

Boletim Técnico

01

Pesquisa e Desenvolvimento

2019
ISSN 2674-8177

Gerusa P. K. Steffen
Joseila Maldaner



**Metodologia para
multiplicação de
Trichoderma sp.
em substratos orgânicos**



DDPA

Departamento de Diagnóstico
e Pesquisa Agropecuária



GOVERNO DO ESTADO
RIO GRANDE DO SUL
SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E
DESENVOLVIMENTO RURAL

**GOVERNO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL
SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO
RURAL
DEPARTAMENTO DE DIAGNÓSTICO E PESQUISA AGROPECUÁRIA**

BOLETIM TÉCNICO: pesquisa e desenvolvimento

**METODOLOGIA PARA MULTIPLICAÇÃO DE
TRICHODERMA SP. EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS**

Autores

Gerusa Pauli Kist Steffen
Joseila Maldaner

Porto Alegre, RS
2019

Governador do Estado do Rio Grande do Sul: Eduardo Figueiredo Cavalheiro Leite.

Secretário da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural: Luis Antonio Franciscatto Covatti.

Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária

Rua Gonçalves Dias, 570 – Bairro Menino Deus

Porto Alegre | RS – CEP: 90130-060

Telefone: (51) 3288.8000

<https://www.agricultura.rs.gov.br/ddpa>

Diretor: Arceli da Silveira

Comissão Editorial:

Loana Silveira Cardoso; Caio Fábio Stoffel Efrom; Bruno Brito Lisboa; Elaine dos Santos Pinto; Gilson Schlindwein; Lia Rosane Rodrigues; Marioni Dornelles da Silva; Rovaina Laureano Doyle.

Catálogo e normalização: Marioni Dornelles da Silva CRB-10/1978

B688m BOLETIM TÉCNICO: pesquisa e desenvolvimento. Metodologia para multiplicação de *Trichoderma* sp. em substratos orgânicos. / Gerusa Pauli Kist Steffen ; Joseila Maldaner. – Porto Alegre: SEAPDR/DDPA, 2019.

22 p.; il.

Anual

Continuação de: Boletim Fepagro – n.1 (1995) – n. 26 (2016)

1. Agropecuária. 2. Trichoderma. 3. Fungos benéficos. 4. Controle biológico. I. Steffen, Gerusa Pauli Kist. II. Maldaner, Joseila. III. Título.

CDU 632.98

REFERÊNCIA

STEFFEN, Gerusa Pauli Kist; MALDANER, Joseila. **Metodologia para multiplicação de *Trichoderma* sp. em substratos orgânicos.** Porto Alegre: SEAPDR/DDPA, 2019. 22 p. (Boletim Técnico: pesquisa e desenvolvimento, n. 1)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 Etapa 1: Multiplicação de isolados de <i>Trichoderma</i> sp. em grãos de arroz	13
2.2 Etapa 2: Multiplicação de isolados de <i>Trichoderma</i> sp. em substratos orgânicos	14
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4 CONCLUSÕES	17
REFERÊNCIAS	18

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Multiplicação de cultura pura de *Trichoderma* sp. em arroz parboilizado 13

Figura 2. Etapas para multiplicação de *Trichoderma* sp. em substratos orgânicos 15

BOLETIM TÉCNICO: **pesquisa e desenvolvimento**

METODOLOGIA PARA MULTIPLICAÇÃO DE *TRICHODERMA SP.* EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS

Gerusa Pauli Kist Steffen
Joseila Maldaner

APRESENTAÇÃO

Com a criação do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA) junto à Secretaria de Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural (SEAPDR), surgiu a necessidade de atualizar as publicações técnico-científicas da antiga Fepagro. Assim, dando continuidade ao Boletim Fepagro, se formatou o *Boletim Técnico: pesquisa e desenvolvimento* que visa à divulgação de resultados completos de trabalho de pesquisa e de desenvolvimento, na forma de artigos científicos, apresentando uma linguagem técnico-científica voltada para um público-alvo especializado, formado por pesquisadores, professores e estudantes de graduação e pós-graduação.

Desta maneira, iniciamos essa nova fase, com um trabalho inovador que apresenta uma técnica simples de multiplicação de isolados de *Trichoderma* que otimiza o processo e reduz o tempo de produção do fungo, importante agente de controle biológico de pragas. Contribuindo para o avanço e disseminação do conhecimento da pesquisa agrícola realizada pelo DDPA.

Caio Fábio Stoffel Efrom
Vice-presidente da Comissão Editorial

Metodologia para multiplicação de *Trichoderma* sp. em substratos orgânicos

Gerusa Pauli Kist Steffen¹, Joseila Maldaner²

Resumo

As metodologias propostas até o momento para multiplicação de fungos benéficos de interesse agrícola em condições controladas demandam períodos longos até a obtenção do produto final. O objetivo deste estudo foi desenvolver uma metodologia simples e eficiente para antecipar e facilitar o processo de multiplicação de culturas puras de fungos do gênero *Trichoderma* em condições controladas. O diferencial da metodologia proposta é a etapa de multiplicação do isolado fúngico em substratos orgânicos comerciais, que otimiza o processo e reduz o tempo de produção do inóculo fúngico para 13 dias de incubação. Além disso, a simplicidade da técnica facilita seu uso na produção de mudas de diferentes espécies de interesse agrícola e florestal, bem como em ensaios de pesquisa que visem avaliar o potencial agrícola de isolados de *Trichoderma* sp.

Palavras-chave: Promotores de crescimento. Nova metodologia. Fungos benéficos.

¹Engenheira Agrônoma, Dra. em Ciência do Solo, Pesquisadora III do Centro de Pesquisa em Florestas, Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária. BR 287 Acesso VCR 830, km 4,5, Boca do Monte, CEP 97001970, Santa Maria/RS. E-mail: gerusa-steffen@agricultura.rs.gov.br

²Bióloga, Dra. em Fisiologia Vegetal, Pesquisadora IV do Centro de Pesquisa em Florestas, Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária. BR 287 Acesso VCR 830, km 4,5, Boca do Monte, CEP 97001970, Santa Maria/RS. E-mail: joseila-maldaner@agricultura.rs.gov.br

Methodology for *Trichoderma* sp. multiplication in organic substrates

Abstract

The current methodologies available for *Trichoderma* sp. multiplication under controlled conditions require long periods to produce the fungal inoculum. The objective of this study was to develop a simple and efficient methodology to anticipate and facilitate the process of multiplication of pure *Trichoderma* sp. cultures under controlled conditions. The differential of the proposed methodology is the multiplication step in commercial organic substrates, which optimizes the process and reduces the production time of the fungal inoculum for 13 days of incubation. In addition, the simplicity of the technique facilitates its use in the production of different species of seedlings of agricultural and forestry interest, as well as in research that aims to evaluate the agricultural potential of *Trichoderma* sp. isolates.

Keywords: Growth promoters. New methodology. Beneficial fungi.

1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com a preservação dos recursos naturais, redução de fontes potenciais de contaminação e segurança alimentar, tem incentivado a agricultura moderna a utilizar práticas mais sustentáveis no manejo de pragas nas mais variadas culturas. Dentre os agentes de biocontrole de pragas de maior expressão nacional e mundial, fungos do gênero *Trichoderma* possuem lugar de destaque, devido à versatilidade dos mecanismos de ação, o que possibilita o controle de uma ampla gama de

fitopatógenos (HARMAN, 2006; ETHUR et al., 2007; ALMEIDA, 2009). Para controlar fungos e bactérias que causam doenças nas plantas, estes fungos benéficos atuam de diferentes formas:

1. competindo por espaço, água, oxigênio, luz e nutrientes;
2. produzindo substâncias com efeitos tóxicos ou inibitórios do crescimento de fitopatógenos, tais como antibióticos e enzimas líticas;
3. parasitando fungos fitopatogênicos e utilizando-os como alimento;
4. liberando substâncias promotoras de crescimento vegetal, que estimulam o desenvolvimento radicular e da parte aérea das plantas;
5. protegendo as plantas da ocorrência de doenças através de mecanismos de indução de resistência a alguns fitopatógenos.

Atualmente, grande número de isolados das diferentes espécies do gênero *Trichoderma* estão sendo eficientemente utilizados no controle de doenças causadas por diferentes espécies dos patógenos *Colletotrichum*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Phytophthora*, *Phythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium* e, de forma indireta, na supressão de danos causados por fitonematoides (BAE et al., 2016; CARRERO-CARRÓN et al., 2016; SARAVANAKUMAR et al., 2016; SRIVASTAVA et al., 2016; WAGHUNDE, SHELAK, SABALPARA, 2016).

Em paralelo ao controle de pragas, os efeitos de promoção do crescimento atribuídos à simbiose com espécies de *Trichoderma* sp. estabelecem um segundo mecanismo de

ação de grande importância para a produção vegetal. De acordo com Kamaruzzaman et al. (2016), Fiorini et al. (2016) e Shaw et al. (2016), a interação fungo-planta resulta na exsudação e assimilação de metabólitos relacionados à produção de biomassa vegetal, ao enraizamento, à bioquímica da nodulação e simbioses rizosféricas benéficas ao desenvolvimento das plantas. Bisen et al. (2016) destacam ainda a grande eficiência que isolados de *Trichoderma* sp. apresentam na indução de resistência sistêmica em plantas de interesse agrícola.

Ambos efeitos apresentados (biocontrole de pragas e promoção de crescimento vegetal) atribuem ao *Trichoderma* sp. grande importância técnica, econômica e ambiental no cenário agrícola mundial sob duas formas básicas: a multiplicação em massa para comercialização do bioagente em diferentes formulados e a utilização do fungo inoculado ao substrato de mudas de interesse comercial. Nesta segunda opção, incluem-se principalmente plantas olerícolas, florestais, ornamentais e medicinais.

Nos últimos trinta anos, pesquisas resultaram em diferentes metodologias para multiplicação de *Trichoderma* sp. em ambiente controlado utilizando diferentes substratos. Para a produção em massa, especialmente para fins comerciais, grãos de cereais como arroz e sorgo são os substratos mais utilizados na produção industrial para multiplicação das diferentes espécies do gênero *Trichoderma*, devido à praticidade, disponibilidade, ao custo e rendimento (FORTES et al., 2007). Além disso, por serem prontamente biodegradáveis, facilitam a aplicação no campo (CARVALHO FILHO et al., 2008). Além dos grãos de arroz e sorgo, palha de trigo, casca de arroz e grãos de milho ou trigo também

podem ser utilizados como substrato de multiplicação de *Trichoderma* sp. (RAJPUT; SHAHZAD, 2015).

No entanto, quando se pretende produzir inóculo de *Trichoderma* sp. para a produção comercial de mudas, ou ainda avaliar a eficiência de cepas puras em ensaios *in vivo*, práticas que exigem volumes significativos de substrato orgânico para a produção de plantas, algumas metodologias existentes apresentam fator limitante quanto ao tempo de desenvolvimento do fungo, por exigirem períodos de incubação superiores a três meses. A nova metodologia proposta neste boletim técnico apresenta-se como alternativa eficiente, econômica e simples, já que possibilita a multiplicação do inóculo fúngico em período de tempo reduzido, utilizando como base de multiplicação o próprio substrato orgânico que será utilizado na produção de mudas.

Este trabalho apresenta uma metodologia simples, rápida, eficiente e segura para multiplicação de culturas puras de *Trichoderma* sp. em substratos orgânicos, visando sua utilização na produção comercial de mudas e em bioensaios de pesquisa para avaliação da eficiência de diferentes isolados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia consiste em duas etapas de multiplicação de cada isolado de *Trichoderma* sp., sendo a primeira realizada em grãos de arroz e a segunda em substrato orgânico para produção vegetal.

2.1 Etapa 1: Multiplicação de isolados de *Trichoderma* sp. em grãos de arroz

Adicionar 100 gramas de arroz parboilizado e 50 mL de água destilada em embalagens de polipropileno (de aproximadamente 20 x 30 cm). Fechar as embalagens com fita crepe e esterilizar em autoclave durante 25 minutos a 121 °C. Em câmara de fluxo laminar, abrir as embalagens e transferir cinco discos (9 mm de diâmetro) de micélio fúngico proveniente de cultura pura de isolado do gênero *Trichoderma* crescida em meio BDA (batata-dextrose-ágar) comercial. As embalagens devem ser mantidas em ambiente com controle de temperatura (25 ± 1 °C) e luminosidade, permanecendo 12 horas no escuro e, posteriormente, com fotoperíodo de 12 horas durante cinco dias, quando os grãos estarão completamente colonizados pelo fungo. Diariamente, as embalagens devem ser revolvidas para promover a aeração do substrato e a fragmentação do micélio, visando o aumento da superfície de contato e da taxa de esporulação de *Trichoderma* sp. (Figura 1).

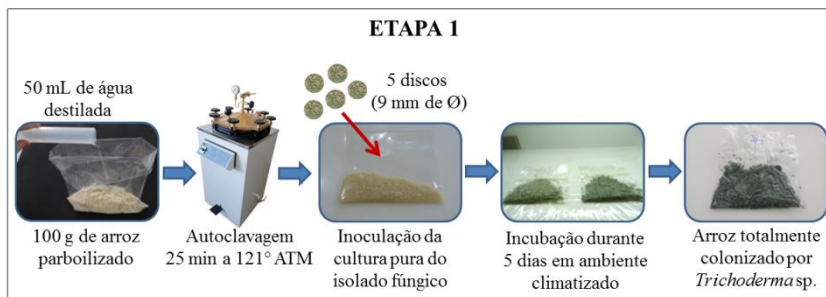


Figura 1. Multiplicação de cultura pura de *Trichoderma* sp. em arroz parboilizado.

2.2 Etapa 2: Multiplicação de isolados de *Trichoderma* sp. em substratos orgânicos

Bandejas plásticas com capacidade para 10 litros devem ser preenchidas com seis (6) litros de substrato orgânico comercial esterilizado. Recomenda-se o uso de substratos orgânicos à base de turfa, vermiculita expandida, casca de arroz carbonizada, entre outros materiais, apresentando pH 5,0 ($\pm 0,5$), baixa densidade e capacidade de retenção de água em torno de 50%.

Para cada litro de substrato, acrescentar 60 mL de água destilada esterilizada e 30 gramas do arroz colonizado obtido na Etapa 1. Após a completa homogeneização do inóculo fúngico no substrato, vedar as bandejas com embalagem plástica limpa que permita passagem de luminosidade. O material deve ser mantido no escuro durante as primeiras 24 horas em ambiente com controle de temperatura (25 ± 1 °C) e então ser exposto a um fotoperíodo de 12 horas de luminosidade por mais sete dias.

Passado este período, esporos e hifas da cultura pura de *Trichoderma* sp. terão crescido na superfície e no interior da massa de substrato. Retirar a embalagem plástica e revolver manualmente para a completa homogeneização das estruturas fúngicas no substrato orgânico. O substrato orgânico com inóculo da cultura pura de *Trichoderma* sp. estará pronto para ser utilizado na produção comercial de mudas ou em ensaios de pesquisa para avaliação *in vivo* do efeito de cada isolado sobre o crescimento e/ou promoção vegetal (Figura 2).

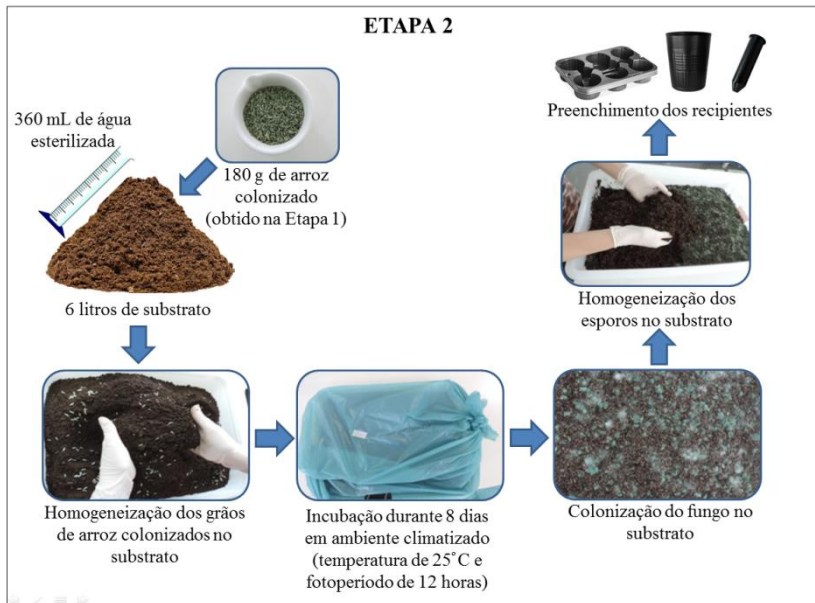


Figura 2. Etapas para multiplicação de *Trichoderma* sp. em substratos orgânicos.

O número de esporos de *Trichoderma* por cm^3 de substrato pode ser determinado com o auxílio de câmara de Neubauer em microscópio óptico, sendo que este valor será variável conforme a capacidade de esporulação de cada isolado. Através da diluição do substrato orgânico (v:v) em solo ou substrato (formulações comerciais ou não), é possível avaliar diferentes concentrações de inóculo e sua eficiência para uso agrícola e/ou florestal.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As metodologias para multiplicação de espécies do gênero *Trichoderma* propostas até o momento, demandam

tempo longo e relativo investimento em mão de obra. Shukla, Devi e Baghel (2016) apontam as necessidades de logística e infraestrutura inerentes ao processo de multiplicação dos agentes microbianos. O grande diferencial da metodologia proposta neste trabalho é a possibilidade de produção de inóculo em apenas 13 dias de incubação, utilizando como matéria prima de multiplicação o próprio substrato que será utilizado na produção vegetal. Considerando que a dinâmica de crescimento do fungo está diretamente relacionada aos fatores espaço, nutrição, temperatura e luminosidade, estes são os fatores a serem otimizados na busca pelo suprimento da demanda de produto final (substrato colonizado) em menor espaço de tempo.

Trabalhos publicados por Ramanujam et al. (2010); Khandelwal et al. (2012); Nagur Badu e Pallavi (2013); Francis e Mikunthan (2015); Rajput e Shahzad (2015) e Tomer; Singh e Singh (2016) apresentam as bases metodológicas inerentes à multiplicação de *Trichoderma* sp. em pequena ou larga escala, utilizando diferentes compostos líquidos e substratos orgânicos. Estas publicações apresentam como pontos convergentes o tempo necessário para multiplicação do isolado no substrato final (substrato orgânico), o qual varia de 40 a 150 dias. Dependendo do objetivo, o tempo necessário para multiplicação do isolado no substrato a ser utilizado pode representar um fator limitante.

Para manutenção das condições ótimas de crescimento fúngico, não deve ocorrer estresses relacionados à deficiência de fontes de carbono, glicose e oxigênio disperso, caso contrário a fisiologia do microrganismo passa a entrar em colapso devido ao acúmulo de metabólitos secundários voláteis, não-voláteis e termoestáveis excretados

pelo próprio microrganismo. É de amplo conhecimento que o potencial antagonista de *Trichoderma* sp. deriva de sua habilidade em produzir enzimas, tais como celulase e hemicelulase, capazes de degradar materiais lignolíticos e quebrar paredes de células de fungos fitopatogênicos, além de glucanases e quitinases. A auto inibição já foi relatada por Seidl-Seiboth et al. (2005 e 2013), estando relacionada ao acúmulo de proteínas degradadoras no meio ou substrato já utilizados pelo microrganismo. Igualmente limitante ao desenvolvimento fúngico, a competição por espaço e nutrientes apresenta-se como barreira ao crescimento de fungos filamentosos (SAMUELS, 1996; BOEHM; HOITINK, 1999; DRUZHININA; KOPCHINSKIY; KUBICEK, 2006; KARTHIKEYAN, 2016; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2016).

Pelo exposto, a possibilidade de multiplicação eficiente de *Trichoderma* sp. em curto espaço de tempo é uma vantagem da metodologia apresentada neste trabalho. No entanto, é importante considerar que existe variação da taxa de esporulação entre isolados do gênero *Trichoderma*, devido às diferenças em termos de exigência nutricional e tempo de incubação para produção de esporos (CARVALHO FILHO et al., 2008).

4 CONCLUSÕES

A metodologia sugerida neste trabalho possibilita a multiplicação de culturas puras de isolados fúngicos do gênero *Trichoderma* sp. em substratos orgânicos em apenas 13 dias de incubação em ambiente controlado. As etapas de multiplicação do inóculo são simples, rápidas e eficientes, com aplicação em viveiros para produção de mudas e em bioensaios de pesquisa para avaliação do potencial de

diferentes isolados no controle biológico de pragas e/ou na promoção do crescimento vegetal.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, W. K. D. da S. Antagonismo de *Trichoderma viride* sobre fungos fitopatogênicos *Colletotrichum* spp., *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em fruteiras tropicais. **Cadernos de Agroecologia**, v. 4, n. 1, p. 1374-1378, 2009.

BAE, S. J. et al. *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens. **Biological Control**, Orlando, v. 92, p. 128-138, Jan. 2016.

BISEN, K. et al. *Trichoderma* spp.: Efficient Inducers of Systemic Resistance in Plants. In: CHOUDHARY, D. K.; VARNA, A. (Ed). **Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants**, 2016. p. 185-195.

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

CARVALHO FILHO, M. R. et al. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* no controle da mancha foliar do eucalipto in vitro e quanto a esporulação em dois substratos sólidos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008. 21 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 225).

CARRERO-CARRÓN, I. et al. *Trichoderma asperellum* is effective for biocontrol of Verticillium wilt in olive caused by the

defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. **Crop Protection**, Peterborough, v. 88, p. 45-52, Oct. 2016.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. **Microbiology Ecology**, v. 92, n. 4, p. 1-17, Apr. 2016.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. **Mycoscience**, Tsukuba, v. 47, n. 2, p. 55–64, Apr. 2006.

ETHUR, L. Z. et al. Seleção de antagonistas fúngicos a *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* em substrato comercial para mudas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1794-1797, nov./dez. 2007.

FIORINI, L. et al. *Trichoderma harzianum* T6776 modulates a complex metabolic network to stimulate tomato cv. Micro-Tom growth. **Plant and Soil**, The Hague, v. 400, n. 1-2, p. 351–366, Mar. 2016.

FORTES, F. O. et al. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, p. 221-228, 2007.

FRANCIS, E.; MIKUNTHAN, G. Small scale production of *Trichoderma viride* on locally available liquid waste and other substrates. **American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**, Egypt, v. 15, n. 8, p. 1666-1671, Nov. 2015.

HARMAN, G. E. The nature and application of biocontrol microbes II: *Trichoderma* spp. Overview of mechanisms and

uses of *Trichoderma* spp. **Phytopatology**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 190-194, Feb. 2006.

KAMARUZZAMAN, M. et al. Efficacy of four selective *Trichoderma* isolates as plant growth promoters in two peanut varieties. **International Journal of Biological Research**, v. 4, n. 2, p. 152-156, Aug. 2016.

KHANDELWAL, M. et al. Isolation, characterization & biomass production of *Trichoderma viride* using various agro products – A biocontrol agent. **Advances in Applied Science Research**, London, v. 3, n. 6, p. 3950-3955, 2012.

KARTHIKEYAN, P. Antagonistic potentiality of fungal pathogens against *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzianum*. **International Journal of Scientific Research**, Gujarat, v. 5, n. 4, p. 205-207, 2016.

NAGUR BADU, K.; PALLAVI, P. N. Isolation, identification and mass multiplication of *Trichoderma* an important bio-control agent. **International Journal of Pharmacy & Life Sciences**. v. 4, n. 1, p. 2320-2323, 2013.

RAJPUT, A. Q.; SHAHZAD, S. Growth and sporulation of *Trichoderma polysporum* on organic substrate by addition of carbon and nitrogen sources. **Pakistan Journal Botanic**, Karachi, v. 47, n. 3, p. 979-986, 2015.

RAMANUJAM, B. et al. Mass production, formulation, quality control and delivery of *Trichoderma* for plant disease management. **Journal of Plant Protection Sciences**, West Bengal, v. 2, n. 2, p. 1-8, Jan. 2010.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: A review of biology and systematics of the genus. **Microbiology Research**, Goga, v. 100, n. 8, p. 923-935, Aug. 1996.

SARAVANAKUMAR, K. et al. Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. **Biological Control**, Orlando, v. 94, p. 37-46, 2016.

SHAW, S. et al. Transcriptional reprogramming underpins enhanced plant growth promotion by the biocontrol fungus *Trichoderma hamatum* GD12 during antagonistic interactions with *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 17, n. 9, p. 1425-1441, Dec. 2016.

SEIDL-SEIBOTH, V. et al. A complete survey of *Trichoderma* chitinases reveals three distinct subgroups of family 18 chitinases. **Federation of European Biochemical Societies Journal**, Cambridge, v. 272, n. 22, p. 5923–5939, Nov. 2005.

SEIDL-SEIBOTH, V. et al. Spore germination of *Trichoderma atroviride* is inhibited by its LysM protein TAL6. **Federation of European Biochemical Societies Journal**, Cambridge, v. 280, n. 5, p. 1226-1236, Jan. 2013.

SHUKLA, V.; DEVI, P.; BAGHEL, S. Isolation, characterization and biomass production of *Trichoderma* spp. – A review. **Research in Environment and Life Sciences**, Lucknow, v. 9, n. 7, p. 889-894, July 2016.

SRIVASTAVA, M. et al. *Trichoderma* – a potential and effective bio fungicide and alternative source against notable phytopathogens: a review. **African Journal of Agricultural Research**, Nigeria, v. 11, n. 5, p. 310-316, Feb. 2016.

TOMER, A.; SINGH, R.; SINGH, P. Suitability of de-oiled cakes of Neen, Jatropha, Mahua and Karanja along with cereals and millets substrates for mass multiplication of

Trichoderma harzianum. **Academy of Agriculture Journal**, v. 1, n. 2, p. 23-27, Apr. 2016.

WAGHUNDE, R. R.; SHELAKE, R. M.; SABALPARA, A. N. Trichoderma: a significant fungus for agriculture and environment. **African Journal of Agricultural Research**, Nigeria, v. 11, n. 22, p. 1952-1965, Jan. 2016.



GOVERNO DO ESTADO
RIO GRANDE DO SUL
SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E
DESENVOLVIMENTO RURAL

Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural do RS
Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária

Avenida Getúlio Vargas, 1384 - Menino Deus
Porto Alegre - RS - CEP 90150-004
Fone: (51) 3288-8000

www.agricultura.rs.gov.br/ddpa