

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/11/2023

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until November 29, 2023

LUCAS GUEDES SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE *Trichoderma* PARA USO NA
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E CONTROLE DE *Sclerotinia
sclerotiorum***

Botucatu

2022

LUCAS GUEDES SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE *Trichoderma* PARA USO NA
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E CONTROLE DE *Sclerotinia*
*sclerotiorum***

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia/Proteção de Plantas.

Orientador: Dr. Wagner Bettiol

Coorientadora: Cristiane Sanchez Farinas

Botucatu

2022

S586d	<p>Silva, Lucas Guedes</p> <p>Desenvolvimento de formulações de Trichoderma para uso na promoção de crescimento de plantas e controle de Sclerotinia sclerotiorum / Lucas Guedes Silva. -- Botucatu, 2022</p> <p>92 p. : tabs., fotos</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu</p> <p>Orientador: Wagner Bettiol</p> <p>Coorientadora: Cristiane Sanchez Farinas</p> <p>1. biofungicida. 2. biofertilizante. 3. formulação. 4. mofo-branco. 5. fermentação sólida. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE *Trichoderma* PARA USO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum*

AUTOR: LUCAS GUEDES SILVA

ORIENTADOR: WAGNER BETTIOL

COORIENTADORA: CRISTIANE SANCHEZ FARINAS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. WAGNER BETTIOL (Participação Virtual)
Microbiologia Ambiental / Empresa Meio Ambiente

Prof. Dr. SERGIO MIGUEL MAZARO (Participação Virtual)
Fitotecnia / Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. EDSON LUIZ FURLIANO (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu

Pesquisador Dr. CAUE RIBEIRO DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
./ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Pesquisador Dr. MURILIO TORO JUNIOR (Participação Virtual)
./ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Botucatu, 29 de novembro de 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me guiado em todos os momentos para que pudesse concluir esta grandiosa etapa de minha vida.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/Faculdade de Ciências Agrônômicas, pela estrutura e oportunidade, professores e funcionários, pelos ensinamentos e exemplos transmitidos.

À Embrapa Meio Ambiente e à Embrapa Instrumentação, pela estrutura, oportunidade e apoio concedidos para meu aperfeiçoamento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Wagner Bettiol, pelos ensinamentos, dedicação, orientação, apoio, confiança e incentivo.

Ao Dr. Gabriel Moura Mascarin, pelos ensinamentos, parceria, apoio e colaboração no trabalho.

À banca examinadora, pela disponibilidade e valiosas contribuições para melhoria deste trabalho.

Agradeço imensamente aos meus pais, Jaime e Sônia, pelo amor, apoio incondicional, ensinamentos e por entenderem as minhas ausências.

À minha irmã Karen, pela amizade e companheirismo.

À minha namorada Rafaela, pelo carinho, cuidado, incentivo e por ter me acompanhado nesta etapa.

Agradeço aos colegas de trabalho do Laboratório de Microbiologia Ambiental “Raquel Ghini” da Embrapa Meio Ambiente, pela amizade, companheirismo e por vivenciar momentos tão importantes comigo.

Aos meus amigos da Republica Zona Azul e do Apartamento 43, onde passei grandes momentos: Tiago, Dennis, Alberto, Lucas, Vitoldo, Vinicius, Murilo, Rodrigo, Diego, Laudelino, Ricardo, Caetano, Diego, Bárbara, Peterson, João, Davi e Carlos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001.

Meu muito obrigado a todos, que de alguma forma se fizeram presentes e vibram comigo por esta tão esperada conquista!

RESUMO

Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam um complexo arsenal de mecanismos envolvidos na proteção de plantas, os quais incluem supressão de fitopatógenos, promoção de crescimento e mitigação de estresses abióticos em plantas. Para tanto, a seleção dos isolados é de fundamental importância, pois *Trichoderma* spp. são altamente diversificadas em eficácia na supressão de patógenos de plantas, apresentando respostas variadas de acordo com as cepas que estão sendo confrontadas. Outros desafios são relacionados à multiplicação, ao armazenamento, e ao desenvolvimento de formulações estáveis e com vida de prateleira adequada. Vencer esses desafios colaborará para a disponibilização de produtos com qualidade adequada no mercado. O presente trabalho teve como objetivos selecionar isolados de *Trichoderma* spp. promotores de crescimento em algodoeiro e inibidores da germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*; otimizar a produção de *Trichoderma asperelloides* em farinha de arroz e; desenvolver formulações granulares à base de farinha de arroz. *Trichoderma asperelloides* CMAA 1584 apresentou maior eficiência no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, enquanto o efeito bioestimulante no crescimento do algodoeiro foi mais pronunciado com *Trichoderma lentiforme* CMAA 1585. Na otimização da produção de *Trichoderma asperelloides* na farinha de arroz, o teor de nitrogênio (0,1% p/p) e o tipo de fermentador (Erlenmeyer) tiveram efeitos significativos na obtenção de maiores rendimentos, enquanto a melhor fonte de nitrogênio foi a levedura hidrolisada (Hilyses®). As formulações G_{Controle}, G_{Break-Thru}, G_{Bentonita} e G_{Composto orgânico + Break-Thru} foram as que formaram o maior número de unidades formadoras de colônia g⁻¹ (UFC g⁻¹) após reidratação em ágar-água. A viabilidade à temperatura ambiente foi mantida estável por até 3 meses nas formulações G_{Controle} e G_{Bentonita}, enquanto em condições refrigeradas a viabilidade foi mantida por 12 meses nas formulações G_{Bentonita} e G_{Composto orgânico + Break Thru}. Não foram observadas diferenças significativas na inibição da germinação miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* no solo pela aplicação da formulação G_{Controle} nas doses de 5 × 10⁴, 5 × 10⁵ ou 5 × 10⁶ UFC g⁻¹ de solo, mantendo um índice de controle de escleródios em 79,2; 87,5; e 93,7%, respectivamente. Desta forma, pode ser considerado que *Trichoderma asperelloides* CMAA 1584 apresenta a maior eficiência no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, enquanto *Trichoderma lentiforme* CMAA 1585 apresenta a maior promoção de crescimento das plantas, podendo a

mistura de ambos ser usada para o controle do patógeno e como bioestimulante em plantas de algodão.

Palavras-chave: biofungicida, biofertilizante, formulação, mofo branco e fermentação sólida

ABSTRACT

Fungi of the genus *Trichoderma* present a complex arsenal of mechanisms involved in plant protection, which include suppression of plant pathogens, growth promotion and mitigation of abiotic stresses in plants. Therefore, the selection of potential isolates must be performed carefully, as *Trichoderma* spp. are highly diversified in effectiveness in suppressing plant pathogens, showing varied responses according to the strains being confronted. Other challenges are related to multiplication, storage, and development of stable formulations with adequate shelf life. Overcoming these challenges will help make products of adequate quality available on the market. The objectives of this study were to select *Trichoderma* spp. strains growth promoters in cotton and with biocontrol activity against sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*, to optimize the production of *Trichoderma asperelloides* in rice flour, and to develop granular formulations based on rice flour. *Trichoderma asperelloides* CMAA 1584 is more efficient in controlling *Sclerotinia sclerotiorum*, while the biostimulating effect on cotton growth was more pronounced with *Trichoderma lentiforme* CMAA 1585. In optimizing the production of *Trichoderma asperelloides* in rice flour, the nitrogen content (0.1% w/w) and the type of fermenter (Erlenmeyer flasks) had significant effects in obtaining higher yields, while hydrolyzed yeast (Hilyses®) was the best source of nitrogen. The formulations G_{Control} , $G_{\text{Break-Thru}}$, $G_{\text{Bentonite}}$ and $G_{\text{Organic compost + Break-Thru}}$ were those that formed the highest number of colonies forming unit g^{-1} (CFU g^{-1}) after rehydration in water-agar. Viability at room temperature was maintained stable for up to 3 months in G_{Control} and $G_{\text{Bentonite}}$ formulations while under refrigerated conditions, viability was maintained for 12 months in $G_{\text{Bentonite}}$ and $G_{\text{Organic compost + Break-Thru}}$ formulations. No significant differences were observed in the inhibition of the mycelogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil by the application G_{Control} formulation at doses of 5×10^4 , 5×10^5 or 5×10^6 CFU g^{-1} of soil, maintaining a sclerotia control index of 79.2; 87.5; and 93.7%, respectively. Thus, *Trichoderma asperelloides* is more efficient in controlling *Sclerotinia sclerotiorum*, while *Trichoderma lentiforme* is more suitable as a biostimulant in cotton plants.

Keywords: biofungicide, biofertilizer, formulation, white mold and solid-state fermentation

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
CHAPTER 1 - DUAL FUNCTIONALITY OF <i>Trichoderma</i> : BIOCONTROL OF <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> AND BIOSTIMULANT OF COTTON PLANTS	20
INTRODUCTION	22
MATERIAL AND METHODS	24
Microorganisms	25
Ability of <i>Trichoderma</i> strains to solubilize phosphate	26
Antifungal activity of <i>Trichoderma</i> strains against <i>S. sclerotiorum</i>	27
Parasitism of <i>S. sclerotiorum</i> sclerotia by <i>Trichoderma</i> strains	28
Germination and vigor of cotton seeds treated with <i>Trichoderma</i>	29
Effect of <i>Trichoderma</i> on cotton growth	29
Statistical analysis	30
RESULTS	30
Morphological characterization of indigenous <i>Trichoderma</i> spp. strains	31
Phosphate solubilization	31
Antifungal activity of <i>Trichoderma</i> strains against <i>S. sclerotiorum</i>	31
Parasitism of <i>S. sclerotiorum</i> sclerotia by <i>Trichoderma</i> strains	32
Germination and vigor of cotton seeds treated with <i>Trichoderma</i>	33
Effect of <i>Trichoderma</i> strains on cotton growth promotion	33
DISCUSSION	33
REFERENCES	39
CHAPTER 2 - BIOREACTOR-IN-A-GRANULE DESIGNED FOR <i>Trichoderma asperelloides</i> USING RICE FLOUR AND ITS EFFICACY AGAINST <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	52
INTRODUCTION	54
MATERIAL AND METHODS	57
Microorganisms	57
Optimization of solid-state fermentation in rice flour	58
Screening nitrogen sources	59
Mass production and formulations	59

Storage stability	60
Conidiation of <i>T. asperelloides</i> formulations	60
Effectiveness of <i>T. asperelloides</i> formulation against <i>S. sclerotiorum</i>	61
Statistical analysis	62
RESULTS	62
Selection of key variables for the production of <i>T. asperelloides</i> in rice flour	62
Screening of nitrogen sources for <i>T. asperelloides</i> productions in rice flour	63
Storage stability	63
Conidiation of <i>T. asperelloides</i> formulations	64
Effectiveness of <i>T. asperelloides</i> formulations against <i>S. sclerotiorum</i>	64
DISCUSSION	64
REFERENCES	69
CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

INTRODUÇÃO GERAL

Aliar compromissos ambientais e a necessidade de crescente oferta de alimentos, fibras, bioenergia e uma variedade de matérias primas e produtos é apontado como um dos principais desafios do agronegócio global (GODFRAY et al., 2010). Segundo estimativas, o agronegócio contemporâneo deverá sustentar uma população mundial de cerca de oito a nove bilhões de pessoas entre 2022 e 2050 (SMITH; GREGORY, 2013; GU et al., 2021), como resultado, a demanda mundial por calorias e proteínas para este mesmo período deverá mais que dobrar (TILMAN et al., 2011).

Nesse contexto, as doenças de plantas têm papel fundamental, pois são consideradas como uma das mais sérias ameaças à produção de alimentos e à segurança alimentar em todo mundo (FAO, 2017; ZAKI et al., 2020). Embora seja difícil quantificar precisamente as perdas em produtividade, segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), é estimado que 20 a 40% da produção global de alimentos seja perdida anualmente devido a ação de pragas e doenças (FAO, 2017). Desse modo, visando proteger as lavouras de possíveis perdas de safra e quedas na qualidade de seus produtos, os pesticidas químicos são extensivamente utilizados nos sistemas agrícolas globais (DAMALAS, 2009). Contudo, em virtude de seus recorrentes efeitos adversos à saúde humana (VAN MAELE-FABRY et al., 2010; KIM et al., 2017), à segurança alimentar (VERGER; BOOBIS, 2013) e à manutenção da biodiversidade (BEKETOV et al., 2013) a redução de sua dependência no manejo de pragas e doenças é apontada como um dos pilares para o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável.

Diante disso, a busca por alternativas de manejo fitossanitário menos agressivas ao meio ambiente tem crescido de interesse entre cientistas, sociedade e indústria. Dentre as medidas propostas para auxiliar nesse processo, a utilização de microrganismos tem se mostrado como uma abordagem promissora, pois é um método seguro, economicamente vantajoso, de baixo impacto no meio ambiente e na saúde humana, e com risco mínimo para organismos benéficos não alvo, como abelhas, minhocas e predadores naturais, que são alguns dos principais agentes fornecedores de serviços ecossistêmicos (GLARE et al., 2010; VAN LENTEREN et al., 2018). Além disso, muitas espécies de microrganismos possuem importantes funções ecológicas e contribuem de forma significativa no crescimento de diversas

culturas agrícolas (SHARMA et al., 2013; ALORI et al., 2017), participando da decomposição e mineralização dos resíduos vegetais (RICHARDSON et al., 2009; BONONI et al., 2020), aumentando a biomassa vegetal e os teores de nutrientes no solo (BONONI et al., 2020), assim como controlando diversos fitopatógenos e pragas (MANIANIA et al., 2003; ZHANG et al., 2016), os quais impactam diretamente a obtenção de maiores produtividades.

De acordo com o relatório publicado pela Research and Market (2022), o mercado global de biopesticidas está projetado para crescer a uma taxa de 13,7% ao ano, saltando de um valor estimado de US\$ 12,9 bilhões em 2022 para US\$ 24,6 bilhões em 2027. Segundo o Business Intelligence Panel, análise realizada anualmente pela consultoria Spark Inteligência Estratégica, a comercialização de bioinsumos no Brasil cresceu 37% na safra 2020/2021 em relação à 2019/2020, e já é responsável por movimentações financeiras da ordem de R\$ 1,7 bilhão. Como resultado 21% das áreas cultivadas com soja no Brasil já fazem uso de biodefensivos, totalizando aproximadamente 7,9 milhões de hectares (SPARK INTELIGÊNCIA ESTRATÉGICA, 2020).

Dentre os fitopatógenos de maior importância agrícola, o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, agente etiológico do mofo-branco, é considerado como um dos mais devastadores e cosmopolitas, sendo capaz de infectar mais de 400 espécies de plantas (BOLAND; HALL, 1994; BOLTON et al., 2006). Apontado como a segunda doença mais importante da sojicultura no mundo (PELTIER et al., 2012), somente nos EUA, 2,8 milhões de toneladas de perdas foram estimadas entre os anos de 2010 e 2014, o que custou aos agricultores cerca de US\$ 1,2 bilhão (ALLEN et al., 2017; USDA-NASS, 2017). No Brasil, maior produtor mundial do grão, a doença causa perdas significativas com epidemias de alta prevalência e severidade, especialmente em regiões com altitudes acima de 600 m (MEYER et al., 2014). Outro agravante, é que *S. sclerotiorum* é endêmico em aproximadamente 27% das áreas de produção de soja no Brasil (MEYER et al., 2020), o que pode resultar em perdas econômicas de até US\$ 1,47 bilhão anualmente (LEHNER et al., 2017). As perdas de rendimento são causadas principalmente pela redução da quantidade e do peso dos grãos, resultante do apodrecimento dos tecidos da planta. Para cada ponto percentual de aumento da incidência de mofo-branco ocorre uma redução média na produtividade da soja de 17,2 kg ha⁻¹, e um incremento na produção de escleródios de 100 g ha⁻¹ (LEHNER et al., 2017). Não obstante, em razão do grande número de plantas susceptíveis ao

patógeno e a maioria dos cotonicultores brasileiros cultivarem o algodão na segunda safra, isto é, após a colheita da soja, a doença também tem infligido perdas na cotonicultura nacional (SILVA et al., 2019; IMEA, 2021). Dessa forma, devido a sucessão de cultivos suscetíveis ao mofo branco, a incidência da doença em áreas de ocorrência do patógeno tem aumentado consideravelmente.

De acordo com a Portaria nº 5, de 21 de agosto de 2015, do Departamento de Sanidade Vegetal/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (DSV/MAPA), *S. sclerotiorum* é considerada como uma das oito pragas/doenças de maior risco fitossanitário para o Brasil, para as quais o desenvolvimento e o registro de tecnologias de controle devem ser priorizados (BRASIL, 2015). Dentre os maiores desafios no manejo da doença, a redução do número de escleródios no solo está entre os principais, haja vista sua grande persistência e alta produção de ascósporos (inóculo inicial) (ADAMS; AYERS, 1979; WILLETTS; WONG, 1980; MEYER et al., 2022). Escleródios são estruturas de resistência formados por agregados de hifas e consistem principalmente de uma camada externa com células melanizadas, o que confere alta resistência às condições ambientais adversas e a degradação química, e um componente interno formado de carboidratos (principalmente β -1,3-glucanos) e proteínas (LE TOURNEAU, 1979).

Diante disso, o uso do método químico de forma não integrada a outras estratégias de manejo tem apresentado efeito limitado e inconsistente, principalmente devido às dificuldades em alcançar uma boa cobertura com fungicidas e o tempo de aplicação em relação à liberação de ascósporos (MEYER et al., 2014; MEYER et al., 2022). Além disso, a ausência de resistência genética em cultivares comerciais e a adoção de estratégias intensivas de manejo baseadas unicamente em fungicidas, resultaram no desenvolvimento de cepas resistentes para muitos ingredientes ativos (LIANG et al., 2015; MAO et al., 2018). Portanto, é imperativo explorar medidas alternativas como o controle biológico para o manejo da doença.

Como mais um importante aliado no manejo do mofo branco em cultivos agrícolas, espécies do gênero *Trichoderma* vêm sendo utilizadas há vários anos e com sucesso. O impacto do uso do *Trichoderma* no manejo de *S. sclerotiorum* está relacionado à sua capacidade de parasitar e degradar escleródios no solo, havendo uma correlação inversamente proporcional da frequência de aplicação de *Trichoderma* com a viabilidade de escleródios no solo (FERRAZ; NASSER; CAFÉ-FILHO, 2011; MEYER et al., 2022).

Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam um complexo arsenal de mecanismos envolvidos na proteção de plantas, os quais incluem micoparasitismo, competição por nutrientes, antibiose e produção de enzimas hidrolíticas (LORITO et al., 2010; DRUZHININA et al., 2011; HERMOSA et al., 2012; MONTE et al., 2019). Além disso, devido à plasticidade de seus genomas em expressar múltiplas funções ecológicas, várias espécies de *Trichoderma* promovem o crescimento de plantas (RUBIO et al. 2017; MONTE et al. 2019), contribuem para a melhor utilização de nutrientes (HARMAN 2011; DOMÍNGUEZ et al. 2016) e induzem respostas de defesa contra estresses bióticos e abióticos (HERMOSA et al. 2012; BROTMAN et al. 2012; RUBIO et al. 2017; MONTE et al. 2019).

As espécies/isolados de *Trichoderma* são altamente diversificados em eficácia na supressão de patógenos de plantas (HARMAN et al., 2004, VERMA et al., 2007), apresentando respostas variadas de acordo com as cepas que estão sendo confrontadas (ATANASOVA et al., 2013). Desse modo, a seleção dos isolados consiste no primeiro passo no desenvolvimento de produtos à base deste antagonista. Além disso, atributos como virulência, persistência e tolerância à estresses abióticos (temperatura, umidade e radiação UV), assim como baixas exigências nutricionais, alta produção de propágulos infectivos e capacidade de se desenvolver em substratos simples e baratos, são de extrema importância, pois o conceito de produção em massa se baseia nas necessidades de uso inundativo, logo requerem um elevado número de propágulos a fim de atingir o alvo ou colonizar o habitat (FARIA; WRAIGHT, 2001).

A produção massal de *Trichoderma* spp. pode ser realizada de três formas: via fermentação sólida, líquida ou bifásica (MASCARIN et al., 2019). A primeira delas, também conhecida como fermentação semi-sólida ou fermentação sólida estática, o crescimento microbiano ocorre na ausência de água livre, ou seja, a umidade necessária ao seu crescimento se encontra absorvida ou complexada no interior da matriz sólida (LONSANE et al. 1985; SOCCOL 1996). Enquanto na fermentação líquida ou submersa, como o próprio nome sugere, o crescimento microbiano é realizado em soluções nutritivas líquidas (JACKSON, 1997).

No Brasil, a maioria das biofábricas utiliza o sistema de fermentação bifásica, na qual o inóculo é inicialmente produzido em cultura líquida e, posteriormente, transferido para substratos sólidos para a produção de conídios aéreos (KUMAR et al., 2007; LI et al., 2010; MASCARIN et al., 2010; WOO et al., 2014; MASCARIN et al., 2019). Nesse processo, grãos de arroz são majoritariamente utilizados como substrato

e se realiza a incubação em sacos de polipropileno ou em bandejas por um período de 10 a 14 dias, com posterior remoção dos conídios (FARIA; WRAIGHT, 2007; LI et al., 2010; MASCARIN et al., 2019). No entanto, devido às características hidrofílicas dos conídios aéreos de *Trichoderma* (JIN; CUSTIS, 2011) e a necessidade de extrair os conídios dos grãos, muitos fabricantes lavam os substratos colonizados com soluções surfactantes antes da formulação para concentrar a biomassa (FARIA; WRAIGHT, 2007; LI et al., 2010; MASCARIN et al., 2019). Entretanto, ao longo deste processo, os metabólitos que possuem propriedades antimicrobianas e/ou atuam como estimulantes vegetais são inevitavelmente perdidos. Adicionalmente, o resíduo sólido após a extração dos esporos necessita de destinação adequada, sendo geralmente explorada na produção de energia (Elias et al., 2022) ou compostagem.

Para contornar parte desse problema e reduzir os custos de produção, tendo em vista que os substratos podem representar mais de 50% dos custos de produção (ELTEM et al., 2014; STANBURY et al., 2017), diversos subprodutos e resíduos agroindustriais são frequentemente avaliados em processos fermentativos, pois são abundantes e muitas vezes subutilizados (FARINAS, 2015; SOCCOL et al., 2017). Além disso, a reutilização de subprodutos agroindustriais para a geração de novos produtos de alto valor agregado é extremamente benéfica e fomentada internacionalmente, como pode ser observado no plano de ação da União Europeia para uma economia circular (COMISSÃO EUROPEIA, 2020).

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das principais culturas de cereais, bem como alimento básico para quase metade da população mundial, especialmente nos países asiáticos (BIRD et al., 2000). Contudo, até chegar à mesa do consumidor, uma série de processos são empregados para o beneficiamento do grão, os quais combinados produzem diversos subprodutos (ESA et al., 2013). O arroz quebrado, um dos subprodutos do beneficiamento do grão, representa cerca de 10-15% do arroz beneficiado (NUNES et al., 2017) e é comercializado por 30-50% do valor do grão inteiro (NUNES et al., 2017; LI et al., 2019), sendo pouco aproveitado para a alimentação humana e majoritariamente utilizado para a alimentação animal (NUNES et al., 2017).

Assim, devido ao seu baixo custo, alta disponibilidade e valor nutricional (74% amido e 7% proteína) (LIU et al., 2016), várias tecnologias têm sido propostas para aumentar seu uso na indústria (AHMED et al., 2015; BICH et al., 2018; MYBURGH et al., 2019; NAKANO et al., 2012). Dentre elas, o uso como substrato para produção

massal e como inerte em formulações de *Trichoderma* tem potencial em garantir bons sistemas de entrega e proporcionar vantagens competitivas em relação à comunidade nativa do solo, uma vez que o *Trichoderma* spp. pode hidrolisar o amido em açúcares simples e de metabolização rápida (GUIMARÃES et al., 2018; KLAIC et al., 2018) para sua nutrição. Além disso, melhorias na viabilidade e vida de prateleira de microrganismos formulados com compostos amiláceos são relatadas, em razão de seu suporte estrutural e proteção contra estresses térmicos, oxidativos e osmóticos (CHAN et al., 2011; SCHOEBITZ et al., 2012; TAL et al., 1999).

Assim, a moagem do arroz quebrado em farinha pode se tornar uma alternativa simples, barata e livre de resíduos para o desenvolvimento de novos produtos à base de *Trichoderma*, além de remover a etapa de extração de conídios e manter os metabólitos no produto final. Contudo, para maximizar os rendimentos, a otimização das condições de cultivo é imprescindível, pois a descoberta das condições que levam a uma esporulação mais rápida, pode ser o fator mais importante na redução dos custos de produção (JACKSON, 1997).

Além dos métodos de produção, as formulações desempenham um papel fundamental na determinação do sucesso de um produto. Os componentes de uma formulação geralmente são categorizados em três partes: ingrediente ativo, veículo e adjuvantes (ASH, 2010; BURGES, 1998). O ingrediente ativo é a forma infecciosa do microrganismo (conídios, microescleródios, blastósporos, endósporos, micélios, etc.); os veículos são inertes utilizados para diluir o agente ativo; e os adjuvantes compreendem uma ampla variedade de agentes que aprimoram uma ou mais características da formulação (BURGES, 1998).

Segundo Lewis e Papavizas (1985), a adição de amido como veículo em formulações de *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma hamatum* aumentou em até 100 vezes o número de UFC g⁻¹ de solo. Portanto, há evidências que sustentam a hipótese de que a utilização de farinha de arroz para a produção de *Trichoderma*, seguida pela formulação via extrusão/granulação, tem potencial em fornecer condições adequadas ao estabelecimento do *Trichoderma* no solo, uma vez que, o grânulo atuará como um mini reator ao seu crescimento inicial.

A apresentação dos estudos desenvolvidos nesta tese de doutorado está estruturada em dois capítulos, organizados da seguinte forma: no capítulo 1 são apresentados os resultados obtidos na seleção dos isolados, na qual foram avaliados a eficiência no parasitismo a *Sclerotinia sclerotiorum*, na germinação e o vigor de

sementes de algodão, na promoção de crescimento do algodoeiro e na solubilização de fosfato. Esse primeiro capítulo está publicado na *Frontiers in Plant Science*: Silva L.G., Camargo R.C., Mascarin G.M., Nunes P.S.O., Dunlap C., Bettiol W. Dual functionality of *Trichoderma*: Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and biostimulant of cotton plants. *Frontiers in Plant Science*, 13:983127, 2022. doi: 10.3389/fpls.2022.983127

No capítulo 2 são apresentados os resultados da otimização da produção de *Trichoderma asperelloides* em farinha de arroz, no desenvolvimento de formulações granulares e na avaliação da vida de prateleira em condições refrigeradas e à temperatura ambiente, eficiência de biocontrole a escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, e conidiação. Este capítulo é intitulado: Bioreactor-in-a-granule designed for *Trichoderma asperelloides* using rice flour and its efficacy against *Sclerotinia sclerotiorum*

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Trichoderma asperelloides CMAA 1584 apresenta eficiência no controle de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* e em parasitar hifas do patógeno *in vitro*.

Trichoderma lentiforme CMAA 1585 solubiliza fosfato e promove o crescimento de plantas de algodão.

A fermentação de *Trichoderma asperelloides* CMAA 1584 em farinha de arroz apresenta bons rendimentos de propágulos (UFC g⁻¹), sendo uma alternativa simples e barata para utilização como substratos para a fermentação sólida.

A fermentação sólida de *Trichoderma asperelloides* CMAA 1584 em Erlenmeyers utilizando farinha de arroz suplementada com 0,1% (p/p) de levedura hidrolisada tem efeito direto no rendimento de propágulos (UFC g⁻¹).

A formulação de *Trichoderma asperelloides* CMAA 1584 por extrusão da biomassa com o substrato foi capaz de aumentar o número médio de UFCs, após reidratação e incubação por 10 dias, em pelo menos 20 vezes.

As formulações G_{Bentonite} e G_{Organic compost + Break-Thru} podem ser armazenadas a temperatura de 4 °C por 12 meses, sem haver quedas significativas de viabilidade.

A formulação de *Trichoderma asperelloides* em grânulos não altera ou dificulta a colonização e a colonização do solo e; não alterando a eficiência de controle a escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* quando aplicado formulado e não formulado.

Ambos isolados de *Trichoderma* têm potencial para serem promissores agentes de biocontrole, mas com diferentes propósitos. *Trichoderma asperelloides* CMAA 1584 para o controle de doenças, enquanto que *T. lentiforme* CMAA 1585 é indicado como bioestimulante.

Ambos os isolados de *Trichoderma* são adequados para uso em campo, podendo ser utilizados em consórcio visando tanto ao controle de patógenos quanto à promoção do crescimento em lavouras de algodão, com consequente contribuição para diminuir a dependência de fertilizantes químicos e fungicidas.

A fermentação sólida e a formulação de *Trichoderma asperelloides* CMAA 1584 por extrusão utilizando a farinha de arroz apresenta bons resultados, além de ser um método simples, barato e livre de resíduos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, P. B.; AYERS, W. A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 896-899, 1979. doi: 10.1094/Phyto-69-896
- AHMED, I.; QAZI, I. M.; JAMAL, S. Quality evaluation of noodles prepared from blending of broken rice and wheat flour. **Starch**, v. 67, n. 11-12, p. 905-912, 2015. doi: 10.1002/star.201500037
- ALLEN, T. W. *et al.* Soybean yield loss estimates due to disease in the United States and Ontario, Canada, from 2010 to 2014. **Plant Health Progress**, v.18, n.1, p. 9-27, 2017. doi: 10.1094/PHP-RS-16-0066
- ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 971, 2017. doi: 10.3389/fmicb.2017.00971
- ASH, G. J. The science, art and business of successful bioherbicides. **Biological Control**, v. 52, n. 3, p. 230-240, 2010. doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.08.007
- ATANASOVA, L.; CROM, S. L.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 1-15, 2013. doi: 10.1186/1471-2164-14-121
- BEKETOV, M. A.; KEFFORD, B. J.; SCHÄFER, R. B.; LIESS, M. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 27, p. 11039-11043, 2013. doi: 10.1073/pnas.1305618110
- BICH, G. A.; CASTRILLO, M. L.; VILLALBA, L. L.; ZAPATA, P. D. Evaluation of rice by-products, incubation time, and photoperiod for solid state mass multiplication of the biocontrol agents *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Agronomy Research**, v. 16, n. 5, p. 1921-1930. doi: 10.15159/ar.18.197
- BIRD, A. R.; HAYAKAWA, T.; MARSONO, Y.; GOODEN, J. M.; RECORD, I. R.; CORRELL, R. L.; TOPPING, D. L. Coarse brown rice increases fecal and large bowel short-chain fatty acids and starch but lowers calcium in the large bowel of pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 7, p. 1780-1787, 2000. doi: 10.1093/jn/130.7.1780
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994. doi: 10.1080/07060669409500766
- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: Biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006. doi: 10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x

BONONI, L.; CHIARAMONTE, J. B.; PANSA, C. C.; MOITINHO, M. A.; MELO, I. S. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, v. 10, 2858, 2020. doi: 10.1038/s41598-020-59793-8

BRASIL. **Portaria N 5, de 21 de agosto de 2015**. Diário Oficial da União nº 161, Brasília, DF, 24 de julho de 2015. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/32414403/do1-2015-08-24-portaria-n-5-de-21-de-agosto-de-2015-32414230>. Acesso em: 15 fev. 2021.

BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; CUADROS-INOSTROZA, A.; TAKAYUKI, T.; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VITERBO, A.; WILLMITZER, L. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLoS Pathogens**, v. 9, n. 3, e1003221, 2013. doi: 10.1371/journal.ppat.1003221

BURGES, H. D. **Formulation of microbial biopesticidas**. Dordrecht: Springer, 442 p., 1998. doi :10.1007%2F978-94-011-4926-6

CHAN, E. S.; WONG, S. L.; LEE, P. P.; LEE, J. S.; TI, T. B.; ZHANG, Z.; PONCELET, Z.; RAVINDRA, C.; PHAN, S. H.; YIM, Z. H. Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium-alginate beads and the viability of encapsulated cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 225-232, 2011. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.07.044

COMISSÃO EUROPEIA. Communication from the commission to the european parliament, the council, the european economic and social committee and the committee of the regions. **A new circular economy action plan for a cleaner and more competitive Europe**. Bruxelas, 22 p. 2020. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:9903b325-6388-11ea-b735-01aa75ed71a1.0022.02/DOC_1&format=PDF>. Acesso em 29 jun. 2021.

DAMALAS, C. A. Understanding benefits and risks of pesticide use. **Scientific Research and Essay**, v. 4, n. 10, p. 945-949, 2009. doi: 10.5897/SRE.9000968

DOMÍNGUEZ, S.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; GUTIERREZ, S.; NICOLAS, C.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase amdS gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 1182, 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.01182

DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011. doi: 10.1038/nrmicro2637

ELTEM, R.; SAYIT, S.; SOZER, S.; SUKAN, F. V. Production of *Trichoderma citrinoviride* micropropagules as a biocontrol agent by means of an economical process, 2014. US Patent: WO2014/104998a1.

ESA, N. M.; LING, T. B.; PENG, L. S. By-products of rice processing: An overview of health benefits and applications. **Rice Research**, v. 1, n 1, 2013. doi: 10.4172/jrr.1000107

FAO, Food and Agriculture Organization. **The future of food and agriculture - Trends and challenges**. Rome, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/i6583e/i6583e.pdf>>. Acesso: 10 ago. 2021.

FARIA, M.; WRIGHT, S. P. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. **Crop Protection**, v. 20, p. 767-778, 2001. doi: 10.1016/S0261-2194(01)00110-7

FARIA, M. R.; WRIGHT, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, n. 3, p. 237-256, 2007. doi: 10.1016/j.biocontrol.2007.08.001

FARINAS, C. S. Developments in solid-state fermentation for the production of biomass-degrading enzymes for the bioenergy sector. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 179-188, 2015. doi: 10.1016/j.rser.2015.07.092

FERRAZ, L.; NASSER, L. C. B.; CAFÉ-FILHO, A. C. Viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* e incidência de fungos antagonistas em solo de cerrado. **Summa Phytopathologica**, v. 3, p. 208-210, 2011. doi: 10.1590/S0100-54052011000400009

GLARE, T.; EILENBERG, J; GOETTEL, M. **Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations**. In: GILBERT, L. I.; GILL, S. S. (ed.). Insect control: Biological and synthetic agents. Elsevier, Academic Press, p.387-438, 2010.

GODFRAY, H. C. J.; BEDDINGTON, J. R.; CRUTE, I. R.; HADDAD, L.; LAWRENCE, D.; MUIR, J. F.; PRETTY, J.; ROBINSON, S.; THOMAS, S. M.; TOULMIN, C. Food Security: the challenge of feeding 9 billion people. **Science**, v. 327, p. 812-818, 2010. doi: 10.1126/science.1185383

GU, D.; ANDREEV, K.; DUPRE, M. E. Major trends in population growth around the world. **China CDC Weekly**, v. 3, n. 28, p. 604, 2021. doi: 10.46234/ccdcw2021.160

GUIMARÃES, G. G. F.; KLAIC, R.; GIROTO, A. S.; MAJARON, V. F.; AVANSI JUNIOR, W.; FARINAS, C. S.; RIBEIRO, C. Smart fertilization based on sulfur-phosphate composites: synergy among materials in a structure with multiple fertilization roles. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 9, p. 12187-12196, 2018. doi: 10.1021/acssuschemeng.8b02511

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. doi: 10.1038/nrmicro797

HARMAN, G. E. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. **New Phytologist**, v. 189, n. 3, p. 647-649, 2011. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03614.x

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012. doi: 10.1099/mic.0.052274-0

IMEA, INSTITUTO MATO-GROSSENSE DE ECONOMIA AGROPECUÁRIA. **5ª Estimativa da Safra 2020/21: Algodão**, p. 3, 2021. Disponível em: <<http://www.imea.com.br/imea-site/relatorios-mercado-detalhe?c=1&s=9>>. Acesso em: 02 jan. 2021.

JACKSON, M. A. Optimizing nutritional conditions for the liquid culture production of effective fungal biological control agents. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n. 3, p. 180-187, 1997. doi: 10.1038/sj.jim.2900426

JIN, X.; CUSTIS, D. Microencapsulating aerial conidia of *Trichoderma harzianum* through spray drying at elevated temperatures. **Biological Control**, v. 56, n. 2, p. 202-208, 2011. doi: 10.1016/j.biocontrol.2010.11.008

KIM, K. H.; KABIR, E.; JAHAN, S. A. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 525-535, 2017. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.009

KLAIC, R.; GIROTO, A. S.; GUIMARÃES, G. G.; PLOTEGHER, F.; RIBEIRO, C.; ZANGIROLAMI, T. C.; FARINAS, C. S. Nanocomposite of starch-phosphate rock bioactivated for environmentally-friendly fertilization. **Minerals Engineering**, v. 128, p. 230-237, 2018. doi: 10.1016/j.mineng.2018.09.002

KUMAR, M. Standardization of different substrates for the mass production of conidial yield of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Plant Archives**, v. 7, n. 2, p. 719 -720, 2007.

LEHNER, M. S.; PETHYBRIDGE, S. J.; MEYER, M. C.; DEL PONTE, E. M. Meta-analytic modelling of the incidence-yield and incidence-sclerotial production relationships in soybean white mould epidemics. **Plant Pathology**, v. 66, n. 3, p. 460-468, 2017. doi: 10.1111/ppa.12590

LEWIS, J.; PAPAIVIZAS, G. Characteristics of alginate pellets formulated with *Trichoderma* and *Gliocladium* and their effect on the proliferation of the fungi in soil. **Plant Pathology**, v. 34, n. 4, p. 571-577, 1985. doi: 10.1111/j.1365-3059.1985.tb01409.x

LE TOURNEAU, D. Morphology, cytology and physiology of *Sclerotinia* species in culture. **Phytopathology**, v. 69, p. 887-890, 1979. doi: 10.1094/Phyto-69-887

LI, Z.; ALVES, S. B.; ROBERTS, D. W.; FAN, M.; DELALIBERA JUNIOR, Í.; TANG, J.; LOPES, R. B.; FARIA, M.; RANGEL, D. E. N. Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using

entomopathogenic fungi. **Biocontrol Science and Technology**, v. 20, n. 2, p. 117-136, 2010. doi: 10.1080/09583150903431665

LI, W.; MA, Y. S.; LIN, Q. L.; FU, D. Deep processing of rice and comprehensive utilization of its by-products. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 7, n. 5, p. 370-376, 2019. doi: 10.12691/jfnr-7-5-6

LIANG, H. J. DI, Y. L.; LI, J. L.; ZHU, F. X. Baseline sensitivity and control efficacy of fluazinam against *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 142, n. 4, p. 691-699, 2015. doi: 10.1007/s10658-015-0771-z

LIU, H.; WAN, H.; XU, S.; FANG, Z.; LIN, Y.; CHE, L.; LI, J.; LI, Y.; SU, X.; WU, D. Influence of extrusion of corn and broken rice on energy content and growth performance of weaning pigs. **Animal Science Journal**, v. 87, n. 11, p. 1386-1395, 2016. doi: 10.1111/asj.12578

LONSANE, B. K.; GHILDYAL, N. P.; BUDIATMAN, S.; RAMAKRISHNA, S. V. Engineering aspects of solid-state fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 7, p. 258-265, 1985. doi: 10.1016/0141-0229(85)90083-3

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-417, 2010. doi: 10.1146/annurev-phyto-073009-114314

MANIANIA, N. K.; SITHANANTHAM, S.; EKESI, S.; AMPONG-NYARKO, K.; BAUMGÄRTNER, J. L. B. M.; LÖHR, B.; MATOKA, C. M. A field trial of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for control of onion thrips, *Thrips tabaci*. **Crop protection**, v. 22, n. 3, p. 553-559, 2003. doi: 10.1016/S0261-2194(02)00221-1

MAO, X. W.; LI, J. S.; CHEN, Y. L.; SONG, X. S.; DUAN, Y. B.; WANG, J. X.; CHEN, C. J.; ZHOU, M. G.; HOU, Y. P. Resistance risk assessment for fluazinam in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 144, p. 27-35, 2018. doi: 10.1016/j.pestbp.2017.10.010

MASCARIN, G. M.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B. Culture media selection for mass production of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinosa*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 753-761, 2010. doi: 10.1590/S1516-89132010000400002

MASCARIN, G. M.; LOPES, R. B.; DELALIBERA JUNIOR, Í.; KAMP, É. K. F.; LUZ, C.; FARIA, M. 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: 10.1016/j.jip.2018.01.001

MYBURGH, M. W. Application of industrial amylolytic yeast strains for the production of bioethanol from broken rice. **Bioresource Technology**, v. 294, 122222, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2019.122222

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. **Ensaio cooperativos de controle químico de mofo-branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (Documento 345)

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; GODOY, C. V. **Controle biológico de mofo-branco na cultura da soja**. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (ed.) Bioinsumos na cultura da soja. Brasília, DF: Embrapa Soja, p. 315-330, 2022.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; OLIVEIRA, M. C. N.; NUNES JUNIOR, J.; LOBO JUNIOR, M.; JACCOUD FILHO, D. S.; VENANCIO, W. S.; MEDEIROS, F. H. V.; JULIATTI, F. C.; CARNEIRO, L. C.; BRUSTOLIN, R. **Experimentos cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja: resultados sumarizados da safra 2019/2020**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 19 p. (Circular técnica, 163).

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. (ed.) *Trichoderma: Usos na agricultura*. Brasília, DF: Embrapa Soja, p. 181-200, 2019.

NAKANO, S. UGWU, C. U.; TOKIWA, Y.. Efficient production of d(-)-lactic acid from broken rice by *Lactobacillus delbrueckii* using Ca(OH)₂ as a neutralizing agent. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 791-794, 2012. doi: 10.1016/j.biortech.2011.10.017

NUNES, L. V.; CORREA, F. F. B.; OLIVA NETO, P.; MAYER, C. R. M.; ESCARAMBONI, B.; CAMPIONI, T. S.; BARROS, N. R.; HERCULANO, R. D.; NÚÑEZ, E. G. F. Lactic acid production from submerged fermentation of broken rice using undefined mixed culture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 4, 79, 2017. doi: 10.1007/s11274-017-2240-7

PELTIER, A. J. BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012. doi: 10.1603/IPM11033

RICHARDSON, A. E.; BAREA, J. M.; MCNEILL, A. M.; PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant and Soil**, v. 321, n. 1-2, p. 305-339, 2009. doi: 10.1007/s11104-009-9895-2

RESEARCH AND MARKET. Global Agricultural Biologicals Market by Function, Product Type (Microbials, Macrobiotics, Semiochemicals, Natural Products), Mode of Application (Foliar Spray, Soil & Seed Treatment), Crop Type, and Region - Forecast to 2027. **Global Agricultural Biologicals Market**, 295 p., 2022. Disponível em: <<https://www.researchandmarkets.com>>. Acesso em: 25 ago. 2022.

RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing

the adaptive responses of tomato plants to salt stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 294, 2017. doi: 10.3389/fpls.2017.00294

SCHOEBITZ, M.; SIMONIN, H.; PONCELET, D. Starch filler and osmoprotectants improve the survival of rhizobacteria in dried alginate beads. **Journal of Microencapsulation**, v. 29, p. 532-538, 2012. doi: 10.3109/02652048.2012.665090

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, 587, 2013. doi: 10.1186/2193-1801-2-587

SILVA, J. C.; BETTIOL, W.; SUASSUNA, N. D. Ramularia leaf spot: an emergent disease of cotton in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 6, p. 473-482, 2019. doi: 10.1007/s40858-019-00308-w

SMITH, P.; GREGORY, P. J. Climate change and sustainable food production. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 72, n. 1, p. 21-28, 2013. doi: 10.1017/S0029665112002832

SOCCOL, C. R. Biotechnology products from cassava root by solid state fermentation. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 55, n. 5-6, p. 358-364, 1996.

SOCCOL, C. R.; DA COSTA, E. S. F.; JUNIOR LETTI, L. A.; KARP, S. G.; WOICIECHOWSK, A. L.; VANDENBERGHE, L. P. S. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 52-71, 2017. doi: 10.1016/j.biori.2017.01.002

SPARK INTELIGÊNCIA ESTRATÉGICA. **Business Intelligence Panel Safra 2020-2021**. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/bip-spark-mostra-aumento-de-37-na-movimentacao-do-mercado-de-produtos-biologicos-para-r-17-bilhao/#:~:text=Sobre%20a%20Spark%20Intelig%C3%Aancia%20Estrat%C3%A9gic&text=A%20Spark%20re%C3%BAne%20hoje%20um,300%20cotas%20de%20estudos%20painel/>>. Acesso em: 23 ago. 2022.

STANBURY, P. F., WHITAKER, A., HALL, S. J. **Media for industrial fermentations**. In: STANBURY, P. F., WHITAKER, A., HALL, S. J. (ed.) Principles of Fermentation Technology. Elsevier, Cambridge, United States, p. 213-272, 2017. doi: 10.1016/B978-0-08-099953-1.00004-1

TAL, Y.; VAN RIJN, J.; NUSSINOVITCH, A. Improvement of mechanical and biological properties of freeze-dried denitrifying alginate beads by using starch as a filler and carbon source. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, p. 773-779, 1999. doi: 10.1007/s002530051461

TILMAN, D.; BALZER, C.; HILL, J.; BEFORT, B. L. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 50, p. 20260-20264, 2011. doi: 10.1073/pnas.1116437108

USDA-NASS. United States Department of Agriculture - National Agricultural Statistics Service. **United States soybean prices**. Washington, DC, 2017.

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

VAN MAELE-FABRY, G.; LANTIN, A. C.; HOET, P.; LISON, D. Childhood leukaemia and parental occupational exposure to pesticides: a systematic review and meta-analysis. **Cancer Causes & Control**, v. 21, n. 6, p. 787-809, 2010. doi: 10.1007/s10552-010-9516-7

VERGER, P. J. P.; BOOBIS, A. R. Reevaluate pesticides for food security and safety. **Science**, v. 341, n. 6147, p. 717-718, 2013. doi: 10.1126/science.1241572

VERMA, M.; BRAR, S. K.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y.; VALERÓ, R. J. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 1, p. 1-20, 2007. doi: 10.1016/j.bej.2007.05.012

WILLETTS, H. J.; WONG, J. A. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **The Botanical Review**, v. 46, n. 2, p. 101–165, 1980. doi: 10.1007/BF02860868

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, p. 71-126, 2014. doi: 10.2174/1874437001408010071

ZAKI, O.; WEEKERSB, F.; THONARTA, P.; TESCHC, E.; KUENEMANN, P.; JACQUESA, P. Limiting factors of mycopesticide development. **Biological Control**, v. 144, 104220, 2020. doi: 10.1016/j.biocontrol.2020.104220

ZHANG, F.; GE, H.; ZHANG, F.; GUO, N.; WANG, Y.; CHEN, L.; JI, X.; LI, C. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 100, p. 64-74, 2016. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.12.017