

TRICHODERMA NO BRASIL: O FUNGO E O BIOAGENTE

TRICHODERMA IN BRAZIL: THE FUNGUS AND THE BIOAGENT

Daniele Franco Martins Machado¹, Francini Requia Parzianello²,
Antonio Carlos Ferreira da Silva¹ e Zaida Inês Antonioli²

RESUMO

Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam potencial para o controle de fitopatógenos e para a promoção do crescimento vegetal. Pesquisas com diferentes culturas comprovam essa capacidade e agregam informações sobre os mecanismos de ação desses bioagentes, 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. Porém, a grande escassez de formulações devidamente registradas tem sido um sério entrave na utilização de bio-

produtos no Brasil. Essa revisão contribui para a elucidação dos mecanismos de ação de trichoderma na promoção de crescimento vegetal, em ausência e presença de patógenos de solo e faz uma análise atual sobre a introdução de formulações biológicas no mercado brasileiro.

Palavras-chave: Bioproduto, legislação brasileira, promoção de crescimento vegetal.

ABSTRACT

Fungi of the genus *Trichoderma* present potential to control plant pathogens and promote plant growth. Researches with different cultures prove this capacity and aggregate information about these bioagents action mechanism, however, the mechanisms of action in the promotion of growth in the absence of plant pathogens are still little known. The mass production of trichoderma has become a research and industrial development focus in the search for alternatives to chemical treatments for the control of plant diseases caused by microorganisms present in the soil and seeds. But, the scarcity of properly registered formulations, have been a serious obstacle in the utilization of bioproducts in Brazil. This review contributes to clarifying the trichoderma action mechanisms in the promotion of vegetal growth, in absence and presence of soil pathogens and makes an updated analysis about the introduction of biological formulations in the Brazilian market.

Keywords: Bioproduct, Brazilian laws, vegetal growth promotion.

¹Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, n. 1000, CEP 97119-970, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: danifmartins@gmail.com; acfsilva2@uol.com.br

²Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, n. 1000, CEP 97119-970, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: frarp@yahoo.com.br; zantonioli@gmail.com

Recepção/Reception: 2011.12.08
Aceitação/Acception: 2012.03.29

INTRODUÇÃO

Trichoderma spp., conhecido por trichoderma, compreende fungos de vida livre, que se reproduzem assexuadamente, presentes com mais frequência em solos de regiões de clima temperado e tropical. Esses fungos também colonizam madeira, onde a fase sexual teleomorfa (gênero *Hypocrea*) é frequentemente encontrada. Muitas linhagens não possuem ciclo sexual conhecido (Harman *et al.*, 2004a), sendo classificadas na sub-divisão Deuteromycotina. Os deuteromicetos são caracterizados pela produção de conídios formados a partir de células conidiógenas, contidas ou não em estruturas especializadas, ou por fragmentação do talo micelial (Kruger e Bacchi, 1995) (Figura 1).

Algumas linhagens de trichoderma são utilizadas no controle de fitopatógenos e na promoção de crescimento vegetal devi-

do a sua versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição, além de atuarem como indutores de resistência das plantas contra doenças. Essas características tornam trichoderma um dos fungos mais pesquisados em condições de laboratório, casa de vegetação, no Brasil, estufa em Portugal, e campo (Altomare *et al.*, 1999; Harman *et al.* 2004a; Resende *et al.*, 2004; Delgado *et al.*, 2007; Filho *et al.*, 2008; Louzada *et al.*, 2009; Hoyos-Carvajal, Orduz, e Bissett, 2009).

Desde o trabalho pioneiro de Weindling e Fawcett em 1936, sobre o uso de estirpes de trichoderma no controle de doenças causadas em citros por *Rhizoctonia solani* Kühn, têm sido realizados estudos, na tentativa de isolar fungos eficazes na repressão de doenças de plantas causadas por outros fungos. Além disso, pesquisas têm sido direcionadas para a promoção do crescimento vegetal e apre-

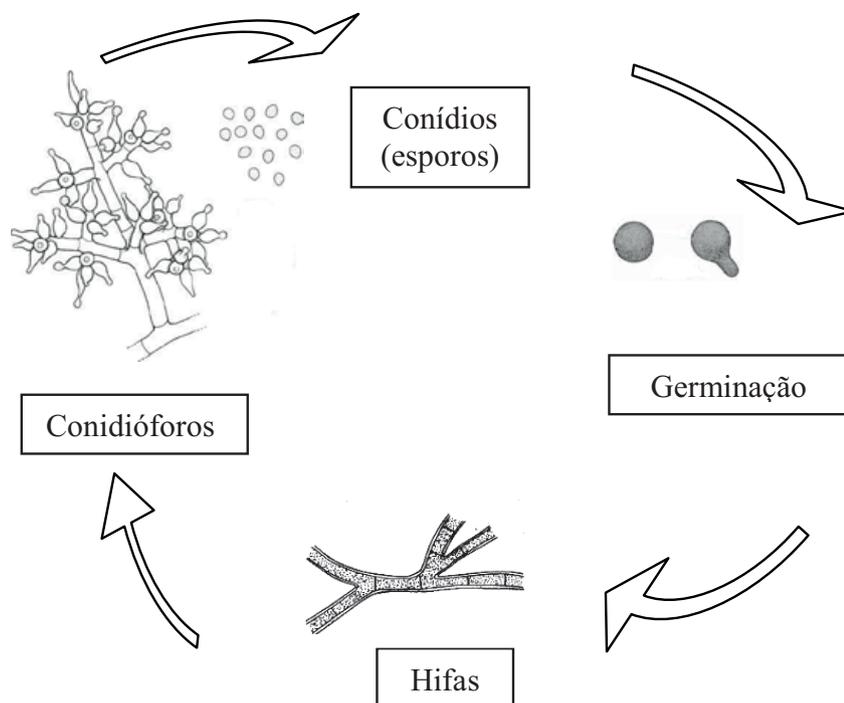


Figura 1 – Ciclo de vida assexual de trichoderma adaptado de Kruger e Bacchi (1995).

sentam aumento tanto no crescimento quanto na produtividade de diversas culturas como cravo, crisântemo, pepino, berinjela, ervilha, pimentão, rabanete, tabaco, tomate, alface, cenoura, milho, algodão, feijão, arroz, grão-de-bico, eucalipto, entre outras (Resende *et al.* 2004; Almança, 2005; Fortes *et al.*, 2007; Jyotsna *et al.* 2008; Filho *et al.*, 2008; 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 e 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 e Escobar (2007), a ação de trichoderma como estimulador do crescimento é complexa e realizada por interações com fatores bioquímicos e produção de diversas enzimas e compostos benéficos.

O controle biológico de doenças e a promoção do crescimento por esse antagonista tem sido uma área de muitos estudos. No entanto, apesar deste esforço de investigação por parte de centenas de cientistas, há poucas utilizações de biocontrole (Harman, 2000) e de promoção de crescimento vegetal na agricultura comercial.

No Brasil, dentre os aspectos que justificam esta baixa aplicabilidade, está a limitada disponibilidade de produtos comerciais à base de trichoderma legalmente registrados no Ministério da Agricultura Pesca e Abastecimento (MAPA). Outra justificativa é a difusão de conceitos, princípios e vantagens envolvidos no uso de bioprodutos que é deficiente, limitando o conhecimento dos consumidores sobre as consequências para a saúde pública e ambiental do uso intensivo de agrotóxicos.

Uma das alternativas para amenizar a baixa aplicabilidade é a da pesquisa que esclareça quais os mecanismos de interação entre os agentes de biocontrole, os patógenos, as

plantas e o ambiente (Morandi e Bettiol, 2009), bem como estudos que objetivem a introdução de bioformulações no país.

Sob esta perspectiva, este trabalho visa colaborar na elucidação dos mecanismos de ação de trichoderma na promoção de crescimento vegetal, em ausência e presença de patógenos de solo e faz uma análise atual sobre a introdução de formulações biológicas no mercado brasileiro.

VANTAGENS DO USO DE TRICHODERMA

Para atender à procura, cada vez maior, de produtos e alimentos livres de resíduos deixados pelas aplicações de agrotóxicos, o controle biológico de pragas e doenças constitui-se uma importante alternativa. O Brasil e outros países, que tem na agricultura a base de sua economia, necessitam do aumento na produção e oferta de alimentos mais saudáveis, onde o controle biológico deve ser indispensável para se obter um sistema sustentável de produção integrada (Lopes, 2009). Além disso, os fungicidas biológicos são atraentes para a agricultura comercial porque atingem alguns nichos onde o controle químico não é capaz de atuar. Os pesticidas químicos perdem a ação regulatória devido à resistência das pragas, são substituídos ou têm seu uso diminuído em ambientes onde se deseja manter as comunidades microbianas do solo (Harman, 2000). Entretanto, apenas a substituição de um produto químico por um biológico não é a situação adequada, mas, é sim, caminhar para o desenvolvimento de sistemas de cultivo mais sustentáveis e, portanto, menos dependente do uso de agrotóxicos (Morandi e Bettiol, 2009).

Contudo, o sucesso do controle de fitopatógenos e da promoção de crescimento por bioagentes dependerá das propriedades e mecanismos de ação do organismo. As espécies do gênero *Trichoderma* são as mais utilizadas no controle de fitopatógenos por serem encontradas em uma vasta diversidade de ambientes, devido à facilidade de serem cul-

tivadas e observadas, ao rápido crescimento em um grande número de substratos e ao fato de não serem patogênicas para plantas superiores (Papavizas, Lewis e Abd-Elmoity, 1982). Apresentam-se capazes de inibir fitopatógenos através de competição, parasitismo direto, produção de metabólitos secundários e micoparasitismo de estruturas de resistência de patógenos, como escleródios, esporos e clamidósporos, que em geral são difíceis de serem destruídos (Melo, 1998). Pesquisas mostram que isolados de trichoderma reduzem a viabilidade de escleródios de *Rhizoctonia solani*. Dentre os antagonistas de fungos fitopatogênicos usados no biocontrole, cerca de 90% têm sido realizados com diferentes isolados pertencentes a este gênero (Benítez *et al.*, 2004; Kunieda-Alonso, Alfenas e Maffia, 2005).

A aplicação de trichoderma tem proporcionado aumentos significativos na percentagem e na precocidade de germinação, no peso seco e na altura de plantas, além de estimular o desenvolvimento das raízes laterais (Melo, 1996; Contreras-Cornejo *et al.*, 2009). Eles são capazes de atuar como bioestimulantes do crescimento radicular, promovendo o desenvolvimento de raízes através de fitohormônios e assim, melhorar a assimilação de nutrientes, aumentando a resistência diante de fatores bióticos não favoráveis, além de degradar fontes de nutrientes que serão importantes para o desenvolvimento do vegetal (Harman, 2000; Harman *et al.*, 2004b).

Em experimentos de campo, a microbiolização com *T. harzianum* isolado T-22 proporcionou aumento significativo na emergência de plantas e no rendimento de grãos de milho (Luz, 2001). Filho *et al.* (2008) concluíram que *Trichoderma* spp. isolado CEN 262 proporcionou maior índice de desenvolvimento de partes aéreas de mudas de eucalipto. Harman *et al.* (2004b) relataram que plântulas de milho com 10 dias apresentaram maior produção de biomassa. Kleifeld e Chet (1992) observaram a ação positiva de isolados de *T. harzianum* em tratamento de semente e de solo na germinação de feijão, rabanete, tomate e pepino. Inbar *et al.* (1994)

observaram um aumento de 96% de área foliar em plântulas de pepineiro cultivadas em substrato tratado com o isolado T-203 de *T. harzianum*.

A aplicação de trichoderma pode ser feita nas sementes, no substrato, no sulco de plantio ou em matérias orgânicas que serão incorporadas antes do transplante das mudas (Lucon, 2009). Independente da forma de aplicação há a necessidade de usar produtos biológicos como uma alternativa para a redução do uso de produtos químicos. Conforme Luz (2001), os bioprotetores apresentam-se como uma tecnologia alternativa para o controle de fitopatógenos, pois os bioagentes, em especial espécies de *Trichoderma*, poderão ter um importante impacto na redução do uso excessivo de fungicidas, no desenvolvimento da agricultura sustentável e na proteção do meio ambiente, mitigando, dessa forma, de acordo com Morandi e Bettiol (2009) diversos problemas, como contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais, além de intoxicação de agricultores, desequilíbrios biológicos, redução da biodiversidade, dentre outros.

AÇÕES DE TRICHODERMA

Os mecanismos de trichoderma no controle biológico de fitopatógenos e na promoção de crescimento vegetal são variados (Quadro 1). Cabe ressaltar que, de acordo com Harman (2000), é muito provável que existam outros mecanismos que ainda não foram descobertos.

O parasitismo designa uma relação nutricional entre dois seres vivos em que um dos componentes da relação, o parasita, obtém todo ou parte de seu alimento às custas do outro componente, o hospedeiro. O hiperparasitismo é um nível mais elevado de parasitismo, no qual o hospedeiro é também um parasita (Stadnik e Bettiol, 2000). *Trichoderma* possui característica hiperparasita, pois pode detectar e localizar hifas de fungos suscetíveis, crescendo em sua direção, presumivelmente em resposta a estímulos químicos

Quadro 1 - Mecanismos de ação de trichoderma.

Mecanismos	Autor
Parasitismo, hiperparasitismo e micoparasitismo	Harman (2000); Melo, (1998); Stadnik e Bettiol (2000)
Competição	Benítez <i>et al.</i> (2004); Harman (2000)
Antibiose	Stadnik e Bettiol (2000)
Indução de resistência	Hwang e Benson (2002); Romeiro (2007); Sneh e Ichielevick-Auster (1998)
Promoção de crescimento	Filho <i>et al.</i> (2008); Harman <i>et al.</i> (2004b); Lucon (2009)

produzidos pela hifa hospedeira, formar estruturas semelhantes a apressórios e enrolar-se fortemente em toda a sua extensão para, então, penetrar e digerir a hifa (Melo, 1998).

Harman (2000) denomina esse mecanismo de micoparasitismo e ressalta ser um importante mecanismo de ação de biocontrole. A relação hospedeiro-parasita é caracterizada por um período relativamente longo de contato, que pode ser físico ou metabólico com digestão por enzimas hidrolíticas, como, quitinases, proteases, glucanases e lipases (Bettiol, 1991; Melo e Faull, 2000).

A competição é um processo referente à interação entre dois ou mais organismos, empenhados na mesma ação. Os organismos competem entre si para obter nutrientes, água, luz, espaço, fatores de crescimento, oxigênio, entre outros (Melo, 1996). A competição por nutrientes é um mecanismo importante, pois muitos fungos fitopatogênicos são sensíveis à falta de alguns nutrientes (Benítez *et al.*, 2004). Esse é considerado um dos clássicos mecanismos de biocontrole (Harman, 2000).

A antibiose é definida como a interação na qual um ou mais metabólitos produzidos por um organismo têm efeito danoso sobre o outro (Stadnik e Bettiol, 2000). Segundo Harman (2000) dentre as substâncias que

podem ser sintetizadas, muitas espécies de *Trichoderma* já estudadas produzem metabólitos secundários tóxicos, como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir e destruir propágulos de fungos fitopatogênicos. Esses metabólitos podem ser voláteis e não-voláteis. Cerca de 40 substâncias produzidas por trichoderma possuem atividade antibiótica, não incluindo as enzimas. O referido autor considera a inativação de enzimas de patógenos outro mecanismo de biocontrole de trichoderma. De acordo com suas pesquisas, *Botrytis cinerea* depende da produção de enzimas pectinolíticas, cutinolíticas e celulolíticas para infectar as plantas. No entanto, os conídios de duas linhagens de *T. harzianum* (T39 e NCIM1185), quando aplicado nas folhas, produzem uma protease que é capaz de degradar enzimas sintetizadas pelo patógeno que destroem a parede celular de plantas, reduzindo a capacidade do patógeno infectar a planta. As proteases podem ser diretamente tóxicas para a germinação do patógeno.

O Quadro 2 mostra algumas das substâncias sintetizadas por espécies de *Trichoderma*.

A indução de resistência por trichoderma é outro mecanismo de ação que vem sendo pesquisado. Segundo Kleifeld e Chet (1992), a promoção de crescimento pode estar rela-

Quadro 2 - Substâncias produzidas por trichoderma e suas atividades.

Substância	Atividade	Autor
Gliotoxina, viridina, trichodermina, suzucacilina, alameticina e dermadina	Antibiótica	Bastos (1991)
Enzimas hidrolíticas extracelulares	Antagonista	Thrane, Jensen e Tronsmo, (2000)
Proteases	Degrada enzimas sintetizadas pelo patógeno	Harman (2000)
Quitinases, glucanases e peroxidases	Indução de resistência	Romeiro (2007)
Ácido indolacético (auxina)	Promoção de crescimento	Filho <i>et al.</i> (2008); Gravel, Antoun, e Tweddell (2007);
Sideróforos	Solubilização	Hoyos-Carvajal <i>et al.</i> (2009)

cionada com a produção de hormônios pelas plantas. Além disso, as plantas levadas ao estado de indução apresentam aumento nas atividades de enzimas, tais como, quitinases, glucanases e peroxidases, envolvidas nas rotas de percepção da presença de patógenos em potencial e nas rotas de sinalização bioquímica a pontos distantes do sítio onde o sinal foi originado (Romeiro, 2007). Por consequência, verifica-se um aumento nas atividades de enzimas envolvidas na síntese de componentes de resistência (Sneh e Ichievich-Auster, 1998; Hwang e Benson, 2002).

A promoção de crescimento de plantas promovida pela aplicação de trichoderma foi inicialmente relacionada ao controle dos microrganismos prejudiciais presentes no solo. Entretanto, na ausência de fitopatógenos, segundo Lucon (2009), tal mecanismo de ação tem sido relacionado à produção de hormônios ou fatores de crescimento, maior efici-

ência no uso de alguns nutrientes e aumento da disponibilidade e absorção de nutrientes pela planta. Diversos trabalhos vêm sendo realizados visando promover a germinação, o crescimento e a produtividade de diversas culturas. O Quadro 3 mostra exemplos de pesquisas em que diferentes isolados de trichoderma promoveram o crescimento vegetal.

Em pesquisas realizadas com *Arabidopsis thaliana*, Contreras-Cornejo *et al.* (2009), estudaram o papel da auxina na regulação do crescimento e desenvolvimento da planta em resposta à inoculação de *T. virens* e *T. atroviride*, desenvolvendo um sistema de interação fungo-planta, o qual resultou em características fenotípicas relacionadas com a auxina, como o aumento da produção de biomassa e estimulação do desenvolvimento das raízes laterais.

Filho *et al.* (2008), observaram produção de ácido indolacético (AIA) em isolados de

Quadro 3 - Resultados obtidos com a aplicação de trichoderma quanto à promoção de crescimento vegetal em diferentes pesquisas

Planta	Trichoderma/isolado	Autor
<i>Arabidopsis thaliana</i> L.	<i>T. virens</i> e <i>T. atroviride</i>	Contreras-Cornejo <i>et al.</i> (2009)
Eucalipto	<i>Trichoderma</i> spp. E15	Fortes <i>et al.</i> (2007)
Eucalipto	<i>T. harzianum</i> CEN 262	Filho <i>et al.</i> (2008)
Milho	<i>T. harzianum</i> T-22	Luz (2001)
Milho	<i>T. harzianum</i> T-22	Harman <i>et al.</i> (2004b)
Milho	<i>T. harzianum</i>	Resende <i>et al.</i> (2004)
Grão de bico	<i>T. harzianum</i>	Jyotsna <i>et al.</i> (2008)
Feijão	<i>Trichoderma</i> spp.	Hoyos-Carvajal <i>et al.</i> (2009)
Arroz	<i>Trichoderma</i> spp.	Almança (2005)
Feijão da china (<i>Vigna radiata</i> L.)	<i>Trichoderma</i> spp.	Dubey, Bhavani, e Singh (2009)
Pepino	<i>T. harzianum</i> T-203	Yedidia <i>et al.</i> (2001)
Tomate	<i>T. atroviride</i>	Gravel <i>et al.</i> (2007)
Rabanete	<i>T. harzianum</i>	Kleifeid e Chet (1992)

trichoderma. De acordo com os resultados obtidos, nos isolados CEN 209 e CEN 500, a produção desse hormônio foi detectada em baixos níveis. No entanto, o isolado CEN 262 revelou níveis consideravelmente superiores em relação aos demais isolados estudados. A concentração elevada de AIA verificada nas análises do isolado CEN 262 foram compatíveis com os valores obtidos nos experimentos relativos ao desenvolvimento de miniestacas de eucalipto clonal, que atingiu aumento de 137%, 145% e 43% da parte aérea, raiz e altura das plantas, respectivamente, comparados à testemunha. Segundo os autores, outros fatores também podem estar envolvidos na promoção de crescimento como solubilização de nutrientes e controle de microrganismos deletérios de raízes.

Hoyos-Carvajal *et al.* (2009), avaliaram a produção de metabólitos de 101 isolados de trichoderma da Colômbia, 20% das cepas foram capazes de produzir formas solúveis de fosfato de rocha fosfática, 8% das amostras avaliadas mostraram capacidade de produzir sideróforos consistentes para converter ferro a formas solúveis, 60% produziram ácido indol-3-acético (IAA) ou análogos a auxina. A produção destes metabólitos é uma caracterís-

tica de cepas específicas, assim, variou muito entre as espécies. Além disso, nem todas as substâncias produzidas se correlacionaram com o aumento do crescimento de mudas de feijão, sendo que, sete isolados aumentaram significativamente o crescimento das mudas.

A promoção de crescimento pode também ser devida à solubilização de nutrientes necessários às plantas. Altomare *et al.* (1999) mostraram que um isolado de *T. harzianum* teve habilidade para solubilizar nutrientes a partir de compostos como rochas de fosfato, óxido de manganês, óxido de ferro e zinco metálico. Alguns autores citam que essa solubilização seria devido à liberação de ácidos orgânicos e consequente acidificação do meio, porém Altomare *et al.* (1999) não verificaram um aumento na presença desses ácidos nos testes realizados.

No solo, macro e micro nutrientes sofrem um equilíbrio dinâmico complexo de solubilização e insolubilização, fortemente influenciado pelo pH e pela microflora, que afeta a acessibilidade desses para serem absorvidos pelas raízes das plantas. Conforme os autores, a promoção de crescimento em plantas promovido pelo fungo *T. harzianum* T-22 está na sua habilidade de solubilizar muitos

nutrientes importantes para a planta. (Altomare *et al.*, 1999).

Os resultados encontrados por esses autores podem estar relacionados com o comportamento de trichoderma na rizosfera, o qual pode ser diferente do comportamento *in vitro*, devido à presença de outros microrganismos neste local. Além disso, os mecanismos de ação dos microrganismos são específicos e podem variar conforme a cultura e o ambiente, como a interferência de outros microrganismos, substrato, temperatura e umidade.

TRICHODERMA E RIZOSFERA

Rizosfera é a zona de influência das raízes que vai desde a sua superfície até uma distância de 1 a 3 mm. O termo origina-se dos termos rhizo/rhiza e sphaera que significam área de influência e/ou localização física em volta da raiz. Devido não só à quantidade, mas também à diversidade de compostos orgânicos depositados na rizosfera, os diversos tipos de microrganismos presentes nesse local podem exceder mais de mil vezes aqueles do solo não rizosférico (Moreira e Siqueira, 2006).

Na rizosfera encontram-se diversos microrganismos que podem promover o crescimento vegetal e proteger o sistema radicular da infecção por patógenos, estando incluído nesse grupo *Trichoderma* spp. Estes antagonistas, além de apresentarem potenciais como biocontroladores e promotores de crescimento vegetal, têm a capacidade de mostrarem competência rizosférica, quando próximo das raízes das plantas (Harman, 2000; Almança, 2005). O termo competência rizosférica foi introduzido em 1980 por Tex Baker e é definida como a capacidade de um microrganismo para crescer e funcionar na rizosfera em desenvolvimento (Harman, 2000).

Há registros na literatura descrevendo modificações na rizosfera por agentes de controle biológico, impossibilitando a colonização por patógenos, como por exemplo, o pH.

Linhagens de trichoderma capazes de modificar o pH externo e adaptar seu metabolismo às condições externas de desenvolvimento, reduziram conseqüentemente a virulência de fitopatógenos, pois muitos fatores de patogenicidade poderiam não ser sintetizados (Benítez *et al.*, 2004).

Trabalhos estão sendo desenvolvidos visando a supressão de doenças através de vários agentes que habitam na rizosfera. A indução de supressividade de solos pode ser realizada por meio da incorporação de antagonistas ou estímulo da sua população, como trichoderma dentre outros microrganismos, além de tratamentos culturais e outras formas de manejo (Guini e Zaroni, 2001; Srivastava *et al.*, 2010).

O uso de combinações de vários organismos antagonistas pode proporcionar melhor controle de doenças sobre o uso de organismos individuais. Vários organismos podem aumentar o nível e consistência do controle biológico através de vários mecanismos de ação. As combinações podem fornecer proteção em momentos diferentes ou sob diferentes condições e ocupam nichos distintos ou complementares. A combinação de *T. harzianum* e *Pseudomonas* aumentou significativamente a germinação de sementes de tomate (Srivastava *et al.*, 2010). Assim, os mecanismos de ação dos diferentes microrganismos antagonistas podem não ser excludentes, mas atuarem sinergicamente no controle de patógenos e na promoção do crescimento.

Um mecanismo que tem adquirido adeptos nos últimos anos é a de competição, através de competência rizosférica. Agentes de controle biológico não podem competir por espaço e nutrientes, se forem incapazes de crescer na rizosfera. Espécies de trichoderma, adicionadas ao solo ou aplicadas como tratamento de sementes, crescem rapidamente juntamente com o sistema radicular, isto é comprovado facilmente através de segmentos de raiz em plantas tratadas em meio ágar. Embora a competição através de competência rizosférica possa não estar entre os principais mecanismos que impulsionam o controle biológico, certamente é um com-

plemento valioso para aqueles que o fazem (Howell, 2003).

BIOFORMULAÇÕES E A LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

A eficácia, praticidade e segurança dos métodos para a aplicação e manutenção de fungos, são fundamentais, tanto para o sucesso do biocontrole nos sistemas de cultivo, quanto para a aceitação do biocontrole pelos agricultores e sociedade. Nesse sentido, uma das considerações mais importantes inclui as formulações (Medugno, 1995).

No Brasil, a falta de bioformulados à base de trichoderma, devidamente registrados no MAPA, tem sido um fator limitante na utilização agrícola, uma vez que, as empresas fabricantes são submetidas aos mesmos critérios que regulamentam o registro de agrotóxicos, tratando-se de um processo oneroso e realizado em um longo período de tempo (Melo e Costa, 2005).

A lei brasileira dos agrotóxicos regulamentada pelos Decretos nº 98.816, de 11 de janeiro de 1990 e nº 4.074 de 04 de janeiro de 2002, a obtenção do Registro Especial Temporário (RET) para agrotóxicos e produtos afins, destinado à pesquisa e experimentação, estando envolvido no processo de obtenção o MAPA, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

Quando a empresa solicitante estiver de posse do RET emitido pelo MAPA, poderá partir para testes laboratoriais, estudos e projetos experimentais para mais de uma cultura. As estações experimentais, de natureza pública ou privada, que se dediquem ao desenvolvimento de tais pesquisas deverão ser credenciadas junto ao MAPA.

A ANVISA baseia-se em ensaios com animais de laboratório, cujos dados são extrapolados para o homem, estabelecendo assim classes toxicológicas que variam de extremamente tóxicos a pouco tóxicos, conforme a seguinte classificação: Classe I (extrema-

mente tóxico), Classe II (altamente tóxico), Classe III (moderadamente tóxico) e Classe IV (pouco tóxico).

O IBAMA requer ensaios ecotoxicológicos que englobam estudos com organismos não alvos; comportamento no meio ambiente que avalia a lixiviação do produto, mobilidade no solo e bioconcentração nas cadeias tróficas; estudos de características físico-químicas que revelam a identidade da molécula do biopesticida; além de testes de metabolismo e degradação. Em seguida, o produto é classificado quanto ao seu potencial de periculosidade no meio ambiente.

Após a realização dos testes e expedições dos laudos pela ANVISA e IBAMA, o MAPA analisa os laudos e determina quais os patógenos serão controlados, as dosagens, o número de aplicações e o intervalo de segurança destes produtos, e então, realiza o registro da formulação e publica a decisão no Diário Oficial da União, com validade nacional e tempo indeterminado (Gallo *et al.*, 2002). Segundo o Decreto nº 4074/02, o registro de produto é exclusivo do órgão federal competente, destinado a atribuir o direito de produzir, comercializar, exportar, importar e utilizar. A Figura 2 ilustra todas estas etapas exigidas para o registro de um produto biológico.

Segundo Lopes (2009), há apenas um produto à base de *Trichoderma* spp. registrado no Brasil para o controle de *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani* na cultura do feijão, mas existe no mercado um grande número de produtos que não possuem registro junto ao MAPA, porém são utilizados no tratamento de substrato e de sementes e pulverização na parte aérea das plantas. Os produtos são encontrados nas formulações como pó molhável (PM), grânulos dispersíveis em água (WG) e líquidas (esporos em suspensão oleosa e aquosa) (Pomella e Ribeiro, 2009). *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. stromaticum* e *T. viride* são as principais espécies do agente de biocontrole comercializadas, entretanto, em alguns produtos comercializados não há identificação das espécies (Morandi e Bettiol, 2009).

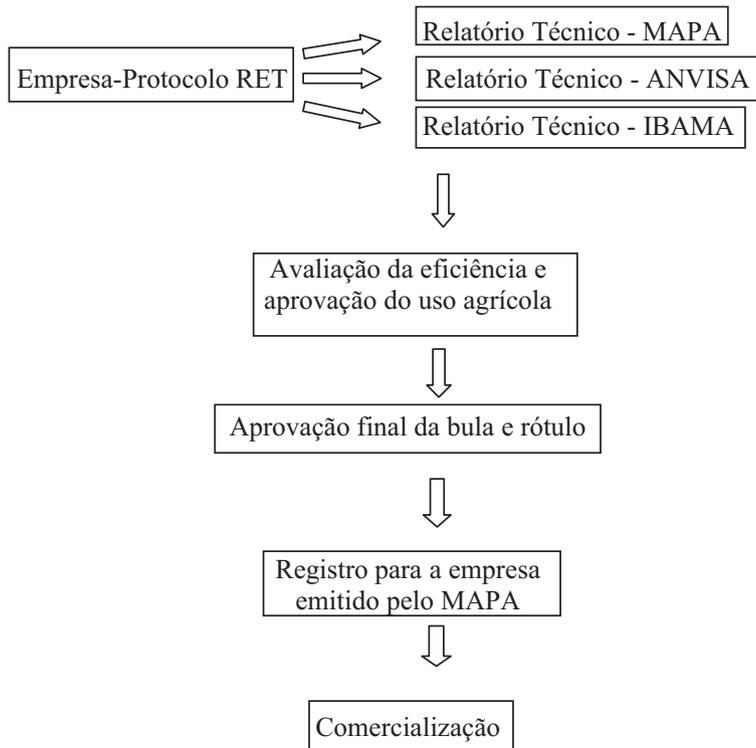


Figura 2 – Etapas exigidas pelo MAPA para a obtenção do registro de produto bioformulado com finalidade de controle biológico de doenças fitopatogênicas.

Em 2007, no Brasil, cerca de 550 toneladas de produtos à base de trichoderma foram utilizadas, o que seria equivalente a uma área tratada de 600.000 ha de lavoura. No entanto, alguns cuidados devem ser tomados pelo fato dos produtos serem formulados com esporos vivos do fungo torna-se importante o armazenamento, o qual deve ser refrigerado ou em local com temperaturas, preferencialmente, inferiores a 28°C. As aplicações devem ser feitas à tarde em condições de alta umidade relativa. Quando em cultivo protegido, as exigências são menores, devido à menor incidência dos raios ultravioleta, que são prejudiciais ao fungo, e as condições mais favoráveis de umidade e temperatura (Pomella e Ribeiro, 2009). Devido à expressividade dessa informação, existe a necessidade de pesquisa e desenvolvimento de produtos de

qualidade capazes de apresentar uma longa vida útil e eficiência agrônômica, além de assessoria pelas empresas fabricantes e eficiente fiscalização da comercialização destes produtos.

PRODUÇÃO DE BIOFORMULAÇÕES

O gênero *Trichoderma* é um dos mais explorados entre os fungos filamentosos devido ao seu grande potencial de aplicação do ponto de vista industrial e biotecnológico (Samuels, 1996). Para tanto, a tecnologia e pesquisa envolvidas na obtenção de um bioproduto capaz de apresentar potencial para enquadrar-se no mercado agroindustrial são compostas de vários estudos. Por isso, o conhecimento das necessidades fisiológicas

do trichoderma é necessário, assim como a realização de diversos testes dos ingredientes que irão compor a sua formulação.

Para a produção de fungos é mais comum a fermentação sólida ou semi-sólida e o processo bifásico, que envolve as etapas de fermentação líquida e sólida. O desenvolvimento dos processos de produção de fungos no Brasil iniciou-se no final da década de 1960, com a introdução de uma técnica de Trinidad e Tobago, que segundo Lopes (2009) consiste no uso de cereais ou grãos pré-cozidos como substrato, principalmente arroz. Durante as décadas seguintes, adaptações no sistema tornaram o processo mais prático e a produção mais eficiente. Toda a evolução do sistema ocorreu em função do estabelecimento do programa baseado no uso de *Metarhizium anisopliae* para o controle de cigarrinhas em cana-de-açúcar e pastagens. Grande parte das técnicas desenvolvidas para a produção de fungos entomopatogênicos no país foi transferida para a produção massal de trichoderma (Lopes, 2009).

Assim, a produção de inóculo, inicialmente, em condições de laboratório, é imprescindível para o desenvolvimento dos agentes de biocontrole. O cultivo de fungos em larga escala, que se baseiam no uso de substratos sólidos, como os grãos de cereais oferecem a vantagem de serem prontamente biodegradáveis (Fortes *et al.*, 2007), porém, apresentam baixa capacidade de conservação. Desse modo, é necessário, no Brasil, o desenvolvimento da diversificação na utilização dos substratos que compõem as bioformulações. Conforme Lopes (2009) são poucos os detalhes disponíveis na literatura referentes ao desenvolvimento de formulação de bioprodutos. São informações obtidas, normalmente, com pesquisas específicas das próprias indústrias e intimamente ligadas às peculiaridades do sistema de produção massal adotado por cada uma delas. O desenvolvimento de uma nova e eficaz formulação não significa uma simples mistura de inertes a determinado ingrediente ativo. Trata-se de um processo complexo

e devem ser observados aspectos como o tipo e características do propágulo utilizado como ingrediente ativo, as características do sistema produtivo, as características físicas e químicas dos inertes, a compatibilidade dos compostos da formulação ao microrganismo, a estabilidade do ingrediente ativo no armazenamento, o efeito no desempenho ou atividade do formulado sobre o alvo em relação ao microrganismo não formulado, entre outros. Esses conhecimentos são indispensáveis para o sucesso da formulação no campo.

Os microrganismos, de modo geral, requerem fonte de carbono (C), macronutrientes e alguns elementos traços para o seu crescimento. Carbono serve primariamente como fonte de energia e uma pequena fração é incorporada dentro da célula. Nitrogênio (N) é um elemento crítico para os microrganismos, pois compõe as proteínas, ácidos nucléicos, aminoácidos, enzimas e coenzimas necessárias para o crescimento e funcionamento da célula (Golueke, 1991).

Desse modo, o crescimento de trichoderma diminui em condições deficientes de N e C, sendo, esses elementos, essenciais para o desenvolvimento de formulações. Em um estudo realizado com o objetivo de avaliar o crescimento e a produção de biomassa de isolados de trichoderma expostos a diferentes fontes e concentrações de N, observou-se interação significativa entre as fontes e doses de N, com maior desenvolvimento obtido em meio contendo nitrato de amônio como única fonte de N para o crescimento de *Trichoderma* sp. (Menezes *et al.*, 2007).

Trabalhos sobre o desenvolvimento de formulados a partir de trichoderma também estão sendo conduzidos em outros países. Na Índia, Dubey *et al.* (2009) produziram bioformulados à base de trichoderma para o controle de podridão de raízes (*Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butler) visando o aumento de suas vidas de prateleira. A formulação contendo turfa, pó de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e carboximetilcelulose para tratamento de sementes e outra contendo alginato de sódio, silicato de alumínio,

pó de mandioca e água para tratamento de solo apresentaram vida de prateleira de 25 meses a temperatura ambiente ($26 \pm 8^\circ \text{C}$). O uso combinado destes dois formulados apresentou a maior germinação de sementes, altura da parte aérea, comprimento de raízes e rendimento de grãos, além de menor incidência da doença em plantas de feijão da china (*Vigna radiata* L.).

No Sri-Lanka, em ensaio *in vitro* de formulado contendo suspensão de micélios de *T. asperellum*, água destilada, glicerina, óleo de coco e óleo de soja, a formulação inibiu significativamente o crescimento de *Thielaviopsis paradoxa* de Seynes, agente causal da podridão negra do abacaxi, no prazo de seis dias após a inoculação. Até o final do quinto dia, o diâmetro da colônia de *T. paradoxa* foi reduzido em 92,7% em relação ao controle. No sétimo dia de observação, a eliminação do patógeno foi de 100%. A formulação apresentou uma vida útil de seis meses (Wijeingue *et al.*, 2010).

Nesse sentido, segundo Howell (2003), para otimizar a utilização dos agentes de controle biológico deve-se compreender como agem no controle, além de suas limitações. Pode-se, então, desenvolver meios eficazes de cultivo, armazenamento, aplicação e utilização de bioagentes a fim de aplicar as suas melhores potencialidades no controle de doenças e na promoção do crescimento vegetal.

CONCLUSÕES

Apesar do enfoque ecológico amplamente difundido pela sociedade, a política agrícola ainda encontra-se incipiente no que se refere à expansão de práticas agrícolas alternativas e ecologicamente sustentáveis. Pesquisas comprovam que trichoderma é eficiente, prático e seguro quanto aos métodos de aplicação, biocontrole e promoção de crescimento vegetal, no entanto, na prática a sua aplicação ainda é restrita.

Nesse sentido, estudos sobre a propriedade de promoção de crescimento, especificamen-

te na ausência de fitopatógenos, ainda devem ser explorados a fim de se obter informações que realmente esclareçam como ocorre esse mecanismo, além de pesquisas que ampliem o conhecimento dos mecanismos de ação no biocontrole. Acredita-se, desse modo, que na medida em que são conhecidos os mecanismos de ação na interação com as plantas e com os fitopatógenos, as expectativas quanto a sua utilização na agricultura comercial se tornarão promissoras.

Diante da escassez de informações em relação à formulações de bioprodutos para viabilizar o uso comercial, há a necessidade da intensificação no desenvolvimento de trabalhos de pesquisas direcionados às diversas etapas para a obtenção dos produtos. Além disso, é importante que a introdução de bioformulados seja valorizada como um pacote tecnológico devido a sua potencialidade em apresentar eficiência agrônoma, tornando-se prática comum na rotina de produção das várias culturas de importância econômica e ambiental, além de contribuir na preservação do meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo concedimento das bolsas de mestrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almança, M.A.K. (2005) - *Trichoderma* sp. no controle de doenças e na promoção do crescimento de plantas de arroz. Dissertação de mestrado. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 81 p.
- Altomare, C.; Norvell, W.A.; Björkman, T. e Harman, G.E. (1999) - Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 7: 2926-2933.
- Bastos, C.N. (1991) - Possibilidade do controle biológico da vassoura-de-bruxa

- (*Crinipellis pernicioso*) do cacauzeiro. In: Bettiol, W. (Org.) - *Controle biológico de doenças de plantas*. Jaguariúna, Embrapa-CNPDA, p.333-344.
- Baugh, C.L. e Escobar, B. (2007) - The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. *Rice Farm Magazine*, 1-4.
- Benítez, T.; Rincón, A.M.; Limón, M.C. e Condón, A.C. (2004) - Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 4: 249-260.
- Bettiol, W. (1991) - Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: Bettiol, W. (Org.) *Controle biológico de doenças de plantas*. Brasília, Embrapa, p.1-5.
- Brasil (2002) - *Decreto nº 4.074 de 04 de janeiro de 2002* (em linha). (Acesso em 2010.12.07). Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm>.
- Brasil (1990) - *Lei nº 98.816 de 11 de janeiro de 1990* (em linha). (Acesso em 2010.11.18). Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/Antigos/D98816.htm>.
- Contreras-Cornejo, H.A.; Macías-Rodríguez, L.; Cortés-Penagos, C. e López-Bicio, J. (2009) - *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 149, 3: 1579–1592.
- Delgado, G.V.; Martins, I.; Menêzes, J.E.; Macedo, M.A. e Mello, S.C.M. (2007) - *Inibição do crescimento de Sclerotinia sclerotiorum por Trichoderma spp. in vitro*. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, 214. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 12 p.
- Dubey, S.C.; Bhavani, R. e Singh, B. (2009) - Development of Pusa 5SD for seed dressing and Pusa Biopellet 10G for soil application formulations of *Trichoderma harzianum* and their evaluation for integrated management of dry root rot of mungbean (*Vigna radiata*). *Biological Control*, 50: 231-242.
- Filho, M.R.C.; Mello, S.C.M.; Santos, R.P. e Menêzes, J.E. (2008) - Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético *in vitro* e colonização endofítica de mudas de eucalipto. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*, 226. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.
- Fortes, F.O.; Silva, A.C.F.; Almança, M.A.K. e Tedesco, S.B. (2007) - Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. *Revista Árvore*, 31, 2: 221-228.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramin, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. (2002) - *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 920 p.
- Golueke, C.G. (1991) - Compost as a micro-nutrient supplier. In: The staff of Biocycle Journal of Waste Recycling (Eds) - *Principles of Composting*. Emmaus, Pennsylvania, The JG Press, Inc., p.161-162.
- Gravel, V.; Antoun, H. e Tweddell, R.J. (2007) - 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*, 39: 1968–1977.
- Guini, R. e Zaroni, M.M.H. (2001) - Relação entre coberturas vegetais e supressividade de solos a *Rhizoctonia solani*. *Fitopatologia Brasileira*, 26, 1: 10-15.
- Harman, G.E. (2000) - Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84, 4: 376–393.
- Harman, G.E.; Howell, C.R.; Viterbo, A.; Chet, I. e Lorito, M. (2004a) - *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 43–56.
- Harman, G.E.; Petzoldt, R.; Comis, A. e Chen, J. (2004b) - 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*, 94, 2: 146-153.

- Howell, C.R.; (2003) - Mechanisms Employed by *Trichoderma* species in the Biological Control of Plant Disease: The History and Evolution of Current Concepts. *Plant Disease*, 87, 1: 4-10.
- Hoyos-Carvajal, L.; Orduz, S. e Bissett, J. (2009) - Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control*, 51: 409-416.
- Hwang, J. e Benson, D.M. (2002) - Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of poinsettia with *Burkholderia* and binucleate *Rhizoctonia*. *Plant Disease*, 86: 47-53.
- Inbar, J.; Abramsky, M.; Cohen, D. e Chet., I. (1994) - Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 100: 337-346.
- Jyotsna; Srivastava, A.; Singh, R.P.; Srivastava, A.K.; Saxena, A.K. e Arora, D.K. (2008) - Growth promotion and charcoal rot management in chickpea by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Plant Protection Research*, 48, 1: 81-92.
- Kleifeld, O. e Chet, I. (1992) - *Trichoderma harzianum* - interaction with plants and effect on growth response. *Plant and Soil*, 144: 267-272.
- Kruger, T.L. e Bacchi, L.M.A. (1995) - Fungos. In: Filho, A.B.; Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M., Camargo, L.E.A. - *Manual de Fitopatologia*. 3 ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 46-95.
- Kunieda-Alonso, S.; Alfenas, A.C. e Maffia, L. A. (2005) - Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. *Fitopatologia Brasileira*, 30, 2: 164-168.
- Lopes, R.B. (2009) - A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil. In: Bettiol, W. e Morandi, M.A.B. (Ed.) - *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p. 15-28.
- Louzada, G.A.S; Carvalho, D. D. C; Mello, S.C.M., Lobo Júnior, M.; Martins, I., Braúna L.M. (2009) - Potencial antagonístico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes ecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. *Biota neotropica*, 9, 3: p.145-149.
- Lucon, C.M.M. (2009) - *Promoção de crescimento de plantas com o uso de Trichoderma spp* (em linha). Infobibos, Informações Tecnológicas. (Acesso em 2010.05.31). Disponível em: < http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm >.
- Luz, W.C. (2001) - Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. *Fitopatologia Brasileira*, 26, 1: 16-20.
- Medugno, C. (1995) - Formulação de agentes microbianos para o controle de fitopatógenos. In: Melo, I.S. e Sanhueza, R.M.V. (Coord) - *Métodos de seleção de microrganismos antagonísticos e fitopatogênicos*: manual técnico. Jaguariúna, Embrapa-CNPMA, p.47-59.
- Melo, I.S. (1991) - Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: Bettiol, W. (Org.) - *Controle biológico de doenças de plantas*. Jaguariúna, Embrapa-CNPDA, p.135-156.
- Melo, I.S. (1996) - *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 4: 261-295.
- Melo, I.S. (1998) - Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo, I.S. e Azevedo, J.L. (Ed.) - *Controle Biológico*, v.1. Jaguariúna, Embrapa, p.17-60.
- Melo, I.S. e Costa F.G. (2005) - *Desenvolvimento de uma formulação granulada a base de Trichoderma harzianum para o controle de fitopatógenos*. Jaguariúna, Embrapa, p. 1-4. (Comunicado técnico 31).
- Melo, I.S. e Faull, J.L. (2000) - Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. *Scientia Agrícola*, 57, 1: 55-59.
- Menezes, M.E.L.; Nascimento, K.L.; Erlo, R.; Brito, E.S.; Mota, E.F. e Gava, C. (2007) - Crescimento de isolados de *Trichoderma* sp. em diferentes fontes e concentrações de nitrogênio. *Anais da II Jor-*

- nada de Iniciação Científica da Embrapa Semi-árido (em linha). Petrolina, Embrapa Semi-Árido, p. 71-76. (Embrapa Semi-Árido. Documentos, 205). (Acesso em 2011.10.10). Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br> >.
- Morandi, M.A.B. e Bettiol, W. (2009) - 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, p.07-14.
- Moreira, F.M.S. e Siqueira, J.O. (2006) - *Microbiologia e bioquímica do solo*. 2 ed. atual. e ampl. Lavras, Editora UFLA, 729 p.
- Pomella, A.W.V. e Ribeiro, R.T.S. (2009) - Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – uma visão empresarial. In: Bettiol, W. e Morandi, M.A.B. (Ed.). *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p. 238–244.
- Papavizas, G.C.; Lewis, J.A. e Abd-Elmoity, T.H. (1982) - Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology*, 72: 126-132.
- Resende, M.L.; Oliveira, J.A.; Guimarães, R.M.; Pinho, R.G.V. e Vieira, A.R. (2004) - Inoculações de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. *Ciência e Agro-tecnologia*, 28, 4: 793-798.
- Romeiro, R.S. (2007) - *Controle biológico de doenças de plantas – procedimentos*. Viçosa, Editora UFV, 172 p.
- Samuels, G.J. (1996) – *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. *Mycological Research*. 100: 923-935.
- Sneh, B. e Ichielevich-Auster, M. (1998) - Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) isolates. *Phytoparasitica*, 26, 1: 27-38.
- Srivastava, R.; Khalid, A.; Singh, U.S. e Sharma, A.K. (2010) - Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici for the management of tomato wilt. *Biological Control*, 53, 1: 24-31.
- Stadnik, M.J. e Bettiol, W. (2000) - Controle biológico de oídeos. In: Melo, I.S. Azevedo, J.L. (Ed.) - *Controle biológico*. v.3. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p. 95–112.
- Thrane, C.; Jensen, D.F. e Tronsmo, A. (2000) - 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*, 106: 215–225.
- Wijesingue, C.J.; Wijeratnam, R.S.W.; Samarasekara, J.K.R.R. e Wijesundera, R.L.C. (2010) - Biological control of *Thielaviopsis paradoxa* on pineapple by an late of *Trichoderma asperellum*. *Biological Control*, 53: 285-290.
- Yedidia, I.; Srivastva, A.K.; Kapulnik, Y. e Chet, I. (2001) - Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil*, 235: 235–242.