

Isolamento *on farm* de *Trichoderma*: uma ferramenta no controle de doenças de solo para os agricultores no Brasil

Janaina Tauil Bernardo¹, Jorge González Aguilera², Roberto Balbino da Silva³, Ícaro Raoni Ecke Medeiros⁴, Rogerio Vian⁴, Givaldo Rocha Niella⁵, Cirano José Ulhoa⁶

¹ Grupo de Pesquisa em Agroecologia Gaia. Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS).
E-mail: janaina-bernardo@uergs.edu.br

² Departamento de Produção Vegetal do Campus Chapadão do Sul. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS).
E-mail: j51173@yahoo.com

³ Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agroecologia (PPGCAG). Campus III. Universidade Federal da Paraíba (UFPB). E-mail: balbinorobert@hotmail.com

⁴ Núcleo de Produção de Insumo orgânico na propriedade sem fins de comercialização (NUPIO). Fazenda Sélia.
E-mail: agroraoni@hotmail.com, rogeriovian75@gmail.com

⁵ Centro de Pesquisas do Cacau (CEPLAC) /Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)
E-mail: niella17@yahoo.com.br

⁶ Laboratório de Enzimologia do campus Samambaia. Universidade Federal de Goiás (UFG). E-mail: ulhoa@ufg.br

Submetido em: 17 jan. 2019. Aceito: 26 maio 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.21674/2448-0479.53.263-270>

Resumo

Fungos do gênero *Trichoderma* são amplamente distribuídos pelo seu hábito cosmopolita, e vêm sendo empregados como excelentes biopesticidas de fitopatógenos nas principais culturas comerciais. A coleta e uso de isolados em lavouras comerciais podem ser uma eficiente estratégia de controle devido a estas populações serem naturalmente adaptadas ao ambiente local e especificamente agressivas sobre comunidades de patógenos presentes naquela área agrícola. Por isso, nosso trabalho teve por objetivo demonstrar uma técnica simples de isolamento de *Trichoderma* no campo, passível de ser reproduzida por agricultores. A metodologia foi baseada na captura de fungos do solo através de iscas de cana-de-açúcar em áreas com cultivo de soja e de cana-de-açúcar com histórico de doenças radiculares. Foi realizada a seleção de colônias após 15 dias das iscas terem sido colocadas em câmara úmida em condições *on farm*, e então feita repicagem posterior em novas iscas para possibilitar a purificação das colônias capturadas. Os resultados apresentam essa nova técnica e os cuidados observados no processo de isolamento até a obtenção dos isolados alvo de *Trichoderma*. Colônias foram obtidas nesta pesquisa a partir da coleta simultânea em lavouras nos municípios de Mineiros/GO e Mamanguape/PB. Os resultados atestam a efetividade do método descrito como uma ferramenta com potencial de auxiliar os agricultores na produção *on farm* desse fungo.

Palavras-chave: Controle biológico. Isca. Método de Captura

Abstract

Isolation on farm of Trichoderma: a tool to control soil diseases for farmers in Brazil

Fungi of the genus *Trichoderma* are widely distributed by their cosmopolitan habit, and have been used as excellent biopesticides in the main commercial crops. The collection and use of isolates in commercial crops can be an efficient control strategy because these populations are naturally adapted to the local environment and specifically aggressive to communities of pathogens present in that agricultural area. Therefore, our work aimed to demonstrate a simple

technique of isolation of *Trichoderma* in the field that can be reproduced by farmers. The methodology was based on the capture of fungi from the soil through sugarcane baits in areas with soybean and sugarcane cultivation with a history of root diseases. The colonies were selected after 15 days of the baits being placed in a humid chamber under on-farm conditions, and then later by passing into new baits to enable the purification of the captured colonies. The results present this new technique and the care observed in the isolation process until obtaining the target isolates of *Trichoderma*. Colonies were obtained in this research from the simultaneous collection in crops in the municipalities of Mineiros/GO and Mamanguape/PB. The results attest to the effectiveness of the method described as a tool with the potential to assist farmers in the on farm production of this fungus.

Keywords: Biological control. Bait. Capture method

Introdução

O aumento da população mundial e as mudanças climáticas representam um desafio para a produção agrícola global. Há uma necessidade de intensificar a produção agrícola de maneira sustentável e encontrar soluções para combater o estresse abiótico, patógenos e pragas. As plantas estão associadas à microbiomas complexos, estes podem ser definidos como o conjunto de genes encontrados de maneira associada aos organismos que colonizam um determinado ambiente (BOON *et al.*, 2014; MURILLO-CUEVAS *et al.*, 2019).

O microbioma tem potencial para promover o crescimento das plantas e a tolerância do organismo vegetal ao parasitismo de fitopatógenos, podendo representar uma solução sustentável promissora para melhorar a produção agrícola. Entre os diversos microrganismos encontrados naturalmente no solo os fungos do gênero *Trichoderma* são reconhecidamente os mais estudados e os que mais têm sido utilizados como princípio ativo de biofungicidas (BETTIOL e MORANDI, 2009; Woo *et al.*, 2014; KARAOGLU *et al.*, 2018; ALEKSEEVA *et al.*, 2019). Esses fungos são relevantes pelas características que os favorecem em termos de sobrevivência no ambiente, tais como: serem saprófitas e apresentarem rapidez na colonização de substratos, com exigências nutricionais mínimas; além de produzirem estruturas de resistência para sobreviverem a adversidades do ambiente. No geral, o uso de *Trichoderma* favorece o controle de patógenos do solo, como: *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Sclerotinia* e nematoides (LOUZADA *et al.*, 2009). Porém são atualmente comercializados como biopesticidas, biofertilizantes, promotores de crescimento e estimulantes da resistência natural.

O Brasil tem um vasto potencial para produção e uso de biopesticidas, no entanto, dentre os aspectos que justificam a baixa exploração desse setor, está a limitada disponibilidade de produtos comerciais à base de *Trichoderma* legalmente registrados no Ministério da agricultura pecuária e abastecimento - MAPA (AGROFIT, 2019). Não obstante nos últimos anos normativas legais tenham promovido uma diferenciação mais ampla desses produtos em relação aos químicos convencionais, permanecem limitações importantes como: a baixa efetividade de alguns produtos, o uso de produtos em subdoses e isolados com pouca adaptação a diferentes agroecossistemas (JORGE *et al.*, 2017). Por fim, a legislação nacional para registro de produtos biológicos dificulta o estabelecimento de pequenas biofábricas no mercado, o que reduz a diversidade da oferta de produtos.

Um exemplo dessa limitação pode ser ilustrado no caso do estado do Rio Grande do Sul, onde foi inaugurada uma biofábrica de *Trichogramma* sp. pela EMATER/RS - Ascar e secretaria de desenvolvimento rural pesca e cooperativismo – SDR, em parceria com a Embrapa milho e sorgo de Sete Lagoas-MG (EMATER/RS - ASCAR, 2015), e que permanece fechada em 2019 pelo órgão de fiscalização responsável. Importante ressaltar que biopesticidas são específicos de pragas alvo e, por isso, presume-se que sejam relativamente seguros para organismos “não alvos”, incluindo humanos. No entanto, no Brasil, a legislação de registro requer os dados sobre química, bioeficácia, toxicidade e embalagem e rotulagem, sendo o biológico enquadrado na mesma legislação dos agrotóxicos, dada pela lei federal 7.802/1989. Diante desse cenário pouco favorável ao uso de produtos biológicos faz-se necessário desenvolver e promover tecnologias sociais que possam ampliar o acesso e o uso de agentes biológicos nas lavouras brasileiras. Os processos e resultados associados à conservação de biodiversidade local em centros de produção agrícola são complexos e a causalidade nesses processos não é clara nem óbvia (BELLONA *et al.*, 2015). Por isso, objetivou-se com esse trabalho testar o uso de metodologia de isolamento de espécies nativas de *Trichoderma* na fazenda, a partir do estudo de práticas de micologia laboratorial do centro de pesquisas do cacau – CEPLAC, para obter de forma simples e sistêmica, isolados locais de *Trichoderma* que potencialmente contribuam na reconstrução metabólica do próprio microbioma de onde foi isolado.

O objetivo do presente trabalho é experimentar uma metodologia de isolamento do fungo *Trichoderma* sp. em condições de campo em duas diferentes regiões do Brasil.

Material e Métodos

Os trabalhos foram conduzidos entre 8 de abril a 17 de junho de 2018 em dois agroecossistemas distintos, localizados em duas diferentes regiões brasileiras: na região centro-oeste na fazenda Sélia, situada no município de Mineiros, estado de Goiás; e na região nordeste na estação experimental do Camaratuba, pertencente à associação de plantadores de cana da Paraíba - Asplan, no município de Mamanguape, estado da Paraíba.

Durante o período em que foi realizado o experimento as médias de temperaturas em Mineiros foram de: mínima 19°C e máxima 27°C; e em Mamanguape: mínima 22°C e máxima 30°C. A área experimental do estado de Goiás é cultivada com monocultura de soja convencional em sucessão com milho híbrido safrinha há mais de 20 anos. O tamanho do talhão utilizado para experimentação tem um total de 53 hectares e coordenadas de georreferenciamento (GPS) 17°57'27.7"S 53°00'18.2"W. A área apresentou incidência de *Fusarium* sp. e *Macrophomina* sp. na safra de 2017/2018, imediatamente anterior à safra de realização do experimento. Em nove de abril de 2018, 25 iscas foram posicionadas no solo do talhão de forma aleatória, estando a soja entre os estádios fenológicos V4 e R1 (Figura 1A).

A área experimental estabelecida no município de Mamanguape insere-se em uma região com predominância de monoculturas de cana-de-açúcar em grandes propriedades. O talhão experimental localiza-se nas coordenadas de GPS 6° 33' 3968"S, 35° 8'5,21"O, perfazendo área total de três hectares. A área foi escolhida por ter apresentado alta infestação de nematoide das galhas na safra de 2016/2017, imediatamente anterior à safra de realização do experimento. Em 23 de abril de 2018, dez iscas foram colocadas de forma aleatória no talhão, estando a cultura entre os estádios fenológicos V3 e V4 (Figura 1B).



Fonte: Autor (2018)

Figura 1.

Colocação das iscas (toletes de cana-de-açúcar) para captura de *Trichoderma* sp. em abril de 2018 em duas áreas de cultivo: A) soja em Mineiros – GO; e B) cana-de-açúcar em Mamanguape – PB.

Nos dois locais de coleta a metodologia de captura a campo e isolamento foi sempre a mesma, empregou-se como isca toletes de cana-de-açúcar com medidas de comprimento entre 20 e 30 cm, cortados ao meio verticalmente (Figura 2A) e colocados de forma que a parte interna do tolete ficasse voltada para o solo (Figuras 2B e 2C).

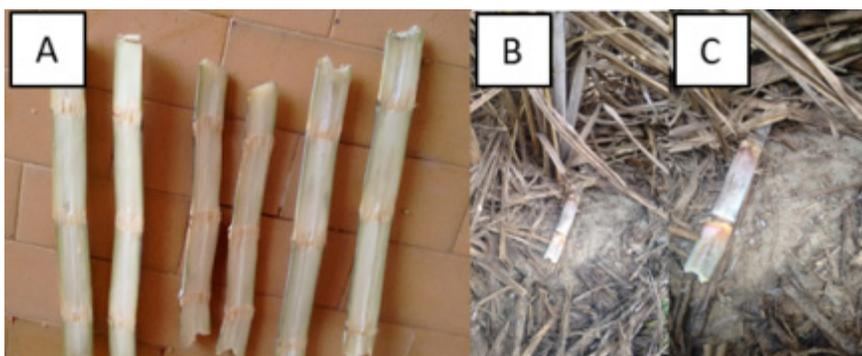


Figura 2.

Toletes de cana-de-açúcar cortados ao meio para serem utilizados como isca na lavoura: A) toletes antes de irem para a lavoura; B e C) detalhes da colocação do tolete com a face interna do corte voltada para o solo.

Fonte: Autor (2018)

Sete dias após a colocação das iscas no campo elas foram trazidas para o prédio da fazenda (Figura 3A), e acondicionadas em câmaras úmidas (Figura 3B) com a finalidade de estimular o crescimento e esporulação do *Trichoderma* capturado nos toletes. As câmaras úmidas foram confeccionadas com recipientes plásticos tapados e papeis toalha previamente umedecidos e colocados no fundo destes. Dentro das câmaras foram depositados os toletes trazidos do campo após período de sete dias em contato com o solo da lavoura.

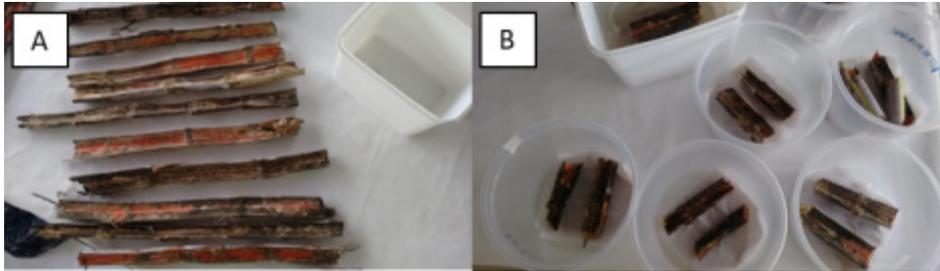


Figura 3.

Incubação das iscas trazidas da lavoura para instalações da fazenda: A) iscas de cana-de-açúcar retiradas do campo após período de sete dias em contato com o solo da lavoura; B) câmaras úmidas adaptadas em recipientes plásticos onde foram colocados papeis toalha no fundo previamente umedecidos.

Fonte: Autor (2018)

Os toletes permaneceram em câmara úmida por sete dias em condições de temperatura ambiente em local aerado, tendo sido observado a cada dois dias a umidade do papel toalha para verificação de necessidade de reposição de água. Após esse período, fungos com coloração esverdeada foram “pescados” ou re-isolados em um novo tolete de cana lavado com água filtrada e não clorada; as inoculações foram feitas com o auxílio de palitos de dente descartáveis autoclavados, constituindo assim um subcultivo destes. Esses toletes oriundos de reinoculação foram acondicionados em novas câmaras úmidas em idênticas condições do processo inicial até manifestarem um crescimento maior do fungo nos toletes.

Durante o processo de crescimento em condições ambiente, os toletes subcultivados foram monitorados até manifestarem um amplo crescimento das colônias selecionadas. Após período médio de 15 dias, toletes com colônias bem formadas foram avaliados pelos autores nas instalações da fazenda Sélia e no laboratório de controle biológico da estação experimental do Camaratuba. Essa etapa teve como objetivo identificar o nível microscópico o gênero *Trichoderma* e quantificar o número total de conídios por tolete segundo metodologia para avaliação de produtos biológicos à base de *Trichoderma* spp. (PINTO *et al.*, 2011). Para este fim os isolados foram multiplicados e armazenados em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) na geladeira a 4°C.

Resultados e Discussões

Após as iscas terem sido posicionadas por sete dias no solo das lavouras, estas apresentaram um aspecto escurecido e ressecado como mostrado nas Figuras 4A (fazenda Sélia) e 4B (estação experimental do Camaratuba). Esse aspecto pode ser explicado pela ação de decomposição de microrganismos do solo e da perda de umidade dada a situação de exposição a condições climáticas de temperaturas médio-altas do período.



Figura 4.

Toletes de cana empregados como iscas coletados após sete dias no campo na safra 2017/2018: A) em cultura de soja na fazenda Sélia; B) em cultura de cana-de-açúcar na estação experimental do Camaratuba.

Fonte: Autor (2018)

Quando as iscas foram coletadas e colocadas em câmara úmida (Figura 5A), foi possível observar após sete dias o início do crescimento aparente de colônias de *Trichoderma* sp. e outros fungos (figura 5B), facilitando assim a realização da repicagem ou isolamento do fungo em novos toletes.

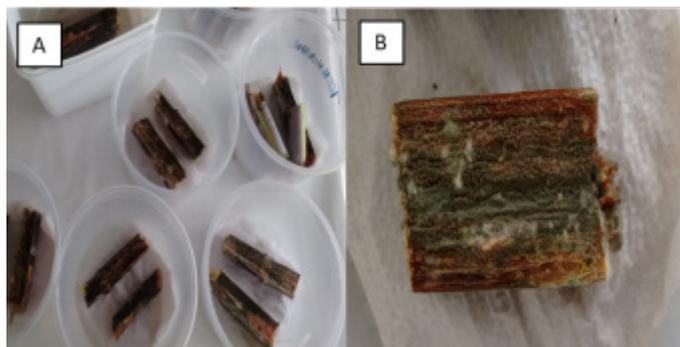


Figura 5. Crescimento aparente de colônias de *Trichoderma* sp. na estação experimental do Camaratuba, safra 2017/2018: A) toletes iscas coletados na lavoura após período de sete dias no campo, incubados em câmaras úmidas; e B) crescimento fúngico sobre tolete isca coletado no campo, após período de incubação de sete dias em temperatura ambiente nas instalações da estação.

Fonte: Autor (2018).

O êxito da coleta dos fungos em ambos ambientes provavelmente foi facilitado pela ocorrência de temperaturas médias do ambiente propícias ao crescimento do fungo, de +/- 25°C (CÁRDENAS, 2010; SIMÕES *et al.*, 2012). Temperaturas mais baixas têm sido demonstradas não favorecer o crescimento do fungo (MACHADO *et al.*, 2012). O sucesso da captura no solo possibilitou a seleção de colônias com características aparentes de *Trichoderma* crescendo nos toletes incubados, as quais foram isoladas e colocadas em novos toletes de cana em câmara úmida por cerca de 15 dias (Figura 6).



Figura 6. Incubação de toletes de cana frescos ou novos inoculados com colônias que apresentaram características aparentes de *Trichoderma* a partir daqueles trazidos da lavoura. Fazenda Sélia, safra 2017/2018.

Fonte: Autor (2018)

Após aproximadamente 15 dias, os novos toletes manifestaram colônias do gênero *Trichoderma* (Figura 7), sendo estas provenientes de diferentes iscas coletadas dentro da mesma área amostrada. O êxito do subcultivo representado pelo crescimento de múltiplas colônias de *Trichoderma* sp. está relacionado com a capacidade de se pescar colônias individuais em condições adequadas de cultivo, considerando também que temperatura ambiente ideal foi alcançada na condição de campo e de laboratório em ambos os locais.



Figura 7. Colônias do gênero *Trichoderma* crescendo em toletes novos de cana após aproximadamente 15 dias de terem sido repicados de iscas trazidas do campo. Fazenda Sélia, safra 2017/2018.

Fonte: Autor (2018)

Provavelmente por isso foram observadas nessa fase colônias bem formadas e com níveis pequenos de contaminantes. O meio utilizado para captura também provavelmente contribuiu de forma decisiva para o sucesso da metodologia, pois a constituição da cana-de-açúcar e seus extratos aquosos permitem que exista uma afinidade evidente do fungo *Trichoderma* por este substrato, mostrando padrão agressivo de crescimento e hegemonia dentre outros fungos do solo em sua colonização (Figura 7).

Além disso, a colonização rápida dos toletes demonstra o poder de competição por espaço e nutrientes dos isolados, o que constitui característica positiva para microrganismos inoculantes e agentes de controle biológico. Estudos *in vitro* demonstraram que isolados de *Trichoderma* sp. nativos apresentaram maior agressividade do que os armazenados (García-Núñez *et al.*, 2012). De modo semelhante, testes *in vivo* demonstraram que *Trichoderma harzianum* nativos foram mais efetivos no controle de *S. sclerotiorum* do que isolados comerciais armazenados, já que não foram capazes de parasitá-lo através da penetração e colonização das hifas (ABDULLAH *et al.*, 2008).

Nos dois experimentos observaram-se visualmente nas colônias isoladas as seguintes características do gênero *Trichoderma*: crescimento rápido no substrato, agressividade e cor esverdeada de suas colônias (Figura 8). Normalmente, através dessas características macroscópicas o gênero pode ser reconhecido. O crescimento rápido dos isolados em meio de cultura BDA também foi observado (Figura 9).

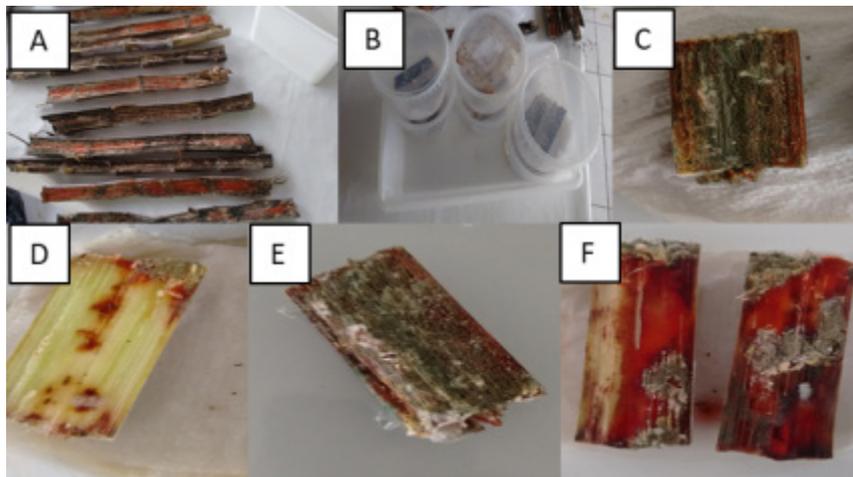


Figura 8.

Etapas do isolamento de *Trichoderma* sp. com uso de iscas de cana em solo de canavial com sintomas de *Meloidogyne* sp. na estação experimental do Camaratuba, safra 2018/2019: A) toletes coletados após sete dias no campo; B) toletes vindos do campo incubados dentro de câmaras úmidas; C) toletes apresentando crescimento pleno do fungo após sete dias de incubação; D) tolete de cana novo ou fresco apresentando crescimento inicial de colônias inoculadas a partir de seleção daquelas crescidas nos toletes iscas incubados por 7 dias; E) e F) após aproximadamente 15 dias os novos toletes manifestando colônias de *Trichoderma* sp. originados de diferentes iscas dentro da mesma área amostrada.

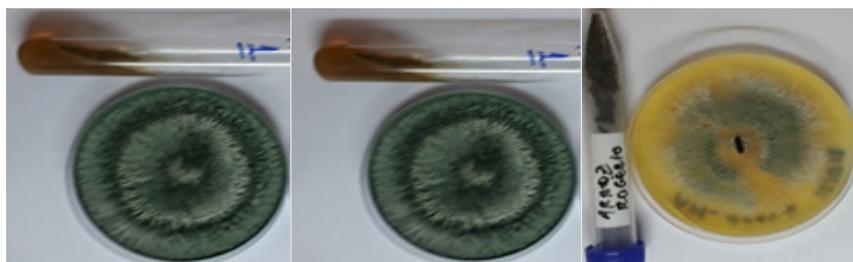


Figura 9.

Três isolados de *Trichoderma* sp. obtidos na fazenda Sélia em Mineiros - Goiás, como parte do processo de isolamento em campo. Purificação feita no laboratório da Universidade Federal de Goiás (UFG), em 2018.

Fonte: Autor (2018).

Ao nível microscópico, o gênero apresenta rede micelial aérea hialina, septada, bastante ramificada e esparsa, além de produção de pústulas conidiogênicas diferenciais brancas ou verdes, características reconhecidas nas colônias isoladas em meio BDA (Figuras 9 e 10). Os conídios são produzidos abundantemente e podem ser soltos ou muito compactados em tufo. A estrutura e tamanho dos conidióforos são utilizados para a diferenciação de espécies bem como a determinação de suas relações. Os conídios subglobosos, ovóides elipsóides ou elíptico-cilíndricos, são produzidos em série e acumulados no ápice das fiáides formando uma estrutura globosa ou subglobosa com menos de 15 μm de diâmetro. Podem ser lisos ou levemente rugosos, hialinos ou com coloração variando do amarelo ao verde-escuro.

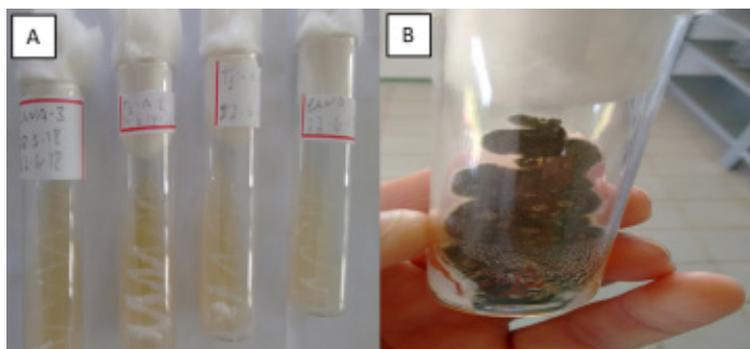


Figura 10.

Tubos de ensaio contendo uma amostra dos isolados capturados a partir de toletes empregados como iscas em cultura de cana-de-açúcar com sintomas de nematoides. Estação experimental do Camaratuba, safra 2018/2019. A) a cultura com quatro dias de crescimento e B) com nove dias de crescimento.

Fonte: Autor (2018).

Nas condições do ambiente de crescimento recomendadas neste trabalho, o produtor pode obter o isolado de *Trichoderma* sp. na fazenda dentro de um período de 21 a 28 dias (Tabela 1); porém é a caracterização microscópica do gênero *Trichoderma* que finalizará as etapas do processo de captura e isolamento do fungo dentro da fazenda. Ao concluir essas etapas, o produtor poderá optar por utilizar os isolados na inoculação de novos substratos ou utilizar diretamente os isolados lavando os toletes e diluindo a suspensão de conídios em quantidade maior de água no pulverizador como ferramenta de controle biológico em áreas menores. A partir desta metodologia, será proposto em próximos trabalhos o uso direto do tolete colonizado com *Trichoderma*.

A possibilidade de as colônias serem isoladas e re-inoculadas em toletes de cana em uma condição mais controlada e logo após serem feitas lavagem dos toletes em água não clorada e aplicado na lavoura mediante pulverizadores ou sistema de irrigação, poderia ser mais uma aplicação deste método como parte de uma generalização mais direta no campo, como é feito hoje a multiplicação e uso de microorganismos eficazes (EM) nas fazendas.

Tabela 1. Diferentes fases do método de isolamento proposto.

Fase	Descrição	DAFA*	Insumos
1	Distribuição de iscas no campo	-	Toletes de cana (20 a 30 cm)
2	Coleta de iscas no campo e traslado a laboratório com condições controladas na fazenda	7	Bandejas de plástico
3	Câmara úmida para iscas de campo	7	Gerbox ou plásticos com tampa, papel toalha, água não clorada
4	Captura do fungo e re-isolamento	7 - 15	Toletes limpos (5 a 10 cm), palito de dente, gerbox ou plásticos com tampa, papel toalha, água não clorada
5	Isolamento em meio de cultivo	7	Meio BDA, placas de Petri (8 a 10 cm de diâmetro), palitos de dente, fluxo laminar
6	A) Caracterização de gênero	15	Trabalho de pessoal especializado
6	B) Uso na inoculação de novos substratos	5	Substratos (arroz, toletes de cana, etc.), palitos de dente

*DAFA: dias após fase anterior.

Considerações Finais

Conforme a descrição metodológica dos autores, este trabalho pode ser realizado com estrutura física e equipamentos simples nas fazendas, aliado a um conhecimento básico do fungo que permita reconhecê-lo e criar condições favoráveis ao seu desenvolvimento. Essa nova técnica pode contribuir com o uso intensivo destes isolados regionais os quais possuem maior adaptação às macro e micro condições da produção agrícola local. Assim, nossos resultados ressaltam o forte potencial dessa ferramenta de controle biológico ser praticada por agricultores e da possibilidade real de isolar fungos do gênero *Trichoderma* de forma simples a partir do solo da própria fazenda. Essa tecnologia também cria

possibilidade dos agricultores se associarem a centros de pesquisas regionais que permitam quantificar o nível de diversidade destes agentes biológicos no campo para desenvolvimento de estratégias específicas de manejo de doenças de solo em diferentes agroecossistemas.

Referências

- ABDULLAH, M. T.; ALI, N. Y.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, Oxford, v. 27, n. 10, p. 1354-1359, 2008.
- ALEKSEEVA, K. L.; SMETANINA, L. G.; KORNEV, A. V. Biological protection of tomato from Fusarium wilt. **AIP Conference Proceedings**, 2063, 030001, 2019.
- BELLONA, M. R.; GOTORA, E.; CARACCILO, F. Conserving landraces and improving livelihoods: how to assess the success of on-farm conservation projects? **International Journal of Agricultural Sustainability**, v. 13, n. 2, 2015.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009.
- BOON, E. et al. Interactions in the microbiome: communities of organisms and communities of genes. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 38, p. 90-118, 2014.
- CÁRDENAS, Y. G. Métodos de conservación y formulación de *Trichoderma harzianum rifai*. **Fitosanidad**, v. 14, n. 3, p. 189-195, 2010.
- EMATER/RS - ASCAR. **Relatório de atividades 2014**. Porto Alegre: EMATER/RS - ASCAR, 2015.
- GARCÍA-NÚÑEZ, H. G. et al. Isolation of native strains of *Trichoderma* sp. from horticultural soils of the Valley of Toluca, for potential biocontrol of *Sclerotinia*. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**. Valencia, v. 15, n. 2, p. 357-365, 2012.
- JORGE, D. M.; SOUZA, C. A. V. O papel da regulamentação dos produtos de origem biológica no avanço da agroecologia e da produção orgânica no Brasil. In: SAMBUICHI, R. H. R. et al. (Org.). **A política nacional de agroecologia e produção orgânica no Brasil: uma trajetória de luta pelo desenvolvimento rural sustentável**. Brasília: Ipea, 2017. p. 463.
- KARAOGLU, S. et al. Characterization of Local *Trichoderma* sp. as Potential Bio-Control Agents, Screening of *in vitro* Antagonistic Activities and Fungicide Tolerance. **Hacettepe J. Biol. & Chem**, v. 46, n. 2, p. 247-261, 2018.
- LOUZADA, G. A. S. et al. Potencial antagonístico de *Trichoderma* sp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotrópica**, Campinas, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009.
- MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitário (AGROFIT)**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em 15 Jan. 2019.
- MURILLO-CUEVAS, F. D. et al. Fauna y microflora edáfica asociada a diferentes usos de suelo. **Ecosist. Recur. Agropec**, v. 6, n. 16, p. 23-33, 2019.
- PINTO, Z. V. et al. Metodologia para avaliação da qualidade de produtos biológicos à base de *Trichoderma* spp. In: **Resumo em anais de Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, 44, 2010. Tropical Plant Pathology 36 (Suplemento), ago. 2011. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/917951/1/2011RA050.pdf>. Acessado em 15 Jan. 2019.
- SIMÕES, M. L. G. et al. Evaluation of *Trichoderma* sp. for the Biocontrol of *Moniliophthora perniciosa* Subgroup 1441. **Journal of biology and Life Science**, v. 3, p. 1-19, 2012.
- WOO, S. L. et al. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, p. 71-126, 2014.