

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO *LATO SENSU*

O FUNGO *Trichoderma* spp. NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS:  
DIFICULDADES E PERSPECTIVAS

Tanara da Silva Ribeiro  
Mestre em Biologia Celular e Molecular (UFRGS)

Monografia apresentada como um dos requisitos parciais  
à obtenção ao Título de Especialista, Curso de Pós-graduação *Lato Sensu*  
“Tecnologias Inovadoras no Manejo Integrado de Pragas e Doenças de Plantas”

Porto Alegre (RS), Brasil  
Novembro de 2009

Folha de homologação

DEDICO  
À minha família.

## AGRADECIMENTOS

À minha fé, companheira inseparável.

À ECCB – Empresa Caxiense de Controle Biológico, pelo apoio e incentivo.

Ao Curso de Pós-graduação *Lato Sensu* em Tecnologias Inovadoras de Manejo de Pragas e Doenças de Plantas, do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pela excelência do curso.

À professora Dra. Luiza Rodrigues Redaelli pela ótima orientação e grande paciência.

Aos professores pelo conhecimento e atenção dedicados.

Aos colegas pela vivência e conhecimentos compartilhados, pela ótima companhia e horas divertidas.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, em especial à Júlia, sempre muito atenciosa e prestativa e, à Cláudia, pelos maravilhosos almoços.

Aos Agrônomos Marcos e Rubinho, da casa agrícola Agrocaxias; Ademir Basso, da Hortobel; Maurício e Diego, da Araldi, em Flores da Cunha; Valdir Franceschet, da Emater, também de Flores da Cunha; e ao funcionário Alexandre, da Enoagro, em Forqueta; pelas valiosas contribuições no levantamento dos dados para esse trabalho.

Ao Gustavo pelo amor, pelo carinho, pela paciência comigo durante essa jornada.

E à minha mãe, por todo apoio e incentivo, por ser para mim um exemplo de coragem, perseverança e sucesso. Obrigada pela confiança, dedicação e paciência.

É com muito orgulho e amor que dedico minhas vitórias a ti!

## O FUNGO *Trichoderma* spp. NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS: DIFICULDADES E PERSPECTIVAS

Autor: MSc. Tanara da Silva Ribeiro  
Orientadora: Dr. Luiza Rodrigues Redaelli

### RESUMO

Doenças de plantas desempenham papel significativo em prejuízos causados na agricultura. Em particular, fungos de solo são responsáveis por perdas importantes em todos os tipos de cultivos agrícolas. Além disso, não só as lavouras, mas produtos pós-colheita também sofrem com infecções fúngicas. Espécies do gênero *Trichoderma* possuem propriedades antagônicas baseadas na ativação de um arsenal de mecanismos variados, o que possibilita atividade contra um largo espectro de fitopatógenos, e a capacidade de controlar um grande número de doenças de plantas. Atualmente no país, empresas produzem e comercializam produtos formulados à base de isolados de *Trichoderma*. O uso desses produtos é restrito, condição que se deve a variados fatores, como a deficiência de informação a respeito aos princípios do controle biológico por parte de quem faz uso dos produtos biológicos, aos rótulos pouco informativos dos produtos, que não apresentam a eficiência prometida, influências ambientais, incompatibilidade com o fitopatógeno, e, também, por produtos de qualidade duvidosa. Esses fatores são alguns dos que levam o controle biológico ao descrédito frente à cultura dos químicos. Dentro desse contexto, o presente trabalho buscou sintetizar e analisar as dificuldades enfrentadas tanto por aqueles que produzem *Trichoderma*, como as dos agricultores que optam ou não pelo seu uso como um agente de controle através da coleta de dados nas revendas de produtos agrícolas, na forma de entrevistas. Foi possível verificar que nos locais onde se detém maior conhecimento quanto ao uso do produto, a confiança nos seus resultados é maior, e os produtores adeptos ao *Trichoderma* estão satisfeitos. Entretanto, onde o conhecimento é mínimo, os agricultores são indiferentes, e a aplicação desse fungo é o último recurso, pois é feita quando todos os fungicidas químicos já foram testados e nenhum deles resolveu o problema, o que leva ao descrédito do produto e induz os produtores a não aderirem anualmente ao controle biológico. Assim, é necessária uma maior divulgação de como funciona o *Trichoderma*, e de seus benefícios através de palestras, dias de campo e assistência técnica efetiva, que são recursos essenciais para o sucesso de qualquer método de controle, inclusive o biológico.

## **THE FUNGUS *Trichoderma* spp. IN THE CONTROL OF PLANT PATHOGENS: PROBLEMS AND PROSPECTS**

Author: MSc. Tanara da Silva Ribeiro  
Advisor: Dr. Luiza Rodrigues Redaelli

### **ABSTRACT**

Plant diseases play a significant role in damage to agriculture. In particular, soil fungi are responsible for major losses in all types of crops. Moreover, not only crops, but fruit stored also suffer from fungal infections. *Trichoderma* species have antagonistic properties based on the activation of a diverse arsenal of mechanisms, which allows for activity against a broad spectrum of pathogens, and the ability to control a large number of plant diseases. Currently in the country, companies produce and market products formulated based on *Trichoderma*. The use of these products is restricted, a condition which is due to several factors, such as deficiency information about the principles of biological control by the person who makes use of organic products, the labels are uninformative of products which do not have the efficiency promised, environmental influences, incompatibility with the pathogen, and also by products of dubious quality. These are some of the factors that lead to the discredit biological control against the culture of pesticides. Within this context, this paper attempts to summarize and analyze the difficulties faced both by those who produce *Trichoderma*, such as farmers who choose whether or not its use as a biocontrol agent by collecting data on the resale of agricultural products in the form interviews. We noticed that in places where it has further information on the product's use, confidence in their results is higher, and producers to *Trichoderma* fans are pleased. However, where knowledge is minimal, farmers indifferent, and the application of this fungus is the last resort, as is done when all chemical fungicides have been tested and none of them solved the problem, which leads to discredit the product and inducing producers not to adhere to each control method. This requires greater release of how the *Trichoderma*, and its benefits through lectures, field days and effective technical assistance, resources that are essential to the success of any control method, including the biological.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	1
2	DESENVOLVIMENTO .....	5
	2.1. <i>Trichoderma</i> spp. ....	5
	2.1.1 Os mecanismos de biocontrole do <i>Trichoderma</i> spp. ....	6
	2.1.1.1 Fungistasia.....	6
	2.1.1.2 Competição por nutrientes.....	6
	2.1.1.3 Biofertilização e estimulação dos mecanismos de defesa das plantas .....	7
	2.1.1.4 Modificação da rizosfera .....	8
	2.1.1.5 Antibiose .....	9
	2.1.1.6 Micopredatismo.....	10
	2.2 Produção de produtos à base de <i>Trichoderma</i> .....	11
	2.3 Aplicação a campo dos produtos .....	12
	2.4 Dificuldades de uma realidade.....	13
	2.5 Uma análise local.....	15
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	20
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
	APÊNDICE 1.....	26

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
TABELA 1 Características dos entrevistados. ....	16
TABELA 2 Características do uso do <i>Trichoderma</i> spp.: porcentagem dos entrevistados que marcaram características específicas no questionário. Caxias do Sul, RS. Nov/2009. ....	16
TABELA 3 Desconfiança dos produtores agrícolas no uso do <i>Trichoderma</i> spp. no controle de doenças de plantas. ....	16
TABELA 4 Ocorrência do reuso/tratamento anual com <i>Trichoderma</i> spp. ....	17
TABELA 5 Nível de satisfação dos produtores agrícolas que usam <i>Trichoderma</i> spp. no controle de doenças de plantas. ....	17
TABELA 6 Dúvidas e carências citadas sentidas tanto pelos estabelecimentos agrícolas sondados quanto por seus clientes (mais de uma resposta era possível). ....	17

## 1 INTRODUÇÃO

Doenças de plantas desempenham papel significativo em prejuízos causados na agricultura. Em particular, fungos de solo são responsáveis por perdas importantes em todos os tipos de cultivos agrícolas. Além disso, não só as lavouras, mas produtos pós-colheita também sofrem com infecções fúngicas.

Compostos químicos têm sido usados há 70 anos para controlar doenças de plantas, mas o abuso no seu emprego tem promovido diversos problemas, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos seres vivos; a intoxicação de agricultores; a resistência de patógenos; o desequilíbrio biológico, alterando a ciclagem dos nutrientes e da matéria orgânica; a eliminação de organismos benéficos e a redução da biodiversidade (Bettiol & Morandi, 2009).

Uma das alternativas ao controle químico é o controle biológico, que além de apresentar especificidade ao alvo, utiliza diferentes meios para atingi-lo, restringindo as chances de selecionar linhagens resistentes. Em adição, não contamina os alimentos e nem o meio ambiente, participando naturalmente da ciclagem dos nutrientes. Dentro desse contexto, o uso de microrganismos que antagonizam patógenos de plantas é uma saída sustentável para a problemática do controle de doenças na agricultura, a qual se perpetua por anos de cultivo agrícola, apesar do uso intenso de agrotóxicos.

Segundo Monte (2001), 90% das aplicações de microrganismos antagonistas na agricultura são com isolados de espécies do gênero *Trichoderma*, fungos filamentosos

de vida livre comuns no solo e em ecossistemas radiculares e facilmente isolados. Apresentam rápido crescimento em micro cultura com abundante produção de esporos (conídios), cuja coloração varia os tons de verde entre as espécies do gênero (Howell, 2003). O sucesso das linhagens desse gênero como agentes de controle biológico, deve-se à sua alta capacidade reprodutiva, rápido crescimento, habilidade de sobreviver sob condições desfavoráveis, eficiência na utilização de nutrientes, alta agressividade contra fungos fitopatogênicos, habilidade em promover o crescimento vegetal e ativar seus mecanismos de defesa (Chet *et al.*, 1997).

Espécies do gênero *Trichoderma* possuem propriedades antagônicas baseadas na ativação de um arsenal de mecanismos variados, o que possibilita atividade contra um largo espectro de fitopatógenos, e capacidade de controlar um grande número de doenças de plantas (Aluko & Herring, 1970, Zhang *et al.*, 1996, 1999). O biocontrole ocorre de maneira indireta, por competição por espaço e nutrientes, estimulação do crescimento das plantas, de seus mecanismos de defesa, produção de antibióticos ou ainda, diretamente por micopredatismo. Esses mecanismos podem atuar de forma sinérgica e a sua importância nos processos de biocontrole depende, não só da espécie, mas do isolado de *Trichoderma*, do fungo a que antagoniza, do tipo de cultivo e das condições ambientais tais como disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura e umidade. A ativação de cada um dos mecanismos implica na produção de metabólitos e compostos específicos tais como fatores de crescimento de plantas, enzimas hidrolíticas, sideróforos, antibióticos e permeases de carbono e de nitrogênio (Benítez *et al.*, 2004).

O potencial das espécies de *Trichoderma* como agentes de biocontrole de doenças de plantas foi descoberto na década de 30 (Weindling, 1932), e nos anos que se seguiram, o controle de muitas doenças vem sendo verificado. Tais constatações têm

levado ao surgimento de diversos produtos comerciais formulados a partir de variadas espécies de *Trichoderma* em países de praticamente todos os continentes (Howell, 2003).

No Brasil, o primeiro registro do uso do *Trichoderma* como agente de controle biológico de doenças de plantas foi em 1950, quando Foster (1950) descreveu a inativação do vírus do mosaico do fumo (TMV) por filtrados da cultura de *Trichoderma* sp.

O uso de *Trichoderma* tem sido efetivo contra patógenos radiculares como: nematóide de raiz *Meloidogine javanica* (Sharon *et al.*, 2001), e os fungos de raiz *Pythium* spp. (Naseby *et al.*, 2000; Thrane *et al.*, 2000), *Rhizoctonia* spp. (Cúndom *et al.*, 2003), *Phytophthora* spp. (Etebarian *et al.*, 2000, Ezziyyani *et al.*, 2007) etc. e patógenos da parte aérea, como: *Venturia* spp., *Botrytis* spp. (Hjeljord *et al.*, 2001, Lisboa *et al.*, 2007), *Crinipellis perniciosa*, agente causal da vassoura-de-bruxa do cacau (Sanogo *et al.*, 2002), dentre outros. Podem, também, ser utilizados no controle de fitopatógenos de produtos de pós-colheita, como tubérculos (Okigbo & Ikediugwu, 2000), frutos (Batta, 2004) e na proteção de sementes (Burns & Benson, 2000).

Segundo Bettiol & Morandi (2009), 13 empresas produzem e comercializam produto formulado à base de isolados de *Trichoderma*, as quais estão localizadas, principalmente no Centro-Sul do Brasil. Ainda assim, o uso desses produtos é restrito, condição que se deve a variados fatores, como a deficiência de informação no que diz respeito aos princípios do controle biológico por parte de quem faz uso dos produtos biológicos, rótulos incompletos, produtos que não apresentam a eficiência prometida, influências ambientais, incompatibilidade do fitopatógeno ou do agente de controle biológico, e também, por produtos de qualidade duvidosa. Estes fatores são alguns dos que levam o controle biológico ao descrédito frente à cultura dos agrotóxicos. Dentro

desse contexto, o presente trabalho buscou sintetizar e analisar as dificuldades, enfrentadas pelos que fabricam o *Trichoderma* e pelos que utilizam o este fungo como um agente de controle biológico.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 *Trichoderma* spp.

*Trichoderma* spp. compreende fungos de vida livre, que se reproduzem assexuadamente, presentes com mais freqüência em solos de regiões de clima temperado e tropical, apresentando uma concentração que varia de  $10^1$  a  $10^3$  propágulos por grama de solo. Esses fungos também colonizam madeira, onde a fase sexual Teleomorfa (gênero *Hypocrea*) tem sido mais frequentemente encontrada. Entretanto, muitas linhagens, a maioria incluindo linhagens de controle biológico, não possuem ciclo sexual conhecido. Tais fungos apresentam alta diversidade genética, e podem ser usados para produzir uma ampla variedade de produtos de interesse ecológico e comercial (Harman *et al.*, 2004).

O controle biológico obtido com o uso de isolados de *Trichoderma* sp. é definido pelo resultado final de um complexo de diferentes mecanismos, que atuando sinergicamente, levam ao controle de doenças. O biocontrole se dá tanto pela competição por nutrientes e espaço, quanto pela habilidade dos isolados de produzir e/ou resistir a metabólitos que podem impedir a germinação de esporos (fungistasia), matar as células (antibiose), ou modificar a rizosfera, como a acidificação do solo fazendo com que o crescimento dos patógenos seja inibido. O biocontrole também pode resultar da direta interação entre o patógeno e o agente de controle (micopredatismo), o qual envolve contato físico e a síntese de enzimas hidrolíticas, compostos tóxicos e/ou

antibióticos que atuam sinergicamente com as enzimas. Além disso, esses isolados de biocontrole podem exercer incremento no crescimento das plantas (biofertilização) e a estimulação dos mecanismos de defesa das mesmas (Benítez *et al.*, 2004).

### **2.1.1 Os mecanismos de biocontrole do *Trichoderma* spp.**

#### **2.1.1.1 Fungistasia**

Bons agentes antagonistas são geralmente capazes de superar ao efeito fungistático do solo, o qual resulta da presença de metabólitos produzidos por outras espécies, incluindo plantas, e sobreviver sob condições de extrema competição. Linhagens de *Trichoderma* crescem rapidamente quando inoculadas no solo, por serem naturalmente resistentes a muitos compostos tóxicos, incluindo herbicidas, fungicidas, inseticidas e compostos fenólicos (Chet *et al.*, 1997).

#### **2.1.1.2 Competição por nutrientes**

A falta de nutrientes é a causa de morte mais comum de microrganismos, por isso a competição por nutrientes limitantes ou escassos resulta em controle biológico de fitopatógenos. *Trichoderma* tem uma capacidade superior para mobilizar e obter nutrientes do solo em comparação com outros organismos. O uso eficiente de nutrientes disponíveis é baseado na habilidade do *Trichoderma* em obter ATP do metabolismo de diferentes açúcares, tais como os derivados de polímeros amplamente distribuídos na natureza, como celulose, glucanos, quitina entre outros (Chet *et al.*, 1997).

Alguns isolados de *Trichoderma* produzem sideróforos altamente eficazes no seqüestro de ferro do ambiente, o que leva a uma parada no crescimento de outros fungos (Chet & Inbar, 1994). Por essa razão, a composição do solo influencia na eficiência do biocontrole. A competição tem provado ser particularmente importante

para o biocontrole de fitopatógenos, tais como *Botrytis cinerea*, importante agente patogênico na pré- e pós-colheita em muitos países (Latorre *et al.*, 2001).

### **2.1.1.3 Biofertilização e estimulação dos mecanismos de defesa das plantas**

Alguns autores definem as linhagens de *Trichoderma* como organismos simbioses, oportunistas, avirulentos, capazes de colonizar raízes de plantas por meio de mecanismos similares àqueles dos fungos micorrizos, e de produzir compostos que estimulam o crescimento e os mecanismos de defesa das plantas (Harman *et al.*, 2004). A colonização implica na habilidade de reconhecer e aderir às raízes, penetrar na planta, e resistir aos metabólitos tóxicos produzidos por elas em resposta à invasão por um organismo estranho, sendo ele patogênico ou não (Franken *et al.*, 2002). A planta reage contra a invasão do fungo pela síntese e acúmulo de fitoalexinas, flavonóides e terpenóides, derivados fenólicos, agliconas e outros compostos antimicrobianos. As linhagens de *Trichoderma* são geralmente mais resistentes a esses compostos que a maioria dos fungos, apesar disso, sua habilidade de colonizar raízes é fortemente dependente da capacidade de cada linhagem de tolerá-los (Harman *et al.*, 2004).

A colonização das raízes por isolados de *Trichoderma* frequentemente aumenta o crescimento e o desenvolvimento, a produtividade da cultura, a resistência ao stress abiótico e a utilização de nutrientes (Arora *et al.*, 1992). Entretanto, há poucos relatos na literatura de linhagens produzindo fatores de crescimento, os quais tenham sido detectados e identificados como auxinas, citoquininas e etileno (Arora *et al.*, 1992). Juntamente com a síntese ou estimulação da produção de fitohormônios, a maioria das linhagens de *Trichoderma* acidificam o ambiente que as circundam pela secreção de ácidos orgânicos, tais como ácidos glucônico, cítrico ou fumárico (Gómez-Alarcón & de la Torre, 1994). Esses ácidos resultam do metabolismo de fontes de carbono,

principalmente glicose, e são capazes de solubilizar fosfatos, micronutrientes e cátions minerais, incluindo ferro, manganês e magnésio (Harman *et al.*, 2004). Por isso, a adição de *Trichoderma* em solos com escassez desses cátions resultaria em biofertilização pela solubilização dos metais e aumento na produtividade da cultura; quanto mais pobre o solo, mais significativo será o aumento da produtividade (Benítez *et al.*, 2004).

Linhagens de *Trichoderma* adicionadas à rizosfera protegem plantas contra numerosas classes de patógenos, como os que produzem infecções na parte aérea da planta, incluindo além dos fungos, vírus e bactérias, o que indica a indução de mecanismos de resistência. Quando esporos ou outras estruturas propagativas são adicionados ao solo e esses entram em contato com as raízes das plantas, eles germinam e crescem sobre a superfície das raízes, podendo até causar pequenas invasões nas camadas superficiais de células vegetais. Essas estruturas fúngicas produzem pelo menos três classes de elicitores de respostas de defesa da planta que previnem contra novas infecções por fitopatógenos. Esses elicitores incluem peptídios, proteínas e compostos de baixo peso molecular. Em alguns casos, a resistência é localizada, mas na maioria das plantas, a resistência é sistêmica. Ao menos por um curto período de tempo, o aumento da expressão de genes relacionados à defesa ocorre através da planta. Esse processo pode ser transitório, mas potencializa a expressão de proteínas relacionadas à defesa quando as plantas são desafiadas por patógenos em estruturas distantes da localização do *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004).

#### **2.1.1.4 Modificação da rizosfera**

Há inúmeros registros na literatura descrevendo modificações na rizosfera por agentes de controle biológico, impossibilitando a colonização por patógenos (Benítez *et*

*al.*, 2004). O pH no ambiente é um dos principais fatores que afetam a atividade do *Trichoderma* e fatores de patogenicidade secretados por diferentes microrganismos. Alguns antibióticos são degradados em pH alto; ar seco e pH baixo podem induzir a degradação de enzimas por proteases (Delgado-Jarana *et al.*, 2000; 2002); e o crescimento de muitos fungos é inibido por ácidos fracos, devido ao rápido declínio do pH no citoplasma (Arst Jr & Peñalva, 2003). Dessa maneira, a habilidade de se desenvolver numa ampla faixa de pH é um importante componente das complexas características do *Trichoderma*. Um dos mecanismos de linhagens de *Trichoderma* na colonização da raiz e no controle do patógeno, num ambiente onde o pH é dinâmico, é apresentar uma determinada resposta a cada condição de pH. Algumas linhagens controlam rigorosamente o pH externo, assegurando valores de pH ótimos para a secreção de suas próprias enzimas. Proteínas extracelulares são sintetizadas em diferentes pHs. A nível transcricional, proteases, glicanases, proteínas de parede e transportadoras de glicose são controladas por pH. O pH externo é importante também aos patógenos, pois suas substâncias patogênicas só são produzidas dentro de uma faixa de pH (Prusky & Yakoby, 2003), de modo que a modificação deste determina o sucesso da habilidade do patógeno em colonizar e invadir o tecido vegetal. Linhagens de *Trichoderma* capazes de modificar o pH externo e adaptar seu metabolismo às condições externas de desenvolvimento, reduziriam conseqüentemente a virulência de fitopatógenos, pois muitos fatores de patogenicidade poderiam não ser sintetizados (Benítez *et al.*, 2004).

#### **2.1.1.5 Antibiose**

Linhagens de *Trichoderma* produzem compostos tóxicos voláteis e não-voláteis, com amplo espectro de atividade antimicrobiana, que impedem a colonização por

outros microrganismos. Dentre esses metabólitos estão compostos de baixo peso molecular e antibióticos, muitos já identificados e estudados (Vey *et al.*, 2001). Nessa interação química, conhecida como antibiose, a combinação de enzimas e antibióticos resulta num grau maior de antagonismo (McIntyre *et al.*, 2004). Howell (2003) observou que quando feitas combinações de antibióticos com diversos tipos de enzimas hidrolíticas e aplicadas a propágulos de *B. cinerea* e *Fusarium oxysporum*, ocorre um sinergismo, o qual se mostrou fraco quando as enzimas foram adicionadas depois dos antibióticos, indicando que a degradação da parede celular do patógeno é necessária para o estabelecimento da interação.

#### **2.1.1.6 Micopredatismo**

Micopredatismo, o ataque direto de um fungo a outro, é um processo complexo que envolve eventos seqüenciais, incluindo reconhecimento, ataque, penetração e morte do fungo antagonizado. *Trichoderma* spp. pode exercer biocontrole direto por micopredatismo numa variedade de fungos, sendo que essa habilidade, assim como as outras, varia de isolado para isolado, de espécie para espécie, e é dependente do fungo a que antagoniza.

Os eventos que levam ao micopredatismo são complexos, e acontecem da seguinte forma: primeiramente, linhagens de *Trichoderma* detectam outro fungo e crescem em direção a ele (Chet *et al.*, 1981); o sensoriamento remoto, que aqui ocorre, se deve a expressão de enzimas de degradação de parede celular. Diferentes linhagens podem seguir diferentes modelos de indução, mas aparentemente há a produção constante em baixos níveis de uma exoquitinase extracelular. A difusão dessa enzima catalisa a liberação de oligômeros da parede do fungo alvo, e esses fragmentos é que induzem a expressão de endoquitinases fungitóxicas (Brunner *et al.*, 2003), as quais,

por difusão, começam o ataque ao fungo alvo antes do contato físico (Zeilinger *et al.*, 1999, Viterbo *et al.*, 2002). Uma vez em contato, *Trichoderma* spp. ataca o fungo antagonizado podendo se enrolar em torno de suas hifas, e através da formação de apressórios e, portanto, da produção de diferentes enzimas de degradação de parede celular (Chet *et al.*, 1998) e de antibióticos (Schirmböck *et al.*, 1994), penetra no interior das hifas por meio da combinação da ação desses compostos, resultando no micopredatismo e conseqüente dissolução das paredes e do conteúdo celular, os quais são absorvidos pelo *Trichoderma*. São conhecidos 20-30 genes, proteínas e outros metabólitos que estão diretamente envolvidos nessa interação, a qual é típica do complexo sistema usado pelo *Trichoderma* nas suas interações com outros fungos (Harman *et al.*, 2004).

## **2.2 Produção de produtos à base de *Trichoderma***

No Brasil, basicamente, a produção massal de *Trichoderma* consiste de uma fermentação sólida, na qual é feito inóculo dos esporos do fungo em grãos de arroz autoclavado, visando à produção de esporos como ingrediente ativo do produto. Posteriormente, a uma temperatura que varia de 25-28°C, o fungo se desenvolve e esporula no arroz inoculado. Esse arroz esporulado é então processado e os esporos então formulados. Por ser constituído basicamente de células vivas, o armazenamento desses produtos se dá preferencialmente sob refrigeração ou em local protegido da luz solar com temperaturas até 28°C (Pomella & Ribeiro, 2009). Assim como para produção de *Trichoderma*, poucos são os detalhes disponíveis na literatura referentes ao desenvolvimento de formulação desses produtos. 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 (Lopes, 2009).

Os esporos, obtidos através da reprodução assexuada do microrganismo, podem estar associados a compostos inertes ou utilizados isoladamente. No mercado nacional estão disponíveis formulações granuladas, pó-molháveis e suspensões concentradas aquosas ou em óleo emulsionável (Almeida *et al.*, 2008). Além disso, há produtos compostos por um isolado ou uma combinação de isolados. Segundo Harman (2004), uma mistura de agentes de controle biológico com características diferentes pode render melhores resultados que um agente sozinho.

### **2.3 Aplicação a campo dos produtos**

Os produtos à base de *Trichoderma* podem ser utilizados de diversas maneiras, as quais dependerão da cultura e das doenças que se deseja controlar. Exemplos seriam a produção de mudas de hortaliças e de ornamentais; nesses casos, o produto pode ser misturado ao substrato antes do plantio (Morandi *et al.*, 2006; Bettioli *et al.*, 2008); em canteiros o produto pode ser incorporado ao solo, ou aplicado por pulverização ou rega durante o preparo da área de plantio (Valdebenito-Sanhueza, 1991); no tratamento de sementes ou aplicado via pulverização no sulco de plantio em grandes áreas (Lobo Jr. *et al.*, 2005); via fertirrigação e pivô central em área total (Lobo Jr. *et al.*, 2006).

Esses produtos são eficientes na redução do inóculo de fitopatógenos no ambiente e na severidade de doenças ocasionadas por patógenos, como *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Botrytis* sp., *Rosellinia* sp. (Pomella & Ribeiro, 2009).

As aplicações devem ser feitas à tarde, em condições de alta umidade relativa; porém, se a umidade for baixa, deve-se aplicar com maior quantidade de água a fim de

encharcar o solo, para conduzir os esporos para abaixo da superfície do mesmo. Quando em cultivo protegido, as exigências são menores, devido à menor incidência dos raios ultravioleta, que são letais ao fungo, e às condições mais favoráveis de umidade e temperatura. Os cuidados requeridos para a utilização de produtos biológicos são maiores quando comparados com aqueles adotados para os produtos químicos (Pomella & Ribeiro, 2009).

Atualmente, no país, a maior parte da comercialização desses produtos é voltada para a agricultura convencional. Os produtos biológicos estão sendo associados às diferentes táticas de controle, inclusive com os agrotóxicos, em um sistema de manejo. Informações sobre compatibilidade dos produtos químicos com o *Trichoderma* deveriam ser consideradas e fornecidas pelas empresas fabricantes aos produtores. Embora alguns produtos sejam usados em grandes culturas anuais, como a soja, com resultados satisfatórios, os cultivos perenes e semi-perenes, e cultivos protegidos oferecem melhores condições para o estabelecimento e o uso do *Trichoderma* (Lopes, 2009).

O cultivo de hortaliças e flores tem se destacado no uso de agentes de controle biológico, considerando o grave problema de resíduos químicos nos alimentos de consumo direto *in natura* e nas flores, especialmente nos produtos para exportação. A agricultura orgânica também vem ganhando importância, por estar em ascensão e por ser mais dependente de insumos biológicos que a agricultura convencional (Lopes, 2009).

#### **2.4 Dificuldades de uma realidade**

O custo médio do uso dos produtos à base de *Trichoderma* disponíveis no mercado brasileiro é de R\$ 90,00/ha/aplicação, contra R\$ 150,00/ha no caso de

fungicidas químicos. Entretanto, o valor para esse tipo de produto biológico varia de R\$ 20,00 a R\$ 300,00, dependendo da marca comercial e da formulação. Apesar disso, a área tratada com *Trichoderma* está aumentando significativamente nos últimos anos. Questões relacionadas a problemas ambientais e ao custo de produção são as principais razões para a atual expansão do mercado de controle biológico no país (Bettiol & Morandi, 2009).

Em palestra intitulada “Controle de Qualidade na Visão do Consumidor”, ministrada pelo Sr. Ronaldo A. Kievitsboschi, representante da Cooperativa de Insumos Holambra/SP, no dia 19 de junho/09 na Embrapa Meio Ambiente/Jaguariúna/SP, foram expostas inúmeras dificuldades encontradas pela cooperativa e pelos produtores a ela ligados, no que diz respeito ao uso dos produtos à base de *Trichoderma* comercializados no país. Inicialmente foi citada a deficiência de informações nos rótulos dos produtos, nos quais não consta o modo de ação do *Trichoderma*; dosagens para pequenas culturas; intervalo de aplicação; misturas compatíveis, quanto à aplicação juntamente com outros produtos químicos, como herbicidas e inseticidas. Nessa ocasião, frisou-se o desejo de que os produtos sejam registrados por alvo e não por cultura, como determina a Lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989, pelo Decreto nº 4.074 de 04 de janeiro de 2002. Os pequenos produtores, que na maioria das vezes diversificam seus cultivos, e muitas vezes isso ocorre em pequenas áreas, explicam ser inviável a aplicação do produto numa única cultura já que nem sempre há barreiras entre elas, e os fitopatógenos nem sempre fazem distinção entre os cultivos. Ainda houve queixas quanto à validade dos produtos, a qual é relativamente curta; e em relação ao transporte dos mesmos, que deveria ser refrigerado para manter e garantir a qualidade e a viabilidade do agente de biocontrole. Foi também solicitado aos fabricantes, mais responsabilidade e seriedade na qualidade e divulgação dos produtos.

O maior entrave, contudo, para a evolução do mercado de produtos de agentes microbiológicos de controle é o alto custo para registro. Como grande parte das empresas nacionais é de pequeno porte e com recursos financeiros limitados, os custos do registro restringem o desenvolvimento das biofábricas. A necessidade inquestionável de as empresas terem seus produtos de acordo com a legislação nacional acaba desviando parte dos recursos que poderiam ser destinados a pesquisas ou a outros setores da fábrica, como a melhoria no sistema de produção e formulação. As vantagens dos produtos biológicos, sua segurança em relação aos agrotóxicos, já bem discutidas e relatadas na literatura, e a experiência de seu uso em larga escala em diversos países por muitos anos, são importantes para a revisão de alguns aspectos da lei, como distorções geradas pelo fato dos produtos biológicos de uso agrícola estarem incluídos na mesma legislação dos agrotóxicos (Lopes, 2009; Moser, 2008). A possível flexibilização ou a interpretação diferenciada das normas de registro podem reduzir a necessidade de altos investimentos por parte das empresas, agilizar a obtenção do registro e, conseqüentemente, padronizar a qualidade dos produtos disponíveis, eliminando assim os ruins do mercado.

### **2.5 Uma análise local**

A análise foi feita com base num questionário (Apêndice 1), elaborado a partir do estudo publicado por Moser (2008). O questionário foi respondido por cinco profissionais, cujas características são apresentadas na Tabela 1, todos da região de Caxias do Sul/RS e da Emater da cidade de Flores da Cunha/RS, em novembro/09. A escolha dos municípios baseou-se no fato de se constituírem importantes pólos produtores de frutas, como uva, pêssego, ameixa, maçã, caqui e morango; e de

hortaliças, como alface, tomate, beterraba, cenoura, alho, cebola e pimentão. As respostas foram compiladas nas Tabelas 2 a 6.

TABELA 1. Características dos entrevistados.

	<b>Tipo</b>	<b>Região agrícola abrangente</b>	<b>Faixa etária dos entrevistados</b>	<b>Escolaridade</b>
Estabelecimento 1	Casa agrícola	Nordeste de Caxias do Sul	30-40 anos	Agrônomos
Estabelecimento 2	Casa agrícola	Norte de Caxias do Sul	50-60 anos	Agrônomos
Estabelecimento 3	Casa agrícola	Forqueta (Sudoeste de Caxias do Sul)	20-25 anos	Ensino médio
Estabelecimento 4	Casa agrícola	Flores da Cunha	25-30 anos	Agrônomos
Estabelecimento 5	Emater	Flores da Cunha	50-60 anos	Agrônomos

TABELA 2. Características do uso do *Trichoderma* spp.: porcentagem dos entrevistados que marcaram características específicas no questionário (mais de uma resposta era possível).

<b>Características positivas</b>	<b>%</b>	<b>Características negativas</b>	<b>%</b>
Sem resíduos químicos nos frutos e verduras	100	Maior custo	60
Pequeno ou nenhum impacto ambiental	80	Menor eficácia, se usado sozinho	0
Maior segurança no trabalho	80	Mais sensível às condições climáticas	80
Produtos mais seguros para os consumidores	80	Aumento do risco de perdas na produção	0
		Efeitos mais lentos e fracos	60
		Produto final com menor tempo de prateleira	0

TABELA 3. Desconfiança dos produtores agrícolas no uso do *Trichoderma* spp. no controle de doenças de plantas (mais de uma resposta era possível).

<b>Desconfiança devido a</b>	<b>% dos entrevistados</b>
Falta de garantias de resultado visível	80
Efeito flutuante	40
Necessidade de notar o extermínio da doença	20

TABELA 4. Ocorrência do reuso/tratamento anual com *Trichoderma* spp..

<b>Ocorrência do reuso/tratamento anual</b>	<b>% dos entrevistados</b>
Sim	0
Sim, depende se for bem instruído/se perceber resultados	60
Não	40

TABELA 5. Nível de satisfação dos produtores agrícolas que usam *Trichoderma* spp. no controle de doenças de plantas.

Nível de satisfação	% dos entrevistados
Satisfeito	60
Indiferente	40
Insatisfeito	0

TABELA 6. Dúvidas e carências citadas sentidas tanto pelos estabelecimentos agrícolas sondados quanto por seus clientes (mais de uma resposta era possível).

Dúvidas e carências citadas	% dos entrevistados
Modo de ação do produto a base de <i>Trichoderma</i>	20
Rótulos com deficiência de informações	40
Modos de aplicação	80
Condições climáticas favoráveis à aplicação	40
Carência	20
Maior divulgação / orientação / confiança	80
Palestras	60
Assistência técnica	40

Na análise das respostas obtidas durante as entrevistas, segundo as fontes consultadas, verificou-se que nas regiões observadas, a maior parte do sistema produtivo ocorre de modo convencional, existindo alguns produtores orgânicos, e nenhum que siga o preconizado no manejo integrado de pragas e doenças. Apesar de todos os entrevistados recomendarem com segurança o uso do *Trichoderma* aos seus clientes, o motivo pelo qual existem clientes que não aderem ao uso, é justamente a falta de confiança ou de garantia de um bom resultado após a aplicação do produto. O problema nesse caso seria a deficiência de divulgação correta, pois é recomendado o uso preventivo e anual, sendo que dessa maneira há uma redução gradual do inóculo de fitopatógenos no ambiente e também um lento estabelecimento de populações de *Trichoderma* no solo acompanhado de seus variados benefícios.

Todos os entrevistados conheciam os mais importantes benefícios do uso de *Trichoderma*, como a produção de alimentos sem resíduos, a segurança para quem os consome, o pequeno ou nenhum impacto ambiental, a maior segurança no trabalho do

usuário; vantagens que desclassificam o custo como fator de restrição ao uso, pois é compensado por todos os benefícios agregados à utilização do *Trichoderma*, sendo um investimento que se paga ao longo do tempo.

Entretanto, foi possível verificar que nos locais onde há maior conhecimento quanto ao uso do produto, a confiança nos seus resultados é maior, e os produtores adeptos ao *Trichoderma* estão satisfeitos; porém, onde o conhecimento é mínimo, os produtores são indiferentes, e a aplicação do *Trichoderma* é o último recurso, pois a aplicação é feita quando todos os fungicidas químicos já foram testados e nenhum deles resolveu o problema. Nesse caso, o que predomina é a cultura do curativo, e não do preventivo, situação na qual o *Trichoderma* não poderá salvar a lavoura, contribuindo dessa forma para o descrédito do produto, o que orienta os produtores a não aderirem anualmente ao tratamento biológico.

Em apenas uma revenda o produto é vendido da maneira correta, prometendo resultados em três anos de aplicação, sendo que nesse estabelecimento os clientes que fazem uso do *Trichoderma* o mantêm em todos os ciclos de plantio. Nos outros estabelecimentos, o produtor só volta a usar se conseguir notar algum resultado já na primeira aplicação, ou então, após ter usado todos os fungicidas químicos possíveis e com eles não ter obtido o resultado esperado. Nesse último caso, verificou-se a inexistência de visitas da assistência técnica especializada. Segundo Valdir Franceschet, agrônomo da Emater de Flores da Cunha, o *Trichoderma* está sendo usado muitas vezes para resolver um problema que o químico não resolveu.

Grande parte dos produtores, se não forem bem instruídos, ao aplicarem o produto e, logo após não perceberem nenhum resultado, não voltam a aplicar (Tabela 4). De maneira geral, a cultura do químico e do extermínio da doença é predominante na região de Caxias do Sul e arredores. Além disso, a falta de garantias quanto à

eficácia do produto biológico (Tabela 3) e o fato do *Trichoderma* não agir de forma rápida contribuem para a não aceitação do produto.

Algumas dificuldades quanto à aplicação foram relatadas, como a frequência com que devem ser feitas as aplicações; quantos litros de água são necessários para a aplicação/ha; em que condições meteorológicas, ou quais os horários ideais para as aplicações; a ausência de informação sobre a carência; a melhor época para aplicação e a maneira ideal de fazê-la (pulverizado, na rega, ou incorporado ao solo); quais os resultados que podem ser esperados e quanto tempo levam para aparecer.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os dados obtidos, foi possível perceber que o não uso do *Trichoderma* pouco se deve ao seu custo ou efeito flutuante, isto é, os agentes de controle biológico são organismos de vida livre e suas atividades dependem principalmente das diferentes condições físico-químicas ambientais nas quais são submetidos, como por exemplo, efeitos da temperatura, quantidade de água, pH, e a presença de pesticidas, íons metálicos e bactérias antagonistas no solo; sendo que por esses fatores, o biocontrole exercido pelo *Trichoderma* é algumas vezes imprevisível.

Ficou evidente que a falta de orientação é a grande vilã do descrédito do uso do *Trichoderma*. Faz-se necessária maior divulgação de como o *Trichoderma* funciona e, de seus benefícios através da realização de palestras, dias de campo e assistência técnica, que são recursos essenciais para o sucesso do controle biológico.

A busca pelo equilíbrio biológico ou a recomposição da população de inimigos naturais em áreas degradadas pelo manejo incorreto das culturas, como no cultivo convencional, é indispensável para a sustentabilidade do sistema agrícola. Assim, os agentes de controle biológico podem certamente auxiliar no restabelecimento do equilíbrio e o agricultor deve aprender a conservar esses organismos no agroecossistema. Para isso, o produtor deve saber os benefícios que o uso dos produtos biológicos traz para sua propriedade, à sua saúde e a dos outros. Entende-se por benefício não somente a ação direta do produto sobre o alvo, mas o fato dos produtos

biológicos serem biodegradáveis, livre de resíduos, seguros ao usuário, seletivos, e não causarem desequilíbrios quando comparados com os agrotóxicos químicos. Na prática, apesar da eficiência momentânea, não se credita aos agrotóxicos seu “custo ecológico”.

É importante salientar que o agricultor não deve entender essa modalidade de controle como uma simples substituição do produto químico convencional pelo biológico. Trata-se de uma mudança mais profunda, cultural, e que deve ser encarada com uma visão mais ampla, dentro de um contexto de manejo integrado. Desse modo, é importante que o insumo biológico não seja comercializado e utilizado como um simples produto, e sim como um pacote tecnológico ou processo de controle, o qual consiste de um tratamento de longo prazo com resultados esperados perceptíveis e não-perceptíveis ao longo do tempo.

De um lado, as dificuldades vividas pelos produtores com relação à aplicação do produto, como frequência; volume de água adequado; condições meteorológicas ideais, horário; informação sobre carência; época para aplicação; são dúvidas que sempre irão aparecer, pois cada caso é um caso, uma propriedade será diferente da outra, o clima, as chuvas, a época do ano, a cultura.

Do outro, as empresas produtoras, com sua capacidade financeira reduzida, lutam para sobreviver enquanto encaminham seus processos de registros, conseqüentemente restam poucos recursos financeiros para fazer melhorias no sistema produtivo, investir em pesquisa, no marketing, no quadro de funcionários, ou ainda em programas de qualidade de processos. A possível flexibilização ou a interpretação diferenciada das normas de registro poderão reduzir a necessidade de altos investimentos por parte das empresas e agilizar a obtenção do registro, o que proporcionará maiores recursos para investimento em pesquisas e divulgação, ajudando o produtor a usar melhor o *Trichoderma* como agente de biocontrole.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; ALVES, S.B.; LEITE, L.G.; NEVES, P.M.O.J. Formulação de entomopatógenos na América Latina. In: Alves, S.B.; Lopes, R.B. (Org.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba-SP: FEALQ, 2008. v. 14, p. 257-277.

ALUKO, M.O.; HERRING, T.F. The mechanisms associated with the antagonistic relationship between *Corticium solani* and *Gliocladium virens*. **Transactions of the British Mycological Society**, Great Britain, v. 55, p. 173-179, 1970.

ARORA, D.K.; ELANDER, R.P.; MUKERJI, K.G. **Handbook of applied mycology. Fungal Biotechnology**, New York-USA, Marcel Dekker, 1992. v. 4.

ARST JUNIOR., H.N.; PEÑALVA, M.A. pH regulation in *Aspergillus* and parallels with higher eukaryotic regulatory systems. **Trends in Genetics**, [S.I.], v. 19, p. 224-231, 2003.

BATTA, Y.A. Postharvest biological control of apple gray mold by *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in an invert emulsion. **Crop Protection**, Guildford, v. 23, p. 19-26, 2004.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CÓDON, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, Barcelona-Spain, v. 7, p. 249-260, 2004.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Org.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B.; STADNIK, M.J.; KRAUSS, U.; STEFANOVA, M.; PRADO, A.M.C. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Org.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba-SP: FEALQ, 2008. p. 303-327.

BRUNNER, K. PETERBAUER, C.K.; MACH, R.L.; LORITO, M.; ZEILINGER, S.; KUBICEK, C.P. The Nag1 N-acetylglucosaminidase of *Trichoderma atroviride* is essential for chitinase induction by chitin and of major relevance to biocontrol. **Current Genetics**, Springer Berlin / Heidelberg, v. 43, p. 289-295, 2003.

BURNS, J.R.; BENSON, D.M. Biocontrol of damping-off of *Catharanthus roseus* caused by *Pythium ultimum* with *Trichoderma virens* and binucleate *Rhizoctonia* fungi. **Plant Disease**, St. Paul-MN (USA), v. 84, n.6, p. 644-648, 2000.

CHET, I.; BENHAMOU, N.; HARAN, S. Mycoparasitism and lytic enzymes. In: Kubicek, C. P.; Harman, G. E. (Org.). **Trichoderma and Gliocladium**. London-UK: Taylor and Francis, 1998. v. 2, p. 153-171.

CHET, I.; INBAR, J.; HADAR, I. Fungal antagonists and mycoparasites. In: WICKLOW, D.T.; SÖDERSTRÖM, B. (Org.). **The Mycota IV: Environmental and microbial relationships**. Berlin-Germany: Springer-Verlag, 1997. p.165-184.

CHET I.; INBAR J. Biological control of fungal pathogens. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S.I.] v. 48, p. 37-43, 1994.

CHET, I.; HARMAN, G. E.; BAKER, R. *Trichoderma hamatum*: its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. **Microbial Ecology**, New York, v. 7, p. 29-38, 1981.

CÚNDOM, M.A.; MAZZA, S.M.; GUTIÉRREZ, S.A. Short communication. Selection of *Trichoderma* spp. Isolates Against *Rhizoctonia solani*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Spain, v. 1, n.4, p.79-81, 2003.

DELGADO-JARANA, J.; RINCÓN, A.M.; BENÍTEZ, T. Aspartyl protease from *Trichoderma harzianum* CECT 2413: cloning and characterization. **Microbiology**, Spencers Wood - UK, v. 148, p. 1305-1315, 2002.

DELGADO-JARANA, J.; PINTOR-TORO, J.A.; BENÍTEZ, T. Overproduction of  $\beta$ -1,6-glucanase in *Trichoderma harzianum* is controlled by extracellular acidic proteases and pH. **Biochimica et Biophysica ACTA**, [S.I.], v. 1481, p. 289-296, 2000.

ETEBARIAN, H.R.; SCOTT, E.S.; WICKS, T.J. *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR 74290 as potencial biological control agent for *Phytophthora erythroseptica*. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 106, p. 329-37, 2000.

EZZIYYANI, M.; REQUENA, M. E.; EGEA-GILABERT, C.; CANDELA, M. E. Biological Control of *Phytophthora* Root Rot of Pepper Using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in Combination. **Journal of Phytopathology**, [S.I.], v. 155, n.6, p. 342-349, 2007.

FRANKEN, P.; KHUN, G.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Development and molecular biology of arbuscular mycorrhizal fungi. In: OSIEWACZ, H.D. (Org.). **Molecular biology of fungal development**. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 325-348.

FORSTER, R. Inativação do vírus do mosaico comum do fumo pelo filtrado de culturas de *Trichoderma* sp. **Bragantia**, Campinas-SP, v. 10, n. 5, p. 139-148, 1950.

GÓMEZ-ALARCÓN, G.; DE LA TORRE, M.A. Mecanismos de corrosión microbiana sobre los materiales pétreos. **Microbiología**, Madrid-Spain, v. 10, p.111-120, 1994.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO M. *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, London-UK, v. 2, p. 43-56, 2004.

HJELJORD, L.G.; STENSVAND, A.; TRONSMO, A. Antagonism of nutriente-activated conidia of *Trichoderma harzianum* (atroviride) P1 against *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, St. Paul-MN (USA), v. 91, n. 12, p. 1172-1180, 2001.

HOWELL, C.R. Mechanisms Employed by *Trichoderma* Species in the Biological Control of Plant Diseases: The History and Evolution of Current Concepts. **Plant Disease**, St. Paul-MN (USA), v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

KREDICS, L.; ANTAL, Z.; MANCZINGER, L.; SZEKERES, A.; KEVEI, F.; NAGY, E. Influence of Environmental Parameters on *Trichoderma* Strains with Biocontrol Potencial. **Food Technology Biotechnology**, Zagreb-Croatia, v. 41, n. 1, p. 37-42, 2003.

LATORRE, B.A.; LILLO, C.; RIOJA, M.E. Eficacia de los tratamientos fungicidas para el control de *Botrytis cinerea* de la vid en función de la época de aplicación. **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago-Chile, v. 28, p. 61-66, 2001.

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 viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.

LOBO JR., M.; PIMENTA, G.; GONTIJO, G.H. Controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma harzianum* em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília-DF, v. 31S, p. 362. 2006.

LOBO JR., M.; PIMENTA, G.; BALLAROTTI, A. Controle de *Rhizoctonia* e *Fusarium solani* em campo com *Trichoderma harzianum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília-DF, v. 30S, p. 91. 2005.

LOPES, R.B. A Indústria no Controle Biológico: Produção e Comercialização de Microrganismos no Brasil In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Org.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 15-28.

MONTE, E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. **International Microbiology**, Barcelona-Spain, v. 4, p. 1-4, 2001.

MORANDI, M.A.B.; BETTIOL, W.; GHINI, R. Situação do controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: VENZON, M.; PAULA JR, T.J.; PALLINI, A. (Org.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa-MG: Epamig, 2006. p. 247-267.

MOSER, R.; PERTOT, I.; ELAD, Y.; RAFFAELLI, R. Farmer's attitudes toward the use of biocontrol agents in IPM strawberry production in three countries. **Biological Control**, Amsterdam-The Netherlands, v. 47, p. 125-132, 2008.

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**, Northern Ireland-UK, v. 88, p. 161-169, 2000.

OKIGBO, R.N.; IKEDIUGWU, F.E.O. Studies on biological control of postharvest rot in yams (*Dioscorea* spp.) using *Trichoderma viride*. **Journal of Phytopathology**, [S.I.], v. 148, p. 351-355, 2000.

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. (Org.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 239-244.

PRUSKY, D.; YAKOBY, N. Pathogenic fungi: leading or led by ambient pH? **Molecular Plant Pathology**, [S.I.], v. 4, p. 509-516, 2003.

SANOGO, S.; POMELLIA, A.; 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 *Crinipelis pernicioso* on cacao. **Phytopathology**, St. Paul-MN (USA), v. 92, n.10, p. 1032-1037, 2002.

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**, Washington-NY (USA), v. 60, p. 4364-4370, 1994.

SHARON, E.; BAR-EYAL, M., CHET, I., HERRARA-ESTRELLA, A., KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, Amsterdam-The Netherlands, v. 91, n.7, p. 687-693, 2001.

THRANE, C.; FUNCK JENSEN, D.; TRONSMO, A. Substrate colonization, strains competition, enzyme production *in vitro*, and biocontrol of *Pythium ultimum* by *Trichoderma* spp. isolates P1 and T3. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 106, p. 215-220, 2000.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Possibilidades do controle biológico de *Phytophthora* em macieira. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna-SP: Embrapa CNPMA, 1991. p. 303-305.

APÊNDICE 1. Questionário aplicado durante as entrevistas realizadas.

Nome: \_\_\_\_\_  
 Estabelecimento a que pertence: \_\_\_\_\_  
 Escolaridade: \_\_\_\_\_

Tomando por base os produtores e proprietários agrícolas que compram produtos neste estabelecimento, responda às seguintes questões:

Quais são os tipos de sistemas produtivos que fazem uso do *Trichoderma*?

- |                                       |                                       |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Orgânico     | <input type="checkbox"/> Grãos        |
| <input type="checkbox"/> Integrado    | <input type="checkbox"/> Fruticultura |
| <input type="checkbox"/> Convencional | <input type="checkbox"/> Hortaliças   |
| <input type="checkbox"/> Ecológico    |                                       |

Como o estabelecimento em que trabalha atua em relação aos produtos à base de *Trichoderma*?

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Armazena em geladeira           | <input type="checkbox"/> Apresenta ao cliente    |
| <input type="checkbox"/> Armazena a temperatura ambiente | <input type="checkbox"/> Recomenda com confiança |
| <input type="checkbox"/> Armazena ao abrigo do sol       |  |

Se há produtores que não aderem ao uso do *Trichoderma*, você saberia o por quê?

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Sensibilidade às condições climáticas     | <input type="checkbox"/> Falta de garantias |
| <input type="checkbox"/> Necessidade de ver o extermínio da doença | <input type="checkbox"/> Efeito flutuante   |
| <input type="checkbox"/> Maior custo                               | <input type="checkbox"/> Não sabe           |

Quais são as principais características do uso do *Trichoderma* que o distingue do tratamento convencional com produtos químicos?

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Sem resíduos químicos nos produtos         | <input type="checkbox"/> Maior custo                                 |
| <input type="checkbox"/> Pequeno ou nenhum impacto ambiental        | <input type="checkbox"/> Menor eficácia, se usado sozinho.           |
| <input type="checkbox"/> Maior segurança no trabalho                | <input type="checkbox"/> Mais sensível às condições climáticas       |
| <input type="checkbox"/> Produtos mais seguros para os consumidores | <input type="checkbox"/> Aumento do risco de perdas na produção      |
|   | <input type="checkbox"/> Efeitos mais lentos e fracos                |
|   | <input type="checkbox"/> Produto final com menor tempo de prateleira |

Quais são as fontes de informação quanto ao assunto *Trichoderma*?

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Palestras           | <input type="checkbox"/> Material impresso pela indústria |
| <input type="checkbox"/> Dias de campo       | <input type="checkbox"/> TV                               |
| <input type="checkbox"/> Assistência Técnica | <input type="checkbox"/> Internet                         |

Os produtores confiam na eficácia do *Trichoderma* quando usado como parte de um sistema de manejo integrado?

Sim, por quê? \_\_\_\_\_

Não, por quê? \_\_\_\_\_

O uso do *Trichoderma* nas culturas é recorrente? Sim Não

Contra quais doenças têm se usado o *Trichoderma*?

\_\_\_\_\_

