

BIOCONTROLE *In Vitro* De *Colletotrichum siamense* UTILIZANDO *Trichoderma* spp. E *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

Vinícius Spolaor Fantinel¹, Marlove Fátima Brião Muniz², Tales Poletto¹, Adriana Falcão Dutra¹, Jaqueline Tomm Krahn³, Renata Fontana Favaretto⁴, Janáina Silva Sarzi³

¹Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal (PPGEF) do Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000 - - Camobi, Santa Maria - RS, 97105-900, Brasil.

²Professora Titular da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000 - - Camobi, Santa Maria - RS, 97105-900, Brasil.

³Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) do Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria - RS, 97105-900, Brasil.

⁴Acadêmica do Curso de Graduação em Agronomia e bolsista de Iniciação Científica PIBIC, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria - RS, 97105-900, Brasil.

Autor para correspondência: Vinícius Spolaor Fantinel, vinispofan@hotmail.com

RESUMO: *Acca sellowiana* é uma espécie frutífera nativa da região sul do Brasil e nordeste do Uruguai, é popularmente conhecida por goiabeira-serrana, a fruta apresenta importância econômica devido ao seu alto potencial organoléptico. Pomares de goiabeira-serrana são constantemente atacados por fungos do gênero *Colletotrichum*, agente causal da antracnose, doença que pode levar a perdas de até 100% na produção. O uso de agentes biocontroladores em doenças de plantas é uma alternativa aos produtos químicos, que vêm conquistando seu espaço devido à condição de proteção e manutenção do ambiente, sendo, *Trichoderma* e *Bacillus* agentes de biocontrole em destaque. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antagonista *in vitro* de *Trichoderma koningiopsis*, e três produtos comerciais à base de *Trichoderma* spp. e um produto à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* para o biocontrole de *Colletotrichum siamense* agente causal da antracnose em goiaba-serrana. Foi realizado o pareamento de culturas, sendo avaliada a porcentagem de inibição e o potencial antagonista por escala de notas aos 6 e aos 12 dias. Aos doze dias diferiram estatisticamente da testemunha os tratamentos à base de *Trichoderma* spp. cujo percentual de inibição variou de 44,2% a 39,5%. No entanto, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* inibiu 5,1% não diferindo significativamente em relação à testemunha. *Trichoderma* spp. foram eficientes no controle *in vitro* de *C. siamense*, com destaque para *T. koningiopsis*, sugerindo que esses devem ser pesquisados como agentes de controle biológico para a antracnose em goiaba-serrana.

PALAVRAS-CHAVE: goiaba-serrana, antracnose, controle biológico.

ABSTRACT: *Acca sellowiana* is a fruit species native to southern Brazil and northeastern Uruguay, the fruit is economically important because of its high organoleptic potential. Irrigated guava orchards are constantly attacked by fungi of the genus *Colletotrichum*, causal agent of anthracnose, a disease that can lead to losses of up to 75% in production. The use of biocontrol agents in plant diseases is an alternative to chemicals, they have been conquering their space due to the condition of protection and maintenance of the environment: antagonistic organisms such as *Trichoderma* and *Bacillus* are prominent as biocontrol agents. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* antagonistic activity of *Trichoderma koningiopsis* from three commercial products based on *Trichoderma* spp. and a product based on *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* for the biocontrol of *Colletotrichum siamense* causal agent of anthracnose in *Acca sellowiana*. For this, the cultures were evaluated, the percentage of inhibition and the potential antagonist were evaluated by scale of notes at 6 and 12 days. At the 12 days, the treatments based on *Trichoderma* spp. whose percentage of inhibition ranged from 44,2% to 39,5%. However, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* inhibited 5,1% did not differ significantly in relation to the control. *Trichoderma* spp. were efficient in the *in vitro* control of *C. siamense*, with emphasis on *T. koningiopsis*, suggesting that these should be investigated as biological control agents for anthracnose in *Acca sellowiana*.

KEY WORDS: guava-mountain, anthracnose, biological control.

INTRODUÇÃO

A goiabeira-serrana [*Acca sellowiana* (Berg.) Burret.], sinonímia *Feijoa sellowiana* Berg., da família Myrtaceae, também conhecida como “feijoa” (denominação mais utilizada na literatura internacional) e “guayabo del país” (no Uruguai), é nativa do planalto meridional brasileiro e nordeste do Uruguai. No Sul do Brasil, a espécie ocorre em condições de clima frio, com maior frequência em áreas com altitudes superiores a 800 m (Amarante e Santos, 2011).

A região Sul do Brasil possui várias espécies frutíferas nativas da família Myrtaceae, com potencial para a exploração comercial, das quais se destaca a goiabeira-serrana (Amarante e Santos, 2011), que vem despertando grande interesse econômico devido ao alto potencial organoléptico de seus frutos. Além do aproveitamento dos frutos, a espécie merece destaque pelas suas flores podendo ser utilizada em jardins, como planta ornamental, bem como no reflorestamento de áreas degradadas.

No entanto, a maior dificuldade na produção de mudas e frutos dessa espécie ocorre por problemas fitossanitários, sobretudo doenças fúngicas, como a antracnose causada por espécies do gênero *Colletotrichum* sp., causador da antracnose. A doença provoca o tombamento de plântulas, prejudicando a produção de mudas. Em plantas adultas, ocasiona a seca parcial ou total de ramos, podendo levar a planta à morte. Nos frutos, a doença causa manchas de coloração escura com centro deprimido, onde é possível visualizar as estruturas reprodutivas do patógeno formando acérvulos de coloração rósea. A doença pode danificar até 100% de frutos jovens ou próximos da maturação (Santos et al., 2011).

Devido à importância da goiabeira-serrana na economia regional e nacional (Sarmiento et al., 2013), faz-se necessário a produção de mudas e frutos de boa qualidade sanitária. Para garantir isso, a melhor medida de controle de doenças de plantas é a prevenção, ou seja, aonde não há relatos de sua ocorrência, devem-se tomar medidas que venham prevenir a entrada de microrganismos no local.

Outra forma de controle de doenças em plantas, haja vista que, reconhecidamente o uso de agrotóxicos, têm promovido diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais; a intoxicação de agricultores e a resistência de patógenos é o controle

biológico através da utilização de microrganismos antagonistas (Bettiol e Ghini, 1995).

Relata-se que o custo do controle biológico é de aproximadamente um terço do controle com fungicidas (Alves et al., 2008). Desde 2009, com a liberação do uso de biocontroladores para a agricultura orgânica, pesquisas e estudos foram ampliados e contribuíram para a consolidação de processos de registros desses agentes no Brasil (Bettiol et al., 2009).

Dentre os microrganismos mais estudados para o controle biológico de doenças destacam-se espécies do gênero *Trichoderma* e *Bacillus* (Bettiol et al., 2009). Esses microrganismos são atóxicos ao homem e aos animais. De acordo com o Index Fungorum o gênero *Trichoderma* pertence ao Subfilo Pezizomycotina, Classe Sordariomycetes, Subclasse Hypocreomycetidae, Ordem Hypocreales, Família Hypocreaceae e possuem muitas espécies que são geneticamente distintas, podendo ser encontrados no mundo todo e em praticamente todos os solos. São, ainda, fungos comercializados por algumas empresas na forma de pós-molháveis, grânulos dispersíveis, suspensões concentradas, óleos emulsionáveis, grãos colonizados e esporos secos (Morandi et al., 2009).

Diversas espécies de *Bacillus* são citadas como produtoras de antibióticos podendo secretar metabólitos comercialmente importantes, como enzimas aminolíticas e enzimas proteolíticas, possibilitando, dessa forma, a sua longa manutenção e sobrevivência em nichos ecológicos específicos, com grande versatilidade nos mecanismos de ação para driblar as defesas dos fitopatógenos (Bettiol e Ghini, 1995).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antagônico in vitro de *Trichoderma koningiopsis*, três produtos comerciais a base *Trichoderma* spp. e um produto comercial a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* contra *Colletotrichum siamense*, patogênico à frutos de *Acca sellowiana*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do Patógeno

O isolado de *C. siamense* (SPVF1-UFSM) utilizado nos experimentos pertence ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – Elocy Minussi e foi isolado de frutos de goiabeira-serrana com sintomas de antracnose, provenientes do

município de São Pedro do Sul (29°59'32" S, 54°10'84" W), localizado no Estado do Rio Grande do Sul.

A caracterização morfo-cultural, molecular e patogenicidade do isolado foi realizada por Fantinel et al. (2017), cujo código de acesso no GenBank é KX858807. O mesmo foi repicado para placas de petri contendo meio de cultura BDA e incubado à temperatura de 25±2 °C, com fotoperíodo de 12 h por sete dias, para obtenção dos discos de meio BDA contendo estruturas do patógeno para o teste de pareamento entre culturas.

Obtenção dos antagonistas

O isolado de *Trichoderma koningiopsis* foi obtido a partir da diluição de solo em um pomar de citros,

cultivado em sistema orgânico de produção, situado no município de Montenegro, no Estado do Rio Grande do Sul, em estudos realizados em 2017. O mesmo está depositado na Micoteca do Laboratório de Fitopatologia da UFSM identificado como (TRICH1UFSM).

Além disso, foram utilizados três produtos comerciais à base de *Trichoderma* spp. e um produto a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. As características de cada um estão descritas na Tabela 1. Os produtos a base de *Trichoderma* spp. e o isolado TRICH1UFSM foram inoculados em placas de petri contendo meio BDA e incubados à temperatura de 25±2 °C, com fotoperíodo de 12 h por sete dias, para obtenção dos discos contendo micélio para o teste de antagonismo.

Tabela 1. Características dos produtos comerciais de biocontrole testados contra *Colletotrichum siamense*.

Produtos comerciais	Espécie	Concentração (Céls viáveis, mL ¹)	Formulação
Quality WG®	<i>Trichoderma asperellum</i>	1x10 ¹⁰	Grânulos dispersíveis em água
Biotrich®	<i>Trichoderma</i> sp.	1x10 ⁹	Suspensão concentrada
Ecotrich®	<i>Trichoderma harzianum</i>	1x10 ¹⁰	Pó Molhável (WP)
Dipel®	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	2x10 ⁹	Suspensão concentrada

Testes de antagonismo

Para avaliar o antagonismo dos biocontroladores a *C. siamense*, utilizou-se a metodologia do teste de pareamento de culturas (Dennis e Webster, 1971). Para isso, foram utilizadas placas de Petri com 70 mm de diâmetro contendo meio de cultura BDA (19 g de extrato comercial de BDA (Himedia®) para 1000 mL de água destilada), realizando as seguintes combinações: *Trichoderma* spp. x *Colletotrichum siamense*: um cilindro de meio de cultura BDA de 8 mm de diâmetro contendo micélio de *C. siamense* de sete dias, foi transferido para placas de Petri também contendo meio BDA, a aproximadamente 1 cm de distância da borda da placa. Esse material foi incubado durante 48 h a 25±2 °C, com fotoperíodo de 12 h. Após esse período, um disco de meio de cultura BDA, com 8 mm de diâmetro, contendo micélio de *Trichoderma* spp. foi transferido para a posição oposta ao *C. siamense* nas placas de Petri. As placas foram incubadas durante sete dias a 25±2 °C, com fotoperíodo de 12 h. As placas-controle foram compostas apenas por *Trichoderma* spp. e *C. siamense*.

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* x *Colletotrichum siamense*: um cilindro de meio de cultura BDA de 8 mm de diâmetro, contendo micélio de

C. siamense, foi transferido para o centro da placa de Petri, também contendo meio BDA. Esse material foi incubado durante 48 h a 25±2 °C, com fotoperíodo de 12 h. Posteriormente em cada quadrante da placa foi colocado 5 µL de solução contendo células bacterianas de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. As placas foram mantidas em incubadora, nas mesmas condições.

As avaliações foram realizadas pela medição do crescimento das colônias do patógeno em cada tratamento ao 6º e 12º dia, com o auxílio de um paquímetro digital.

A partir dos dados de crescimento micelial (mm), calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial (Menten et al., 1976), com a fórmula: % inibição = [(crtest - crtrat) / crtest] x 100, em que crtest = crescimento radial da testemunha; e crtrat = crescimento radial do tratamento. Além disso, foram atribuídas notas baseadas em escala adaptada (Bell et al., 1982), que estabelece o grau de antagonismo por meio da divisão em cinco classes de notas para diferenciação de níveis de antagonismo (notas: 1: controle total; 2: controle de 60%; 3: controle de 40%; 4: controle de até 20%; 5: ausência de controle).

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições,

sendo que no tratamento a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* cada repetição se constituiu pela média das quatro gotas de cada placa. Inicialmente, foi verificado se os dados apresentavam distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk, utilizando o software BioEstat 5.0. Os dados que não seguiram a distribuição normal foram transformados segundo $\sqrt{x+0,5}$, para a análise da variância. Os resultados em unidades decimais não sofreram transformações. A comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR 5.3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os tratamentos à base de *Trichoderma* spp. inibiram o crescimento micelial de *C. siamense*, diferindo estatisticamente da testemunha tanto no sexto quanto no décimo segundo dia. *Trichoderma koningiopsis*, *Trichoderma sp.* e *Trichoderma harzianum* promoveram a maior porcentagem de inibição (44,2%, 44% e 43% respectivamente) e consequentemente proporcionaram os menores valores de crescimento micelial aos doze dias (3,4; 3,5 e 3,5 cm) (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento micelial e porcentagem de inibição de *Colletotrichum siamense* em cultivo pareado com *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *in vitro*, aos seis e doze dias de incubação ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ – fotoperíodo de 12h).

Tratamentos	Crescimento micelial (cm)		% Inibição	
	6º dia	12º dia	6º dia	12º dia
<i>T. koningiopsis</i> x <i>C. siamense</i>	3,3 a*	3,4 a	32 a	44,2 a
<i>Trichoderma sp.</i> x <i>C. siamense</i>	3,3 a	3,5 a	32 a	44 a
<i>Trichoderma asperellum</i> x <i>C. siamense</i>	3,5 a	3,7 a	28 b	39,5 b
<i>Trichoderma harzianum</i> x <i>C. siamense</i>	3,4 a	3,5 a	30 ab	43 a
<i>Bacillus thuringiensis</i> x <i>C. siamense</i>	6,1 b	6,7 b	1,5 c	5,1 c
Testemunha	6,7 b	7,0 b	0,0 c	0,0 c

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A capacidade de biocontrole de *Trichoderma koningiopsis* pode estar relacionada com o fato de o isolado não ter sido armazenado. Além do que, já foi relatado que isolados de *Trichoderma* spp. nativos são mais agressivos do que os de formulação comercial (García-Núñez et al., 2012). Também se relatou que isolados de formulação comercial apresentam redução na viabilidade tanto *in vitro* quanto *in vivo*, quando comparado com *Trichoderma koningiopsis* nativo no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Da Silva et al., 2015).

Oliveira et al., (2016), na avaliação da eficiência de isolado de *Trichoderma sp.* no controle de *Colletotrichum musae*, agente causal da antracnose na cultura da bananeira, encontraram índices de inibição de 84 % *in vitro* e 54% *in vivo*. Assim como, Junior Chagas et al. (2016) verificaram a eficiência do uso de 56 isolados de *Trichoderma* spp. no controle *in vitro* de *Colletotrichum truncatum*.

Também foi observado em estudos *in vitro* com culturas pareadas a inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum graminicola* por isolados de *Trichoderma* spp., além disso, essas espécies produziram metabólitos extracelulares difusíveis que inibiram o crescimento do

patógeno (Michereff et al., 1993). Da mesma maneira, estudando o potencial antagônico de quatro isolados de *Trichoderma viride* (Tr 3, 8, 12 e 14) contra *Colletotrichum capsici*, foi observada uma inibição variando entre 61,23 e 70,14% (Mishra et al., 2011).

O gênero *Trichoderma* tem sido bastante estudado, devido a diversidade de mecanismos antagônicos que apresenta, entre os quais, destacam-se a produção de metabólitos e de enzimas com propriedades antifúngicas, mostrando a versatilidade da ação inibitória em relação a fitopatógenos (Mesquita et al., 2017).

A menor porcentagem de inibição de *Trichoderma* spp. se deu no tratamento *Trichoderma asperellum* x *C. siamense* (39,5 %) que diferiu significativamente dos demais tratamentos. Resultados também observados em teste em cultivo pareado de *Trichoderma* no biocontrole, *in vitro*, de *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum truncatum* respectivamente (Junior Chagas et al., 2016). Da mesma forma, encontrou-se a menor porcentagem de crescimento de *Dactylonectria macrodidyma* quando submetido ao tratamento com *Trichoderma asperellum* (Santos et al., 2016).

A menor ação antagonista pode ser resultado de uma maior competição pelos nutrientes do meio, ou uma menor produção de protease e cisteína, enzimas produzidas pelas espécies de *Trichoderma* que inativam a capacidade enzimática do fitopatógeno (Bomfim et al., 2010). Além do que, as espécies de *Trichoderma* utilizam várias estratégias para o controle desses, como a competição por nichos ecológicos e nutrientes, antibiose e o micoparasitismo, entretanto, cada espécie possui o seu próprio modo de ação para interagir com cada tipo de fitopatógeno (Ribeiro, 2017).

No tratamento em que *C. siamense* foi confrontado com *Bacillus thuringiensis* foi possível observar um aumento na porcentagem de inibição a partir do sexto dia após a sua inoculação, porém não diferiu significativamente do controle.

Mesmo assim, a necessidade de substituir e/ou reduzir a utilização de produtos químicos, faz com que outros estudos nessa mesma linha de pesquisa ampliem seu espaço. Bactérias do gênero *Bacillus* possuem grande potencial para serem usadas como agentes de controle biológico, pois mantêm sua viabilidade quando estocadas por longos períodos (Petras e Casida, 1985).

B. thuringiensis é uma bactéria de solo, Gram-positiva, que pode produzir cristais durante a fase de esporulação. Esses consistem em proteínas (Cry) que exibem toxicidade forte e específica contra uma variedade de insetos, como Lepidoptera, Coleoptera e Diptera, assim como, contra alguns nematóides, ácaros e protozoários (Peng et al., 2015).

Vários estudos utilizando *Bacillus* como agente de biocontrole de fungos fitopatogênicos foram conduzidos sendo encontrados resultados diversos. *Bacillus subtilis* em formulação comercial apresentou resultados significativamente inferiores no teste de

pareamento quando comparado com os tratamentos utilizando *Trichoderma* spp. contra *Dactylonectria macrodidyma* (Santos et al., 2016). Utilizando as mesmas formulações, também se encontrou resultados inferiores no crescimento micelial e porcentagem de inibição de *Lasiodiplodia theobromae* quando comparada com *Trichoderma* spp. (Maciel et al., 2017).

Entretanto, também há pesquisas que demonstram que *B. subtilis* foi capaz de inibir entre 48,75 e 72,01% o crescimento micelial de *Colletotrichum gloesporioides*, *in vitro*, e entre 32 e 64% os sintomas da antracnose em pimenta, *in vivo* (Amaro et al., 2018). Já em outro estudo, foi observado que *B. subtilis* e *B. thuringiensis* foram eficientes no controle *in vitro* de *C. graminicola*, mas que isso não ocorreu em experimento *in vivo* (Jacques, 2015).

Comparando-se a ação antagonista de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. no controle de *Fusarium oxysporum*, observou-se que, embora ambos tenham inibido o crescimento micelial do patógeno, *in vitro*, os isolados de *Trichoderma* apresentaram percentual de inibição maior que 70%, em sua maioria, enquanto que os de *Bacillus* não ultrapassaram 64% (Kumar et al., 2012). Assim como, em estudo realizado sobre formas potenciais de biocontrole de *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium solani* na cultura do morangueiro, os isolados de *Trichoderma* também foram mais eficazes no controle dessas doenças, em relação aos isolados de *Bacillus* (Pastrana et al., 2016).

Considerando através de escala (Bell et al., 1982), *Trichoderma asperellum* x *C. siamense*, diferiu da testemunha aos doze dias de avaliação com nota 3 e os tratamentos que apresentaram a melhor nota (2) ao final do experimento, foram o isolado nativo de *Trichoderma koningiopsis*; *Trichoderma* sp. e *Trichoderma harzianum* (Fig. 2), sendo esses, portanto, eficientes no controle *in vitro* de *C. siamense*.

Figura 1. Crescimento micelial de *Colletotrichum siamense* (à esquerda) em pareamento com *Trichoderma* spp. (à direita).

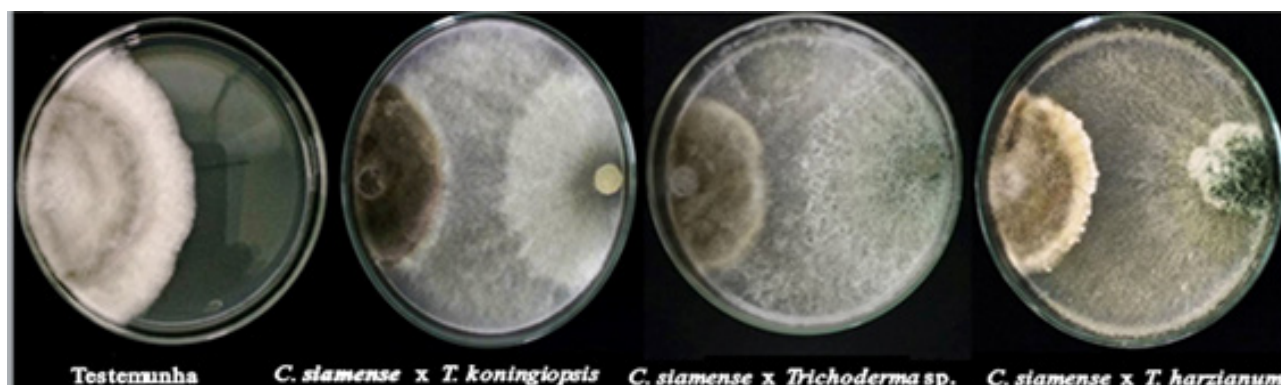
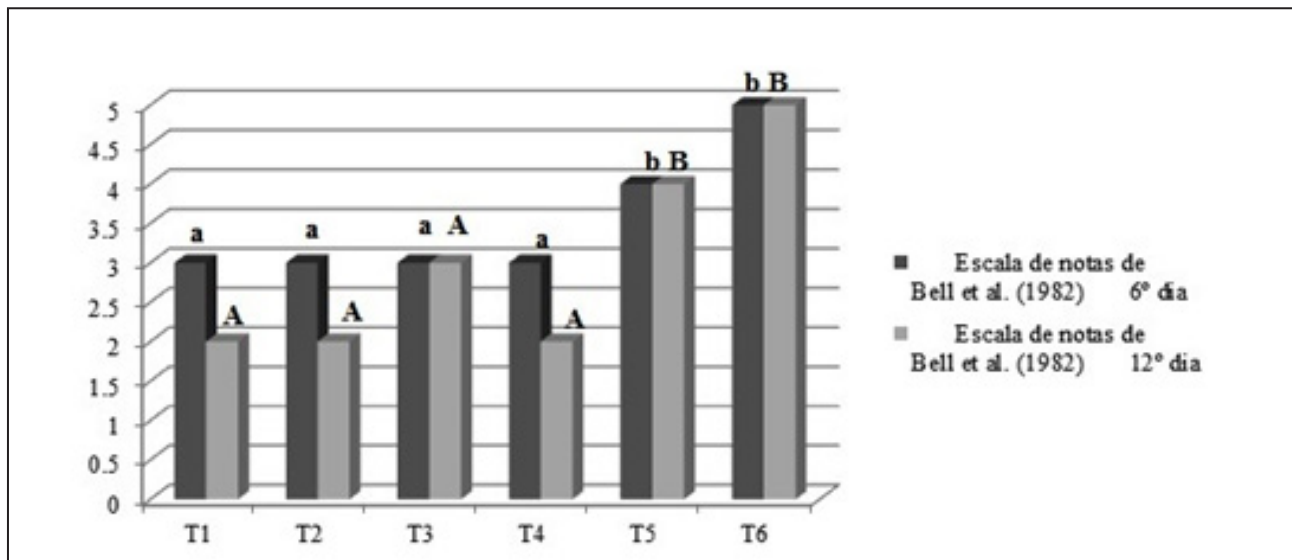


Figura 2. Notas atribuídas ao cultivo pareado de *Colletotrichum siamense* submetido a diferentes tratamentos (T1: *Colletotrichum siamense* x *Trichoderma koningiopsis*; T2: *Colletotrichum siamense* x *Trichoderma* sp.; T3: *Colletotrichum siamense* x *Trichoderma asperellum*; T4: *Colletotrichum siamense* x *Trichoderma harzianum*; T5: *Colletotrichum siamense* x *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*; T6: Testemunha; avaliadas aos 6 e aos 12 dias após o pareamento.



* Barras seguidas pela mesma letra minúscula aos 6 dias e maiúscula aos 12 dias de avaliação não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* x *C. siamense* não diferiu significativamente da testemunha no sexto e no décimo segundo dia, apresentando nota 4 em ambos os dias. Cabe ressaltar ainda que o antagonismo *in vitro* é uma forma utilizada apenas para seleção massal de candidatos a agentes de biocontrole, pois nem todos aqueles que apresentam efeitos inibitórios *in vitro* conseguem exercer o mecanismo de antagonismo *in vivo*, visto que algumas condições de temperatura e umidade podem interferir no desenvolvimento tanto do agente de biocontrole, quanto do patógeno (Bell et al., 1982).

Dessa maneira, *Trichoderma koningiopsis* (TRICH1-UFSM) e os produtos comerciais à base de *Trichoderma* spp. foram eficientes no controle *in vitro* de *Colletotrichum siamense* sugerindo que esses devem ser pesquisados como agentes de controle biológico para a antracnose em goiaba-serrana em estudos *in vivo*.

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* não se mostrou eficiente no controle de *Colletotrichum siamense*.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPQ, pelo apoio financeiro e concessão de bolsas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, S. B.; Lopes, R. B.; Vieira, S. A.; Tamai, M. A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios; Lopes, R. B., Eds; FEALQ: Piracicaba, São Paulo, **2008**, 69-110.
- Amarante, C. V. T. Do; Santos, K. L. D. Feijoa (*Acca sellowiana*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, **2011**, 33, 1, 1-334.
- Amaro, J. K. C.; Vieira, B. S.; Sousa, L. A. Biological control of *Colletotrichum gloeosporioides* in pepper with isolates of *Bacillus subtilis*. *Brazilian Journal of Agriculture*, **2018**, 93, 2, 195-209.
- Bell, D. K.; Wellis, H. D.; Markham, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, **1982**, 72, 1, 379-382.
- Bettiol, W.; Ghini, R. Controle biológico. In: Manual de fitopatologia: princípios e conceitos, edição no 3; Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorin, L., Eds.; Agronômica Ceres: São Paulo, **São Paulo, 1995**; Vol. 2, p. 717-728.

- Bettiol, W.; Morandi, M. A. B.; Pinto, Z. V.; Paula Junior, T. J.; Corrêa, E. B.; Moura, A. B.; Lucon, C. M. M.; Costa, J. C. B.; Bezerra, J. L. Bioprotetores comerciais para o controle de doenças de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, **2009**, 17, 111-147.
- Bomfim, M. P.; José, A. R. S.; Rebouças, T. N. H.; Almeida, S. S. De; Souza, I. V. B.; Dias, N. O. Avaliação antagonista *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. *Summa Phytopathologica*, **2010**, 36, 1, 61-67.
- Da Silva, G. B. P.; Heckler, L. I.; Santos, R. F. Dos; Durigon, M. R.; Blume, E. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Revista Caatinga*, **2015**, 28, 4, 33-42.
- Dennis, C.; Webster, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. III - Hyphal interaction. *Transactions of the British Mycological Society*, **1971**, 57, 368-369.
- Fantinel, V. S.; Muniz, M. F. B.; Blume, E.; Araújo, M. M.; Poletto, T.; Silva, T. T. Da; Dutra, A. F.; Maciel, C. G.; Harakava, R. First report of *Colletotrichum siamense* causing anthracnose on *Acca sellowiana* fruits in Brazil. *Plant Disease*, **2017**, 101, 6, 1035-1035.
- García-Núñez, H. G. Isolation of native strains of *Trichoderma* spp. from horticultural soils of the Valley of Toluca, for potential biocontrol of *Sclerotinia*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, **2012**, 15, 2, 357-365.
- Jacques, F. L. Efeito de produtos alternativos *in vitro* e em casa de vegetação no controle de *Colletotrichum graminicola*. **2015**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.
- Junior Chagas, A. F.; Godoy, V. H. Da S.; Miller, L. De O.; Carvalho Filho, M. R. De. Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum cliviae* e *C. truncatum*. *Revista Brasileira de Biociências*, **2016**, 14, 4.
- Kumar, D. P.; Thenmozhi, R.; Anupama, P. D.; Nagasathya, A.; Thajuddin, N.; Paneerselvam, A. Selection of potential antagonistic *Bacillus* and *Trichoderma* isolates from tomato rhizospheric soil against *Fusarium oxysporum* F. sp. *Lycoperscisi*. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, **2012**, 2, 1, 78-89.
- Maciel, C. G.; Muniz, M. F. B.; Rolim, J. M.; Michelon, R. M. D. N.; Poletto, T.; Rabuske, J. E. Uso da microbiolização contra *Lasiodiplodia theobromae* em sementes de *Pinus* spp. *Floresta*, **2017**, 47, 1, 121-128.
- Menten, J. O. M.; Machado, C. C.; Munissi, E.; Castro, C.; Kimati, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass) Goid, “*in vitro*”. *Fitopatologia Brasileira*, **1976**, 1, 57-66.
- Mesquita, D. C. M.; Ferreira, F. A.; Martins, I.; Mello, S. C. M.; Carvalho, D. D. C. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Sclerotinia sclerotiorum* do feijão comum. *Agropecuária Científica no Semiárido*, **2017**, 13, 1, 1-4.
- Michereff, S. J.; Menezes, M.; Mariano, R. L. R. Antagonismo de espécies de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum graminicola*, agente da antracnose de sorgo em condições de laboratório. *Summa Phytopathologica*, **1993**, 1, 1, 14-17.
- Mishra, B. K.; Mishra, R. K.; Mishra, R. C.; Tiwari, A. K.; Yadav, R. S.; Dikshit, A. Biocontrol efficacy of *Trichoderma viride* isolates against fungal plant pathogens causing disease in *Vigna radiata* L, Arch. *Journal of Applied Sciences Research*, **2011**, 3, 2, 361-369.
- Morandi, M. A. B.; Paula Júnior, T. J. De; Bettiol, W.; Teixeira, H. Controle biológico de pragas, doenças e plantas invasoras. *Informe Agropecuário*, **2009**, 30, 251, 73-82.
- Oliveira, E. S.; Viana, F. M. P.; Martins, M. V. V. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. *Summa Phytopathologica*, **2016**, 42, 4, 340-350.
- Pastrana, A. M.; Basallote-ureba, M. J.; Aguado, A.; Akdi, K.; Capote, N. Biological control of strawberry soil-borne pathogens *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*, using *Trichoderma asperellum* and

- Bacillus* spp. *Phytopathologia Mediterranea*, **2016**, 55, 1, 109-120.
- Peng, D.; Pang, C.; Wu, H.; Huang, Q.; Zheng, J.; Sun, M. The expression and crystallization of Cry65Aa require two C-termini, revealing a novel evolutionary strategy of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins. *Scientific Reports*, **2015**, 5, 1-12.
- Petras, S. F.; Casida, L. E. J. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, **1985**, 50, 1496-1501.
- Ribeiro, M. S. Estudo funcional do gene gluc31 que codifica uma β -1,3-glucanase da família GH16 de *Trichoderma harzianum*. **2017**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- Santos, K. L.; Siminski, A.; Ducroquet, J. P. H. J.; Guerra, M. P.; Peroni, N.; Nodari, R. O. *Acca sellowiana*. In: Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul. Coradin, L.; Siminski, A.; Reis, A., Eds. MMA: Brasília, Goiás, **2011**; p. 111-130.
- Santos, R. F. Dos; Heckler, L. I.; Lazarotto, M.; Garrido, L. Da R.; Rego, C.; Blume, E. *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* for control of *Dactylonectria macrodidyma* in grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, **2016**, 55, 2, 293-300.
- Sarmiento, M. B.; Silva, A. C. S. Da; Villela, F. A.; Santos, K. L. Dos; Mattos, L. C. P. De. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de goiabeira-serrana. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **2013**, 35, 1, 270-276.