

PARTE III

BIOPROSPECÇÃO E BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

*"A natureza não faz
nada em vão"*
Aristóteles

CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS

Wagner Bettiol, Itamar Soares de Melo, Daniel Terao, Bernardo Almeida Halfeld-Vieira, Rodrigo Mendes, Marcelo Augusto Boechat Morandi e Gabriel Moura Mascarin

INTRODUÇÃO

O controle biológico de doenças de plantas pode ser conceituado como “a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença, provocada por um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não o homem”. Controle biológico natural, conservacionista, clássico e aumentativo são os quatro tipos de controle biológico conhecidos. Sem dúvida, o controle biológico natural em que as doenças são controladas por antagonistas de ocorrência natural, sem qualquer intervenção humana, é o mais importante para a agricultura e o mais sustentável. O controle biológico natural ocorre em todos os ambientes, contudo, apesar da importância, é o mais desconhecido. O controle biológico conservacionista consiste em ações humanas para proteger e estimular a preservação e o aumento natural de agentes benéficos, sendo a indução de supressividade aos patógenos habitantes do solo um de seus aspectos, tendo sua importância aumentada com os novos conhecimentos do microbioma. O controle biológico clássico ocorre por meio de coleta dos antagonistas da área de origem do patógeno e liberação em áreas onde se deseja elevar o número de agentes de biocontrole. O último tipo, possivelmente o mais conhecido, é o controle biológico aumentativo, em que os antagonistas são aplicados de maneira massal em uma cultura agrícola. O controle biológico aumentativo é o mais conhecido entre os agricultores, pois tem como base a aplicação de agentes de biocontrole disponíveis no mercado. Entre os antagonistas comercializados, fungos do gênero *Trichoderma* e bactérias do gênero *Bacillus* são os mais conhecidos.

O controle biológico possivelmente é o método mais bem-sucedido, tanto econômica como ambientalmente (Lenteren, 1997; Lenteren et al., 2018), e é uma ferramenta importante para a sustentabilidade agrícola.

No controle biológico aumentativo, o principal objetivo é o desenvolvimento de um produto microbiano para o manejo de doenças de plantas, como bioprotetor contra patógenos, incluindo fungos, bactérias e nematoides, e sua comercialização em

grande escala para os agricultores. O mercado global de bioprotetores foi estimado em US\$ 5,08 bilhões em 2020 e está projetado para chegar a US\$ 11,43 bilhões em 2026, com uma taxa composta de crescimento anual (CAGR) projetada para 14,5% nesse período (Research and Markets, 2021).

Em 1986, quando a Embrapa Meio Ambiente iniciou os estudos com controle biológico de doenças de plantas, não existiam produtos biológicos disponíveis no mercado brasileiro. Para 2021, a estimativa é de que o mercado brasileiro de produtos biológicos totalize R\$1,8 bilhão, com crescimento de 33%. Além disso, dados da Consultoria Blink Projetos Estratégicos com a CropLife, divulgados em 19 de abril de 2021, projetam que o mercado de produtos biológicos deve chegar a R\$3,7 bilhões em 2030, no Brasil (Fraga, 2021). Um aspecto a ser destacado é o fato de a Embrapa Meio Ambiente ter participado de praticamente todas as etapas do desenvolvimento do controle biológico no Brasil, realizando pesquisas básicas e aplicadas; formando profissionais por meio das orientações de estudantes de mestrado e doutorado na área; participando das discussões sobre legislação junto ao Mapa, ao Ibama e à Anvisa; divulgando o controle biológico por meio da edição de diversos livros e outras publicações; mantendo uma coleção de microrganismos de importância agrícola e ambiental; e tendo importante papel na criação da Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABCBIO – atualmente, na CropLife). Portanto, a Embrapa Meio Ambiente desempenhou um papel relevante para o crescimento do setor.

Contudo, para que o mercado brasileiro continue crescendo, é necessário um forte investimento em pesquisa e no desenvolvimento de novos produtos contendo novos ingredientes ativos. É importante considerar que o crescimento projetado depende da disponibilidade de novos bioprotetores. Consequentemente, é necessário isolar e selecionar novos microrganismos com potencial para controlar com eficiência doenças de plantas, bem como desenvolver produtos comercializáveis (Cotes et al., 2019). Atualmente, um número limitado de espécies de microrganismos é explorado comercialmente como bioprotetores, por exemplo, embora 400 espécies de *Trichoderma* sejam conhecidas (Bisset et al., 2015), apenas dez delas são comercializadas como agentes de biocontrole (Bettiol et al., 2019a, 2019b).

O uso de produtos biológicos, bioprotetores ou biopesticidas está em ampla expansão em todo o mundo. No Brasil, a área sob controle biológico de pragas e doenças com inimigos naturais e antagonistas é superior a 30 milhões de hectares, considerando informações de 2017 (números detalhados podem ser obtidos em Bueno et al. (2020). Contudo, atualmente, esse número é consideravelmente maior, sobretudo ao se considerar a produção “on-farm” ou “caseira” de alguns agentes de biocontrole (sem dados disponíveis).

Desse modo, neste capítulo serão abordadas justamente essas contribuições da Embrapa Meio Ambiente no desenvolvimento do controle biológico de doenças de plantas no Brasil.

CONTROLE BIOLÓGICO CONSERVACIONISTA

Indução da supressividade dos solos pela incorporação de matéria orgânica

Os principais estudos realizados pela Embrapa Meio Ambiente na área de controle biológico conservacionista são relacionados com a indução da supressividade dos solos a fitopatógenos habitantes do solo, como *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Meloidogyne javanica*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Stenoscarpella* spp. entre outros, por meio do uso de matéria orgânica e outras práticas culturais, bem como do recrutamento de microrganismos pelas próprias plantas.

O fenômeno que alguns solos apresentam de prevenir o estabelecimento de patógenos ou inibir suas atividades patogênicas é denominado supressividade. Solos que apresentam essa característica são denominados solos supressivos. Por outro lado, solos conducentes são aqueles que não apresentam essa característica (Bettiol; Ghini, 2005). Solos supressivos são comuns em ambientes onde os constituintes físicos, químicos e biológicos se estabilizaram no decorrer do tempo. A supressividade também é uma característica que pode ser induzida por meio de manejo adequado dos solos (Schneider, 1982). Uma das maneiras de se induzir supressividade é por meio da incorporação de matéria orgânica com características adequadas para essa finalidade (Bettiol; Ghini, 2005; Bettiol et al., 2009; Bonanomi et al., 2010, 2017, 2018, 2020).

A incorporação de matéria orgânica dos solos, além do suprimento de macro e micronutrientes e de melhorar a estrutura dos solos, aumenta a capacidade dos solos em suportar intensa atividade biológica dos organismos, muitos destes diretamente relacionados à indução de supressividade a fitopatógenos. Além de suportar a atividade microbiana, a decomposição da matéria orgânica libera diversas substâncias no ambiente, tais como os compostos voláteis e não voláteis que podem ser tóxicos aos fitopatógenos; hormônios, aminoácidos e outras substâncias que podem induzir a resistência da planta aos fitopatógenos. Contudo, dependendo do patógeno e do solo, algumas fontes de matéria orgânica podem induzir a supressividade, não apresentar ação ou mesmo aumentar os problemas com doenças. Assim, é fundamental realizar estudos detalhados sobre o efeito de cada fonte de matéria orgânica.

A Embrapa Meio Ambiente realiza estudos sobre o uso agrícola e florestal do lodo de esgoto desde 1998 (Bettiol; Camargo, 2000), sendo uma das linhas de estudos a indução de supressividade dos solos ou substratos por meio da incorporação de lodo de esgoto, compostado ou não compostado. Os efeitos de lodos de esgotos na indução da supressividade a fitopatógenos habitantes do solo foram demonstrados por diversos autores (Millner et al., 1982; Lumsden et al., 1983; Bettiol; Krugner, 1984; Lumsden et al., 1986; Kuter et al., 1988; Lewis et al., 1992; Nelson; Craft, 1992; Nelson; Boehm, 2002;

Santos; Bettiol, 2003; Leoni; Ghini, 2006; Ghini et al., 2007; Heck et al., 2019). Contudo, o lodo de esgoto também pode tornar o solo conducente a fitopatógenos, como demonstrado por Bettiol (2004) e Ghini et al. (2016).

Utilizando lodos de esgotos gerados nas estações de tratamento de esgotos de Franca, Barueri e Jundiaí, os estudos realizados na Embrapa Meio Ambiente relatam redução de incidência e severidade a diversas doenças, como: podridões de raízes em sorgo causadas por *Pythium arrhenomanes* (Bettiol; Krügner, 1984); tombamento em pepino causado por *Pythium aphanidermatum* (Santos et al., 2000); tombamento e podridão do colo em feijão causados por *Sclerotium rolfsii* (Santos; Bettiol, 2003); aos nematoides *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em soja (Araújo; Bettiol, 2005); tombamento em mudas de citros causado por *Phytophthora nicotianae* (Leoni; Ghini, 2006); murcha bacteriana do tomateiro, causada por *Ralstonia solanacearum* (Ghini et al., 2007); tombamento do rabanete, causado por *R. solani* (Ghini et al., 2007); tombamento murcha de *Fusarium* em crisântemo, causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* (Pinto et al., 2013); murcha de *Fusarium* em bananeira, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Heck et al., 2019); podridão da haste em milho causada por *Stenocarpella* (Faria et al., 2020) entre outras. Contudo, também existem relatos de que lodo de esgoto não interferiu na incidência da murcha de *Fusarium* do tomateiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Ghini et al., 2007) e sobre a ocorrência de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* na soja (Araújo; Bettiol, 2009). Há, ainda, relatos de aumento de doenças com a incorporação de lodo de esgoto, como os de Ghini et al. (2016) e Bettiol (2004) sobre a podridão da haste de milho causada por *Fusarium*. Araújo e Bettiol (2009) também verificaram que a redução na severidade de oídio (*Erysiphe difusa*) da soja foi diretamente proporcional à concentração de lodo de esgoto incorporado ao solo. Diversos outros estudos com lodo de esgoto estão relatados em Bettiol e Ghini (2011).

O aumento da atividade microbiana dos solos, bem como daquela relacionada aos próprios microrganismos do lodo de esgoto, está ligado à redução de doenças com a incorporação do lodo de esgoto (Chen et al., 1987; Craft; Nelson, 1996; Dissanayake; Hoy, 1999; Santos; Bettiol, 2003; Ghini et al., 2007). Também são importantes as alterações nas propriedades físicas e químicas dos solos, como aumento da condutividade elétrica e alteração no pH do solo, entre outras (Cotxarrera et al., 2002; Santos; Bettiol, 2003; Heck et al., 2019), os efeitos dos compostos tóxicos (ácidos graxos voláteis, ácido nitroso, amônia) presentes ou liberados durante a decomposição e, também, os efeitos indiretos por estimular os microrganismos dos solos (Dissanayake; Hoy, 1999; Hoitink; Boehm, 1999; Tenuta; Lazarovits, 2002; Borrero et al., 2006; Heck et al., 2019). Assim, para permitir o uso seguro do lodo de esgoto na agricultura, é fundamental identificar os fatores que determinam os efeitos da incorporação de lodo de esgoto sobre a supressividade dos solos.

Além do lodo de esgoto, foram estudados os efeitos de outras matérias orgânicas na indução da supressividade do solo a doenças de plantas, como: esterco de vaca no controle do tombamento causado por *Pythium* em pepino (Bettiol et al., 1997); cama de frango no controle de *Pythium* em pepino (Ghini et al., 2002); hidrolisado e emulsão de peixe e casca de camarão no controle de *Cylindrocladium spathiphylli* em espatifilo (Bettiol; Visconti, 2013; Visconti et al., 2010); emulsão e hidrolisado de peixe no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* (Bettiol et al., 2014); casca de camarão, concha de mariscos e biocarvão no controle da murcha da bananeira causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Heck et al., 2019); biocarvão no controle da murcha de *Fusarium* causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Silva et al., 2020); entre outros.

A supressividade dos solos e o microbioma da rizosfera

O desenvolvimento de técnicas moleculares avançadas ocorrido a partir do sequenciamento do genoma humano em 2003, especialmente o sequenciamento de DNA em larga escala, permitiu o estudo detalhado de comunidades microbianas complexas, por exemplo, as comunidades microbianas associadas à supressão de fitopatógenos habitantes do solo. A Embrapa Meio Ambiente participou e coordenou estudos pioneiros nessa área, revelando como consórcios microbianos interagem com a planta na rizosfera para atuar como a primeira linha de defesa da planta contra patógenos que têm origem no solo. Em experimentos conduzidos com plântulas de beterraba açucareira e o patógeno *Rhizoctonia solani*, foram identificados microrganismos, bem como suas respectivas funções, que agem como uma barreira protetora na rizosfera (Mendes et al., 2011). Dois testes foram conduzidos para demonstrar a natureza microbiológica dos solos supressivos. Inicialmente, observou-se que o solo supressivo, após ser aquecido a 80 °C por uma hora, se torna conducente ao ser infectado com *R. solani*. Em seguida, observou-se que, quando uma porção de solo supressivo (10% v/v) é misturada ao solo conducente, as plantas cultivadas no solo originalmente conducente apresentam uma diminuição significativa na incidência da doença. Essas duas observações revelaram que o microbioma da rizosfera (Mendes et al., 2013) desempenha papel fundamental na proteção da planta e que essa proteção ocorre em decorrência da ação de um complexo consórcio de microrganismos (Mendes et al., 2011).

Utilizando uma abordagem multi “ômica”, incluindo metagenômica, metatranscriptômica e metatranscriptômica, foi proposto um modelo de como ocorre a blindagem do sistema radicular pelo microbioma da rizosfera durante a invasão pelo patógeno em um solo supressivo (Chapelle et al., 2015). Ao ter a região da rizosfera invadida pelo fungo, a planta dispara uma sinalização para a comunidade bacteriana, ocasionando

duas mudanças: i) aumento da abundância de famílias bacterianas específicas na rizosfera; e ii) ativação de funções relacionadas à resposta geral ao estresse bacteriano (Chapelle et al., 2015).

Considerando que, além da rizosfera, o interior das raízes, isto é, a endosfera, também é colonizada por uma complexa comunidade de microrganismos, foram realizados experimentos adicionais demonstrando que, no caso de o patógeno superar a primeira linha de defesa da planta e atingir o interior das raízes, o microbioma da endosfera se mobiliza para proteger a planta contra a infecção (Carrión et al., 2019). Semelhantemente ao que acontece na rizosfera, no interior das raízes ocorre o enriquecimento de membros específicos da comunidade microbiana e a ativação de grupos gênicos biossintéticos bacterianos que impedem o progresso da infecção (Carrión et al., 2019). Neste sentido, os microbiomas da rizosfera e da endosfera funcionam como uma extensão do sistema de defesa da planta contra doenças causadas por patógenos habitantes do solo, compondo, respectivamente, a primeira e a segunda linha de defesa microbiológica da planta.

CONTROLE BIOLÓGICO AUMENTATIVO

Isolamento e seleção de antagonistas

Detalhes sobre isolamento e seleção de antagonistas são abordados no capítulo “Bioprospecção de microrganismos com potencial de uso na agricultura”. Assim, aqui são apresentadas algumas informações sobre controle biológico. Em 1999, teve início o projeto intitulado Biodiversidade de microrganismos endofíticos e seu potencial biotecnológico, financiado pela Fapesp sob coordenação de Itamar Soares de Melo. Nesse projeto, foram obtidos 234 isolados de microrganismos endofíticos do cafeeiro (Nunes, 2004; Shiomi et al., 2006; Silva et al., 2012). Inicialmente, Shiomi et al. (2006) avaliaram os efeitos de 44 isolados de bactérias sobre a inibição da germinação de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* e em bioensaios para o controle do desenvolvimento da ferrugem alaranjada do cafeeiro em discos de folhas, folhas destacadas e mudas da cv. Mundo Novo. Os isolados de bactérias endofíticas demonstraram eficácia na inibição da germinação de uredíniosporos e no controle da ferrugem do cafeeiro, com valores acima de 50%. Nos testes em discos de folhas, folhas destacadas e em plantas de cafeeiro, os isolados endofíticos TG4-Ia, TF2-IIc, TF9-Ia, TG11-IIa e TF7-IIa demonstraram melhor controle da ferrugem do cafeeiro. Os isolados endofíticos TG4-Ia e TF9-Ia foram identificados como *Bacillus lentimorbus* e *Bacillus cereus*, respectivamente. De acordo com os resultados, verifica-se que alguns isolados foram eficientes em controlar a ferrugem do cafeeiro, embora alguns tenham

aumentado a severidade da doença. Posteriormente, Silva et al. (2012) avaliaram um total de 234 isolados, sendo 217 de bactérias e 17 de fungos endofíticos obtidos dos tecidos de cafeeiro, quanto ao potencial de controlar a ferrugem do cafeeiro e promover o crescimento de mudas de café. Os autores observaram que nenhum dos 17 isolados de fungos endofíticos controlaram a ferrugem nem promoveram o crescimento das mudas. Os isolados de bactérias endofíticas 85G (*Escherichia fergusonii*), 161G, 163G, 160G, 150G (*Acinetobacter calcoaceticus*) e 109G (*Salmonella enterica*) promoveram o crescimento das mudas, sendo que o isolado 85G, obtido de ramos de café, foi o mais eficiente. Possivelmente, a capacidade desse isolado em produzir ácido indolacético e fosfatase, *in vitro*, seja a responsável por esse efeito. Os isolados de bactérias endofíticas 64R, 137G, 3F (*Brevibacillus choshinensis*), 14F (*S. enterica*), 36F (*Pectobacterium carotovorum*), 109G (*Bacillus megaterium*), 115G (*Microbacterium testaceum*), e 116G e 119G (*Cedecea davisae*) reduziram significativamente a ferrugem quando aplicados 72 e 24 horas da inoculação do patógeno nos tecidos de café. O isolado 109G foi o mais eficiente em controlar a ferrugem nas condições dos estudos. Com relação à germinação dos uredíniosporos de *H. vastatrix*, o isolado 3F inibiu a germinação em 66%. Os autores não observaram relação entre os isolados que promoveram o crescimento e os que controlaram a doença. Silva et al. (2008) também observaram que bactérias endofíticas do cafeeiro induziram a produção de enzimas relacionadas ao controle da ferrugem do cafeeiro.

No projeto do Programa Biota, financiado pela Fapesp e coordenado por Itamar Soares de Melo entre 2006 e 2011, foram obtidos microrganismos isolados de manguezaís (Reyes, 2009). Assim, Corrêa et al. (2011), considerando uma possível similaridade entre as condições dos manguezaís e cultivo hidropônico, avaliaram a capacidade de microrganismos de manguezaís em controlar a podridão radicular causada por *Pythium aphanidermatum* e para promover o crescimento em pepino hidropônico (*Cucumis sativus*). Os autores concluíram que microrganismos de manguezaís podem ter importância funcional no controle biológico da podridão radicular causada por *Pythium aphanidermatum* e na promoção do crescimento do pepineiro cultivado em hidroponia; e que *Gordonia rubripertincta* SO-3B-2 e *Pseudomonas stutzeri* MB-P3A-49 são bactérias promissoras para a promoção de crescimento das plantas não infestadas com o patógeno.

Controle biológico em pós-colheita

O uso de fungicidas sintéticos é bastante comum no tratamento pós-colheita, por serem de fácil acesso e aplicação e por apresentarem ação curativa e preventiva de infecções. No entanto, seu uso vem se tornando cada vez mais limitado, haja vista a conscientização do consumidor com relação aos riscos causados por esses fungicidas

à saúde e ao ambiente e ao declínio da eficiência dos poucos princípios ativos registrados para o controle químico de podridões em pós-colheita. O uso continuado do mesmo princípio ativo tem levado à seleção de isolados resistentes de fungos causadores de doenças em pós-colheita. Assim, existe uma demanda crescente da cadeia de frutas frescas por tratamentos eficazes para o controle de podridões, que mantenham o frescor e a qualidade das frutas e que sejam seguros e limpos, sem o emprego de fungicidas e outros produtos químicos que deixam resíduos tóxicos.

Entre as estratégias naturais para substituir o uso de fungicidas nos tratamentos pós-colheita, o biocontrole é uma alternativa (Droby et al., 2009).

A Embrapa Meio Ambiente iniciou os estudos com o controle biológico de doenças em pós-colheita em 1988. Bettiol et al. (1989) demonstraram o potencial de *Bacillus subtilis* em controlar a podridão de frutos de banana causada por *Colletotrichum musae*. Em estudos visando ao controle de *Penicillium digitatum*, causador do bolor verde em frutos de laranja orgânica, Bernardo et al. (2008) verificaram que *Paenibacillus lentimorbus* BEM-1 e *Bacillus subtilis* AP-3 controlaram a doença de modo semelhante ao fungicida thiebendazole quando aplicados simultaneamente ou 24 horas após a inoculação do patógeno. Forner et al. (2013), considerando o potencial de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* no controle de doenças de plantas, avaliaram o potencial desses organismos em controlar o bolor verde em laranjas-pera, associados ou não ao tratamento térmico. De modo geral, o tratamento térmico reduziu a severidade da doença determinada pela área abaixo da curva do progresso da doença nos frutos e a incidência natural de doenças em pós-colheita de laranja-pera. Contudo, os agentes de biocontrole não controlaram a doença, mostrando que os organismos testados não apresentaram atividade curativa contra o bolor verde.

Entre os antagonistas, as leveduras mostram-se como uma alternativa promissora, em razão da estabilidade genética, da efetividade em baixa concentração, da habilidade de agir contra um amplo espectro de fitopatógenos e do fato de a produção de um metabólito tóxico não ser o principal mecanismo de controle das leveduras. Além disso, o controle da temperatura e a umidade relativa do ambiente durante o período de pós-colheita criam condições adequadas para o desenvolvimento dos agentes de biocontrole (Janisiewicz; Korsten, 2002; Wisniewski et al., 2007). Pesquisas conduzidas na Embrapa Meio Ambiente avaliaram sete isolados de leveduras no controle de doenças pós-colheita de manga, laranja e melão.

Bettiol e Mattos (2011), também visando ao controle do bolor verde em laranja, verificaram que as leveduras *Pichia guilliermondii* (L29), *Sporobolomyces roseus* (L41), *Rhodotorula mucilagenosa* (L17), *Sporodibolus pararoseus*, *Pichia* spp. (L4-1), *Debaryomyces hansenii* (L62) e *Pichia membranifaciens* (L21) foram eficientes em reduzir o bolor verde quando aplicadas simultaneamente ou antes da inoculação do patógeno. Além disso, as leveduras não alteraram o sabor dos frutos.

Trabalhando com as leveduras *Sporidiobolus pararoseus* CMAA 1106 (acesso nº KY857564), *Candida* sp. CMAA 1113; três isolados de *Candida membranifaciens* [CMAA 1108 (acesso nº KY856740), CMAA 1110 acesso nº MF186782) e CMAA 1112 (acesso nº MF186783)], e dois isolados de *Meyerozyma guilliermondii* [CMAA 1111 (acesso nº KY857565) e CMAA 1109 (acesso nº MF186639)], Terao et al. (2017a, 2017b) avaliaram o potencial de tais leveduras para controlar doenças em pós-colheita em manga, melão e laranja. Para manga, avaliou-se o controle de *Botryosphaeria dothidea*, principal fungo causador de podridão em mangas na região semiárida do Brasil, onde se concentra a maior produção nacional. Os isolados de *C. membranifaciens* e de *M. guilliermondii* reduziram significativamente a severidade da doença durante 11 dias de armazenamento. O isolado de *C. membranifaciens* (CMAA 1108) foi o que apresentou maior eficiência de controle, superior ao tratamento com o fungicida thiabendazole. Nenhuma das espécies avaliadas produziu substâncias inibidoras contra o fungo *B. dothidea*, indicando que a competição por nutrientes, bem como a formação de biofilmes desempenharam importante função na redução da severidade da podridão em manga (Terao et al., 2017a).

Quanto ao controle do bolor verde da laranja causado pelo fungo *Penicillium digitatum*, Terao et al. (2014) avaliaram a eficiência do isolado CMAA 1112 de *C. membranifaciens* combinando-o com tratamentos físicos, por meio do tratamento hidrotérmico por aspersão e escovação a 55 °C por 30 segundos e irradiação com UV-C a 1,5 kJ m⁻². O tratamento com a levedura, isoladamente, reduziu significativamente o progresso do bolor verde. No entanto, quando aplicada em combinação com os tratamentos físicos, houve um efeito sinérgico, que elevou o nível de controle da doença. Verificou-se que não houve inibição do crescimento micelial em ensaios de antibiose ou de produção de enzimas líticas, comprovando-se, por meio de análise enzimática, que o principal mecanismo de controle envolvido foi a indução de resistência (Terao et al., 2017b). Com relação ao controle de podridão de *Fusarium* em melão causado por *Fusarium pallidoroseum*, Terao et al. (2014) verificaram que os isolados de *C. membranifaciens* (CMAA 1110), *Candida* sp. (CMAA 1113) e *M. guilliermondii* (CMAA 1111) apresentaram eficiência similar à do fungicida imazalil. Os resultados obtidos comprovam a potencialidade do uso de leveduras no controle biológico de fungos causadores de doenças pós-colheita de manga, melão e laranja como alternativa ao uso de agroquímicos e que a estratégia recomendada é a integração com métodos físicos de controle, como o tratamento hidrotérmico e a radiação UV-C.

Controle biológico de pragas, nematoides e doenças fúngicas

O controle biológico de invertebrados, incluindo ácaros, insetos e nematoides fitoparasitos, além de fungos causadores de doenças em plantas cultivadas, por meio

de fungos filamentosos antagonistas e, muitas vezes, multifuncionais, é um segmento que vem crescendo vertiginosamente nos últimos anos no Brasil e no mundo. Atualmente, o mercado brasileiro é referência mundial em liderança no desenvolvimento e em registros comerciais de biopesticidas à base de várias espécies de fungos filamentosos. Em virtude de sua ampla diversidade genética, adaptabilidade a vários ambientes edafoclimáticos, seguros para o ambiente e para humanos, múltiplos mecanismos de ação contra inúmeros alvos e, geralmente, facilmente cultivados em substratos sólidos ou líquidos, esses fungos são almejados pela indústria para uso como bioprotetores. Além disso, constituem uma ferramenta sustentável e, muitas vezes, indispensável em programas de manejo integrado de pragas e doenças de culturas agrícolas (Mascarin et al., 2019). Entre os fungos filamentosos mais explorados comercialmente no Brasil, até o momento, merecem destaque espécies pertencentes a *Metarhizium*, *Beauveria*, *Cordyceps*, *Trichoderma*, *Clonostachys*, *Pochonia* e *Purpureocillium*, as quais representam quase 40% de todos os produtos microbianos comercializados no país (Vicente, 2020).

A Embrapa Meio Ambiente vem liderando e colaborando em várias frentes de pesquisa com projetos em bioprospecção e seleção de isolados fúngicos elites com atributos fenotípicos desejados ao controle biológico e ao desempenho no sistema fabril, bem como tem buscado o aprimoramento do conhecimento em tecnologias que alavanquem a plataforma biotecnológica de fermentação líquida submersa ou sólida-estática até a etapa de formulação e estabilização de propágulos ativos desses fungos. Essa cadeia de etapas de desenvolvimento busca entregar uma solução tecnológica baseada num produto microbiano eficaz e com custo-benefício favorável à indústria.

Na linha de pesquisa que engloba os fungos entomopatogênicos, a Embrapa Meio Ambiente, em conjunto com outras instituições de pesquisa do Brasil e do exterior, e também em parceria com algumas empresas privadas, vem obtendo resultados promissores nas etapas de produção massal, formulação e eficácia de controle do alvo. Um importante destaque que quebrou o paradigma da produção massal baseada no tradicional método de fermentação sólida-estática foi o desenvolvimento de processos fermentativos sob cultivo submerso líquido em biorreatores que tornam possível a produção rápida e econômica de altas concentrações de células fúngicas denominadas de blastosporos para os fungos entomopatogênicos, como *Beauveria bassiana* (Mascarin et al., 2015a, 2015b; Jackson; Mascarin, 2016), *Cordyceps javanica* (Mascarin et al., 2015b; Corrêa et al., 2020) e *Metarhizium robertsii* (Iwanicki et al., 2020), bem como para produção de células de resistência denominadas micro-escleródios de *Trichoderma* spp. (Kobori et al., 2015; Jackson et al., 2016). Interessante ponderar que é natural deparar-se com uma grande variabilidade na resposta de desempenho mediante o processo fermentativo líquido entre cepas e espécies de fungos, o que implica a necessidade de desenvolver estudos de otimização mais direcio-

nados às exigências nutricionais e ambientais particulares das condições de cultivo de cada isolado fúngico, levando em consideração a morfofisiologia, a genética e o metabolismo do microrganismo. Por exemplo, a escolha da fonte de nitrogênio mais adequada ao crescimento do fungo é um dos critérios mais críticos no processo de otimização, pois impacta o desempenho produtivo e demais aspectos fenotípicos do propágulo (Mascarin et al., 2018).

Além da eficácia de blastosporos de *Metarhizium robertsii* no controle da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*), seus microescleródios, aplicados via tratamento de sementes, foram capazes de induzir uma resposta de defesa da planta de milho, reduzindo o ataque da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), e ainda promoveram o crescimento das plantas (Lira et al., 2020). Sob cultivo submerso líquido, blastosporos de *Metarhizium robertsii* podem ser produzidos em apenas dois dias em biorreator e têm elevada tolerância à secagem, sem perder sua atividade inseticida (Iwanicki et al., 2020). Blastosporos de *Beauveria bassiana* e *Cordyceps javanica* mostraram-se altamente virulentos a ninfas de mosca branca (*Bemisia tabaci*) (Mascarin et al., 2015a, 2015b) e outras pragas da soja, tais como as lagartas *Chrysodeixis includens* e *Spodoptera frugiperda* (Correa et al., 2020). Em muitos casos, os blastosporos frescos, ou mesmo após passar por processo de secagem, apresentam alto índice de sobrevivência e mantêm-se virulentos ou com eficiência superior se comparada à de conídios aéreos. Os blastosporos são estruturas leveduriformes vegetativas que germinam mais rapidamente que os conídios e, por isso, apresentam uma vantagem em acelerar o processo de infecção no hospedeiro (Mascarin et al., 2015a, 2015b, 2016). Em estudo inédito, também se comprovou que blastosporos foram capazes de tolerar e sobreviver à secagem rápida em atomizador pela técnica de spray dryer, mantendo-se viáveis por mais de seis meses sob condições adequadas de empacotamento e armazenamento (Jackson; Mascarin, 2016; Mascarin et al., 2016). Nesse mesmo estudo, verificou-se que o empacotamento com atmosfera controlada, para redução de oxigênio e umidade dentro da embalagem, proporcionou maiores longevidade e estabilidade aos blastosporos secos de *Beauveria bassiana*, que sobreviveram por mais de 12 meses à temperatura de 28 °C.

No âmbito da pecuária, a Embrapa Meio Ambiente tem unido esforços com a Universidade de Goiás (UFG) e a Universidade Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) no sentido de desenhar uma estratégia sustentável de combate ao carrapato-do-boi (*Rhipicephalus microplus*) utilizando formulações granulares inéditas, contendo como ingrediente ativo microescleródios ou blastosporos de *Metarhizium robertsii*, obtidos por meio da fermentação líquida submersa. Nesse estudo, os grânulos de *Metarhizium robertsii* foram aplicados sobre a pastagem contendo fêmeas ingurgitadas do carrapato, as quais procuram o solo para colocar seus ovos depois que se alimentam do animal. O experimento foi conduzido ao longo de um ano, e verificou-se que a estra-

tégia resultou em pelo menos 64,8% de eficácia relativa durante estação mais úmida na redução da população desse carrapato (Marciano et al., 2021). Outra característica vantajosa dos microescleródios de *Metarhizium* spp. é sua resistência natural à radiação ultravioleta B (UV-B) relativamente superior à de conídios aéreos, o que indica que podem persistir por mais tempo no solo (Santos et al., 2021).

Outro destaque é a tecnologia desenvolvida para produzir e formular microescleródios de *Trichoderma* spp., os quais são mais tolerantes à secagem e têm maior tempo de prateleira que os conídios submersos ou aéreos (Kobori et al., 2015; Jackson et al., 2016). A formação dessa estrutura de resistência em *Trichoderma* é inédita sob condições de fermentação líquida submersa, e são propágulos ideais para o tratamento de sementes ou aplicação no solo. Os microescleródios de *Trichoderma harzianum* foram eficazes na supressão do tombamento causado por *Rhizoctonia solani* em melão (Kobori et al., 2015) e por *Sclerotinia sclerotiorum* em soja, além de serem compatíveis com o inoculante à base de *Bradyrhizobium japonicum* na soja e induzir crescimento mais vigoroso nas plantas após inoculação via tratamento de sementes (Macena et al., 2019).

Outros fungos de interesse industrial para uso como bioinsumos na agricultura e que, atualmente, apresentam dificuldades na produção pelo sistema de fermentação sólida-estática são *Clonostachys rosea* e os fungos nematófagos *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium lilacinum*, que têm sido temas recentes de pesquisa na Embrapa Meio Ambiente para adaptação e otimização da produção de biomassa ativa desses agentes de biocontrole via processo de fermentação líquida submersa, seguida da etapa de estabilização por diferentes processos de secagem associada à escolha da melhor formulação.

Por fim, é importante ressaltar que o domínio tecnológico dessas tecnologias de fermentação, formulação e estabilização de propágulos fúngicos vem demonstrando capacidade de atender a uma demanda da indústria de defensivos biológicos, que anseia pelo desenvolvimento de métodos mais eficientes, automatizados e de alta qualidade, atrelados ao bom custo-benefício, capazes de viabilizar economicamente a produção em larga escala desses fungos, utilizados no biocontrole de pragas e doenças.

***Clonostachys rosea* como agente de controle biológico**

Clonostachys rosea (Link: Fr.) Schroers, Samuels, Siefert and W. Gams [ex- *Gliocladium roseum*] (Schroers et al., 1999) é um fungo saprófita adaptado a diferentes ecossistemas, sendo encontrado em solos cultiváveis em regiões tropicais e até em florestas temperadas (Sutton et al., 1997). *Clonostachys rosea* produz conídios em conidióforos dos tipos “peniciliado” e “verticiliado” (Figura 17.1A). Nos peniciliados, os conídios são produzidos em longas cadeias sobre células conidiogênicas fialídicas, ao passo que

nos verticiliados se formam “gotas” de conídios envoltas por uma massa mucilaginosa. Em ambos os casos, os conídios são unicelulares, assimétricos, de parede fina e pequenos ($5-7 \times 3-4 \mu\text{m}$). Em meio de cultura artificial, as colônias são geralmente esbranquiçadas, alaranjadas ou salmão (Figura 17.1B). A fase sexual (telomorfo) de *Clonostachys rosea* corresponde ao ascomiceto *Bionectria ochroleuca* (Schwein.) Berk. (Schroers et al., 1999).

Clonostachys rosea é um antagonista eficiente contra vários fitopatógenos, incluindo *Sclerotinia sclerotiorum*, *Magnaporthe grisea*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium culmorum*, *Alternaria* spp., *Gibberella zeae* (Sutton et al., 1997; Thines et al., 1997; Jensen et al., 2004; Hue et al., 2009; Rodriguez et al., 2011; Saraiva et al., 2014) e *Botrytis cinerea* (Sutton et al., 1997; Morandi et al., 2001, 2003; Borges et al., 2015; Saraiva et al., 2015). Frequentemente, encontra-se *Clonostachys rosea* associado a nematoides no solo e a escleródios de diversos patógenos, como *Sclerotinia* spp., *Rhizoctonia solani* e *Botrytis* spp. (Walker; Maude, 1975; Whipps, 1987), assim como em tecidos senescentes de uma grande gama de plantas.

O hiperparasitismo e a competição por espaços e nutrientes são os principais mecanismos de antagonismo de *Clonostachys rosea* (Sutton et al., 1997; Morandi et al., 2001), além de produzir metabólitos secundários e enzimas hidrolíticas deletérios a fitopatógenos (Li et al., 2006; Rodriguez et al., 2011). Também induz o crescimento das plantas e a resistência contra patógenos (Mouekouba et al., 2014). O fungo foi relatado colonizando endofiticamente, sem expressão de sintomas, em diversas espécies de plantas, incluindo soja, morangueiro, tomateiro, framboesa e roseira, entre outras (Mueller; Sinclair, 1986; Sutton; Peng, 1993; Yu, 1996; Morandi et al., 2000a, 2000b; Sutton et al., 2002; Karlsson et al., 2015).

Clonostachys rosea atende, ainda, a vários requerimentos para um bom agente de controle biológico, como colonizar tecidos sem causar doença, ser um excelente competidor por substrato no solo, ser antagonista eficiente e permanecer efetivamente nos campos de infecção, ser de fácil multiplicação massal e desenvolver-se em ampla faixa de temperatura (10 a 30 °C) (Sutton et al., 1997; Morandi et al. 2001; Fravel, 2005; Nobre et al., 2005).

Os estudos com *C. rosea* na Embrapa Meio Ambiente começaram em 2001, inicialmente, com isolamento e seleção de cepas para o controle biológico do mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pythium* e outros patógenos (Morandi et al., 2005; Morandi; Costa, 2009; Corrêa et al., 2010; Fujinawa et al., 2020).

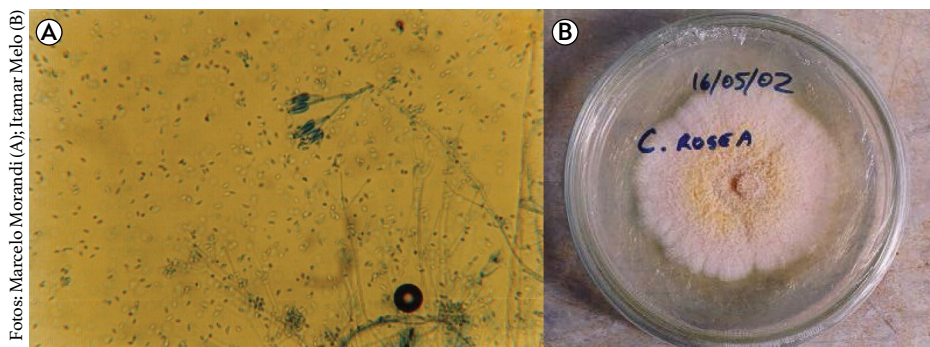


Figura 17.1. Conidióforos e conídios (A) e colônia em meio de cultura (B) de *Clonostachys rosea*.

Nos anos seguintes, vários aspectos da ecologia e dinâmica de sobrevivência de *Clonostachys rosea* e das interações do antagonista com o ambiente foram investigados (Morandi et al., 2006, 2008), servindo como um importante modelo de estudo dos efeitos do clima sobre o controle biológico de doenças de plantas. Entre esses estudos, destacam-se as avaliações do efeito da intensidade de radiação ultravioleta na sobrevivência e na efetividade do antagonista e a seleção de isolados tolerantes à UV (Costa et al., 2012, 2013, 2016).

Outra importante linha de pesquisa com *Clonostachys rosea* tem sido o aprimoramento da produção massal de esporos, condição essencial para o desenvolvimento de produtos comerciais. Nesse sentido, foram desenvolvidos métodos de fermentação sólida do antagonista em grãos de cereais como principal substrato e, mais recentemente, tem-se investido no desenvolvimento de processos de fermentação líquida (Carvalho et al., 2018, Maganhoto, 2020), a qual proporciona vantagens sobre a fermentação sólida, como redução dos custos dos substratos e da demanda por mão de obra, possibilidade de maior automação, redução de contaminação, encurtamento do período de fermentação e melhoria de controle das condições nutricionais e ambientais de produção dos propágulos do fungo. Assim, a fermentação líquida submersa é a alternativa mais promissora, pois promete reduzir o tempo de cultivo e aumentar os ganhos econômicos e de produção. Associado a essas facilidades, o cultivo submerso permite a obtenção de propágulos de interesse, tais como conídios submersos, blastosporos, micélios, clamidósporos e microescleródios.

Os sistemas de fermentação líquida e sólida proporcionam rendimentos economicamente viáveis e promissores que sustentam a produção comercial de *Clonostachys rosea*. A fermentação sólida em grãos de arroz apresentou uma concentração máxima de $1,09 \times 10^9$ conídios/g após sete dias de cultivo, e na fermentação líquida a concentração chegou a $2,28 \times 10^9$ conídios/mL após sete dias

em C:N = 50:1, além de uma indução na produção de microescleródios de $1,66 \times 10^4$ mL após sete dias em meio C:N = 10:1, ambos suplementados com farelo de soja. Conídios submersos e *microescleródios* foram capazes de inibir em 100% a viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Portanto, esses resultados geram subsídios que fomentam o desenvolvimento de um bioproduto inédito à base de conídios submersos e/ou microescleródios de *Clonostachys rosea* para uso no manejo integrado de mofo branco e outros potenciais alvos (Silva et al., 2021).

***Trichoderma* spp. como agentes de controle biológico**

Espécies de *Trichoderma* são uma das mais importantes e mais frequentemente isoladas em solos, estando envolvidas na degradação de materiais lignocelulósicos. Esse fungo tem sido estudado intensamente com relação a várias características e aplicações na agricultura, como produtores de diversas enzimas. Mais recentemente, as enzimas celulolíticas têm merecido atenção, na medida em que são utilizadas na hidrólise da biomassa lignocelulósica para produção de etanol de segunda geração. *Trichoderma* spp. são exímias competidoras e colonizadoras de matéria orgânica e, uma vez estabelecidas no solo, lançam sua potente maquinaria enzimática. Espécies do gênero são caracterizadas por rápido crescimento e por apresentarem requisitos nutricionais simples. É um fungo que produz conidióforos altamente ramificados, com fiáldes dispostas nas pontas dos conidióforos (Figura 17.2A). Os conídios são produzidos nas terminações das fiáldes, onde se acumulam formando uma estrutura de cabeça conidiogênica (Figura 17.2B). Como todos os deuteromicetos, espécies de *Trichoderma* somente se reproduzem assexuadamente. No entanto, o gênero também tem um estágio sexual (teleomórfico) conhecido como *Hipocrea*, que é o ascomiceto da ordem *Hypocreales* (Samuels, 2006). Pela importância econômica desse fungo em processos industriais, três espécies de *Trichoderma* já têm seus genomas sequenciados e disponíveis: *T. reesei* (Martinez et al., 2008) *T. atroviride* e *T. virens*.

Algumas poucas, mas potentes espécies de *Trichoderma* têm sido utilizadas, em condições de campo, para controlar importantes doenças de plantas, constituindo um dos maiores mercados de produtos à base desse fungo para o biocontrole (Bettiol et al., 2019b). O grande potencial de *Trichoderma* como agente de controle biológico deve-se a um complexo conjunto de mecanismos e compostos, os quais incluem micoparasitismo, antibiose, competição por nutrientes e espaço, síntese de enzimas líticas, indução de resistência e promoção de crescimento (Monte et al., 2019). Micoparasitismo é a habilidade que *Trichoderma* spp. tem de parasitar patógenos filamentosos, como oomicetos e fungos (Harman; Shores, 2007) (Figura 17.2C). Esse processo inicia-se quando *Trichoderma* detecta a presença do fungo-alvo e cresce em sua direção (Chet et al., 1981). Esse direcionamento é ativado por sensoriamento remoto do fungo-alvo

por *Trichoderma* e deve-se, pelo menos em parte, à expressão sequencial de enzimas degradadoras de parede celular (CWDEs), como quitinases, gliconases/glicosidases e proteinases (Chet et al., 1998).

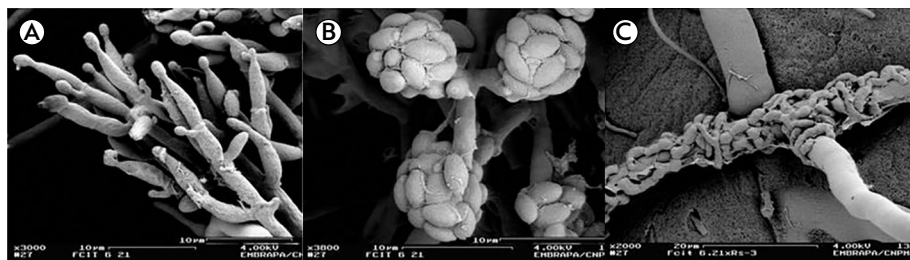
A ação de enzimas líticas, como glucanases, tem sido reportada como fundamental no processo de micoparasitismo. Em alguns casos, como para a espécie *T. virens*, curiosamente alguns antibióticos, como gliotoxina e peptaibols, agem sinergisticamente com enzimas líticas para aumentar a destruição das paredes celulares do hospedeiro (Di Pietro et al., 1993; Schirmböck et al., 1994). Além de micoparasitismo e antibiose, os fungos do gênero *Trichoderma* podem afetar fitopatógenos por competição por nutrientes e espaço (Chet, 1987), metabolização de exsudados indutores de germinação (Howell, 2003) e inibição de enzimas do patógeno necessárias para infecção (Zimand et al., 1996), os quais agregam força na capacidade que *Trichoderma* spp. têm de efetuar controle biológico de patógenos.

Espécies de *Trichoderma* contam com um enorme arsenal de síntese de mais de 100 substâncias bioativas, incluindo policetídeos, pironas, terpenos, antibióticos derivados de aminoácidos, peptaibols e polipeptídeos (Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998), cujos perfis químicos têm sido utilizados como padrões quimiotaxonômicos.

Como agente de biocontrole, *T. harzianum* tem sido a espécie mais estudada, embora outras, como *T. asperellum*, *T. koningii*, *T. viride*, *T. hamatum*, *T. virens*, *T. stromaticum* e *T. pseudokoningii*, também venham sendo isoladas e analisadas com esse propósito. O sucesso maior com o uso de *Trichoderma* tem sido documentado para patógenos de solo, como: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani* e *Pythium* spp. (Benitez et al., 2004; Bettiol et al., 2019a, 2019b). Bettiol et al. (2019b) apresentam detalhes de 246 produtos comerciais à base de *Trichoderma* visando ao controle de doenças de plantas. Há relatos de controle das murchas de *Fusarium* e de *Verticillium* com espécies de *Trichoderma*, mas a eficácia do controle não tem sido consistente, pois esses fungos, uma vez que tenham penetrado o xilema, causam danos irreversíveis à planta hospedeira.

Estudos pioneiros de controle biológico de algumas doenças de solo no Brasil envolvendo *Trichoderma* foram desenvolvidos na Embrapa Meio Ambiente. À época, desenvolveram-se alguns biopesticidas à base de *Trichoderma* para o controle do mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae* e *Phytophthora citrophthora* (Cassiolato et al., 1996; Martins-Corder; Melo, 1998). Mais tarde, Amorim e Melo (1999) isolaram de solos supressivos à podridão radicular de citros causada por *Phytophthora citrophthora* e *P. parasitica*, em pomares de laranjas do estado de São Paulo, linhagens de *Trichoderma* capazes de reduzir o desenvolvimento da doença. Essas mesmas linhagens foram capazes de parasitar escleródios de *Rhizoctonia solani* (Melo; Faull, 2000). Ghini e Kimati (1989) utilizaram um método de isca para obtenção de isolados de *Trichoderma* antagonísticos a *Botrytis cinerea* de solos cultivados com

morango, selecionando isolados de *Trichoderma* resistentes a iprodione, com vistas ao controle integrado do patógeno na cultura do morango (Vitti; Ghini, 1989). Santos e Melo (1989) e Melo e Silva (1991) também estudaram a resistência de *Trichoderma* a fungicidas visando ao manejo integrado.



Fotos: Ilamar Soares de Melo

Figura 17.2. Eletronmicrografia de fiálides (A) e de massa conidiogênica (B) de *Trichoderma*; e linhagem de *Trichoderma* parasitando *Rhizoctonia solani* (C).

Um atributo importante de um agente de biocontrole é sua capacidade de colonizar e se estabelecer na rizosfera, de modo que possa ser capaz de controlar patógenos de raízes e de sementes. Há estudos mostrando que *Trichoderma* coloniza a rizosfera de algumas espécies de plantas, por ter a capacidade de metabolizar fontes de carbono orgânico, como celulose (Ahmad; Baker, 1988a, 1988b). Contradizendo esses achados, Melo et al. (1997) construíram mutantes de *Trichoderma* negativos na produção de celulases e inocularam em plantas. Os autores demonstraram que esses mutantes, negativos em hidrolisar celulose, colonizaram eficientemente a rizosfera e a endorizosfera.

Trichoderma tem sido relatado não somente como exímio agente de biocontrole, mas também como agente promotor do crescimento de plantas em diversas culturas agrícolas, incluindo soja (Bononi et al., 2020), milho (Harman et al., 2004), *Pinus* (Halifu et al., 2004) e repolho (Rabeendran et al., 2000), entre outras. Solubilização de fosfato e síntese de fito-hormônios, incluindo auxinas (Chowdappa et al., 2013) e ACC desaminase (Viterbo et al., 2010), são alguns dos mecanismos pelos quais algumas espécies de *Trichoderma* estimulam o crescimento de plantas. Bononi et al. (2020) isolaram e selecionaram linhagens de *Trichoderma* de solos da floresta amazônica capazes de solubilizar fosfato e promover o crescimento de plantas de soja. Os autores demonstraram que essas linhagens produziram ácidos orgânicos, como ácido glucônico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico e ácido fítico como os principais responsáveis pela solubilização de fosfato. Essas linhagens de *Trichoderma* foram responsáveis por 41,4% da promoção do crescimento de soja.

Em 2005, a Embrapa Meio Ambiente selecionou um isolado de *Trichoderma asperellum*, em acordo com o Laboratório de Biocontrole Farroupilhas que deu origem ao

produto comercial Quality (Brasil, 2021). Recentemente, a Embrapa Meio Ambiente assinou um acordo com o IMAMt para desenvolvimento de dois produtos à base de *Trichoderma*, ambos em fase de registro. Também foi iniciado o desenvolvimento de um produto à base de *Trichoderma* com a empresa Ihara SA.

Biofungicidas à base de *Trichoderma* disponíveis comercialmente representam cerca de 60% do mercado mundial dos biofungicidas. É possível que esse mercado deva ser expandido à medida que novos produtos com características que garantam maior produtividade, com base em promotores de crescimento de plantas e que melhorem a tolerância a estresses abióticos, possam ser disponibilizados. No Brasil, em 2021, 37 produtos à base de *Trichoderma* estavam registrados (Brasil, 2021).

***Bacillus* como agente de controle biológico**

Espécies de *Bacillus* constituem o princípio ativo da maior parte dos produtos microbianos registrados no Brasil para controle de doenças de plantas (Brasil, 2021). Atualmente, no Brasil, são registrados produtos contendo as seguintes espécies de *Bacillus*: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* e *Bacillus methylophilus*, sendo 31, 22, 6, 3 e 2 produtos registrados, respectivamente, de cada uma dessas espécies. Na Embrapa Meio Ambiente, os estudos com *Bacillus* como agente de controle biológico de doenças de plantas iniciaram-se em 1987, com os isolados obtidos por Bettiol (1988) em projeto de doutorado realizado na Esalq e financiado pela Fapesp. Desde 1987, foram realizados estudos com esses isolados de *Bacillus* spp. visando ao controle da podridão de frutos de banana (Bettiol et al., 1989); da ferrugem do cafeeiro (Bettiol; Varzea, 1992; Bettiol et al., 1994); da ferrugem do feijoeiro (Bettiol et al., 1992); de patógenos de sementes de feijão e trigo (Lazzaretti et al., 1994); da queima das folhas de inhame (Andrade et al., 1995); de *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris sorokiniana* e *Alternaria tenuis* em sementes de trigo (Lazzaretti et al., 1995); para controlar patógenos em sementes de soja, arroz, trigo e feijão (Lazzaretti; Bettiol, 1997); de oídio do pepino da abobrinha (Bettiol et al., 1997); de *Puccinia psidii* (Santos et al., 1999); do bolor verde em frutos de laranja (Bernardo et al., 2008; Forner et al., 2013); da pinta-preta dos citros (Kupper et al., 2011); ferrugem da soja (Dorighello et al., 2015, 2020); podridão abacaxi em cana-de-açúcar (Brandi et al., 2018); murcha de *Fusarium* em tomateiro (Medeiros; Bettiol, 2021); entre outros. *Bacillus* spp. controla doenças de plantas por meio de antibiose, competição e indução de resistência (Cawoy et al., 2011). Além disso, promove crescimento das plantas (Cawoy et al., 2011; Medeiros; Bettiol, 2021). Essa versatilidade de *Bacillus* em controlar diversos fitopatógenos está diretamente relacionada com seus mecanismos de ação. Outra característica fundamental nesse grupo de organismos é a formação de endósporos, o que facilita a obtenção de formulações com uma vida de prateleira adequada para sua comercialização (Cawoy et al., 2011).

Controle biológico na agricultura orgânica

Os sistemas orgânicos de produção buscam obter vantagens das interações de ocorrência natural, dando ênfase ao manejo das relações biológicas, como aquelas entre pragas e predadores, e em processos naturais, como a fixação biológica do nitrogênio no lugar do uso de métodos químicos. O objetivo é aumentar e sustentar as interações biológicas nas quais a produção agrícola está baseada, em vez de reduzir e simplificar essas interações (National Research Council, 1989). Assim, enfatiza-se o emprego de táticas e métodos – sejam eles culturais, mecânicos, físicos, legislativos, biológicos, de resistência genética etc. – com vistas à prevenção e à redução da intensidade das doenças. Nesse sentido, Mizubuti e Maffia (2001) definem o manejo ecológico de doenças de plantas como o “conjunto de estratégias e de práticas empregadas com base nos princípios de controle de doenças de plantas, com o objetivo de reduzir as perdas em níveis toleráveis, sem interferir, acentuadamente, no ambiente”.

Os princípios do controle biológico conservativo e aumentativo, os quais se referem, respectivamente, às ações que preservam ou protegem os antagonistas em seu próprio habitat e que favorecem o aumento de suas populações (Ehler, 1998), são largamente empregados na agricultura orgânica. Entretanto, o uso de produtos comerciais à base de agentes de controle biológico também tem aumentado, sendo estas duas estratégias empregadas de maneira convergente (Lucas; Sarniguet, 1998).

Nos sistemas agrícolas convencionais, o manejo de populações de pragas e de patógenos é, em geral, tratado isoladamente, com pouca consideração sobre o efeito das interações entre organismos infestantes e infectantes quanto à dinâmica de suas populações. Por outro lado, em sistemas nos quais o uso de pesticidas é restringido, a diversidade e a abundância de espécies de fitófagos e de patógenos são maiores, e as interações entre esses grupos de organismos podem afetar a dinâmica de suas populações (Paula Júnior et al., 2007). É com base nesse princípio que o uso de agentes biológicos e técnicas que promovam o aumento e a preservação destes nos sistemas produtivos orgânicos devem ser entendidos.

Um exemplo de manejo biológico integrado do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* e do mofo-cinza, causado pelo fungo *Botrytis cinerea*, no cultivo orgânico do morango é relatado por Morandi e Bettiol (2008). O sistema preconiza a aplicação do agente de biocontrole *Clonostachys rosea* em conjunto com a liberação de ácaros predadores *Phytoseiulus macropilis* e *Neoseiulus californicus*, associados ao correto manejo cultural da produção. Quando não controlado ou quando as estratégias de controle são empregadas de maneira incorreta, o ácaro-rajado pode reduzir em até 80% a produção de frutos (Ronque, 1999). Por sua vez, o mofo-cinza causa perdas significativas pela podridão de frutos, tanto no campo quanto no pós-colheita (Ueno, 2004). A esporulação abundante do fungo nos restos culturais, principal fonte de inóculo, contribui

para a manutenção de epidemias. Morandi et al. (2000a, 2000b) relataram que a infestação do ácaro-rajado aumentou a germinação, o crescimento e a esporulação de *Botrytis cinerea*, demonstrando a importância do manejo integrado desses problemas. Além da aplicação dos agentes de controle biológico, a limpeza da cultura (sanitização) é mantida pela eliminação contínua de folhas e frutos doentes. Essa prática é de fundamental importância para a efetividade do manejo, como observado no campo, onde a interrupção da limpeza proporcionou aumento da incidência da doença mesmo com a aplicação do agente de biocontrole.

A produção de plantas medicinais representa uma alternativa inovadora e interessante para o agronegócio brasileiro (Lourenzani et al., 2004). Entretanto, com a domesticação e o melhoramento das plantas medicinais, visando à seleção de genótipos interessantes quanto a seus aspectos agronômicos e à composição química relacionada a sua atividade, torna-se quase inevitável o convívio com a ocorrência de pragas e doenças. Um dos desafios para o desenvolvimento dos fitoterápicos é o cultivo das plantas em larga escala, porém, de modo sustentável, sem comprometimento dos recursos naturais e preservando o ambiente (Vaz et al., 2006). Nesse contexto, o controle biológico é uma ferramenta indispensável.

A integração de métodos físicos e biológicos também foi eficiente no controle de perdas causadas por patógenos em um viveiro de *Cordia verbenacea* (erva-baleeira) (Morandi, 2009). A erva-baleeira é uma planta medicinal cujo óleo essencial é utilizado comercialmente na fabricação de pomadas e sprays com propriedades anti-inflamatórias. A propagação de mudas de *Cordia verbenacea* é feita em viveiros. As mudas podem ser obtidas a partir de sementes ou do enraizamento de estacas de ramos novos. Uma lavoura instalada de *Cordia verbenacea* fornece, após três anos, 16.000 kg/ha/ano de biomassa, o que é suficiente para a produção de 10 kg de óleo essencial. Com a seleção de melhores genótipos e a melhoria das técnicas de cultivo, pode-se chegar a 25 kg/ha/ano do óleo.

Em 2004, em um viveiro na região de Campinas (SP), identificou-se uma doença causada por *Phoma* sp. (Morandi, 2008). Os sintomas da doença são necrose das nervuras e estrangulamento das hastes, com formação de inúmeros picnídios. As perdas chegavam a mais de 60% das mudas no viveiro, e um primeiro teste verificou que o patógeno não estava sendo transmitido pelas sementes. Porém, os novos lotes de mudas eram rapidamente infectados ao serem colocados no viveiro. Para resolver o problema, foi proposto um esquema de manejo integrado (Figura 17.3) que incluiu, em sequência (as duas primeiras medidas visavam à redução do inóculo inicial do patógeno na área): a) limpeza e desinfestação das instalações do viveiro; b) desinfestação prévia do substrato em coletor solar (Ghini; Bettiol, 1991; Bettiol; Ghini, 2003); c) recolonização do substrato com aplicação de biofertilizante à base de esterco bovino, visando ao incremento da diversidade e atividade microbianas no substrato (Bettiol,

2006); d) manejo da irrigação, com redução da frequência e do ajuste da hora, para reduzir o período de molhamento foliar e, assim, limitar a ocorrência de ambiente favorável à infecção; e) proteção do filoplano, por meio da pulverização quinzenal de biofertilizante a 10%, visando à formação de uma “barreira biológica” sobre as mudas; e f) manutenção da limpeza, por meio da eliminação frequente de plantas e partes de plantas doentes, com vistas à redução da disseminação do inóculo secundário do patógeno no interior do viveiro. Com a aplicação dessas medidas, verificou-se redução drástica das perdas causadas pela doença para menos de 10% das mudas.

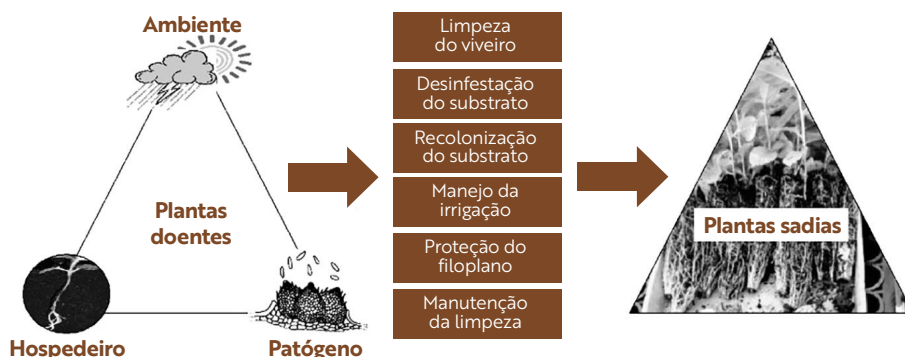


Figura 17.3. Esquema de manejo integrado de *Phoma* sp. em viveiro de erva-baleeira.
Fonte: Adaptado de Morandi (2009).

O mercado brasileiro de agentes de controle biológico de doenças de plantas tem crescido e se diversificado significativamente nos últimos anos. A adoção do controle biológico na agricultura para controle dos problemas fitossanitários vem recebendo uma colaboração marcante da agricultura orgânica (Morandi et al., 2005).

A introdução de um agente de controle biológico exige seu estabelecimento, seguido da interação com o organismo-alvo e outras espécies de organismos. Essas complexas interações são fundamentais para o sucesso do controle, devendo ser analisadas de modo mais amplo e consideradas em longo prazo, e não em curto. Assim, é fundamental conhecer a ecologia de sistemas para o sucesso do controle biológico.

A integração de métodos biocompatíveis para o controle dos problemas fitossanitários torna-se ainda mais importante neste momento, com o desafio de mitigação e adaptação aos efeitos das mudanças climáticas. Assim, é imprescindível que esforços sejam envidados para minimizar a emissão de gases de efeito estufa para a atmosfera, ao mesmo tempo que se aumenta a resiliência dos sistemas produtivos. A necessidade de se redesenharem os sistemas de produção para alcançar sua sustentabilidade já é reconhecida há algumas décadas (Bettio; Ghini, 2003; Gliessman, 2005) e se torna ur-

gente (Masson-Delmotte et al., 2021). Os processos e produtos de base biológica terão papel fundamental nesse contexto.

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

Bactérias do filoplano e indução de resistência

O uso de bactérias do filoplano como agentes de controle biológico é outra linha que vem sendo trabalhada na Embrapa Meio Ambiente. Um dos aspectos abordados é o uso de residentes da parte aérea, nativos da própria planta, para controle de doenças bacterianas. O filoplano é um ambiente que provém, basicamente, como substrato exsudatos excretados em sua superfície. Portanto, agentes de biocontrole capazes de se estabelecer em órgãos da parte aérea e exercer atividades antagonistas contam, essencialmente, com estes poucos recursos para manter suas colônias. Além disso, a incidência de radiação solar, mudanças rápidas no teor de umidade, entre outros fatores, fazem que a capacidade do bioagente em sobreviver e colonizar diferentes nichos constitua um desafio (Jacobs; Sundin, 2001; Bailey et al., 2006). A perspectiva na estratégia de seleção de microrganismos nativos é de que, uma vez que são provenientes do hospedeiro em que deverão atuar, estejam adaptados a essas condições. Esse aspecto foi explorado por Halfeld-Vieira et al. (2015). Nesse trabalho, a seleção de bioagentes baseada em seleção *in vivo* determinou quais aspectos são importantes para que uma bactéria de filoplano constitua um antagonista capaz de reduzir a severidade da mancha-bacteriana do maracujazeiro. Os mecanismos comuns aos agentes de biocontrole selecionados foram, essencialmente, a competição pelo íon ferro e por compostos nitrogenados. Posteriormente, demonstrou-se que a competição por ferro teve um papel na redução do número de colônias de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* no filoplano de plantas de maracujazeiro no decorrer do tempo, além de promover menor intensidade da doença (Ribeiro et al., 2017). Outras possibilidades, como antibiose e indução de resistência, que poderiam estar relacionadas, não foram relacionadas à capacidade de controle. Esse aspecto, além de prover novos bioagentes a serem utilizados oportunamente, auxilia em um direcionamento de estratégias de seleção de antagonistas e de possíveis meios capazes de interferir na disponibilidade de ferro no filoplano que possa ser utilizado pelo patógeno.

Em outra abordagem, explorou-se a capacidade de isolados de bactérias esporogênicas relacionadas ao gênero em controlar a mancha-bacteriana do tomateiro. A partir de um projeto conjunto entre Instituto Federal Goiano, Laboratório de Biocontrole Farroupilha e Embrapa Meio Ambiente, diferentes isolados foram submetidos a ensaios com a finalidade de desenvolvimento de um antagonista destinado ao controle

dessa doença. Também realizando seleção baseada em ensaios *in vitro*, verificou-se que um isolado de *Bacillus velezensis* GF267 demonstrou diversos atributos que explicavam sua capacidade de biocontrole (Mates et al., 2019). O isolado de *B. velezensis* GF267 apresentou múltiplas habilidades, como competição por íons Fe, fontes de carbono, além de antibiose, atributos importantes para antagonismo direto quando aplicado nas folhas. Em solo, verificou-se que o isolado incrementou as atividades de peroxidases e polifenoloxidasas, enzimas indicadoras do estado de indução de resistência – em ambas as situações, reduzindo significativamente a intensidade da mancha-bacteriana do tomateiro. Além desses aspectos, o aumento do teor de clorofila nas plantas colonizadas com tal agente de biocontrole indicou, também, a possibilidade de este contribuir para a promoção de crescimento das plantas. Um entrave, porém, foi que a indução de resistência, quando da aplicação do isolado no solo, promoveu resposta de curta duração. Mais recentemente, estudos com o mesmo patossistema foi conduzido em projeto de pesquisa na Embrapa Meio Ambiente, porém, com abordagem distinta. Uma vez que a indução de resistência eliciada por *B. velezensis* GF267 promoveu redução significativa da severidade da doença, com resultados animadores, explorou-se uma característica inata às plantas de responder com reação hipersensível a isolados de *Xanthomonas* spp. incompatíveis (Simões, 2020; Simões et al., 2021). Com base em um trabalho em que componentes de uma rizobactéria de controle biológico foram associados à capacidade de controlar doenças em *Arabidopsis*, feijoeiro e tomateiro (Meziane et al., 2005) por meio de indução de resistência, essa mesma hipótese foi testada com a finalidade de utilizar um bioinsumo para o controle de doenças bacterianas. Desta forma, foram extraídos e aplicados em tomateiros extratos brutos contendo lipopolissacarídeos e flagelos de isolados de diversas espécies de *Xanthomonas*, os quais promoveram reação hipersensível, aumentaram as atividades das enzimas indicadoras de indução de resistência e controlaram a mancha bacteriana por longos períodos. No momento, a viabilização do uso dessa tecnologia está sendo foco de trabalhos atuais para que possa, eventualmente, ser disponibilizada para produtores dessa cadeia produtiva.

Fungos e indução de resistência

Em estudos com o objetivo de avaliar o efeito sistêmico de extratos etanólicos dos corpos de frutificação dos fungos *Ganoderma* e *Oudemansiella canarii* no controle do oídio do pepino, plantas de pepino cv. “Safira” foram pulverizadas com os dois extratos no primeiro estágio de crescimento da folha verdadeira e inoculados com *Sphaerotheca fuliginea* no segundo estágio de crescimento da folha. Os extratos de *Oudemansiella* e *Ganoderma* reduziram o número de colônias na folha secundária em 79% e 65%, e a taxa de esporulação, em 45% e 70%, respectivamente, bem como reduziram o diâmetro das colônias em 20% (Stadnik et al., 2003).

Na sequência, Stadnik e Bettiol (2007) estudaram a relação entre as alterações na atividade de lipoxigenase (LOX) e peroxidase (POX) e a proteção do pepino (*Cucumis sativus*) contra o oídio (*Podosphaera xanthii*) induzido por extratos hexânico e de acetato de etila de basidiocarpos de *Oudemansiella canarii*. No estágio de duas folhas, apenas as folhas primárias das plantas de pepino cultivadas em estufa foram pulverizadas com os extratos, sendo as folhas secundárias inoculadas um, quatro, sete ou dez dias após a pulverização dos extratos. O número de colônias de oídio foi avaliado seis dias após a inoculação, sendo as atividades de LOX e POX nas folhas secundárias determinadas 24 horas após cada momento da inoculação do patógeno. Stadnik e Bettiol (2007) observaram redução de 85% da doença quando as plantas foram inoculadas um dia depois da aplicação do extrato de hexano. Então, a redução da doença diminuiu no quarto dia, mas aumentou novamente quando as plantas foram inoculadas sete ou dez dias após o tratamento. A atividade LOX aumentou com a aplicação do extrato de hexano, mas não com o patógeno. A atividade da POX foi maior nas plantas inoculadas previamente tratadas com o extrato de hexano. Por outro lado, o extrato de acetato de etila não afetou a atividade enzimática, e sua eficácia de proteção diminuiu continuamente com o aumento do intervalo de tempo entre o tratamento e a inoculação.

EFEITOS DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS NO CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico de doenças de plantas é resultado de uma interação entre hospedeiro, patógeno e uma variedade de não patógenos que repousam no sítio de infecção, sendo hospedeiro, patógeno e os demais organismos, além da própria interação, dependentes do ambiente. Assim, todos os tipos de controle biológico sofrerão interferências das mudanças climáticas (Bettiol, 2008; Bettiol; Ghini, 2009; Elad; Pertot, 2014). O equilíbrio biológico entre os organismos que vivem na rizosfera, filosfera, carposfera e espermosfera será alterado (Coakley et al., 1999) e, conseqüentemente, o controle biológico natural (Bettiol; Ghini, 2009). No controle biológico aumentativo, no qual os bioagentes são aplicados de maneira massal, a eficácia dos antagonistas varia de acordo com o ambiente (Bettiol; Ghini, 2009; Elad; Pertot, 2014), e a eficiência desses antagonistas deverá ser alterada pelas mudanças climáticas. Assim, no processo de isolamento e seleção de antagonistas, as previsões do clima futuro deverão ser consideradas durante todo o processo de desenvolvimento de um bioprotetor (Bettiol et al., 2012). Apesar da importância do tema, poucos estudos foram realizados sobre os efeitos das mudanças climáticas em agentes de biocontrole. Na Embrapa Meio Ambiente, em estudo que avaliou o efeito da elevação do CO₂ atmosférico sobre *Bacillus*

subtilis, *Bacillus pumilus* e *Lecanillium longisporum* no controle da ferrugem do cafeeiro, causada por *Hemileia vastatrix*, Mendes et al. (2012) verificaram que esses antagonistas não foram afetados pelas concentrações entre 380 e 1300 ppm de CO₂ atmosférico. Informações sobre os efeitos da radiação UV-B sobre *Lecanicillium* spp. e *Clonostachys rosea* são apresentados no capítulo sobre mudanças climáticas ou podem ser consultadas em Galvão e Bettiol (2014) e Costa et al. (2012, 2013, 2016). Outros aspectos relacionados aos efeitos das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas são discutidos por Ghini et al. (2008, 2011, 2012).

CONTROLE DE QUALIDADE DE AGENTES DE BIOCONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

O controle de qualidade em todas as etapas da cadeia de produção de um agente de biocontrole é extremamente importante para que produtos de reconhecida qualidade sejam disponibilizados no mercado e, assim, manter a confiança dos agricultores sobre a eficácia dos bioprodutos. Consequentemente, contribuirá para ampliar o mercado de agentes de biocontrole para o manejo integrado de doenças e pragas de plantas (Pinto et al., 2019).

Considerando os problemas existentes com a qualidade dos produtos contendo agentes de biocontrole comercializados, bem como a inexistência, no Brasil, de metodologias padronizadas, em 2008 formou-se uma rede de pesquisa chamada de Projeto Qualibio (Desenvolvimento de metodologia analítica e amostral para avaliação de conformidade e da inocuidade de produtos comerciais formulados à base de agentes microbianos), a qual desenvolveu metodologias para avaliar a conformidade e a qualidade de produtos comerciais formulados à base de agentes microbianos para o controle de doenças de plantas. O projeto foi financiado pelo edital MCT/CNPq/Mapa/DAS nº 64/2008, com coordenação da Embrapa Meio Ambiente e participação da Embrapa Arroz e Feijão, do Instituto Biológico de São Paulo, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, da Universidade Federal de Pelotas e da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (Ceplac/Cefet).

As metodologias desenvolvidas no âmbito do Projeto Qualibio são utilizadas por praticamente todas as empresas, laboratórios e instituições de pesquisa para avaliar a conformidade e a qualidade de produtos comerciais formulados à base de agentes microbianos para controle de doenças de plantas, além de pesquisas na área. As metodologias foram desenvolvidas para produtos à base de fungos do gênero *Trichoderma* e bactérias do gênero *Bacillus*. Contudo, podem ser utilizadas para outros microrganismos antagonistas, como *Clonostachys rosea*, *Pochonia clamydosporea*, *Purpureocillium lilacinum*, entre outros, e, também, para outras bactérias, desde que consideradas as

especificidades de cada espécie. Detalhes das metodologias podem ser obtidos em Pinto et al. (2019), Bettiol et al. (2012) e Qualibio (2012).

No Projeto Qualibio também foi desenvolvida uma ferramenta computacional, intitulada Calibra, para a realização de contagem de esporos, calibração de suspensão e inóculo e armazenamento de dados, visando ao controle de qualidade dos produtos (Santos et al., 2011).

DIVULGAÇÃO DO CONTROLE BIOLÓGICO E FORMAÇÃO DE PESSOAS

Desde o primeiro livro, intitulado Controle biológico de doenças de plantas, foram mais nove livros da área publicados pela Embrapa Meio Ambiente. Além disso, os pesquisadores da Embrapa Meio Ambiente publicaram 74 capítulos de livros sobre controle biológico de doenças de plantas. Em conjunto, os pesquisadores Bernardo Almeida Halfeld Vieira, Itamar Soares de Melo, Raquel Ghini e Wagner Bettiol orientaram 42 dissertações de mestrado e 44 teses de doutorado envolvendo os diferentes tipos de controle biológico de doenças de plantas junto à Universidade de São Paulo, à Universidade Estadual Paulista (Unesp), à Universidade Federal de Lavras (Ufla) e à Universidade Federal de Roraima (UFRR). Todas as teses e dissertações estão disponíveis tanto nas respectivas universidades quanto no Sistema Embrapa de Bibliotecas. O número de bolsistas de iniciação científica que trabalharam com controle biológico no Laboratório de Microbiologia Ambiental “Raquel Ghini” é superior a 200. Além disso, foram supervisionados muitos pós-doutorandos.

POLÍTICAS PÚBLICAS

Detalhes sobre a atuação da Embrapa Meio Ambiente em políticas públicas são discutidos no Capítulo 28. Contudo, é fundamental incluir aqui três informações. A primeira diz respeito ao papel primordial da Embrapa Meio Ambiente no estabelecimento do sistema de etapas para avaliação de produtos considerados de baixas toxicidade e periculosidade (Portaria Normativa Ibama nº 131/97 – Ibama, 1997). Essa portaria teve como base as publicações de De Nardo et al. (1995a, 1995b), originárias de eventos realizados na unidade. A segunda foi a criação da Associação Brasileira das Empresas de Biocontrole (ABCBIO). Resumidamente, em outubro de 2007, no âmbito do Fórum Permanente de Adequação Fitossanitária da Embrapa Meio Ambiente, foi criada a ABCBIO para organizar o setor no país. Atualmente, a ABCBIO foi agregada à CropLife Brasil, e praticamente todas as empresas de controle biológico no país são associadas. A terceira foi a organização em conjunto entre a Embrapa

Meio Ambiente, por meio do Fórum Permanente de Adequação Fitossanitária, e o Mapa de um workshop sobre “As vantagens de registro dos produtos biológicos para o controle de doenças e pragas” (Bettiol et al., 2014). Essas ações colaboraram para a elaboração de diversas normas técnicas pelo Mapa, resultando no aumento do número de produtos biológicos registrados no Brasil.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos cinco anos (2018 a 2022), a taxa anual composta de crescimento (CAGR) do mercado brasileiro de biopesticidas registrados foi de 45%. A Embrapa Meio Ambiente precisa comemorar este número, pois vem participando ativamente do desenvolvimento de pesquisas em controle biológico de doenças de plantas desde 1986. As atividades da Embrapa Meio Ambiente em controle biológico de doenças de plantas não foi e não é apenas em pesquisa, mas também sempre envolveu forte atuação no estabelecimento de políticas públicas, em treinamento (com mais de 200 estudantes treinados no Laboratório de Microbiologia Ambiental “Raquel Ghini”), na divulgação do controle biológico (mais de 10 livros e, aproximadamente, 100 capítulos de livros publicados sobre o tema e mais de 300 artigos científicos publicados em renomados periódicos) e na disponibilização de organismos para serem utilizados na agricultura brasileira. Estes números colocam a Embrapa Meio Ambiente na linha de frente das instituições de pesquisa que desenvolvem controle biológico de doenças de plantas no Brasil.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, J. S.; BAKER, R. Growth of rhizosphere-competent mutants of *Trichoderma harzianum* on carbon substrates. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 6, p. 807-814, 1988a.
- AHMAD, J. S.; BAKER, R. Implication of rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 229-234, 1988b.
- AMORIM, E. P. R.; MELO, I. S. de. Efeito da associação de antagonistas no controle de *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* em plântulas de citros. **Summa Phytopathologica**, v. 25, n. 4, p. 335-338, 1999.
- ANDRADE, D. E. G.; SILVA, E. B.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R.; BETTIOL, W. Controle da queima das folhas de inhame com produtos à base de *Bacillus subtilis*. **Summa Phytopathologica**, v. 21, n. 3/4, p. 202-205, 1995.
- ARAÚJO, F. F.; BETTIOL, W. Efeito de lodo de esgoto sobre patógenos habitantes do solo e severidade de oídio da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 3, p. 184-190, 2009.
- ARAÚJO, F. F.; BETTIOL, W. Supressividade dos nematóides *Meloydogine javanica* e *Heterodera glycines* em soja por adição de lodo de esgoto ao solo. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 806-812, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000400009>.
- BAILEY, M. J.; LILLEY, A. K.; TIMMS-WILSON, T. M.; SPENCER-PHILLIPS, P. T. N. (Eds.) **Microbial ecology of aerial plant surfaces**. CABI: Wallingford, 2006. 321 p. DOI: <http://doi.org/10.1079/9781845930615.0000>.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODON, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BERNARDO, E. R. A.; ZUCCHI, T. D.; BETTIOL, W. Biological control of *Penicillium digitatum* on organic orange fruits in postharvest. In: TALLER URUGUAYO DE AGENTES MICROBIANOS DE CONTROL BIOLOGICO, 2., 2008, Colonia, Uruguai. **Anales... La Estanzuela: INIA**, 2008. p. 27.
- BETTIOL, W. Effect of sewage sludge on the incidence of corn stalk rot caused by *Fusarium*. **Summa Phytopathologica**, v. 30, n. 1, p. 16-22, 2004.
- BETTIOL, W. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas. In: GHINI, R.; HAMADA, E. (ed.). **Mudanças climáticas: impactos sobre doenças de plantas no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. p. 299-321.
- BETTIOL, W. Productos alternativos para el manejo de enfermedades em cultivos comerciales. **Fitosanidad**, v. 10, n. 2, p. 85-98, 2006.
- BETTIOL, W. Seleção de microrganismos antagonísticos a *Pyricularia oryzae* Cav. para o controle da brusone do arroz (*Oryza sativa* L.). 1988. 140 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- BETTIOL, W.; BRANDÃO, M. S. B.; SAITO, M. L. Controle da ferrugem do feijoeiro com extratos e células formuladas de *Bacillus subtilis*. **Summa Phytopathologica**, v. 18, n. 2, p. 153-159, 1992.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 312 p.

BETTIOL, W.; FORNER, C.; MATTOS, L. P. V. Development of suppressiveness to *Fusarium oxysporum* in container media and soil amended with fish emulsion and fish hydrolyzed. *Acta Horticulturae*, v. 1044, p. 133-138, 2014.

BETTIOL, W.; GARIBALDI, A.; MIGHELI, Q. *Bacillus subtilis* for the control of powdery mildew on cucumber and zucchini squash. *Bragantia*, v. 56, n. 2, p. 281-287, 1997.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Impactos das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 29-48.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Impacts of sewage sludge in tropical soil: a case study in Brazil. *Applied and Environmental Soil Science*, v. 2011, article 212807, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1155/2011/212807>.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (ed.). **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p. 79-95.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos supressivos. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (ed.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. p. 124-152.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J.; MATTOS, L. P. V.; ALVARADO, I. C. M.; PINTO, Z. V. Supressividade a fitopatógenos habitantes do solo. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 187-208.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MOSCA, J. L. Efeito de *Bacillus subtilis* no controle da podridão de frutos de banana causada por *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 132, 1989.

BETTIOL, W.; KRUGNER, T. L. Influência do lodo de esgoto na severidade da podridão de raiz do sorgo causada por *Pythium arrhenomanes*. *Summa Phytopathologica*, v. 10, n. 3, p. 243-251, 1984.

BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermidades de plantas en Brasil. In: BETTIOL, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, J. R.; COLMENÁREZ, Y. (Ed.). **Control biológico de enfermidades de plantas en América Latina y el Caribe**. Montevideo: Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica, 2014. p. 91-138.

BETTIOL, W.; MATTOS, L. P. V. Biological control of postharvest green mould (*Penicillium digitatum*) of oranges by yeasts and bacteria. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF POSTHARVEST PATHOLOGY/ DISEASE CONTROL, 2011, Lleida. **Book of abstracts...** Lleida: Universitat de Lleida, 2011. Resumo P5.

BETTIOL, W.; MIGHELI, Q.; GARIBALDI, A. Controle, com matéria orgânica, do tombamento do pepino, causado por *Pythium ultimum* Trow. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 57-61, 1997.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Avaliação da qualidade de produtos à**

base de *Trichoderma*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. Apostila. Disponível em: https://www.cnpma.embrapa.br/down_site/forum/2012/trichoderma/Apostila_Trichoderma_2012.pdf. Acesso em: 15 jul. 2021.

BETTIOL, W.; SAITO, M. L.; BRANDÃO, M. S. B. Controle da ferrugem do cafeeiro com produtos à base de *Bacillus subtilis*. *Summa Phytopathologica*, v. 20, n. 2, p. 119-122, 1994.

BETTIOL, W.; SILVA, J. C.; CASTRO, M. L. M. P. de. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (ed.). *Trichoderma*: uso na agricultura. Brasília, DF: Embrapa, 2019a. pt. 1. cap. 1. p. 21-43.

BETTIOL, W.; PINTO, Z. V.; SILVA, J. C.; FORNER, C.; FARIA, M. R. de; PACIFICO, M. G.; COSTA, L. S. A. S. Produtos comerciais à base de *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (Ed.). *Trichoderma*: uso na agricultura. Brasília, DF: Embrapa, 2019b. pt. 1. cap. 2. p. 45-160.

BETTIOL, W.; VARZEA, V. M. P. Controle biológico da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro com *Bacillus subtilis* em condições controladas. *Fitopatologia Brasileira*, v. 17, n. 1, p. 91-95, 1992.

BETTIOL, W.; VISCONTI, A. Development of suppressiveness to root rot caused by *Cylindrocladium spathiphylli* in container media amended with marine residues. *IOBC Bulletin*, v. 86, p. 241-245, 2013.

BISSETT, J.; GAMS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. J. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus*, v. 6, n. 2, p. 263-295, 2015.

BONANOMI, G.; ANTIGNANI, V.; CAPODILUPO, M.; SCALA, F. Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soilborne plant diseases. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 42, n. 2, p. 136-144, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.012>.

BONANOMI, G.; GAGLIONE, S. A.; CESARANO, G.; SARKER, T. C.; PASCALE, M.; SCALA, F.; ZOINA, A. Frequent applications of organic matter to agricultural soil increase fungistasis. *Pedosphere*, v. 27, n. 1, p. 86-95, 2017. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60298-4](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60298-4).

BONANOMI, G.; LORITO, M.; VINALE, F.; WOO, S. L. Organic amendments, beneficial microbes, and soil microbiota: toward a unified framework for disease suppression. *Annual Review of Phytopathology*, v. 56, p. 1-20, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100046>.

BONANOMI, G.; ZOTTI, M.; IDBELLA, M.; DI SILVERIO, N.; CARRINO, L.; CESARANO, G.; ASSAEED, A. M.; ABD-ELGAWAD, A. M. Decomposition and organic amendments chemistry explain contrasting effects on plant growth promotion and suppression of *Rhizoctonia solani* damping off. *PLoS ONE*, v. 15, n. 4, e0230925, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230925>.

BONONI, L.; CHIARAMONTE, J. B.; PANSA, C. C.; MOITINHO, M. A.; MELO, I. S. de. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. *Science Report*, v. 10, article 2858, 2020.

BORGES, Á. V.; SARAIVA, R. M.; MAFFIA, L. A. Biocontrol of gray mold in tomato plants by *Clonostachys rosea*. *Tropical Plant Pathology*, v. 40, n. 2, p. 71-76, 2015.

BORRERO, C.; ORDOVÁS, J.; TRILLAS, M. I.; AVILES, M. Tomato Fusarium wilt suppressiveness: the relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterised by Biolog (R). *Soil Biology & Biochemistry*, v. 38, n. 7, p. 1631-1637, 2006.

BRANDI, F.; HECK, D. W.; FERREIRA, T. C.; BETTIOL, W. Commercial formulations of *Bacillus* spp. for sugarcane pineapple disease control and growth promotion. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 53, n. 12, p. 1311-1319, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agrofit**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 15 ago. 2021.

BUENO, V. H. P.; PARRA, J. R. P.; BETTIOL, W.; LENTEREN, J. C. van. Biological control in Brazil. In: LENTEREN, J. C. van; BUENO, V. H. P.; LUNA, M. G.; COLMENAREZ, Y. C. (ed.). **Biological control in Latin America and the Caribbean**: its rich history and bright future. Boston, MA: CAB International, 2020. p. 78-107. (CABI invasive series; 12). DOI: <https://doi.org/10.1079/9781789242430.0000>.

CARRIÓN, V. J.; PEREZ-JARAMILLO, J. E.; CORDOVEZ, V.; TRACANNA, V.; HOLLANDER, M. de; RUIZ-BUCK, D.; MENDES, L. W.; IJCKEN, W. F. J. van; GOMEZ-EXPOSITO, R.; ELSAYED, S. S.; MOHANRAJU, P.; ARIFAH, A.; OOST, J. van der; PAULSON, J. N.; MENDES, R.; WEZEL, G. P. van; MEDEMA, M. H.; RAAIJMAKERS, J. M. Pathogen-induced activation of disease-suppressive functions in the endophytic root microbiome. *Science*, v. 366, n. 6465, p. 606-612, 2019.

CARVALHO, A. L. de A.; REZENDE, L. C. de; COSTA, L. B.; HALFELD-VIEIRA, B. de A.; PINTO, Z. V.; MORANDI, M. A. B.; MEDEIROS, F. H. V.; BETTIOL, W. Optimizing the mass production of *Clonostachys rosea* by liquid-state fermentation. *Biological Control*, v. 118, p. 16-25, 2018.

CASSIOLATO, A. M. R.; BAKER, R. MELO, I. S. de. Parasitismo de *Sclerotinia sclerotiorum* e *S. minor* por mutantes de *Trichoderma harzianum* em segmentos de aipo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 21, n. 1, p. 120-122, 1996.

CAWOY, H.; BETTIOL, W.; FICKERS, P.; ONGENA, M. *Bacillus*-based biological control of plant diseases. In: STOYTCHIEVA, M. (ed.). **Pesticides in the modern world**: pesticides use and management. Rijeka: InTech, 2011. p. 273-302.

CHAPELLE, E.; MENDES, R.; BAKKER, P. A. H. M.; RAAIJMAKERS, J. M. Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. *ISME Journal*, v. 10, n. 1, p. 265-268, 2015.

CHEN, W.; HOITINK, H. A. J.; SCHMITTHENNER, A. F. Factors affecting suppression of *Pythium* damping-off in container media amended with composts. *Phytopathology*, v. 77, n. 5, p. 755-760, 1987.

CHET, I. *Trichoderma*: application, mode of action and potential as a biocontrol agent of soil borne plant pathogenic fungi. In: CHET, I. (ed.). **Innovative approaches to plant disease control**. New York: J. Wiley, 1987. p. 137-160.

CHET, I.; BENHAMOU, N.; HARAN, S. Mycoparasitism and lytic enzymes. In: HARMAN, G. E.; KUBICEK, P. (ed.). **Trichoderma and Gliocladium**. London: Taylor and Francis, 1998. v. 2, p. 153-172.

CHET, I.; HARMAN, G. E.; BAKER, R. *Trichoderma hamatum*: its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microbial Ecology*, v. 7, n. 1, p. 29-38, 1981.

CHOWDAPPA, P.; KUMAR, S. P. M.; LAKSHMI, M. J.; UPRETI, K. K. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, v. 65, n. 1, p. 109-117, 2013.

COAKLEY, S. M.; SCHERM, H.; CHAKRABORTY, S. Climate change and plant disease management. **Annual Review of Phytopathology**, v. 37, p. 399-426, 1999.

CORRÊA, E. B.; BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Controle biológico da podridão de raiz causada por *Pythium aphanidermatum* e promoção de crescimento de alface hidropônica com *Clonostachys rosea*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 4, p. 248-252, 2010.

CORRÊA, B.; DUARTE, V. S.; SILVA, D. M.; MASCARIN, G. M.; DELALIBERA JÚNIOR, I. Comparative analysis of blastospore production and virulence of *Beauveria bassiana* and *Cordyceps fumosorosea* against soybean pests. **BioControl**, v. 65, n. 3, p. 323-337, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10526-020-09999-6>.

CORRÊA, E. B.; GALVÃO, J. A. H.; BETTIOL, W. Controle biológico da podridão radicular e promoção de crescimento em pepino hidropônico com microrganismos de mangueais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 2, p. 130-136, 2011.

COSTA, L. B.; MORANDI, M. A. B.; STRICKER, S. M.; BETTIOL, W. UV-B radiation reduces biocontrol ability of *Clonostachys rosea* against *Botrytis cinerea*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 26, n. 12, p. 1736-1749, 2016.

COSTA, L. B.; RANGEL, D. E. N.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Effects of UV-B radiation on the antagonistic ability of *Clonostachys rosea* to *Botrytis cinerea* on strawberry leaves. **Biological Control**, v. 65, n. 1, p. 95-100, 2013.

COSTA, L. B.; RANGEL, D. E. N.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Impact of UV-B radiation on *Clonostachys rosea* germination and growth. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 7, p. 2497-2504, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1057-7>.

COTES, A. M.; FARGETTON, X.; KÖHN, J. Diseño conceptual, selección y prueba de concepto de microorganismos biocontroladores. In COTES, A. M. (ed.). **Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaro**. Mosquera: AGROSAVIA, 2019. v. 2, p. 598-627.

CRAFT, C. M.; NELSON, E. B. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1550-1557, 1996.

DISSANAYAKE, N.; HOY, J. W. Organic material soil amendment effects on root rot and sugarcane growth and characterization of the materials. **Plant Disease**, v. 83, n. 11, p. 1039-1046, 1999.

COTXARRERA, L.; TRILLAS-GAY, M. I.; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress Fusarium wilt of tomato. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, n. 4, p. 467-476, 2002.

DE NARDO, E. A. B.; CAPALBO, D. M. F.; MORAES, G. J. de; OLIVEIRA, M. C. B. (coord.). **Requisitos para a análise de risco de produtos contendo agentes microbianos de controle de organismos nocivos: uma proposta para os órgãos federais registrantes**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1995a. 42 p. EMBRAPA-CNPMA. Documentos, 2).

DE NARDO, E. A. B.; CAPALBO, D. M. F.; OLIVEIRA, M. C. B. de; MORAES, G. J. de (ed.). **Análise de risco e avaliação do impacto ambiental decorrente do uso de agentes de controle biológico**: memória do workshop. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1995b. 127 p. (EMBRAPA-CNPMA. Documentos).

DI PIETRO, A.; LORITO, M.; HAYES, C.; BROADWAY, K.; HARMAN, G. E. Endochitinase from *Glucadium virens*. Isolation, characterization, synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. **Phytopathology**, v. 83, n. 3, p. 308-313, 1993.

DORIGHELLO, D. V.; BETTIOL, W.; MAIA, N. B.; LEITE, R. M. V. B. de C. Controlling Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) with *Bacillus* spp. and coffee oil. **Crop Protection**, v. 67, p. 59-65, Jan. 2015.

DORIGHELLO, D. V.; FORNER, C.; LEITE, R. M. V. B. de C.; BETTIOL, W. Management of Asian soybean rust with *Bacillus subtilis* in sequential and alternating fungicide applications. **Australasian Plant Pathology**, v. 49, n. 1, p. 79-86, 2020.

DROBY, S.; WISNIEWSKI, M.; MACARISIN, D.; WILSON, C. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, n. 2, p. 137-145, 2009.

EHLER, L. E. Conservation biological control: Past, present and future. In: BARBOSA, P. (ed.). **Conservation biological control**. San Diego: Academic Press, 1998. p. 1-8.

ELAD, Y.; PERTOT, I. Climate change impacts on plant pathogens and plant diseases. **Journal of Crop Improvement**, v. 28, p. 99-139, 2014.

FARIA, M. R. de; GUIMARÃES, R. A.; PINTO, F. A. M. F.; SIQUEIRA, C. da S.; SILVA, C. A.; MEDEIROS, F. H. V.; BETTIOL, W. Contribution of organic amendments to soil properties and survival of *Stenocarpella* on maize stalk. **Scientia Agricola**, v. 77, n. 6, e20180033, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/1678-992X-2018-0289>.

FORNER, C.; BETTIOL, W.; NASCIMENTO, L. M.; TERAPO, D. Controle em pós-colheita de *Penicillium digitatum* em laranja-pêra com microrganismo e tratamento térmico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 23-31, 2013.

FRAVEL, D. R. Commercialization and implementation of biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v. 43, p. 337-59, 2005.

FRAGA, A. Mercado de biológicos vai quase triplicar no Brasil em 2030 e atingir R\$ 3,7 bilhões. Disponível em: <https://globo rural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2021/04/mercado-de-biologicos-vai-quase-triplicar-no-brasil-em-2030-e-atingir-r-37-bilhoes.html>. Acesso em: 14 jul. 2021.

FUJINAWA, M. F.; PONTES, N. C.; BOREL, F. C.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; GOES, A.; MORANDI, M. A. B. Biological control of gray mold and Myrothecium leaf spot in begonias. **Crop Protection**, v. 133, article 105138, 2020.

GALVÃO, J. A. H.; BETTIOL, W. Effects of UV-B radiation on *Lecanicillium* spp., biological control agents of the coffee leaf rust pathogen. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 5, p. 392-400, 2014.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Coletor solar para desinfestação de substratos. **Summa Phytopathologica**, v. 17, n. 3/4, p. 281-286, 1991.

GHINI, R.; BETTIOL, W.; HAMADA, E. Diseases in tropical and plantation crops as affected by climate changes: current knowledge and perspectives. **Plant Pathology**, v. 60, n. 1, p. 122-132, 2011. Special issue.

GHINI, R.; FORTES, N. L. P.; NAVAS-CORTES, J. A.; SILVA, C. A.; BETTIOL, W. Combined effects of soil biotic and abiotic factors, influenced by sewage sludge incorporation, on the incidence of corn stalk rot. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, e0155536, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155536>.

GHINI, R.; HAMADA, E.; ANGELOTTI, F.; COSTA, L. B.; BETTIOL, W. Research approaches, adaptation strategies, and knowledge gaps concerning the impacts of climate change on plant diseases. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n. 1, p. 5-24, 2012.

GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. Climate change and plant diseases. **Scientia Agricola**, v. 65, n. esp., p. 98-107, 2008.

GHINI, R.; KIMATI, H. Método de iscas para obtenção de isolados de *Trichoderma* antagonísticos a *Botrytis cinerea*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1989. 13 p. (EMBRAPA-CNPDA. Boletim de Pesquisa, 3).

GHINI, R.; PATRICIO, F. R. A.; BETTIOL, W.; ALMEIDA, I. M. G. de; MAIA, A. de H. N. Effect of sewage sludge on suppressiveness to soil-borne plant pathogens. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, n. 11, p. 2797-2805, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.002>.

GHINI, R.; SCHOENMAKER, I. A. S.; BETTIOL, W. Solarização do solo e incorporação de fontes de matéria orgânica no controle de *Pythium* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1253-1261, 2002.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: UFRGS, 2005. 653 p.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; SILVA, W. L. M.; SCHURT, D. A.; ISHIDA, A. K. N.; SOUZA, G. R.; NECHET, K. L. Understanding the mechanism of biological control of passionfruit bacterial blight promoted by autochthonous phylloplane bacteria. **Biological Control**, v. 80, p. 40-49, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.09.011>.

HALIFU, S.; DENG, X.; SONG, X. H.; SONG, R. Effects of two *Trichoderma* strains on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. mongolica annual seedlings. **Forests**, v. 10, n. 9, article 758, 2019.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - Opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HARMAN, G. E.; SHORESH, M. The mechanisms and applications of symbiotic opportunistic plant symbionts. In: VURRO, M.; GRESSEL, J. (ed.). **Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 131-155.

HECK, D. W.; GHINI, R.; BETTIOL, W. Deciphering the suppressiveness of banana Fusarium wilt with organic residues. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 47-60, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.021>.

HOITINK, H. A. J.; BOEHM, M. J. Biocontrol within the contest of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. **Annual Review Phytopathology**, v. 37, p. 427-446, 1999.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

HUE, A. G.; VOLDENG, H. D.; SAVARD, M. E.; FEDAK, G.; TIAN, X.; HSIANG, T. Biological control of Fusarium head blight of wheat with *Clonostachys rosea* strain ACM94I. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 31, n. 2, p. 169-179, 2009.

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

IWANICKI, N. S.; MASCARIN, G. M.; MORENO, S. G.; EILENBERG, J.; DELALIBERA JUNIOR, I. Growth kinetic and nitrogen source optimization for liquid culture fermentation of *Metarhizium robertsii* blastospores and bioefficacy against the corn leafhopper *Dalbulus maidis*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, article 71, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02844-z>.

JACKSON, M. A.; KOBORI, N. N.; MASCARIN, G. M. *Trichoderma* compositions and methods of use. PCT/US 20 15/050484, 24 Mar. 2016.

JACKSON, M. A.; MASCARIN, G. M. Stable fungal blastospores and methods for their production, stabilization and use. Int.: EP15842609.8A, 2016. Disponível em: <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2016044091>. Acesso em: 15 dez. 2021.

JACOBS, J. L.; SUNDIN, G. W. Effect of solar UV-B radiation on a phyllosphere bacterial community. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 12, p. 5488-5496, 2001.

JANISIEWICZ, W. J.; KORSTEN, L. Biological control of postharvest disease of fruits. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 411-441, 2002.

JENSEN, B.; KNUDSEN, I. M. B.; MADSEN, M.; JENSEN, D. F. Biopriming of infected carrot seed with an antagonist, *Clonostachys rosea*, selected for control of seedborne *Alternaria* spp. **Phytopathology**, v. 94, n. 6, p. 551-560, 2004.

KARLSSON, M.; DURLING, M. B.; CHOI, J.; KOSAWANG, C.; LACKNER, G.; TZELEPIS, G. D.; NYGREN, K.; DUBEY, M. K.; KAMOU, N.; LEVASSEUR, A.; ZAPPARATA, A.; WANG, J. H.; AMBY, D. B.; JENSEN, B.; SARROCCO, S.; PANTERIS, E.; LAGOPODI, A. L.; POGGELER, S.; VANNACCI, G.; COLLINGE, D. B.; HOFFMEISTER, D.; HENRISSAT, B.; LEE, Y. H.; JENSEN, D. F. Insights on the evolution of mycoparasitism from the genome of *Clonostachys rosea*. **Genome Biology and Evolution**, v. 7, n. 2, p. 465-80, 2015.

KOBORI, N. N.; MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; SCHISLER, D. A. Liquid culture production of microsclerotia and submerged conidia by *Trichoderma harzianum* active against damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, v. 119, n. 4, p. 179-190, Apr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.12.005>.

KUTER, G. A.; HOITINK, H. A. J.; CHEN, W. Effects of municipal sludge compost curing time on suppression of *Pythium* and *Rhizoctonia* of ornamental plants. **Plant Disease**, v. 72, n. 9, p. 751-756, 1988.

KUPPER, K. C.; CORREA, E. B.; MORETTO, C.; BETTIOL, W.; GOES, A. de. Control of *Guignardia citricarpa* by *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* spp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1111-1118, 2011.

LAZZARETTI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. *Scientia Agricola*, v. 54, n. 1/2, p. 89-96, 1997.

LAZZARETTI, E.; MENTEM, J. O. M.; BETTIOL, W. *Bacillus subtilis* antagonísticos aos principais patógenos associados a sementes de feijão e trigo. *Fitopatologia Venezuelana*, v. 7, n. 2, p. 42-46, 1994.

LAZZARETTI, E.; MENTEM, J. O. M.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de trigo com *Bacillus subtilis* para o controle de *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris sorokiniana* e *Alternaria tenuis*. *Summa Phytopathologica*, v. 21, n. 2, p. 163-167, 1995.

LEONI, C.; GHINI, R. Sewage sludge effect on management of *Phytophthora nicotianae* in citrus. *Crop Protection*, v. 25, n. 1, p. 10-22, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.03.004>.

LENTEREN, J. C. van. Benefits and risks of introducing exotic macro biological control agents into Europe. *EPPO Bulletin*, v. 27, n. 1, p. 15-27, 1997. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1997.tb00611.x>.

LENTEREN, J. C.; BOLKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, v. 63, n. 1, p. 39-59, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9801-4>.

LEWIS, J. A.; LUMSDEN, R. D.; MILLNER, P. D.; KEINATH, A. P. Suppression of damping-off of peas and cotton in the field with composted sewage sludge. *Crop Protection*, v. 11, n. 3, p. 260-266, 1992.

LI, J.; YANG, J.; HUANG, X.; ZHANG, K-Q. Purification and characterization of an extracellular serine protease from *Clonostachys rosea* and its potential as a pathogenic factor. *Process Biochemistry*, v. 41, n. 4, p. 925-929, 2006.

LIRA, A. C. de; MASCARIN, G. M.; DELALIBERA JUNIOR, I. Microsclerotia production of *Metarhizium* spp. for dual role as plant biostimulant and control of *Spodoptera frugiperda* through corn seed coating. *Fungal Biology*, v. 124, n. 8, p. 689-699, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.03.011>.

LOURENZANI, A. E. B. S.; LOURENZANI, W. L.; BATALHA, M. O. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. *Informações Econômicas*, v. 34, n. 3, p. 15-25, 2004.

LUCAS, P.; SARNIGUET, A. Biological control of soil-borne pathogens with resident versus introduced antagonists: should diverging approaches become strategic convergence? In: BARBOSA, P. (ed.). *Conservation biological control*. San Diego: Academic Press, 1998. p. 1-8.

LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A.; MILLNER, P. D. Effect of composted sewage sludge on several soilborne pathogens and diseases. *Phytopathology*, v. 73, n. 11, p. 1543-1548, 1983.

LUMSDEN, R. D.; MILLNER, P. D.; LEWIS, J. A. Suppression of lettuce drop caused by *Sclerotinia minor* with composted sewage sludge. *Plant Disease*, v. 70, n. 3, p. 197-201, 1986.

MACENA, A. M. F.; KOBORI, N. N.; MASCARIN, G. M.; VIDA, J. B.; HARTMAN, G. L. Antagonism of *Trichoderma*-based biofungicides against Brazilian and North American isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* and growth promotion of soybean. *BioControl*, v. 65, n. 2, p. 235-246, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10526-019-09976-8>.

MAGANHOTO, N. H. Otimização dos parâmetros para fermentação líquida submersa de *Clonostachys rosea*. 2020. 78 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MARCIANO, A. F.; MASCARIN, G. M.; FRANCO, R. F. F.; GOLO, P. S.; JARONSKI, S. T.; FERNANDES, E. K. K.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Innovative granular formulation of *Metarhizium robertsii* microsclerotia and blastospores for cattle tick control. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, article 4972, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84142-8>.

MARTINEZ, D.; BERKA, R. M.; HENRISSAT, B.; SALOHEIMO, M.; ARVAS, M.; BAKER, S. E.; CHAPMAN, J.; CHERTKOV, O.; COUTINHO, P. M.; CULLEN, D.; DANCHIN, E. G. J.; GRIGORIEV, I. V.; HARRIS, P.; JACKSON, M.; KUBICEK, C. P.; HAN, C. S.; HO, I.; LARRONDO, L. F.; DE LEON, A. L.; MAGNUSON, J. K.; MERINO, S.; MISRA, M.; NELSON, B.; PUTNAM, N.; ROBBERTSE, B.; SALAMOV, A. A.; SCHMOLL, M.; TERRY, A.; THAYER, N.; WESTERHOLM-PARVINEN, A.; SCHOCH, C. L.; YAO, J.; BARBOTE, R.; NELSON, M. A.; DETTER, C.; BRUCE, D.; KUSKE, C. R.; XIE, G.; RICHARDSON, P.; ROKHSAR, D. S.; LUCAS, S. M.; RUBIN, E. M.; DUNN-COLEMAN, N.; WARD, M.; BRETTIN, T. S. Genome sequencing and analysis of the biomass-degrading fungus *Trichoderma reesei* (syn. *Hypocrea jecorina*). **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 5, p. 553-560, 2008.

MARTINS-CORDER, M. P.; MELO, I. S. de. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agricola**, v. 55, n. 1, p. 1-7, 1998.

MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; BEHLE, R. W.; KOBORI, N. N.; DELALIBERA JÚNIOR, I. Improved shelf life of dried *Beauveria bassiana* blastospores using convective drying and active packaging processes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 19, p. 8359-8370, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7597-2>.

MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; KOBORI, N. N.; BEHLE, R. W.; DELALIBERA JÚNIOR, I. Liquid culture fermentation for rapid production of desiccation tolerant blastospores of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* strains. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 127, p. 11-20, 2015a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.12.001>.

MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; KOBORI, N. N.; BEHLE, R. W.; DUNLAP, C. A.; DELALIBERA JÚNIOR, I. Glucose concentration alters dissolved oxygen levels in liquid cultures of *Beauveria bassiana* and affects formation and bioefficacy of blastospores. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 16, p. 6653-6665, 2015b. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6620-3>.

MASCARIN, G. M.; KOBORI, N. N.; JACKSON, M. A.; DUNLAP, C. A.; DELALIBERA JUNIOR, I. Nitrogen sources affect productivity, desiccation tolerance and storage stability of *Beauveria bassiana* blastospores. **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 810-820, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.13694>.

MASCARIN, G. M.; LOPES, R. B.; DELALIBERA JUNIOR, Í.; FERNANDES, E. K. K.; LUZ, C.; FARIA, M. R. de. Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 165, p. 46-53, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.01.001>.

MASSON-DELMOTTE, V.; ZHAI, P.; PIRANI, A.; CONNORS, S. L.; PÉAN, C.; BERGER, S.; CAUD, N.; CHEN, Y.; GOLDFARB, L.; GOMIS, M. I.; HUANG, M.; LEITZELL, K.; LONNOY, E.; MATTHEWS, J. B. R.; MAYCOCK, T. K.; WATERFIELD, T.; YELEKÇİ, O.; YU, R.; ZHOU, B. (ed.). **Climate change 2021: the physical science basis: contribution of working group I to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change**. Cambridge University Press: IPCC, 2021. 31 p. Disponível em: https://www.ipcc.ch/report/ar6/wgt/downloads/report/IPCC_AR6_WGI_SPM_final.pdf. Acesso em: 22 abr. 2021.

MATES, A. P. K.; PONTES, N. C.; HALFELD-VIEIRA, B. A. *Bacillus velezensis* GF267 as a multi-site antagonist for the control of tomato bacterial spot. **Biological Control**, v. 137, article 104013, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104013>.

MEDEIROS, C. A. A.; BETTIOL, W. Multifaceted intervention of *Bacillus* spp. against salinity stress and Fusarium wilt in tomato. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 5, p. 2387-2401, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.15095>.

MELO, I. S. de; FAULL, J. L. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 1, p. 55-59, 2000.

MELO, I. S. de; FAULL, J. L.; GRAEME-COOK, K.A. Relationship between *in vitro* cellulase production of uv-induced mutants of *Trichoderma harzianum* and their bean rhizosphere competence. **Mycological Research**, v. 101, n. 11, p. 1389-1392, 1997.

MELO, I. S. de; SILVA, A. C. F. Resistance of UV-induced mutants of *Trichoderma harzianum* to benzimidazole and dicarboximide fungicides. **Giornale Di Patologia Delle Piante**, v. 1, n. 2, p. 151-152, 1991.

MENDES, L.; GHINI, R.; BETTIOL, W. Effects of elevated atmospheric carbon dioxide on the biological control of coffee leaf rust under controlled conditions. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 78, p. 189-192, 2012.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 5, p. 634-663, 2013.

MENDES, R.; KRUIJT, M.; DE BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VOORT, M. van der; SCHNEIDER, J. H. M.; PICENO, Y. M.; DESANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; BAKKER, P. A. H. M.; RAAIJMAKERS, J. M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. **Science**, v. 332, n. 6033, p. 1097-1100, 2011.

MEZIANE, H.; SLUIS, I. van der; LOON, L. C. van; HÖFTE, M.; BAKKER, P. A. H. M. Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. **Molecular Plant Pathology**, v. 6, n. 2, p. 177-185, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00276.x>.

MILLNER, P. D.; LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A. Controlling plant disease with sludge compost. **Biocycle**, v. 23, p. 50-52, 1982.

MIZUBUTI, E. S. G.; MAFFIA, L. A. Aplicações de princípios de controle no manejo ecológico de doenças de plantas. **Informe Agropecuário**, v. 22, n. 212, p. 9-18, 2001.

MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (ed.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 181-199.

MORANDI, M. A. B. Integração de métodos físicos e biológicos de doenças em viveiros de plantas medicinais: estudo de caso com *Cordia verbenacea*. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 179, 2008. Suplemento.

MORANDI, M. A. B. Integração de métodos físicos e biológicos no controle de doenças em viveiros de plantas medicinais: estudo de caso com *Cordia verbenacea*. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 337-341.

- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Integração de métodos biocompatíveis no manejo de doenças e pragas: experiências em plantas ornamentais e medicinais. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 31-34, 2008. Suplemento.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W.; GHINI, R. Situação do controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: Epamig; UFV, 2005. p. 247-268.
- MORANDI, M. A. B.; COSTA, L. B. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* on beans in field by *Trichoderma asperellum* and *Clonostachys rosea*. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 43, p. 243-246, 2009.
- MORANDI, M. A. B.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; ALFENAS, A. C.; BARBOSA, J. G. Suppression of *Botrytis cinerea* sporulation by *Clonostachys rosea* on rose debris: a valuable component in Botrytis blight management in commercial greenhouses. **Biological Control**, v. 26, n. 3, p. 311-317, 2003.
- MORANDI, M. A. B.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; ALFENAS, A. C.; BARBOSA, J. G.; CRUZ, C. D. Relationships of microclimatic variables to colonization of rose debris by *Botrytis cinerea* and the biocontrol agent *Clonostachys rosea*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 16, n. 6, p. 619-630, 2006.
- MORANDI, M. A. B.; MAFFIA, L. A.; SUTTON, J. C. Development of *Clonostachys rosea* and interactions with *Botrytis cinerea* in rose leaves and residues. **Phytoparasitica**, v. 29, n. 2, p. 103-113, 2001.
- MORANDI, M. A. B.; MATTOS, L. P. V.; SANTOS, E. R. dos; BONUGLI, R. C. Influence of application time on the establishment, survival, and ability of *Clonostachys rosea* to suppress *Botrytis cinerea* sporulation on rose debris. **Crop Protection**, v. 27, n. 1, p. 77-83, 2008.
- MORANDI, M. A. B.; SANTOS, E. R.; MATTOS, L. P. V.; BONUGLI, R. C. Associação de lodo de esgoto e *Clonostachys rosea* para a supressão de *Botrytis cinerea* em restos culturais de roseira. **Summa Phytopathologica**, v. 31, n. 4, p. 357-365, 2005.
- MORANDI, M. A. B.; SUTTON, J. C.; MAFFIA, L. A. Effects of host and microbial factors on development of *Clonostachys rosea* and control of *Botrytis cinerea* in rose. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, n. 5, p. 439-448, 2000a.
- MORANDI, M. A. B.; SUTTON, J. C.; MAFFIA, L. A. Relationships of aphid and mite infestations to control of *Botrytis cinerea* by *Clonostachys rosea* in rose (*Rosa hybrida*) leaves. **Phytoparasitica**, v. 28, n. 1, p. 55-64, 2000b.
- MOUEKOUBA, L. D. O.; ZHANG, L. L.; GUAN, X.; CHEN, X. L.; CHEN, H. Y.; ZHANG, J.; ZHANG, J. F.; LI, J. F.; YANG, Y. J.; WANG, A. X. Analysis of *Clonostachys rosea*-induced resistance to tomato gray mold disease in tomato leaves. **Plos One**, v. 9, n. 7, Jul 2014.
- MUELLER, J. D.; SINCLAIR, J. B. Occurrence and role of *Gliocladium roseum* in field-grown soybeans in Illinois. **Transaction of British Mycological Society**, v. 86, n. 4, p. 677-680, 1986.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Alternative agriculture**. Washington, D.C.: National Academy Press, 1989. 448 p.
- NELSON, E. B.; BOEHM, M. J. Compost-induced suppression of turf grass diseases. **BioCycle**, v. 43, n. 6, p. 51-55, 2002.

NELSON, E. B.; CRAFT, C. M. Suppression of dollar spot on creeping bentgrass and annual bluegrass turf with compost- amended topdressings. **Plant Disease**, v. 76, n. 9, p. 954-958, 1992.

NOBRE, S. A. M.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; COTA, L. V.; DIAS, A. P. S. Selection of *Clonostachys rosea* isolates from Brazilian ecosystems effective in controlling *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 34, n. 2, p. 132-43, 2005.

NUNES, F. V. **Isolamento e identificação de bactérias endofíticas do café (*Coffea arabica* e *Coffea robusta*) e seu potencial biotecnológico**. 2004. São Paulo: USP/Interunidades, 2004. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo.

PAULA JÚNIOR, T. J.; TEIXEIRA, H.; FADINI, M. A. M.; VENZON, M.; JESUS JÚNIOR, W. C.; MORANDI, M. A. B.; PALLINI, A. Interações entre fitófagos e patógenos de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 15, p. 353-402, 2007.

PINTO, Z. V.; LUCON, C. M. M.; BETTIOL, W. Controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (ed.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. pt. 3. cap. 9. p. 275-295.

PINTO, Z. V.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Induction of suppressiveness to Fusarium wilt of chrysanthemum with composted sewage sludge. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 5, p. 414-422, 2013.

QUALIBIO *Bacillus*. Quantificação e identificação de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*. Disponível em: https://www.cnpma.embrapa.br/down_site/forum/2012/bacillus/ApostilaCursoBacillus2012.pdf. Acesso em: 12 ago. 2021.

RABEENDRAN, N.; MOOT, D.J.; JONES, E.E.; STEWART, A. Inconsistent growth. promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. **New Zealand Plant Protection**, v. 53, p. 143-146, 2000.

RESEARCH AND MARKETS. **Biopesticides market: growth, trends, COVID-19 impact, and forecasts (2022 - 2027)**. Disponível em: [https://www.researchandmarkets.com/reports/5165415/biopesticides-market-growth-trends-covid-19?utm_source=MC&utm_medium=Email&utm_code=mzrsvl929&utm_ss=24&utm_campaign=1554826++Biopesticides+Market++Growth%2c+Trends%2c+COVID-19+Impact%2c+and+Forecasts+\(2021++2026\)&utm_exec=adke277mtd](https://www.researchandmarkets.com/reports/5165415/biopesticides-market-growth-trends-covid-19?utm_source=MC&utm_medium=Email&utm_code=mzrsvl929&utm_ss=24&utm_campaign=1554826++Biopesticides+Market++Growth%2c+Trends%2c+COVID-19+Impact%2c+and+Forecasts+(2021++2026)&utm_exec=adke277mtd). Acesso em: 14 jul. 2021.

REYES, L. F. **Diversidade de bactérias em manguezal e biodegradação de hidrocarbonetos poliaromáticos**. 2009. 123 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

RIBEIRO, C. M. C.; SOUZA, G. R.; SCHURT, D. A.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Pyoverdine use for the control of passion fruit bacterial blight. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 10, p. 956-959, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2017001000017>.

RODRIGUEZ, M. A.; CABRERA, G.; GOZZO, F. C.; EBERLIN, M. N.; GODEAS, A. *Clonostachys rosea* BAFC3874 as a *Sclerotinia sclerotiorum* antagonist: mechanisms involved and potential as a biocontrol agent. **Journal of Applied Microbiology**, v. 110, n. 5, p. 1177-86, 2011.

RONQUE, E. R. V. Principais pragas da cultura do morangueiro. In: DUARTE FILHO, J.; CANÇADO, G. M. A.; REGINA, M. A.; ANTUNES, L. E. C.; FADINI, M. A. M. **Morango: tecnologia de produção e processamento**. Caldas: EPAMIG, 1999. p. 51-64.

- SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.
- SANTOS, C. C.; CASTRO, H. A.; BETTIOL, W.; ANGELI JUNIOR, A. Sensibilidade *in vitro* de urediniosporos de *Puccinia psidii* a *Bacillus subtilis*. **Summa Phytopathologica**, v. 24, n. 2, p. 183-185, 1999.
- SANTOS, E. R.; PINTO, Z. V.; ALMEIDA, E. G.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Validação de ferramenta computacional para contagem de esporos e calibração de suspensão de inóculo CALIBRA. **Summa Phytopathologica**, v. 34, 2011. Resumo n. 88.
- SANTOS, I.; BETTIOL, W. Effect of sewage sludge on the rot and seedling damping-off of bean plants caused by *Sclerotium rolfsii*. **Crop Protection**, v. 22, p. 1093-1097, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(03\)00140-6](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(03)00140-6).
- SANTOS, I.; MAZZEO, A. N.; BETTIOL, W. Efeito do lodo de esgoto no tombamento de plântulas de pepino induzido por *Pythium aphanidermatum*. **Summa Phytopathologica**, v. 26, n. 1, p. 141, 2000.
- SANTOS, T. M. C. dos; MELO, I. S. de. Resistência de isolados de *Trichoderma* spp. e *Penicillium* spp. a fungicidas *in vitro*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1989. 18 p. (EMBRAPA-CNPDA. Boletim de Pesquisa, 5).
- SANTOS, T. R.; PAIXÃO, F. R. S. da; CATÃO, A. M. L.; MUNIZ, E. R.; RIBEIRO-SILVA, C. S.; TAVEIRA, S. F.; LUZ, C.; MASCARIN, G. M.; FERNANDES, E. K. K.; MARRETO, R. N. Inorganic pellets containing microsclerotia of *Metarhizium anisopliae*: a new technological platform for the biological control of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, n. 12, p. 5001-5012, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11372-1>.
- SARAIVA, R. M.; BORGES, A. V.; MACEDO, P. E. F.; MAFFIA, L. A. Uso e perspectiva de *Clonostachys rosea* como agente de biocontrole. **Revista de Ciências Agrícolas**, v. 31, p. 78-91, 2014.
- SARAIVA, R. M.; CZYMMEK, K. J.; BORGES, Á. V.; CAIRES, N. P.; MAFFIA, L. A. Confocal microscopy study to understand *Clonostachys rosea* and *Botrytis cinerea* interactions in tomato plants. **Biocontrol Science and Technology**, v. 25, n. 1, p. 56-71, 2015.
- SCHIRMBOCK, 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 peptaibolantibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. **Applied Environmental Microbiology**, v. 60, n. 12, p. 4364-4370, 1994.
- SCHNEIDER, R. W. *Suppressive soils and plant disease*. St. Paul: APS Press, 1982. 85 p.
- SCHROERS, H. J.; SAMUELS, G. J.; SEIFERT, K. A.; GAMS, W. Classification of the mycoparasite *Clonostachys rosea* in *Clonostachys* as *C. rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other *Glocladium*-like fungi. **Mycologia**, v. 91, n. 2, p. 365-385, 1999.
- SHIOMI, H. F.; SILVA, H. S. A.; MELO, I. S. de; NUNES, F. V.; BETTIOL, W. Bioprospecting endophytic bacteria for biological control of coffee leaf rust. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 1, p. 32-39, 2006.
- SILVA, A. V. R. da; SILVA, T. P. da; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W.; MASCARIN, G. M. Fermentação líquida de *Clonostachys rosea* e bioeficácia contra *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO

INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2021, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto de Zootecnia, 2021. Evento online. CIIC 2021. RE21403.

SILVA, H. S. A.; TERRASAN, C. R. F.; TOZZI, J. P. L.; MELO, I. S. de; BETTIOL, W. Bactérias endófitas do cafeeiro e a indução de enzimas relacionadas com o controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*). **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 1, p. 49-54, 2008.

SILVA, H. S. A.; TOZZI, J. P. L.; TERRASAN, C. R. F.; BETTIOL, W. Endophytic microorganisms from coffee tissues as plant growth promoters and biocontrol agents of coffee leaf rust. **Biological Control**, v. 63, p. 62-67, 2012.

SILVA, L. G.; ANDRADE, C. A.; BETTIOL, W. Biochar amendment increases soil microbial biomass and plant growth and suppress *Fusarium* wilt in tomato. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, n. 1, p. 73-83, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00332-1>.

SIMÕES, C. T. **Prospecção de elicitores derivados de patógenos visando o controle da mancha bacteriana do tomateiro**. 2020. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Proteção de Plantas) - Unesp, Botucatu.

SIMÕES, C. T.; CARVALHO, V. N.; HALFELD-VIEIRA, B. de A. Prospecting of pathogen-derived elicitors for the control of tomato bacterial spot. **Journal of Plant Protection Research**, v. 61, n. 2, p. 183-188, 2021.

SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: KUBICEK, C. P.; HARMAN, G. E. (ed.). *Trichoderma and Gliocladium*. London: Taylor & Francis, 2002. p. 139-191.

SUTTON, J. C.; LI, W.; PENG, G.; YU, H.; ZHANG, P.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. *Gliocladium roseum*: a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. **Plant Disease**, v. 81, n. 4, p. 316-328, 1997.

SUTTON, J. C.; LIU, W.; HUANG, R.; OWEN-GOING, N. Ability of *Clonostachys rosea* to establish and suppress sporulation potential of *Botrytis cinerea* in deleafed stems of hydroponic greenhouse tomatoes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, n. 4, p. 413-25, 2002.

SUTTON, J. C.; PENG, G. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. **Phytopathology**, v. 83, n. 6, p. 615-621, 1993.

STADNIK, M. J.; BETTIOL, W. Association between lipoxygenase and peroxidase activity and systemic protection of cucumber plants against *Podosphaera xanthii* induced by *Oudemansiella canarii* extracts. **Journal of Plant Disease and Protection**, v. 114, n. 1, p. 9-13, 2007.

STADNIK, M. J.; BETTIOL, W.; SAITO, M. L. Bioprospecting for plant and fungus extracts with systemic effect to control the cucumber powdery mildew. **Journal of Plant Disease and Protection**, v. 110, n. 4, p. 383-393, 2003.

TENUTA, M.; LAZAROVITS G. Ammonia and nitrous acid from nitrogenous amendments kill the microsclerotia of *Verticillium dahliae*. **Phytopathology**, v. 92, n. 3, p. 255-264, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.3.255>.

TERAO, D.; FORNER, C.; MAIA, A. H. N.; BETTIOL, W. Potential use of bioagents in the control of postharvest rot in melon. **Acta Horticulturae**, v. 1053, p. 65-74, 2014.

TERAO, D.; NECHET, K. de L.; HALFELD-VIEIRA, B. de A. Competitive and colony layer formation ability as key mechanisms by yeasts for the control *Botryosphaeria dothidea* fruit rot of mango. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 6, p. 451-457, 2017a. (DOI 10.1007/s40858-017-0183-z).

TERAO, D.; NECHET, K. de L.; PONTE, M. S.; MAIA, A. de H. N.; ANJOS, V. D. de A.; HALFELD-VIEIRA, B. de A. Physical postharvest treatments combined with antagonistic yeast on the control of orange green mold. **Scientia Horticulturae**, v. 224, p. 317-323, 2017b.

THINES, E.; EILBERTA, F.; STERNERB, O.; ANKEA, H. Glisoprenin A, an inhibitor of the signal transduction pathway leading to appressorium formation in germinating conidia of *Magnaporthe grisea* on hydrophobic surfaces. **FEMS Microbiology Letters** v. 151, n. 2, p. 219-224, 1997.

UENO, B. Manejo integrado de doenças do morango. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2. ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 1., 2004, Pelotas. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 69-78. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 124).

VAZ, A. P. A.; SCARANARI, C.; BATISTA, L. A. R.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; MAGALHÃES, P. M. Biomassa e composição química de genótipos melhorados de espécies medicinais cultivadas em quatro municípios paulistas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 869-872, 2006.

VICENTE, M. Invento pode estimular expansão da indústria de defensivos biológicos no Brasil. **Embrapa News**, 28 out. 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/56774840/invento-pode-estimular-expansao-da-industria-de-defensivos-biologicos-no-brasil>. Acesso em: 29 nov. 2021.

VISCONTI, A.; BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Efeito de hidrolisado de peixe sobre o crescimento micelial e controle de *Cylindrocladium spathiphylli* em espatifilo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 298-308, n. 4, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052010000400004>.

VITERBO, A.; LANDAU, U.; KIM, S.; CHERNIN, L.; CHET, I. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. **FEMS Microbiology Letters**, v. 305, p. 42-48, 2010.

VITTI, A. J.; GHINI, R. Sobrevivência de linhagens de '*Trichoderma*' resistentes a hidrodone em morangueiro. In: III REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: [s.n.], 1989. p. 103.

WALKER, J. A.; MAUDE, R. B. Natural occurrence and growth of *Gliocladium roseum* on the mycelium and sclerotia of *Botrytis allii*. **Transaction of British Mycological Society**, v. 65, n. 2, p. 335-338, 1975.

WHIPPS, J. M. Behavior of fungi antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* on plant tissue segments. **Journal of General Microbiology**, v. 133, n. 6, p. 1495-1501, 1987.

WISNIEWSKI, M.; WILSON, C.; DROBY, S.; CHALUT, E.; EL GHAOUTH, A.; STEVENS, C. Postharvest biocontrol: new concepts and applications. In: VICENT, C.; GOETTEL, M.S.; LAZAROVITS, G. (ed.). **Biocontrol: a global perspective**. Cabi, Wallingford, Oxfordshire, 2007. p. 262-273.

YU, H. Relationships of epidemiologic factors, *Gliocladium roseum*, and bee vectors to gray mold of raspberry caused by *Botrytis cinerea*. 1996. Ph.D. Thesis, University of Guelph, Canada.