryosphaeria* spp., *Neofusicoccum* spp., *Lasiodiplodia* spp.) (Sonego et al., 2005; Almança et al., 2015; Almança et al., 2013a; Cavalcanti et al. 2013).

As doenças de tronco da videira em especial, tem causado prejuízos na viticultura em diversos países desde a produção de mudas até estabelecimento dos vinhedos, causando declínio e morte das plantas (Fontaine et al., 2016; Almança et al., 2013a; Cavalcanti et al., 2013). No Brasil, em levantamento realizado por Rusin et al (2015) em vinhedos da Serra gaúcha, observou-se que em média, 90% das plantas com sintomas externos de declínio e morte apresentavam a presença de pelo menos uma espécie de fungo causador de doença de tronco. A ocorrência destas doenças traz a necessidade de reposição de plantas ou renovação completa do vinhedo, dependendo do percentual de plantas afetadas e idade do vinhedo, o que acarreta no aumento do custo de produção e diminuição da renda do produtor. Fontaine et al. (2016) demonstraram que com o avanço da idade dos vinhedos a ocorrência destas doenças aumenta e a produção de uva diminui, sendo que a partir dos 15 anos as perdas podem ultrapassar 50% da produção.

Outro grupo de doenças importante, é o das podridões de cacho. *Botryotinia fuckeliana* (forma sexuada *Botrytis cinerea*) tem ocorrência em todas as regiões produtoras de videira e tem sido considerado um dos principais agentes causadores dessas podridões, causando redução de produção e qualidade das uvas. Este impacto ocasiona uma má qualidade dos vinhos produzidos alterando a composição, aumentando a presença de compostos tóxicos que afetam as leveduras, inibindo o processo de fermentação e diminuindo a intensidade de cor (Fedrizzi et al., 2011; Agudelo-Romero et al., 2015). Assim como nas demais doenças fúngicas, o uso de fungicidas químicos é a principal estratégia no controle de controle da podridão-cinzenta (Shtienberg, 2007; Molitor et al., 2012), entretanto, nas podridões de cacho, além disso, recomenda-se utilizar medidas de manejo como desfolha, poda verde e adubação nitrogenada adequada (Wilcox, 2014). Contudo, o desenvolvimento de produtos de controle biológico tem possibilitado novas possibilidades de manejo destas doenças com menor impacto ambiental.

Várias espécies do fungo *Trichoderma* têm elevada capacidade de controle de fungos habitantes de solo e, em algumas situações, também destaca-se no controle de fungos causadores de doenças da parte aérea. Neste sentido, a utilização deste agente de biocontrole poderia ser realizada em viveiros no processo de produção de mudas e também nos vinhedos.

Com relação ao controle de fungos de solo, uma possibilidade para o manejo do pé-preto é a utilização de *Trichoderma* spp. em viveiros e no momento do plantio. Na África do Sul, Halleen et al. (2001) observaram que porta-enxertos inoculados com *Trichoderma harzianum* apresentaram uma menor incidência de *Cylindrocarpon* spp. com resultados semelhantes aos fungicidas utilizados. Além disto, observou um aumento na massa total de raízes nos porta enxertos com presença de *T. harzianum*.

Adicionalmente, alguns trabalhos evidenciaram a possibilidade de controle de fungos causadores de doenças de tronco na parte aérea das plantas de videira. Kexiang et al. (2001), relataram que isolados de *Trichoderma* spp. foram eficientes sobre espécies de

Botryosphaeria, colonizando ferimentos de poda. Estes efeitos do uso de *Trichoderma* spp. também foram observados na redução das infecções de ferimentos por *P. chlamydospora* (Halleen; Foure, 2005). Pitt et al. (2010), relataram que o uso de *Trichoderma* reduziu a incidência de colonização do *D. seriata* em ramos de videiras com um ano. Em experimentos *in vitro*, Di Marco et al. (2004) obtiveram resultados positivos em relação à inibição do crescimento de *P. chlamydospora*. Com base nesses resultados diversos produtos à base de *Trichoderma harzianum* estão à disposição de produtores na África do Sul, Austrália e Nova Zelândia. Estes produtos são recomendados para controle de doenças causadas por *Eutypa lata*, *Chondrostereum purpureum* e *Phaeoconiella chlamydospora*. Na França produtos à base de *T. atroviride* recomendados para *Eutypa lata*, *Botryosphaeria parva*, *B. obtusa*, *P. chlamydospora* e *Phaeoacremonium*. Na Itália encontra-se produtos com *T. asperellum* e *T. gamsii* recomendados para *P. chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea* e *P. aleophilum* (Bettiol et al., 2012).

Dentre as vantagens do uso de *Trichoderma* está a capacidade de diversas estirpes colonizarem a superfície de ferimentos, principalmente os danos causados durante a poda, penetrando cerca de 1-2 cm no interior da madeira e assim impedindo a entrada de patógenos associados às doenças de tronco. Em experimentos em campo, Di Marco et al. (2004) observaram que o *T. harzianum* é capaz de permanecer na videira por até três meses após a aplicação. Hunt et al. (2001) isolaram *Trichoderma* spp. 8 meses após a aplicação em ferimentos sob condições controladas, demonstrando a persistência do produto no lenho da videira. A eficiência da proteção dos ferimentos por *Trichoderma* spp. depende da capacidade de colonizar estes locais (John et al., 2008), sendo também influenciado pela interação com a videira, podendo ser mais ou menos eficaz de acordo com a cultivar utilizada (Mutawila et al., 2011). A eficiência do uso de *Trichoderma* também depende dos cuidados durante a aplicação, o uso é indicado como tratamento preventivo, sendo recomendado realizar uma pré-diluição do tratamento entre 24 a 36 horas antes da aplicação, favorecendo a germinação dos esporos e obtendo uma colonização mais rápida (Remedier, 2017).

Em revisão bibliográfica feita por Elmer; Reglinski (2006) são relatados diversos trabalhos demonstrando a eficiência de espécies de *Trichoderma* no controle de *B. cinerea*. Testes realizados com isolados e produtos já formulados apresentaram controle equivalente a fungicidas químicos nos EUA, Nova Zelândia, Romênia e Chile.

Além do controle direto de fitopatógenos utilizando espécies de *Trichoderma*, Perazzolli et al. (2011) observaram que *T. harzianum* foi capaz de induzir resistência em videira e ser eficiente no controle de míldio. Entretanto, verificou-se que a combinação de estresses abióticos (alta temperatura e déficit hídrico) afetou a indução dos genes de resistência ao fitopatógeno (Roatti et al., 2013).

Uso de *Trichoderma* em videiras no Brasil

O uso de espécies de *Trichoderma* na agricultura tem sido na sua maioria para controle de fitopatógenos de solo, onde este agente de biocontrole expressa melhor suas características. Entretanto, em algumas culturas e doenças, este agente de biocontrole tem sido utilizado para controle de doenças de parte aérea.

Apesar da ocorrência de alguns nematoides na cultura da videira (Gomes et al., 2009) e do registro de produtos biológicos atualmente ser vinculado somente ao alvo biológico, o que tornaria possível a utilização destes produtos nesta cultura, o manejo de nematoides nesta cultura não tem sido realizado utilizando produtos à base de *Trichoderma*.

Na videira, uma possibilidade de utilização de espécies de *Trichoderma* é para o controle de fitopatógenos habitantes de solo causadores de doenças como fusariose (*F. oxysporum* f.sp. *herbentis*) e Pé-preto (*Cylindrocarpon* spp., *Campylocarpon* spp., *Ilyonectria* spp., *Dactylonectria* spp., entre outros). Apesar de ainda não existir produtos registrados para estes alvos biológicos no Brasil, alguns trabalhos têm sido feito por pesquisadores visando verificar a eficiência de *Trichoderma* contra estes fungos. Nesta mesma linha, trabalhos também têm sido realizados para o controle de doenças de tronco e de parte aérea como podridão-descendente, doença de Petri e esca.

Ainda na parte aérea, uma possibilidade de uso que tem sido estudada é para o controle de podridões de cacho da videira, como por exemplo podridão-cinzenta.

Capacidade e variabilidade no antagonismo *in vitro*

Alguns resultados de pesquisa evidenciaram a eficiência de *Trichoderma harzianum* para utilização na produção de mudas de videira em substrato em mudas e no plantio em campo para controle de pé-preto. Tonello et al. (2016a) relataram que o uso de *Trichoderma harzianum* (Isolado IBLF 006, 1×10^{10} UFC/g de produto, Ecotrich, Ballagro Agro Tecnologia Ltda) levou à inibição de isolados de '*Cylindrocarpon*' spp., variando de 25,6 a 41,9% (Figura 1). Essa variabilidade está associada a capacidade de antagonismo, competição por nutrientes no ambiente e micoparasitismo (Figura 2)

Esta variabilidade também pode estar associada a velocidade de crescimento do fitopatógeno, como pode ser observado na Figura 3, onde os isolados testados apresentaram diferentes velocidades para atingir o crescimento máximo.

Em trabalho realizado por Heckler (2015) utilizando diferentes produtos à base de *Trichoderma* para o controle de pé-preto em videira (diferentes isolados de *C. pseudofasciculare* da Serra gaúcha), foi observado que os produtos testados foram eficientes na redução do crescimento micelial. Todos as espécies/isolados de *Trichoderma* presentes nos produtos foram capazes de inibir o crescimento micelial,

com valores variando de 41,1 a 44,5% para inibição direta e de 50,9 a 67,5% para produção de metabólitos voláteis. Santos et al. (2016) observaram efeito semelhante de produtos à base de *Trichoderma* spp. na inibição de crescimento micelial *in vitro* de *D. macrodidyma*. Estes autores também observaram maiores valores de inibição por metabólitos voláteis produzidos por *Trichoderma* spp., variando de 48,8 a 66,8%, quando comparado aos observados pela inibição direta (36,8 a 43,1%).

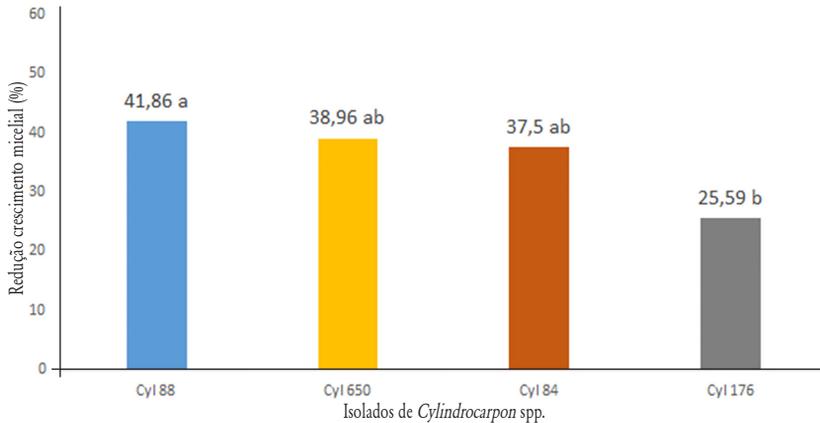


Figura 1. Redução de crescimento micelial (%) de isolados de *Cylindrocarpon* spp. por *Trichoderma harzianum*.

Fonte: Tonello et al., 2016a.

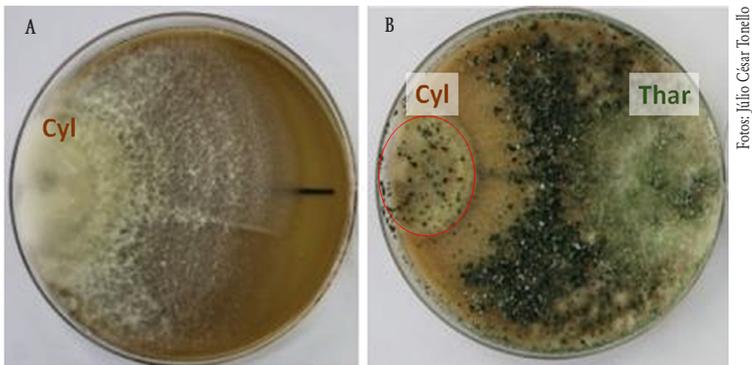


Figura 2. Efeito do confronto direto de *Cylindrocarpon* spp. e *Trichoderma harzianum*: (A) Somente o fungo *Cylindrocarpon* spp. (Cyl) e (B) *Cylindrocarpon* spp. e *T. harzianum* (Thar). A área demarcada de vermelha indica presença de pontos de esporulação de *T. harzianum* sobre o micélio de *Cylindrocarpon* spp.

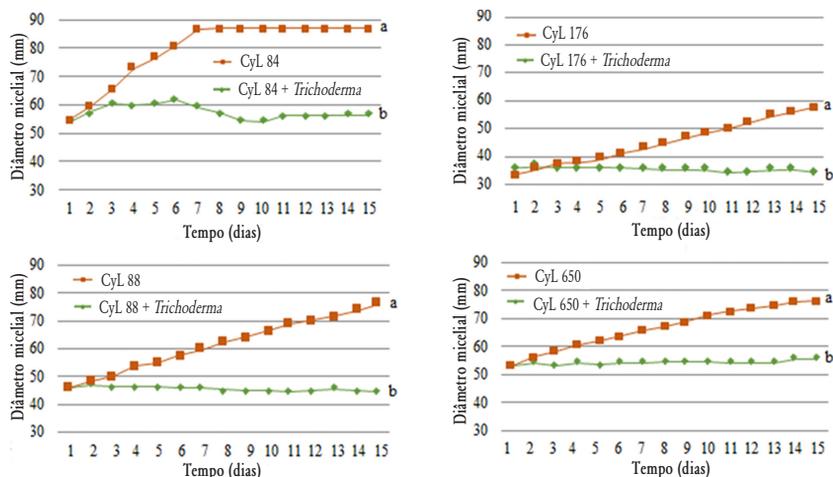


Figura 3. Evolução do crescimento micelial (mm) de isolados de *Cylindrocarpon* spp. (Cyl 84, Cyl 176, Cyl 88 e Cyl 650) em confronto direto com *Trichoderma harzianum*.

Fonte: Tonello et al., 2016a

A eficiência do uso de *T. harzianum* *in vitro* também foi verificado por Rusin (2017) em testes de antagonismo com *L. theobromae*, *L. brasiliense* isolados a partir de videiras sintomáticas do Nordeste Brasileiro e *B. dothidea* obtido em vinhedo da Serra gaúcha (Figura 4). Por confronto direto o *T. harzianum* proporcionou reduções de crescimento entre 24,6 e 62,2% para os isolados do gênero *Lasiodiplodia* e 18,8% para o isolado do gênero *Botryosphaeria*. No mesmo trabalho, o efeito dos metabólitos voláteis de *T. harzianum* não foi observado, indicando que a eficiência deste produto para os isolados testados é dada pela competição.

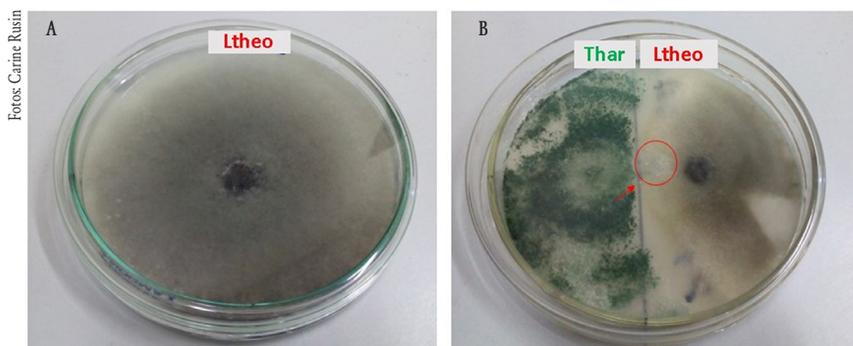


Figura 4. Efeito do confronto direto de *Lasiodiplodia theobromae* e *Trichoderma harzianum*: (A) Somente o fungo *L. theobromae* (Ltheo) e (B) *L. theobromae* e *T. harzianum* (Thar). A área demarcada de vermelha indica presença de pontos de esporulação de *T. harzianum* sobre o micélio de *L. theobromae*.

Eficiência e formas de utilização de *Trichoderma* spp. em videira

O uso de produtos à base de *Trichoderma* na viticultura pode ser feito em diferentes etapas do processo produtivo e do ciclo da planta. De maneira geral, a principal estratégia é utilizar este agente de biocontrole para proteção de ferimentos feitos na planta, desde o sistema radicular até a parte aérea.

Em trabalho realizado por Heckler (2015) utilizando diferentes produtos à base de *Trichoderma* para o controle de pé-preto em mudas de videira, foi observado que os produtos testados foram eficientes na redução do reisolamento de *C. pseudofasciculare* e no aumento da massa seca do sistema radicular. Todos os produtos demonstraram eficiência similar em reduzir o percentual de reisolamento, entre 14,4 a 26,4%. De forma diferente, Santos et al. (2016) não observaram redução no reisolamento de *Dactylonectria macrodidyma* em mudas de videira inoculadas.

Cabe ressaltar que forma de aplicação de produtos à base de *Trichoderma* é muito importante para obtenção de melhores resultados, pois este fungo tem a função de proteger o sistema radicular das plantas (Guzmán-Guzmán et al., 2018). É fundamental que o agente de biocontrole faça a proteção da planta antes que o fitopatógeno esteja na superfície da planta, Mutawila et al. (2011) observaram que a aplicação de *T. harzianum* nos ferimentos de poda antes da inoculação do fungo *P. chlamydospora* proporcionou o melhor resultado de controle. No caso do trabalho de Heckler (2015) e Santos et al. (2016), a aplicação dos produtos foi realizada em mistura no substrato e os fitopatógenos foram aplicados na superfície do sistema radicular.

Com a estratégia de aplicação de *Trichoderma* mergulhando as raízes de mudas de videira 2 a 3 horas em pré-plantio (Figura 5) e, posteriores aplicações com regas mensais, Tonello et al. (2016b) observaram que o aumento da presença do agente de biocontrole nas raízes proporcionou redução no reisolamento de *Cylindrocarpon* sp. após um ano no porta-enxerto IAC-572 'Jales'. No porta-enxerto 'SO4' foi observado uma menor presença do agente de biocontrole nas raízes mesmo nas maiores doses, o que refletiu em percentual maior de presença de *Cylindrocarpon* sp. (Figura 6).



Figura 5. Diferentes formas de aplicação de *Trichoderma* para controle de fitopatógenos habitantes do solo em videira. (A) Mergulhando as raízes pré-plantio e (B) rega das plantas próximas.

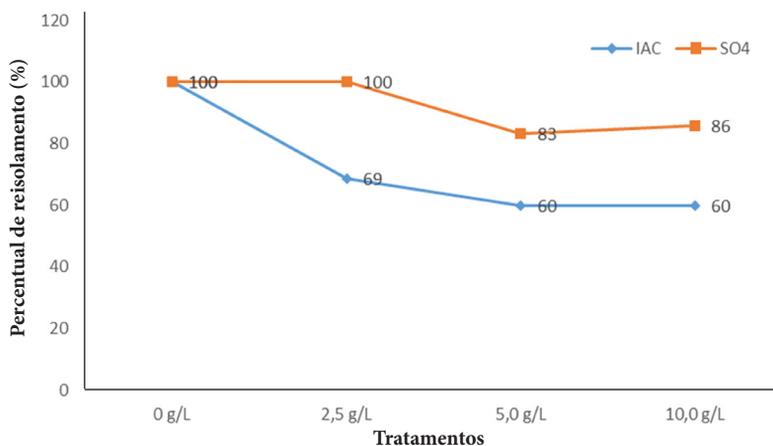


Figura 6. Redução da ocorrência de Pé-preto utilizando diferentes doses *Trichoderma harzianum* em porta-enxertos IAC-572 'Jales' e 'SO4'.

Fonte: Tonello et al., 2016b.

A eficiência de um produto comercial à base de *T. harzianum* na proteção de ferimentos foi testada por Rusin (2017) em mudas das cultivares-copa de videira Bordô (*Vitis labrusca*) e Syrah clone 174 (*Vitis vinifera*), ambas enxertadas sobre 'Paulsen 1103'. Seguindo a metodologia de Díaz; Latorre (2013), as mudas foram podadas, no local do ferimento da poda foi aplicado o tratamento com o auxílio de uma micropipeta, aplicando-se 2mL da solução de

4 gL⁻¹ de produto comercial a base de *T. harzianum* por fermento (Figura 7), 24 horas após aplicação dos tratamentos, as videiras foram inoculadas com discos miceliais de *B. dothidea* (isolado 164) e *L. theobromae* (isolado 307). Avaliando comprimento de descoloração vascular interna, percentual de reisolamento do patógeno e condições fisiológicas das videiras. Os experimentos foram realizados em período vegetativo e de dormência das plantas.



Fotos: Carine Ratin

Figura 7. Aplicação de *T. harzianum* com micropipeta em plantas em dormência (A, B) e em poda em verde (C). A área demarcada de vermelha indica o ferimento realizado com tesoura no momento da poda.

Em videiras cv. Syrah (Figura 8) e Bordô inoculadas com *L. theobromae* houve a redução do percentual de reisolamento do patógeno. Quando inoculado com *B. dothidea* o *Trichoderma* foi eficiente em videiras cv. Bordô. Em ambos os experimentos, reisolou-se *T. harzianum* nas plantas tratadas, 8 e 5 meses após a inoculação. O uso de *T. harzianum* demonstrou-se uma opção eficaz na proteção de ferimentos de ambas as cultivares, proporcionando redução nos níveis de infecção e não alterando as condições fisiológicas da planta.

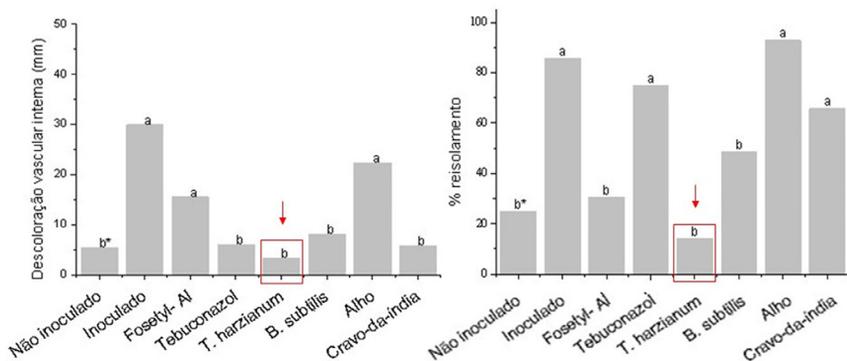


Figura 8. Descoloração vascular interna (mm) e porcentagem de reisolamento aos 5 meses depois da inoculação, após a poda de inverno, de *B. dothidea* em mudas de videiras cv. Syrah. *Médias seguidas pela mesma letra não se diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Guarapuava - PR, 2017.

Outra possibilidade da utilização de *Trichoderma* spp. seria para o controle de podridões de cacho. Almança et al. (2013b) observaram que um isolado de *Trichoderma* foi eficiente na redução da incidência de podridão-cinzenta da uva em cachos da cultivar Tempranillo, quando comparada a aplicações feitas com fungicidas químicos registrados para esta doença. Não foi observada diferença na severidade da doença.

Baseado em revisão de literatura é listado na Tabela 1 são apresentadas as possibilidades de utilização de produtos à *Trichoderma* em videira.

Tabela 1. Possibilidades de utilização de produtos à base de *Trichoderma* spp. em videira, conforme o local e a ocorrência das doenças.

Local	Forma de utilização	Doença de Petri	Pé-preto	Podridão descendente	Esca	Podridão cinzenta	Referências
Viveiro	Substrato		X				Heckler, 2015, Tonello et al. 2016a
	Hidratação de raízes		X				Di Marco et al., 2004; Fourie; Halleen, 2004, 2006; Halleen; Fourie 2016; Pertot et al., 2016; Tonello et al., 2016b
	Rega no solo		X				Tonello et al., 2016b
	Proteção de ferimentos em mudas	X	X	X			Fourie et al., 2001; Mutawila et al., 2011; Heckler, 2015
	Proteção de ferimentos no plantio de mudas	X	X	X			Mutawila et al., 2011; Rusin, 2017
Vinhedo	Hidratação de raízes		X				Mounier et al., 2014; Tonello et al. 2016b; Berlanas et al., 2018
	Rega no solo		X				Tonello et al., 2016b
	Proteção de ferimentos de poda	X		X	X		Di Marco et al., 2004; Halleen; Fourie, 2005; Kexiang et al., 2001; Pitt et al., 2010; Mutawila et al., 2011; Rusin 2017
	Aplicação no florescimento e cachos					X	Almança et al., 2013b

Considerações finais

Até o momento no Brasil diversos trabalhos têm sido realizados buscando viabilizar a eficiência do uso de *Trichoderma* spp. em viveiros e vinhedos. Os resultados obtidos em ensaios *in vitro* com isolados e com produtos comerciais disponíveis para outras culturas, têm demonstrado que é possível a utilização na cultura da videira. Entretanto, o que se observa é a necessidade de registro de produtos mais específicos para os fitopatógenos causadores das doenças nessa cultura. Ainda são necessários o desenvolvimento de projetos para a otimização de resultados, tornando o uso de *Trichoderma* na cultura da videira mais eficiente no manejo sustentável de doenças.

Referências

- AGUDELO-ROMERO, P.; ERBAN, A.; REGO, C.; CARBONELL-BEJERANO, P.; NASCIMENTO, T.; SOUSA, L.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J.M.; KOPKA, J.; FORTES, A. M. Transcriptome and metabolome reprogramming in *Vitis vinifera* cv. Trincadeira berries upon infection with *Botrytis cinerea*. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 1769-1785, 2015.
- ALMANÇA, M. A. K.; ABREU, C.; SCOPEL, F.; BENEDETTI, M.; HALLEEN, F.; CAVALCANTI, F. Evidências morfológicas da ocorrência de *Phaeoaniella chlamydospora* em videiras no Estado do Rio Grande do Sul. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013a. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado Técnico, 134).
- ALMANÇA, M. A. K.; GIOTTO, G.; CAMPOS, T. C.; PEREGRINO, I. Cinza nefasto. **CULTIVAR HF**, v. 81, p. 18-19, 2013b.
- ALMANÇA, M. A. K.; LERIN, S.; CAVALCANTI, F. R. Doenças da videira. **Informe Agropecuário**, v. 36, p. 70-80, 2015.
- BERLANAS, C.; ANDRÉS-SODUPE, M.; LÓPEZ-MANZANARES, B.; MALDONADO GONZÁLEZ, M. M.; GRAMAJE, D. Effect of white mustard cover crop residue, soil chemical fumigation and *Trichoderma* spp. root treatment on black foot disease control in grapevine. **Pest Management Science**, v. 74, n. 12, p. 2864-2873, 2018.
- BETTIO, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; JÚNIOR, T. J. P.; CORREA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).
- CAVALCANTI, F. R.; BUENO, C. J.; ALMANÇA, M. A. K. Declínio e morte de plantas de videira. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013. 44 p. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 82).
- DI MARCO, S.; OSTI, F.; CESARI, A. Experiments on the Control of Esca by *Trichoderma*. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 43, p. 108-115, 2004.
- DÍAZ, G. A.; LATORRE, B. A. Efficacy of paste and liquid fungicide formulations to protect pruning wounds against pathogens associated with grapevine trunk diseases in Chile. **Crop Protection**, v. 46, p. 106-112, 2013.
- ELMER, P. A. G.; REGLINSKI, T. Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes. **Plant Pathology**, v. 55, p. 155-177, 2006.
- FEDRIZZI, B.; TOSI, E.; SIMONATO, B.; FINATO, F.; CIPRIANI, M.; CARAMIA, G.; ZAPPAROLI, G. Changes in wine aroma composition according to botrytized berry percentage: a preliminary study on Amarone wine. **Food Technology and Biotechnology**, v. 49, n. 4, p. 529-535, 2011.
- FONTAINE, F.; GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J.; SMART, R.; NAGY, Z. A.; BORGIO, M.; REGO, C.; CORIO-COSTEI, M. F. **Grapevine trunk diseases: a review**. Paris: OIV, 2016. 24 p.
- FOURIE, P. H.; HALLEEN, F.; VAN DER VYVER, J.; SCHREUDER, W. Effect of *Trichoderma* treatments on the occurrence of decline pathogens in the roots and rootstocks of nursery grapevines. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 40, p. 473-478, 2001.
- FOURIE, P. H.; HALLEEN, F. Occurrence of grapevine trunk disease pathogens in rootstocks mother plants in South Africa. **Australasian Plant Pathology**, v. 33, n. 2, p. 313-315, 2004.
- FOURIE, P. H.; HALLEEN, F. Chemical and biological protection of grapevine propagation material from trunk disease pathogens. **European Journal of Plant Pathology**, v. 116, n. 4, p. 255-265, 2006.
- GOMES, C. B. G.; CAMPOS, A. D.; COSTA, F. A. **Levantamento de nematoides fitoparasitas associados a pomares de videira em declínio da Serra Gaúcha**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 16 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 110).
- GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M. D.; OLMEDO-MONFIL, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 109, p. 6-16, 2018.
- HALLEEN, F.; VAN DER VYVER, J.; FOURIE, P.; SCHREUDER, W. Effects of *Trichoderma* treatments on the occurrence of decline pathogens in the roots and rootstocks of nursery grapevines. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 40, p. 473-478, 2001.
- HALLEEN, F.; FOURIE, P. Protection of grapevine pruning wounds against fungal infections. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 44, p. 117-118, 2005.

- HALLEEN, F.; FOURIE, P. H. An integrated strategy for the proactive management of grapevine trunk disease pathogen infections in grapevine nurseries. *South African Journal of Enology and Viticulture*, v. 37, n. 2, p. 104-114, 2016.
- HECKLER, L. I. **Rootstocks reaction to black foot and biological control of *Campylocarpon pseudofusiculare* on vine**. 2015. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- HUNT, J.; GALE, D.; HARVEY, I. Evaluation of *Trichoderma* as bio-control for protection against wood-invading fungi implicated in grapevine trunk diseases. *Phytopathologia Mediterranea*, v. 40, p. 485-486, 2001.
- IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Sistema IBGE de Recuperação Automática - Sidra. Disponível em <: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>>. Acesso em: 18 nov. 2018.
- JOHN, S.; WICKS, T.; HUNT, J.; SCOTT, E. Colonisation of grapevine wood by *Trichoderma harzianum* and *Eutypa lata*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, v. 14, p. 18-24, 2008.
- KEXIANG, G.; XIAO GUANG, L.; RUNFANG, G.; BAOJIA, G.; TIANBO, Z. Mycoparasitism of *Trichoderma* spp. on five plant pathogenic fungi. *Journal of Shandong Agricultural University*, v. 33, p. 37-42, 2001.
- MELLO, L. M. R.; MACHADO, C. A. E.; SILVA, S. M. R.; ZANESCO, R. Dados cadastrais da viticultura do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015. In: MELLO, L. M. R.; MACHADO, C. A. E. (Ed.). **Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015**. Brasília, DF: Embrapa, p. 9-30, 2017. Capítulo 1. Disponível em: < http://www.cnpv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/dados/dados_cadastrais_descricao.html>. Acesso em: 18 nov. 2018.
- MOLITOR, D.; BEHR, M.; HOFFMANN, L.; EVERS, D. Impact of grape cluster division on cluster morphology and bunch rot epidemic. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 63, p. 508-514, 2012.
- MOUNIER, E.; CORTES, F.; CADIOUS, M.; PAJOT, E. The benefits of *Trichoderma atroviride* I-1237 for the protection of grapevines against trunk diseases: from the nursery to the vineyard. *Phytopathologia Mediterranea*, v. 53, p. 591-592, 2014.
- MUTAWILA, C.; FOURIE, P.; HALLEEN, F.; MOSTERT, L. Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, v. 50, p. 264-276, 2011.
- PERAZZOLLI, M.; ROATTI, B.; BOZZA, E.; PERTOT, I. *Trichoderma harzianum* T39 induces resistance against downy mildew by priming for defense without costs for grapevine. *Biological Control*, v. 58, n. 1, p. 74-82, 2011.
- PERTOT, I.; PRODRUTTI, D.; COLOMBINI, A.; PASINI, L. *Trichoderma atroviride* SC1 prevents *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* infection of grapevine plants during the grafting process in nurseries. *BioControl*, v. 61, n. 3, p. 257-267, 2016.
- PITT, W.; SOSNOWSKI, M.; TAYLOR, A.; RUJUAN, H.; QUIRK, L.; HACKETT, S.; SOMERS, A.; STEEL, C.; SAVOCCHIA, S. Management of *Botryosphaeria* canker of grapevines. *Australian Viticulture-Practical Vineyard Management*, v. 14, n. 2, p. 52-56, 2010.
- REMEDIER: **Eco-friendly solution against soil-borne diseases**. Milan: Isagro, 2017. Disponível em: <<https://www.isagro.com/static/upload/31-/31-remedier.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- ROATTI, B.; PERAZZOLLI, M.; GESSLER, C.; PERTOT, I. Abiotic stresses affect *Trichoderma harzianum* T39-induced resistance to downy mildew in grapevine. *Phytopathology*, v. 103, n. 12, p.1227-1234, 2013.
- ROSA, S. M. **Cartilha de vinhos do Brasil**. 2.ed. Bento Gonçalves: IBRAVIN, 2016. 56p.
- RUSIN, C.; OLIVEIRA, M. R.; DEUS, C. N. S.; NONDILLO, A.; ALMANÇA, M. A. K. Presença de fungos relacionados a doenças de tronco e de pérola-da-terra em plantas de videira com sintoma de declínio. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 14.; Fraiburgo, 2015. **Anais...** Caçador: Epagri, 2015. v. 2, p. 108
- RUSIN, C. **Agentes biológicos, extratos vegetais e produtos químicos no controle de fungos associados a doenças de tronco da videira**. 2017. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, PR.
- SANTOS, R. F.; HECKLER, L. I.; LAZAROTTO, M.; GARRIDO, L. R.; REGO, C.; BLUME, E. *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* for control of *Dactylonectria macrodidyma* in grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, v. 55, n. 2, p. 293-300, 2016.
- SHTIENBERG, D. Rational management of Botrytis-incited diseases: Integration of control measures and use of warning systems. In:

ELAD, Y.; WILLIAMSON, K.; TUDZYNSKI, P.; DELEN, N. (Ed.). *Botrytis: biology, pathology and control*. Dordrecht: Springer, 2007. p. 335-347.

SÓNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. *Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 32p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 56)

TONELLO, J. C.; PACINI, B. A. H.; COMACHIO, L. B.; KANEKO, L.; ALMANÇA, M. A. K. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* à diferentes isolados de *Cylindrocarpon* spp. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA SOBRE AGRICULTURA SUSTENTÁVEL, 4; ENCONTRO CAXIENSE PARA O DESENVOLVIMENTO DA AGRICULTURA ORGÂNICA E SUSTENTÁVEL, 6. *Anais...* Caxias do Sul, 2016a. v. 1, p.58.

TONELLO, J. C.; LERIN, S.; OLIVEIRA, M. R.; GROHS, D. S.; ALMANÇA, M. A. K. Uso de *Trichoderma harzianum* como estratégia para redução de impactos causados pelo pé preto na implantação de vinhedos. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 12.; SIMPOSIO DE MANEJO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 16. *Anais...* Lavras: UFLA, NEFIT, 2016b. v.1. p.253

WILCOX, W. F. Management of grape diseases in the United States. *Revista Agropecuária Catarinense*, v. 27, n.2 (Suplemento), p. 83-88, 2014.

Uso do *Trichoderma* em culturas florestais

Álvaro Figueredo dos Santos

Heloisa Thomazi Kleina

Eduardo Jun Fuzitani

Henrique da Silva Silveira Duarte

Introdução

O setor florestal tem uma grande importância para a economia brasileira, especialmente nos setores de celulose, papel, móveis, painéis e energia, com uma participação no PIB de 1,2% (IBÁ, 2017) e geração de 3,7 milhões de empregos (diretos, indiretos e resultantes do efeito renda). Além disso, a oferta de matéria-prima oriunda de florestas plantadas ajuda na redução da pressão sobre as florestas nativas (Scolforo; Ferraz Filho, 2013).

As espécies florestais mais plantadas no Brasil são o eucalipto (*Eucalyptus* spp.), com quase seis milhões de hectares, distribuído em quase todo o Brasil, seguido do pínus (*Pinus taeda* e *P. elliottii*) com cerca de dois milhões de hectares, mais limitado à região Sul. Além destas espécies temos a seringueira (*Hevea brasiliensis* (Wild. ex. A. Juss) Mell. Arg.), com 229.000 ha, acácia-negra (*Acacia merrisii* Wild.), com 160.000 ha, paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke), com 90.000 ha, teca (*Tectona grandis* L. f.), com 87.000 ha e o álamo (*Populus deltoides*) com 4.200 ha. Temos também as espécies florestais não madeireiras como a erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.), com 98.000 ha (IBÁ, 2017) e a pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth. var. *gasipaes* Henderson), com 20.000 ha (Penteado Junior et al., 2014).

Devido à importância socioeconômica que essas culturas apresentam, torna-se necessário maior atenção para seus problemas fitossanitários, a fim de que estes não venham a limitar seus cultivos no Brasil. Algumas doenças têm causado danos significativos e há poucas pesquisas na área florestal buscando estratégias alternativas de controle, especialmente com medidas de controle biológico. Assim, neste capítulo serão discutidos oito estudos de caso, com ênfase para o controle biológico utilizando *Trichoderma* em alguns patossistemas florestais, conforme

segue: *Rosellinia bunodes* x álamo, *Phytophthora palmivora* x pupunheira, *Armillaria* sp. x pínus, *Fusarium* spp. x erva-mate, *Lasiodiplodia theobromae* x teca, *Rhizoctonia solani* x eucalipto, *Cylindrocladium* spp. x eucalipto e *Fusarium* spp. x sementes de pínus.

Estudos de caso

Roseliniose do álamo

A roseliniose do álamo é considerada uma doença relativamente nova no Brasil, sendo relatada pela primeira vez em plantios comerciais no Estado do Paraná no ano de 2010 (Santos et al., 2017). O agente causal é o fungo *R. bunodes* (Berk. et Br.) Sacc., patógeno habitante do solo que possui capacidade anaeróbica, sobrevivendo durante anos em materiais vegetais em decomposição (Hoopen; Krauss, 2006). Este ascomiceto penetra nas raízes de seus hospedeiros, causando podridões (Santos et al., 2017). Os sintomas reflexos, como o amarelecimento, a murcha das folhas e o secamento de ramos tornam-se visíveis em até 14 dias após a inoculação de mudas de álamo com o fitopatógeno (Kleina et al., 2018). A rápida colonização das raízes pelo fungo reduz o transporte de seiva para a parte aérea, culminando com a morte prematura do vegetal. A temperatura ideal para o crescimento micelial de *R. bunodes* se situa próxima a 24 °C (Kleina et al., 2018).

R. bunodes produz peritécios lisos e escuros, contendo em seu interior ascósporos unicelulares (Hoopen; Krauss, 2006), no entanto, são difíceis de serem encontrados nas árvores afetadas. A reprodução assexual ocorre por meio de conídios, relatado como sendo do gênero *Dematophora* (Sivanesan; Holliday, 1972). As hifas de *R. bunodes* apresentam inchaços piriformes nos septos (Figura 1A), que podem se agregar formando rizomorfias (Figura 1B). *R. bunodes* ocorre preferencialmente em regiões tropicais, com relatos na América Central e do Sul, Oeste da África e na Ásia (Hoopen; Krauss, 2006).

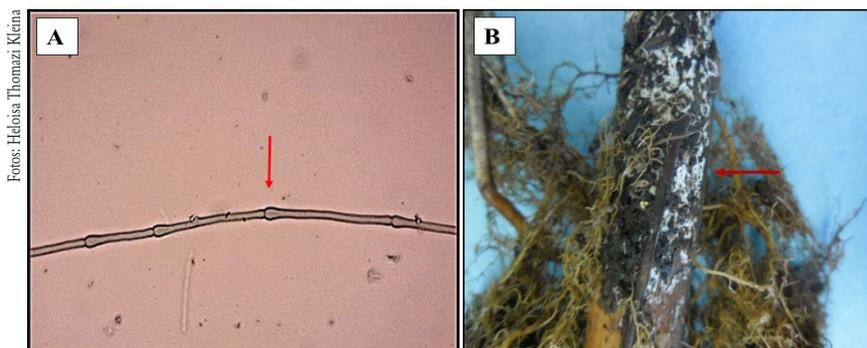


Figura 1. A) Hifa de *R. bunodes* com septos piriformes (seta) em aumento de 400x; B) Rizomorfias de *R. bunodes* (seta) nas raízes de mudas de álamo. Colombo (PR), Brasil.

Por se tratar de um fungo generalista, *Rosellinia* é capaz de infectar uma ampla gama de hospedeiros. Waterston (1941), Saccas (1956) e Aranzazu et al. (1999) listaram a sua ocorrência em culturas de importância econômica, como o abacate (*Persea americana* Mill), espécies de bananas triploides (*Musa* spp.), café (*Coffea* sp.), cacau (*Theobroma cacao* L.), lima (*Citrus aurantifolia* Christm. Swingle), noz-moscada (*Myristica fragrans* Houtt.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), macadâmia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche), ingá (*Inga* spp.), além de plantas ornamentais, como a corticeira (*Erythrina* sp.). Na área florestal, *Rosellinia* sp. já foi relatada em araucária (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) (Auer; Grigoletti, 1997) e em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) (Grigoletti; Auer, 1996). A roseliniose pode se manifestar em qualquer fase do desenvolvimento do hospedeiro, podendo atacar plantas jovens e adultas.

A utilização de controle cultural, como a erradicação de plantas doentes e a remoção de resíduos lenhosos em decomposição são as únicas opções de controle para esta doença (May-De-Mio et al., 2016). Contudo, estas medidas não são suficientes para reduzir o potencial de inóculo do patógeno no solo.

Na busca de estratégias alternativas de controle, o uso do controle biológico vem de encontro com as necessidades desse sistema. Em ensaios *in vitro* utilizando o fungo antagonista *Trichoderma* sp., Thomazi (2015) evidenciou a inibição do crescimento micelial de *R. bunodes* utilizando os métodos de culturas pareadas, liberação de compostos voláteis e não voláteis. Dentre os métodos utilizados nesta pesquisa, a liberação de compostos voláteis foi a mais eficiente, apresentando uma redução média de 59% do crescimento micelial de *R. bunodes*, seguida de 27% e 24%, para o teste de culturas pareadas e compostos não voláteis, respectivamente. Diversos autores também constataram respostas inibitórias pela ação de *Trichoderma* spp. no crescimento micelial de diferentes espécies de *Rosellinia* (Szteinberg et al., 1987; Ruano-Rosa et al., 2010). Pasini et al. (2016) relataram que o crescimento micelial *in vitro* de *R. necatrix* diminuiu após o segundo dia de pareamento com o isolado de *T. atroviride*, sendo que ao 7º dia a porcentagem de inibição do crescimento radial do fitopatógeno atingiu 54%.

Em experimentos *in vivo*, mudas de álamo plantadas 14 dias após a infestação do substrato com *R. bunodes* e *T. asperellum* apresentaram a menor incidência da doença (Figura 2) e a menor área abaixo da curva de progresso da doença relativa (Figura 3) (Thomazi, 2015). Esta resposta pode estar relacionada ao maior tempo de exposição entre o agente antagonista e o patógeno no substrato, sem a presença do hospedeiro, o que gera uma interação competitiva por recursos específicos, como água, nutrientes, espaço e luz (Thomazi, 2015). Além disso, essas condições podem favorecer o micoparasitismo (Vinale et al., 2008), provocando uma redução da densidade de inóculo de *R. bunodes*, devido alterações em fatores determinantes da doença, como o crescimento, a infectividade e a agressividade (Pariaud et al., 2009) e a redução do potencial de inóculo.

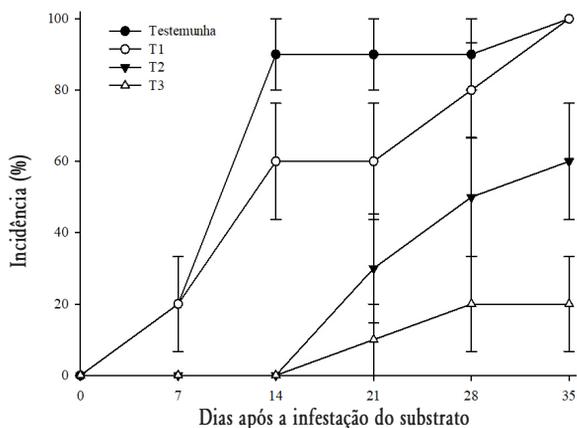


Figura 2. Incidência (%) da roselinose em mudas de álamo mantidas sob diferentes tratamentos: Testemunha: mudas plantadas em substrato contendo somente *R. bunodes*; Tratamento 1: mudas plantadas no mesmo dia da adição de *R. bunodes* e *T. asperellum* ao substrato; Tratamento 2: mudas plantadas sete dias após a adição de *R. bunodes* e de *T. asperellum* ao substrato; Tratamento 3: mudas plantadas 14 dias após a adição de *R. bunodes* e de *T. asperellum* ao substrato. As barras representam o erro padrão. Colombo (PR), Brasil.

Fonte: Thomazi, 2015.

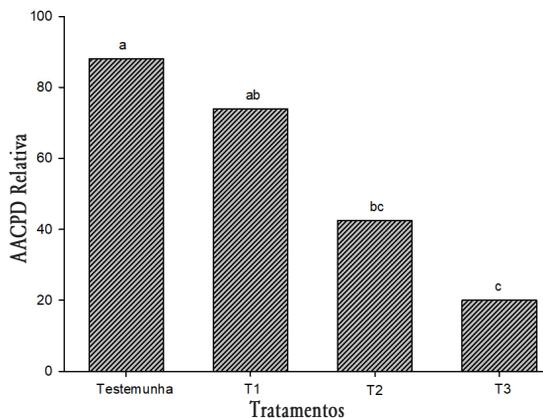


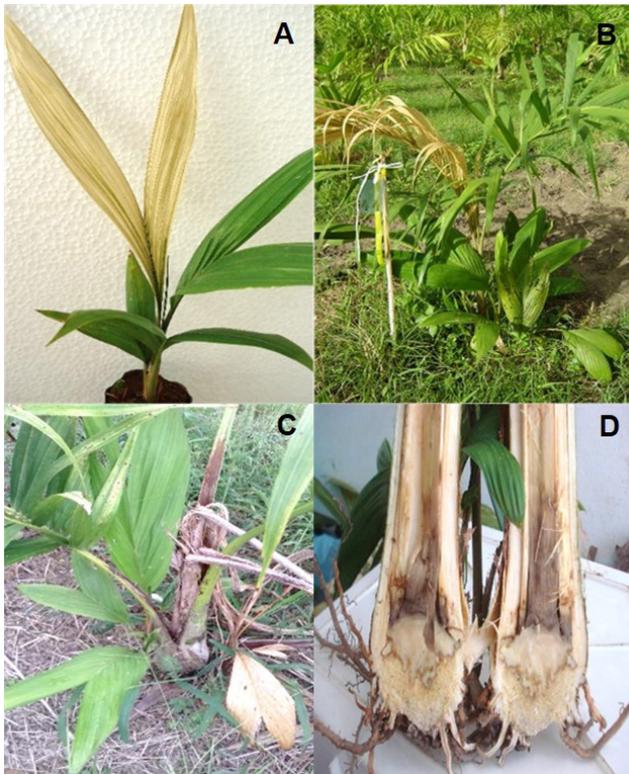
Figura 3. Área abaixo da curva de progresso da doença relativa (AACPD R) para mudas de álamo plantadas em substrato infestado com *R. bunodes* e *T.a sperellum*. Testemunha: mudas plantadas em substrato contendo somente *R. bunodes*; Tratamento 1: mudas plantadas no mesmo dia da adição de *R. bunodes* e de *T. asperellum* ao substrato; Tratamento 2: mudas plantadas sete dias após a adição de *R. bunodes* e de *T. asperellum* ao substrato; Tratamento 3: mudas plantadas 14 dias após a adição de *R. bunodes* e de *T. asperellum* ao substrato. Colombo (PR), Brasil, 2014. *As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Colombo (PR), Brasil.

Fonte: Thomazi, 2015.

Podridão da base do estipe da pupunheira

A podridão da base do estipe (PBE) causada por *P. palmivora* ocorre em plantas jovens e adultas de pupunheira, sendo frequente em viveiros e plantios de pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth. var. *gasipaes* Henderson) (Santos et al., 2008). As plantas doentes distribuem-se esparsamente nos plantios e os sintomas caracterizam-se pela murcha e amarelecimento da primeira folha aberta, seguido do amarelecimento e seca das demais folhas, podendo provocar a morte da planta-mãe e, às vezes, dos perfilhos e de toda a touceira. Ao se realizar cortes longitudinais e transversais das plantas sintomáticas é possível observar o escurecimento dos tecidos internos e podridão generalizada do estipe (Santos et al., 2008) (Figura 4). Uma só espécie de *Phytophthora* tem sido associada com a doença, *P. palmivora* Butler Butler (1919) (Volpe, 2016).

Até o momento, não se dispõe de medidas efetivas de controle curativo da PBE. Os genótipos comerciais não são resistentes (Fuzitani et al., 2018), assim como o uso do fosfito de potássio tem-se mostrado efetivo apenas quando aplicado preventivamente (Fuzitani et al., 2018).



Fotos: Eduardo Jun Fuzitani, Wilson da Silva Moraes.

Figura 4. Sintomas externos da podridão da base do estipe em muda de pupunheira (A) e em planta jovem (B e C); sintomas internos na base do estipe em plantas jovens, após corte longitudinal (D).

2013) e apenas pesquisas com controle curativo usando fungicidas são promissoras (Moraes et al., 2011). No entanto, a pupunheira se sobressai sobre todas as espécies produtoras de palmito, pois permite a comercialização *in natura* e o sistema de produção demanda baixo uso de produtos químicos (Santos et al., 2008; Pentead Junior, et al., 2014). Diante disso, uma medida alternativa é a utilização do controle biológico com o fungo *Trichoderma*. Em vários patossistemas (Teixeira et al., 2012; Nashwa et al. 2008; Lisboa et al., 2007) tem sido relatado o sucesso deste fungo antagonista.

Na pupunheira, há poucos estudos realizados com a PBE (Fuzitani, 2018). No entanto, as pesquisas conduzidas por Fuzitani (2018) demonstraram o potencial de controle de *Trichoderma in vitro*, em mudas e plantas adultas. Em estudos *in vitro*, isolados comerciais de *T. harzianum* e *T. asperellum* reduziram o crescimento micelial de isolados *P. palmivora* de pupunheira em até 94% (Fuzitani, 2018). As aplicações preventivas de *T. harzianum* e *T. asperellum* proporcionaram menor incidência da doença e maior sobrevivência de mudas, além do efeito adicional em altura, diâmetro do colo e no peso fresco das raízes. Em plantas adultas, as touceiras sintomáticas tratadas com *Trichoderma* mostraram redução da incidência e severidade da doença (Fuzitani, 2018).

Armilariose do pínus

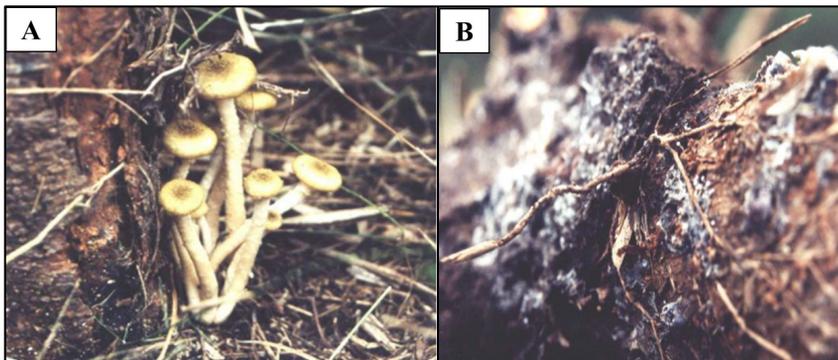
A armilariose causada por *Armillaria* sp. é considerada a principal doença em pínus (*Pinus* spp.) no Brasil (Auer; Santos, 2016), tendo sido relatada pela primeira vez em raízes de plântulas jovens de *Pinus elliottii* no Estado de Paraná e Santa Catarina no ano de 1961 (May, 1962). O agente causal é o fungo *Armillaria* (Fr.) Stauder, patógeno habitante de solo que requer quantidades significativas de substrato energético para a sua sobrevivência (Ferreira, 1989). Este basidiomiceto provoca o apodrecimento da casca, do colo e das raízes das plantas, sendo facilmente diagnosticado pela exsudação de resina que se solidifica nos órgãos atacados. Na parte aérea, os sintomas são caracterizados pelo amarelecimento geral da copa, seguido pelo bronzeamento e secamento das acículas, semelhante ao que ocorre com outras podridões de raízes (Gomes, 2005). A morte prematura da planta ocorre somente quando o sistema radicular se encontra comprometido pela colonização do patógeno (Gomes, 2005). A severidade da doença é maior em árvores que se encontram debilitadas pela ação de fatores bióticos e abióticos, como a má formação do sistema radicular e o manejo inadequado (Ivory, 1987).

O gênero *Armillaria* caracteriza-se pela formação de basidiocarpos, que são corpos de frutificação que se formam nas áreas adjacentes ou sobre árvores mortas ou restos de madeira em decomposição (Gomes, 2005). Essas estruturas são responsáveis pela produção de basidiósporos que, quando disseminados pelo vento, dão origem a doença (Figura 5A). A infecção também pode ocorrer pela formação de micélio ou rizomorfas (Figura 5B), presentes em restos

vegetais lenhosos como tocos, galhos ou raízes (Ferreira, 1989). A temperatura ótima de crescimento micelial para esse patógeno situa-se em torno de 25 °C (Rishbeth, 1968). Por outro lado, o desenvolvimento de rizomorfias ocorre a 22 °C (Gomes, 2005).

Trinta e cinco espécies de *Armillaria* já foram descritas (Volk; Burdsall, 1995; Kirk et al., 2008), sendo que 10 são encontradas na América Central e do Sul (Pegler, 2000). A distribuição geográfica desse fungo fica restrita aos locais com temperaturas amenas, ocorrendo em menor intensidade em regiões de clima subtropical (Rishbeth, 1968; Rishbeth, 1978). O gênero *Armillaria* possui uma ampla gama de gêneros de hospedeiros florestais (*Abies*, *Acacia*, *Acer*, *Alnus*, *Araucaria*, *Betula*, *Castanea*, *Chamaecyparis*, *Criptomeria*, *Cupressus*, *Fagus*, *Juglans*, *Juniperus*, *Larix*, *Libocedrus*, *Morus*, *Platanus*, *Pinus*, *Populus*, *Pseudotsuga*, *Quercus*, *Robinia*, *Sequoia*, *Thuja*, *Tsuga*), também sendo relatado em frutíferas (ameixa, banana, cerejeira, citros, macieira, nogueira, oliveira, pereira e videira) e em plantas ornamentais (rododendro e azaléia) (Auer et al., 2004). No Brasil, *Armillaria* sp. foi constatada em *Pinus* spp., *Araucaria* sp. e *Eucalyptus* sp., nos estados da Região Sul e Sudeste (Auer; Santos, 2016). A armilariose pode afetar tanto as plantas jovens de pinus (inferior a 5 anos), quanto árvores adultas (acima de 15 anos), comprometendo todo o ciclo produtivo (Gomes, 2005).

O controle da armilariose em plantações de *Pinus* spp. se baseia em práticas de erradicação, como a destoca e o recolhimento de restos vegetais, visando minimizar a quantidade de inóculo presente na área para o próximo plantio (Ivory, 1987). Contudo, o uso dessas técnicas de limpeza são demoradas, onerosas e não podem ser aplicadas em locais que apresentem topográfica acidentada. Em vista disso, o controle biológico desponta como uma alternativa de controle (Fox, 2000; Valdebenito-Sanhueza, 2003).



Fotos: Celso Garcia Auer

Figura 5. A) Basiocarpus de *Armillaria* sp. formados em árvores mortas de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. B) Rizomorfias externas de *Armillaria* sp., sobre a casca de árvore pronta para a disseminação pelo solo.

Gomes; Auer (2003) ao avaliarem o antagonismo *in vitro* de *T. viride* e *Armillaria* sp., relataram que embora *T. viride* tenha demonstrado uma rápida colonização do micélio de *Armillaria* através do micoparasitismo, não foi possível constatar uma redução significativa da biomassa seca do patógeno ao final do experimento. Segundo Aytoun (1953) citado por Raziq (2000), o grau de micoparasitismo *in vitro* de *Armillaria* por *Trichoderma* pode variar de acordo com o pH do meio. Faixas mais ácidas de pH (pH 3,4) favoreceram o micoparasitismo entre essas espécies, entretanto, em pH mais próximos a neutralidade (pH 7,0) inibiram o antagonismo.

Em ensaios de campo, diversos são os exemplos do controle integrado (químico + biológico) de *Armillaria* citados na literatura. Munnecke et al. (1973) verificaram que a fumigação com bissulfito de carbono e brometo de metila reduziram o crescimento de *Armillaria*, por outro lado, *T. viride* se mostrou mais tolerante aos químicos e mais adaptável às condições ambientais adversas ao patógeno, sendo capaz de desenvolver uma ação antagonista contra *Armillaria* (Munnecke et al., 1981). Gomes (2005) demonstrou uma redução do avanço da armilariose em plantios jovens de pinus (menos de dois anos de idade) usando grãos de trigo colonizados por *T. viride* em associação à aplicação de formaldeído (2%). *T. viride* também apresentou capacidade antagônica ao crescimento de *Armillaria* em segmentos de raízes artificialmente fumigados com bissulfito de carbono (Bliss, 1951 citado por Gomes, 2005). O mesmo autor ainda confirma que o patógeno foi eliminado, não pela ação fungicida do produto químico, mas sim pelo aumento da população de *Trichoderma* sp. no solo. Em resumo, os fungos antagonistas devem ser estimulados a aumentar sua população e se estabelecer no solo tratado, tornando-se prováveis agentes de biocontrole contra microrganismos fitopatogênicos (Raziq, 2000).

Fusariose da erva-mate

A fusariose, causada por *Fusarium* spp., é a principal doença da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) no Brasil. As espécies de maior ocorrência são *F. oxysporum* Schlecht. e *F. solani* (Mart.) Sacc., juntamente com *F. tricinctum* (Corda) Sacc., este último menos frequente. Os sintomas reflexos na parte aérea são caracterizados pelo amarelecimento e queda excessiva das folhas, estagnação do crescimento, morte parcial e, em casos mais graves, morte prematura da planta (Poletto et al., 2006; Poletto et al., 2007). A podridão de raízes pode ocorrer tanto em sementeiras, como em mudas recém-plantadas, comumente chamadas de damping off de pré e pós emergência (Poletto et al., 2005; Poletto et al., 2006; Poletto et al., 2007). Se não for controlada, a doença pode se manifestar na forma de reboleira, atingindo áreas maiores no plantio (Poletto, 2010).

O fungo mitospórico *Fusarium* spp. é considerado habitante do solo e está presente nas mais distintas regiões geográficas, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (Burgess

et al., 1996), podendo sobreviver por longos períodos na forma de clamidósporos (Milanesi, 2009). Devida a diversidade relacionada a atributos fisiológicos, morfológicos e ecológicos, o gênero *Fusarium* é conhecido pela ampla variabilidade genética (Burgess et al., 1996; Oliveira; Costa, 2002), podendo causar doenças em diversos hospedeiros de importância econômica, como grãos (podridão radicular vermelha em soja causada por *F. solani*; *Giberella* em trigo e milho causada por diferentes membros do complexo de espécies *F. graminearum* (FGSC), frutíferas (mal-do-panamá da bananeira causado por *F. oxysporum* f. sp. *cubense*; malformação da mangueira causada por *F. magiferae*) e olerícolas (murcha-de-fusário em tomateiro causado por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) (Michereff et al., 2005). Em espécies florestais, esse patógeno é responsável por diversas podridões de raízes, causando sintomas de damping-off de pré e pós-emergência e redução da germinação de sementes em viveiros de coníferas (Martín-Pinto et al., 2008), como o pínus (Maciel et al., 2013).

As espécies de *Fusarium* produzem macroconídios hialinos, geralmente septados e os microconídios podem apresentar-se de diferentes formas: ovais, reniformes, obovoídes, com a base truncada, piriformes, napiformes ou globosos. Os clamidósporos podem ser presentes ou ausentes (Hawksworth et al., 1995). A temperatura ótima de crescimento micelial para esse patógeno situa-se em torno de 25 °C em luz contínua, já a esporulação ocorre a 30 °C no escuro (Singh et al., 2017). Áreas com elevada incidência luminosa, alto teor de matéria orgânica no solo e umidade excessiva favorecem a população de *Fusarium* spp., agravando a doença (Poletto, 2008).

O manejo preventivo da fusariose da erva-mate baseia-se na desinfestação do substrato e na drenagem das áreas, a fim de evitar o acúmulo de água no solo. A retirada de plântulas sintomáticas também é utilizada como uma forma de conter a disseminação do patógeno. Após a detecção da doença no campo, o controle químico foi relatado por Grigoletti; Auer (1996) como sendo pouco eficiente.

Em experimentos *in vitro*, Poletto (2008) concluiu que isolados de *Trichoderma* sp. foram eficientes na supressão de *Fusarium* sp., impedindo quase que totalmente o crescimento do patógeno. No entanto, em experimentos de biocontrole em ervais contaminados pela fusariose, este autor verificou que a introdução de produtos comerciais à base de *Trichoderma* no solo não foi eficiente no estabelecimento de uma população antagonista significativa para a supressão do patógeno. Algumas hipóteses que explicam o insucesso do tratamento foram levantadas pelo autor, como a viabilidade e adaptação do antagonista ao meio inserido (pH, nutrientes, temperatura e umidade desfavoráveis ao agente benéfico), a presença de exsudatos radiculares da erva-mate e a ausência de inoculações frequentes de *Trichoderma* na área. Estudos adicionais precisam ser realizados para melhorar o conhecimento sobre o comportamento do antagonista no ambiente dos ervais.

Cancro-da-teca

As principais doenças que afetam a cultura da teca são a ferrugem (*Olivea tectonae*), murcha-de-ceratocystis (*Ceratocystis fimbriata*) e o cancro-da-teca causado por *Lasiodiplodia theobromae* (Caldeira et al., 2014; Borges et al., 2018).

L. theobromae é um fitopatógeno cosmopolita, polífago e oportunista, com pouca especialização patogênica (Punithalingam, 1980). Além da teca, *L. theobromae* ataca várias espécies perenes, como cacau, eucalipto, manga e seringueira causando sintomas de murcha, cancro, podridão basal de frutos e do tronco, secamento, morte dos ramos e morte da planta (Cardoso et al., 1998).

O controle químico para este tipo de doença utilizado isoladamente é pouco eficiente, necessitando da adoção de outras medidas de controle para o manejo da doença. Devido a isso, Borges et al., (2018) avaliou o efeito *in vitro* e *in vivo* de diversos isolados de *Trichoderma* spp. no controle do cancro-da-teca. No teste *in vitro*, os isolados de *Trichoderma* spp. inibiram o crescimento micelial de alguns isolados de *L. theobromae*. Quando esses isolados foram avaliados *in vivo*, de forma preventiva, observou-se variação nos níveis de controle, dependendo do isolado de *L. theobromae* e da interação antagonista-clone. Novas pesquisas precisam ser realizadas para elucidar estes questionamentos.

Mela-de-rhizoctonia do eucalipto

A mela-de-rhizoctonia, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kühn (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) é um dos principais patógenos que ocorrem na cultura do eucalipto (*Eucalyptus* spp.). A doença se inicia nas folhas de ramos rasteiros, por meio de crescimento micelial epifítico a partir de solo infestado. Posteriormente, ataca as folhas de ramos superiores, causando a queima ascendente na copa (Kunieda-Alonso et al., 2005). Mudanças produzidas por meio de estaquia em casa de vegetação são vulneráveis à incidência de *R. solani* causando apodrecimento de estacas durante o enraizamento (Sanfuentes et al., 2002).

Atualmente não existem fungicidas registrados para o controle de *R. solani* na eucaliptocultura. Além disso, os fungicidas possuem baixa eficiência de controle impossibilitando o seu uso na propagação clonal de *Eucalyptus* spp. (Silveira, 1996). Com isso, estudos de controle biológico utilizando espécies de *Trichoderma* podem ser promissores.

O efeito da incorporação no solo de jardim clonal de isolados de antagonistas e de compostos de casca e folhas de eucalipto, visando à supressão de *Rhizoctonia* spp. foi avaliado para buscar o controle da mela-de-rhizoctonia. *T. inhamatum*, e alguns tipos de compostos de casca de eucalipto apresentam potencial para serem utilizados na supressão de *Rhizoctonia* spp. em solos de jardim clonal de eucalipto (Sanfuentes et al., 2002). Um sistema para o encapsulamento de *T. inhamatum* em grânulos de alginato de sódio foi avaliado para o controle da

doença em estacas/miniestacas de *Eucalyptus* spp. para o enraizamento. Os resultados obtidos demonstraram o efeito do antagonista *T. inhamatum* na supressão da atividade saprofítica de *R. solani*. Houve uma grande variação no nível de supressão em resposta as diferentes fontes alimentares na formulação, sendo a veiculação de isolados de *Trichoderma* spp. em grânulos de alginato de sódio, contendo farelo de trigo como fonte alimentar na concentração de 50 a 60 g/l, aplicados para permitir pelo menos 18 dias de competição, foi uma excelente forma de controle biológico de *R. solani* (Mafia et al., 2003). A sobrevivência de micélio e escleródios de *R. solani* em restos de cultura de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) e a eficiência de alguns isolados de *T. longibrachiatum* e *T. inhamatum*, comprovadamente antagonísticos a *R. solani*, em reduzir a sobrevivência do patógeno, foram avaliados em condições de campo. Os resultados foram promissores, pois os isolados de *Trichoderma* spp. não interferiram na sobrevivência de *R. solani* em folhas infectadas de eucalipto, porém reduziram a viabilidade dos escleródios do patógeno, equiparando-se ao tratamento com fungicida captan + cloro (Kunieda-Alonso et al., 2005).

Mancha-foliar de *Cylindrocladium* do eucalipto

A mancha-foliar de *Cylindrocladium*, causada pelo fungo *Cylindrocladium* spp. tem sido observada em plantios comerciais e viveiros de mudas clonais de eucalipto de Norte a Sul do Brasil. O patógeno possui a habilidade de sobreviver saprofiticamente no solo por meio de escleródios, sendo disseminado por respingos de chuva que atingem folhas e ramos do terço inferior da copa das árvores (Ferreira, 1989; (Alfenas, 2009).

Essa doença é favorecida por condições de alta temperatura, em torno de 26 °C e umidade relativa superior a 80% (Alfenas, 2009). Os sintomas são caracterizados por lesões necróticas escuras, circulares e alongadas que se iniciam no ápice do limbo foliar e progridem em direção à nervura principal (Santos et al., 2001). Os sinais do patógeno (conidióforos e conídios) são encontrados na face abaxial das folhas, representados por um crescimento esbranquiçado nessas áreas (Alfenas, 2009). Com o progresso da doença, desfolhas severas podem ser observadas (Santos et al., 2001).

O uso de antagonistas biológicos como *Trichoderma* spp. tem apresentado bons resultados no controle da mancha-foliar de *Cylindrocladium* em eucalipto. Maciel et al. (2012) testaram a eficiência *in vitro* de bioprotetores comerciais e isolados de *Trichoderma* spp. e avaliaram a ação *in vivo* dos bioprotetores comerciais no controle de *C. candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*. Esses autores concluíram que o produto comercial Trichodel apresentou desempenho satisfatório nos ensaios de confrontação direta e de supressão da mancha-foliar em folhas destacadas, bem como teve resultados positivos na redução dos danos causados pelo fungo em mudas de *E. saligna* no viveiro. Carvalho Filho et al. (2008b) também observaram

que os isolados de *Trichoderma* spp. reduziram o crescimento *in vitro* de *C. scoparium*, demonstrando que o uso do biocontrole pode ser uma ferramenta importante no controle de doenças de plantas no setor florestal.

Tratamento de sementes de pínus visando o controle de *Fusarium*

A demanda de sementes e mudas florestais é crescente, pois constitui em insumo básico nos programas de recuperação e/ou conservação de ecossistemas, e reflorestamentos para fins comerciais (Santos et al., 2011). Implica, também, na necessidade de se conhecer e controlar os patógenos veiculados pelas sementes, os quais podem causar danos na produção de mudas e disseminação de patógenos para áreas novas (Santos et al., 2011). Dentre as formas de controle existentes, o uso de agentes de biocontrole contra patógenos associados às sementes é relevante, pois pode alcançar grande eficácia (Whipps, 2001), o que é de grande interesse, visto que há falta de produtos químicos registrados para culturas florestais (Santos et al., 2011).

Carmo (2017), em pínus, demonstrou que *T. atroviride* inibiu o crescimento micelial de *Fusarium* spp. e promoveu o crescimento inicial de plântulas de pínus oriundas de sementes microbiolizadas. Nos ensaios *in vitro*, conduzidos por Carmo (2017) em confrontação entre *Trichoderma* sp. e *Fusarium* spp., o antagonista foi capaz de inibir até 78 % do crescimento micelial de *F. meridionale*, 68,4 % de isolados do complexo *F. fujikuroi*, e 71,5 % de *F. oxysporum*.

Para parâmetros de crescimento de mudas, o diâmetro de coleto e a relação diâmetro de coleto e comprimento aéreo foram melhores em plântulas de *P. taeda* e *P. elliottii* oriundas de sementes tratadas com *T. atroviride*. Estas plântulas apresentaram incremento do comprimento aéreo, do diâmetro de coleto e na relação comprimento aéreo e diâmetro de coleto, comprovando o potencial do uso desses microrganismos (Carmo, 2017). Mais especificamente sobre a forma de ação da espécie *T. atroviride*, atribui-se a capacidade de produção e degradação do ácido indol acético (AIA) (Gravel et al., 2007; Carvalho Filho et al., 2008a).

Considerações finais

O biocontrole de fitopatógenos é uma ferramenta pouco utilizada nos plantios florestais, no entanto, pode ser considerada uma alternativa às práticas de controle tradicionais. A aplicação de agentes antagonistas em locais com incidência de doenças causadas por patógenos habitantes de solo pode ser considerada uma opção para a redução do potencial de inóculo nessas áreas.

Com relação ao tratamento de sementes florestais, os estudos demonstram a possibilidade do uso em produção massal de mudas em viveiros, melhorando a qualidade das mudas e, consequentemente, influenciando na capacidade das mesmas em sobreviverem a condições adversas.

O desenvolvimento inicial das plântulas é uma fase sensível em que as mudas estão mais expostas a patógenos. Dessa forma, a presença de *Trichoderma* spp. que afeta positivamente o crescimento inicial das plântulas, proporciona plântulas mais vigorosas e, conseqüentemente, menos suscetíveis ao ataque de patógenos.

Em vista disso, maiores estudos devem ser realizados, como forma de promover a maximização do uso do biocontrole no setor florestal, uma vez que informações sobre resultados do uso de *Trichoderma* spp. no controle de doenças à campo ainda são escassas na literatura nacional e internacional.

Referências

- ALFENAS, R. F. **Produção de inóculo de *Cylindrocladium pteridis* em condições controladas**. Viçosa, 2009. 36 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ARANZAZU, F.; CÁRDENAS, J.; MUJICA, J.; GÓMEZ, R. **Manejo de las llagas radicales (*Rosellinia* sp.)**. Santa Fé de Bogotá: ICA, 1999. (Boletín de Sanidad Vegetal).
- AUER, C. G.; GOMES, N. S. B.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. **A armilariose em pinus no Brasil**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 5 p. (Embrapa Florestas. Comunicado Técnico, 117).
- AUER, C. G.; GRIGOLETTI A. J. **Doenças registradas em *Araucaria angustifolia* e *Pinus* spp. nos estados do Paraná e de Santa Catarina**. Colombo: Embrapa Florestas, 1997. 3 p. (Embrapa Florestas. Pesquisa em andamento, 31).
- AUER, C. G.; SANTOS, A. F. Doenças dos pinheiros. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, p. 595-602.
- BORGES, R. C. F.; MARQUES, E.; MACEDO, M. A.; MARTINS, I.; SILVA FILHO, J. G.; MELLO, S. C. M. Biocontrol of teak canker caused by *Lasiodiplodia theobromae*. **Revista Árvore**, v. 42, n. 3, p. 1-9, 2018.
- BURGESS, L. W.; SUMMERELL, B. A.; BACKHOUSE, D.; BENYON, F.; LEVIC, J. Biodiversity and population studies in *Fusarium*. **Sydowia**, v. 48, n. 1, p. 1-11, 1996.
- CALDEIRA, S. F.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Doenças da teca. In: GASPAROTTO, L.; BENTES, J. L. S.; PEREIRA, J. C. R. **Doenças de espécies florestais arbóreas nativas e exóticas na Amazônia**. Brasília: Embrapa Florestas, 2014. p. 171-194.
- CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O.; SÁ, F. T. Disseminação e controle de resinose em troncos de cajueiro decepados para substituição de copa. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 48-50, 1998.
- CARMO, A. L. ***Fusarium* em sementes de pinus no Brasil: distribuição, patogenicidade, identificação de espécies e controle biológico**. 2017. 89 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- CARVALHO FILHO, M. R.; MELLO, S. C. M. de; SANTOS, R. P. dos; MENÉZES, J. E. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008a. 16 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 226).
- CARVALHO FILHO, M. R.; MENÉZES, J. E.; MELLO, S. C. M. de; SANTOS, R. P. dos. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* no controle da mancha foliar do eucalipto in vitro e quanto a esporulação em dois substratos sólidos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008b. 22 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 225).
- FERREIRA, F. A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: SIF, 1989. 570 p.

- FOX, R. T. V. Biology and life cycle. In: FOX, R. T. V. (Ed.). *Armillaria root rot: biology and control of honey fungus*. Andover: CABI, 2000, p. 1-42.
- FUZITANI, E. J.; SANTOS, A. F.; DAMATTO JUNIOR, E. R.; NOMURA, E. S.; KALIL FILHO, A. N. Inoculation methods, aggressiveness of isolates and resistance of peach palm progenies to *Phytophthora palmivora*. *Summa Phytopathologica*, v. 44, n. 3, p. 213-217, 2018.
- FUZITANI, E. J. **Controle Biológico da podridão da base do estipe (*Phytophthora palmivora*) em pupunheira com espécies de *Trichoderma***. 2018. 112 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- FUZITANI, E. J.; SANTOS, A. F.; MORAES, W. S.; DAMATTO JUNIOR, E. R.; NOMURA, E. S. Eficiência de fosfitos no controle da podridão da base do estipe em mudas de pupunheira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 35, n. 4, p. 1000-1006, 2013.
- GOMES, N. S. B. **Armilariose em *Pinus elliottii***: etiologia, determinação de danos e medidas de controle, nos estados do Paraná e de Santa Catarina. 2005. 96 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- GOMES, N. S. B.; AUER, C. G. Potencial antagonístico de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. *in vitro* contra *Armillaria* sp. *Summa Phytopathologica*, v. 29, n. 1, p. 61-62, 2003.
- GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, v. 39, p. 1968-1977, 2007.
- GRIGOLETTI, A. J.; AUER, C. G. **Doenças da erva-mate**: identificação e controle. Colombo: Embrapa Florestas, 1996. 18 p. (Embrapa Florestas. Circular Técnica, 25).
- HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. Oxon: CAB international, 1995. 650 p.
- HOOPEN, G. M. T.; KRAUSS, U. Biology and control of *Rosellinia bunodes*, *Rosellinia necatrix* and *Rosellinia pepo*: A review. *Crop Protection*, v. 25, n. 2, p. 89-107, 2006.
- IBA - INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES, 2017. **Relatório 2017**. Disponível em: <https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf>. Acesso em: nov. 2018.
- IVORY, M. H. **Diseases and disorders of pines in the tropics: a field and laboratory manual**. Oxford: Oxford Forest Institute, 1987. 92 p.
- KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. Wallingford: CABI, 2008. 771 p.
- KLEINA, H. T.; SANTOS, A. F.; DUARTE, H. S. S.; MACHADO, E. B. Physiological characterization of *Rosellinia bunodes* and symptomatology of *Rosellinia* root rot in poplar seedlings. *Revista Árvore*, v. 41, n. 1, p. 1-9, 2018.
- KUNIEDA-ALONSO, S.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A. Sobrevida de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. *Fitopatologia Brasileira*, v. 30, n. 2, p. 164-168, 2005.
- LISBOA, B. B.; BOCHESE, C. C.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, J. R. P.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A. M. R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. *Revista Ciência Rural*, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.
- MACIEL, C. G.; LAZAROTTO, M.; MEZZOMO, R.; POLETTI, I.; MUNIZ, M. F. B.; LIPPERT, D. B. *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Cylindrocadium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*. *Revista Árvore*, v. 36, n. 5, p. 825-832, 2012.
- MACIEL, C. G.; MUNIZ, M. F. B.; MILANESI, P. M.; LAZAROTTO, M.; BLUME, E.; HARAKAVA, R.; REINIGER, L. R. S.; HAMANN, F. A. First report of *Fusarium sambucinum* associated on *Pinus elliottii* seeds in Brazil. *Plant Disease*, v. 97, n. 7, p. 995, 2013.
- MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; VENTURA, G. M.; SANFUENTES, E. A. Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoctonia solani* na propagação clonal de *Eucalyptus*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 28, n. 1, p. 101-105, 2003.

- MARTÍN-PINTO, P.; PAJARES, J.; DÍEZ, J. Pathogenicity of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium oxysporum* on *Pinus nigra* seedlings in northwest Spain. **Forest Pathology**, v. 38, n. 2, p. 78-82, 2008.
- MAY, L. C. Uma amilarirose em *Pinus elliottii* engel. **Silvicultura em São Paulo**, v. 1, n. 1, p. 71-84, 1962.
- MAY-DE-MIO, L. L.; SANTOS, A. F.; AMORIM, L. Doenças do álamo. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, p. 23-27.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. 398 p.
- MILANESI, P. M. **Caracterização, toxicidade e patogenicidade de *Fusarium* spp. em genótipos de soja em sistema de plantio direto**. 2009. 91 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- MORAES, W. S.; FUZITANI, E. J.; SANTOS, A. F. Aspectos fitossanitários do cultivo da pupunheira (*Bactris gaspaea* Kunth) no Vale do Ribeira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DA PUPUNHEIRA, 1., 2011, Ilhéus. **Anais... Ilhéus: CEPLAC/CEPEC**, 2011.
- MUNNECKE, D. E.; KOLBEZEN, M. J.; WILBUR, W. D.; OHR, H. D. Interactions involved in controlling *Armillaria mellea*. **Plant Disease**, v. 65, n. 5, p. 384-389, 1981.
- MUNNECKE, D. E.; WILBER, W. D.; DARLET, E. F. Effects of methyl bromide or carbon disulfide on *Armillaria* and *Trichoderma* growing on agar medium and relation to survival of *Armillaria* in soil following fumigation. **Phytopathology**, v. 63, p. 1352-1357, 1973.
- NASHWA, M. A.; SALLAM, K. A. M.; ABO-ELYOUSR, HASSAN, M. A. E. Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping-off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. **Egyptian Journal Phytopathology**, v. 36, p. 81-93, 2008.
- OLIVEIRA, V. C.; COSTA, J. L. S. Análise de restrição de DNA ribossomal amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* de *F. solani* f. sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 6, p. 631-634, 2002.
- PARIAUD, B.; RAVIGNÉ, V.; HALKETT, F.; GOYEAU, H.; CARLIER, J.; LANNOU, C. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. **Plant Pathology**, v. 58, n. 3, p. 409-429, 2009.
- PASINI, L.; PRODORUTTI, D.; PASTORELLI, S.; PERTOT, I. Genetic diversity and biocontrol of *Rosellinia necatrix* infecting apple in Northern Italy. **Plant Disease**, v. 100, n. 2, p. 444-452, 2016.
- PEGLER, D. N. Taxonomy, nomenclature and description of *Armillaria*. In: FOX, R. T. V. (Ed.). ***Armillaria* root rot: biology and control of honey fungus**. Andover: Intercept Press, 2000. p. 81-93.
- PENTEADO JÚNIOR, J. F.; SANTOS, A. F.; NEVES, E. J. M. **Aspectos do agronegócio do palmito de pupunha no Brasil**. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. 21 p.
- POLETTI, I. **Caracterização e manejo do patossistema erva-mate/podridão-de-raízes**. 2010. 101 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)- Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- POLETTI, I. **Nutrição, sobremento e antagonismo biológico no controle da podridão-de-raízes da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)**. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)- Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- POLETTI, I.; CECONI, D. E.; MUNIZ, M. F. B. Ocorrência de *Fusarium* sp. causando mortalidade de mudas de erva-mate em viveiro na região alta do Vale do Taquari, RS. In: SEMINÁRIO SOBRE REFLORESTAMENTO E RECUPERAÇÃO AMBIENTAL, 1., 2005, Lajeado. **Ambiente e tecnologia: o desenvolvimento sustentável: anais**. Lajeado: UNIVATES, 2005. p. 126-132.
- POLETTI, I.; MUNIZ, M. F. B.; CECONI, D. E.; SANTIN, D.; WEBER, M. N. D.; BLUME, E. Zoneamento e identificação de *Fusarium* spp. causador de podridão-de-raízes em plantios de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) na região do Vale do Taquari-RS. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2006.
- POLETTI, I.; MUNIZ, M. F. B.; CECONI, D. E.; WEBER, M. N. D.; BLUME, E. Primeira ocorrência de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. causando podridão-de-raízes em erva-mate no Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 17, n. 1, p. 65-71, 2007.
- PUNITHALINGAM, E. **Plant diseases attributed to *Botryodiplodia theobromae***. Vaduz: Pat. J. Cramer, 1980. 123 p.

- RAZIQ, F. Biological and integrated control of *Armillaria* root rot. In: FOX, R. T. V. (Ed.). *Armillaria root rot: biology and control of honey fungus*. Andover: Intercept Limited, 2000. p. 183-201.
- RISHBETH, J. Effects of soil temperature and atmosphere on growth of *Armillaria* rhizomorphs. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 70, n. 2, p. 213-220, 1978.
- RISHBETH, J. The growth rate of *Armillaria mellea*. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 51, n. 3-4, p. 575-586, 1968.
- RUANO-ROSA, D.; DEL MORAL NAVARRETE, L.; LOPEZ HERRERA, C. J. Selection of *Trichoderma* spp. isolates antagonistic to *Rosellinia necatrix*. *Spanish Journal of Agriculture Research*, v. 8, n. 4, p. 1084-1097, 2010.
- SACCAS, A. M. Les *Rosellinia* des caféiers en Oubangui-Chari. *L'Agronomie Tropicale*, v. 11, n. 551-595, p. 353-367, 1956.
- SANFUENTES, E. A.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; SILVEIRA, S. F.; PENCHEL, R.; SARTORIO, R. C. Supressão da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* spp. em solos de jardim clonal de *Eucalyptus*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 27, n. 5, p. 461-467, 2002.
- SANTOS, A. F.; TESSMANN, D. J.; VIDA, J. B. Doenças das palmeiras para palmito. In: SANTOS, A. F.; CORRÊA JÚNIOR, C.; NEVES, E. J. M. *Palmeiras para produção de palmito - juçara, pupunheira e palmeira real*. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. p. 106-120.
- SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JR, A. *Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle*. Colombo: Embrapa Florestas, 2001. 20 p.
- SANTOS, A. F.; THOMAZI, H.; DUARTE, H. S. S.; MACHADO, E. B.; TESSMANN, D. J. First report of root rot caused by *Rosellinia bunodes* on a poplar species (*Populus deltoides*) in Brazil. *Plant Disease*, v. 101, n. 4, p. 642, 2017.
- SANTOS, A. F.; PARISI, J. J. D.; MENTEN, J. O. M. *Patologia de sementes florestais*. Colombo: Embrapa Florestas, 2011. 236 p.
- SCOLFORO, J. R. S.; FERRAZ FILHO, A. C. A expansão florestal brasileira. In: *NÚCLEO DE ESTUDOS EM FITOPATOLOGIA. (Org.) Patologia florestal: desafios e perspectivas*. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, 2013. p. 19-33.
- SILVEIRA, S. F. *Etiologia e controle da mela de estacas e da queima de folhas de eucalipto, causada por Rhizoctonia spp.* 1996. Tese (Doutorado em Fitopatologia)- Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SINGH, S.; RANI, U.; TIWANA, U. S.; SIGNH, D. P.; ASMITA, S. Investigation of optimum conditions for the growth of *Fusarium solani* EGYI causing root rot of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Journal of Applied and Natural Science*, v. 9, n. 4, p. 2249-2254, 2017.
- SIVANESAN, A.; HOLLIDAY, P. *Rosellinia necatrix*. Description of pathogenic fungi and bacteria. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1972. 351 p.
- SZTEJNBERG, A.; FREEMAN, S.; CHET, I.; KATAN, J. Control of *Rosellinia necatrix* in soil and in apple orchard by solarization and *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease*, v. 71, n. 1, p. 365-369, 1987.
- TEIXEIRA, H.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; SILVA, M. B.; FERRO, C. G.; LEHNER, M. S. *Trichoderma* spp. decrease *Fusarium* root rot in common bean. *Summa Phytopathologica*, v. 3, n. 4, p. 334-336, 2012.
- THOMAZI, H. *Caracterização morfofisiológica, sintomatológica, patogenicidade e biocontrole de Rosellinia bunodes em álamo*. 2015. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Estratégias de controle das armilarioses. In: SEMINÁRIO SOBRE A ARMILARIOSE EM PINUS SPP., 1., 2003, Curitiba. *Anais...* Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1 CD-ROM.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- VOLK, T. J.; BURDSALL JR, H. H. *A nomenclatural study of Armillaria and Armillariella species (Basidiomycotina, Tricholomataceae)*. Oslo: Fungiflora, 1995. 121 p. (Synopsis Fungorum, 8).
- VOLPE, H. L. *Caracterização morfofisiológica e molecular de Phytophthora palmivora da pupunheira*. 2016. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- WATERSTON, J. M. Observations on the parasitism of *Rosellinia pepo* Pat. *Tropical Agriculture*, v. 18, p. 174-184, 1941.
- WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, v. 52, n. 1, p. 487-511, 2001.

Embrapa

Soja

PATROCÍNIO



CGPE 15755

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL