

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E COLONIZAÇÃO RADICULAR
POR *Trichoderma* spp. EM PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)
E MAMONEIRA (*Ricinus communis* L.)**

CAROLINA YAMAMOTO SANTOS MARTINS

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JUNHO – 2010**

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E COLONIZAÇÃO RADICULAR
POR *Trichoderma* spp. EM PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)
E MAMONEIRA (*Ricinus communis* L.)**

CAROLINA YAMAMOTO SANTOS MARTINS

Engenheira Agrônoma
Universidade Federal de Viçosa, 2001

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Ana Cristina Fermino Soares

Co-Orientador: Jorge Teodoro de Souza

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JUNHO – 2010**

Ficha Catalográfica

M386

Martins, Carolina Yamamoto Santos.

Promoção de crescimento e colonização radicular por *trichoderma* spp em pinhão manso (*Ricinus communis* L). / Carolina Yamamoto Santos Martins. – Cruz das Almas-Ba: UFRB, 2010.

66f.; il.

Orientador: Ana Cristina Fermino Soares.

Co-Orientador: Jorge Teodoro de Souza.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Área de Concentração: Microbiologia Agrícola.

1.Pinhão-manso-cultivo. 2. Biodisel. 3. Plantas oleaginosas. – I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - CCAAB. II. Título.

CDD: 633

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
CAROLINA YAMAMOTO SANTOS MARTINS**

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof^a Dr^a. Carla da Silva Sousa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof^a Dr^a. Maria Catarina Megumi Kasuya
Universidade Federal de Viçosa

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Microbiologia
Agrícola em _____
Conferindo o Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola em _____

Ao meus pais Valdir e Emiko, irmãos
Eduardo e Janaina, ao meu esposo
Márcio, aos meus filhos Bruno e Dante

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Começo meus agradecimentos lembrando Daquele que me concedeu a vida por meio dos meus pais, Supremo Deus, que preenche a minha alma com seu amor incondicional e me faz querer melhorar a cada dia como ser humano.

Aos meus amados pais Valdir e Emiko, que não mediram esforços em investir na minha educação e formação como pessoa, acreditando sempre no meu sucesso e incentivando-me nas decisões mais importantes da minha vida. Minha eterna gratidão.

Aos meus queridos irmãos Eduardo e Janaína, os quais amo muito e tenho profunda admiração por suas qualidades.

Ao meu marido Márcio pelo carinho, amor e dedicação comigo. Sua sabedoria, paciência, conselhos constantes, ajudaram-me em todo o trabalho. Agradeço por ter abdicado de suas férias, viagens para me apoiar e acompanhar braçalmente na execução dos experimentos.

Ao meu filho Bruno que me ensinou o valor de ser mãe, algo imensurável, e que me ensina diariamente com suas descobertas e peripécias.

Ao meu filho Dante que se abriga no meu ventre a espera da oportunidade de desbravar esse mundão.

A Fonseca e Núbia pelos ensinamentos transmitidos, pela amizade e carinho.

À Thomas e Roberta pela amizade, pelo apoio constante e as festas animadas que embalaram os finais de semana.

À Professora Ana Cristina Fermino pela orientação, pelas gostosas gargalhadas ecoadas nos corredores do laboratório. Pela paciência e inúmeras sugestões dadas durante o percurso desse trabalho.

Ao Professor Jorge Teodoro de Souza pelo apoio, orientação, otimismo e praticidade em encontrar soluções para os problemas que surgiam.

Ao Professor André Dias de Azevedo Neto pela disponibilidade de tempo, paciência em acompanhar e ensinar os trabalhos de bancada.

Aos Professores Clóvis Peixoto e Simone Alves por concederem as sementes de mamoneira, colocando-se a disposição do experimento.

Ao Professor Carlos Ledo pela atenção e colaboração na análise dos dados estatísticos.

Aos professores e amigos Phellippe Marbach e Rodrigo Pires pelas conversas, sugestões e empréstimos de materiais.

Aos meus amigos de mestrado, Dayse, Emília, Rafael, Adailson, Aline, Manuela, Lorena, Karol, Jaqueline, Claudia, Neide, Gleide, Ana Cláudia, Adriane, Priscila, Lorena e Selma pela amizade, companhia, aprendizado e bons momentos durante as viagens do PROCAD.

Aos amigos do laboratório de Microbiologia e Fitopatologia: Augusto César, pelas preciosas dicas e orientações, Ana Sacramento, Carolzinha que me auxiliou repetidas vezes, Eliana (Ane), Eliane (Verinha), Erasto, Carla, Darcilúcia (Darcy), Jackeline, Josy, Jefferson pela orientação e experiência transmitidas, Liane, Nara, Nailson, Shirley, Tâmara e aos que recentemente conheci, mas que contribuíram grandemente com o trabalho, Carla, Francisco e Marlon. Ao amigo e companheiro de luta e de correria Marcão. Aos novos que chegaram meu obrigado.

Em especial a Cristiane (Cris) que foi mais do que uma amiga, foi tia (do Bruninho), confidente, meu braço, perna, mãos... Quantos ensinamentos transmitidos na casa de vegetação com nossas conversas que transcenderam tempo e espaço. À Lica, Jurema e Márcia que sempre me ajudaram, bem como a todos, que sem pedir estenderam os braços. À Silvinha que se despencava lá das suas bandas para me ajudar nos serviços mais entediantes. Meus profundos e eternos agradecimentos.

Não poderia me esquecer de Marizete (Mari), com quem aprendi minhas primeiras lições de laboratório e a minha querida Zozilene (Lene), a qual me auxiliou e me ensinou muito, não só nos aspectos técnicos, mas também no que considero mais importante que são os ensinamentos da vida.

A EBDA (Empresa Bahia em Desenvolvimento Agrícola) nas pessoas de Ariosvaldo, Edmundo e em especial a Vladimir que se dispôs a trazer as sementes de mamoneira, concedidas gentilmente.

A Empresa Biojan-MG Agroindustrial Ltda, na pessoa do Dr. Nagashi Tominaga que cederam as sementes de pinhão manso para a realização dos experimentos.

Ao PROCAD (Programa de Cooperação Acadêmica) pela oportunidade das viagens e participação do ENAP-Micro (Encontro Nacional de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo e o projeto de cooperação acadêmico e científica com o Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da UFRB pela oportunidade de desenvolver a pesquisa.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

Página

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO 1

CAPÍTULO 1

Aspectos gerais da cultura do pinhão manso e da mamoneira e aplicabilidade do fungo *Trichoderma* na agricultura e em outros setores de interesse econômico04

1.1. A cultura do pinhão manso06

1.2. A cultura da mamoneira07

1.2.1. O óleo da mamona09

1.3. *Trichoderma* spp.10

1.3.1. Descrição taxonômica10

1.3.2. Aplicações do *Trichoderma* spp.11

CAPÍTULO 2

Promoção de crescimento e colonização radicular por *Trichoderma* spp. em pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)15

Introdução17

Material e Métodos18

Resultados23

Discussão30

CAPÍTULO 3

Promoção de crescimento e colonização radicular por *Trichoderma* spp. em mamoneira (*Ricinus communis* L.)35

Introdução37

Material e Métodos.....	38
Resultados	42
Discussão.....	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
REFERÊNCIAS.....	56

RESUMO

MARTINS, C. Y. S. Promoção de crescimento e colonização radicular por *Trichoderma* spp. em pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) e mamoneira (*Ricinus communis* L.)

A busca por fontes de energia renovável em substituição a derivada de petróleo incentivou pesquisas e tecnologias voltadas para este fim. Com o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) lançado pelo Governo Federal, culturas oleaginosas tornaram-se alvo de estudos. O pinhão manso e a mamoneira são plantas com grande potencial para a utilização na produção de biodiesel. Ambas possuem características de rusticidade e adaptabilidade às condições climáticas da região Nordeste do Brasil, além de ser uma alternativa viável para a agricultura familiar. Apesar das perspectivas positivas, são necessárias informações seguras a respeito do cultivo, do manejo, da fisiologia destas plantas bem como suas interações com microrganismos no solo para potencializar a produtividade. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de 24 isolados de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento e colonização radicular dessas duas culturas. Foi realizada a caracterização bioquímica dos isolados, avaliação nutricional das plantas inoculadas, testes de promoção de crescimento com inoculação das sementes e com inoculação e incubação do solo por diferentes períodos (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias). Para o pinhão manso, os isolados TCS4, TCS1, TC10, 312 e ES15 proporcionaram aumento na altura da planta. O isolado TR7 proporcionou aumento na produção da matéria seca da raiz e do conteúdo de nitrogênio da planta. Para a mamoneira, os isolados TC40 e 312 proporcionaram aumento na altura da planta, enquanto que os isolados TCS12, TCS6, ES8, 312, TCS1, ES5, TC40 e ES6 proporcionaram aumento do diâmetro do caule. Apenas o isolado TR7 proporcionou aumento da matéria seca da parte aérea. Nenhum dos isolados testados proporcionaram aumento no número de folhas e na matéria seca da raiz. Os isolados TR7, TSO4 e TR8 promoveram o aumento do conteúdo de nitrogênio na planta. Não foi observado efeito de qualquer dos isolados testados no conteúdo de fósforo e potássio. Nos testes de inoculação e incubação do solo com *Trichoderma*, 30 dias foi o tempo que proporcionou maior matéria seca da

parte aérea e da raiz. A inoculação do solo com *Trichoderma* e incubação por 25 dias proporcionou os melhores resultados para altura da planta, com os isolados ES3, TCS30, TCS4, ES4, TC40, ES15, ES5, TC 10 e TCS12. O isolado ES3 proporcionou aumento na matéria seca da parte aérea e o isolado TC40 da matéria seca da raiz. Os isolados TCS24, ES15, TR7 e TR8 apresentaram atividade celulolítica, enquanto TCS27 e TC8 apresentaram capacidade de solubilização de fosfato. Todos isolados não apresentaram atividade quitinolítica, xilanolítica e não produziram ácido indolacético. Entretanto, os isolados testados foram capazes de colonizar o sistema radicular, exceto o TCS 12 para a mamoneira, observando-se correlação linear positiva entre a colonização radicular e a altura das plantas em ambas as culturas. Novos trabalhos deverão ser realizados com o propósito de aprofundar os conhecimentos referentes à interação do fungo *Trichoderma* e as culturas de interesse bioenergético.

Palavras chaves: energia renovável, biodiesel, produção de mudas

ABSTRACT:**MARTINS, C. Y. S. Growth promotion and root colonization by *Trichoderma* spp. in physic nut (*Jatropha curcas* L.) and castor bean (*Ricinus communis* L.)**

The search for renewable energy sources to replace petroleum has encouraged research activities for the development of technologies for this purpose. With the National Program of Biodiesel Production and Use (PNPB) launched by the Federal Government, oil crops have become the focus of these studies. Physic nut and castor bean have great potential for biodiesel production. Both are rustic and adapted to the climatic conditions of the Northeastern region of Brazil, constituting a viable alternative for family-based farming. Despite the positive perspectives for these crops, reliable information about cultivation systems, crop management, plant physiology and plant interactions with soil microorganisms is still necessary to increase productivity. This study aimed to evaluate the potential of 24 isolates of *Trichoderma* spp. on plant growth promotion and endophytic colonization of castor bean and physic nut. *Trichoderma* isolates were evaluated for their capacity to produce extracellular enzymes, indol acetic acid, and for phosphate solubilization. Additionally, plant nutritional status, plant growth promotion with seed inoculation and soil inoculation and incubation for different periods of time (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days) were evaluated. Isolates TCS4, TCS1, TC10, 312 and ES15 promoted an increase in physic nut height. Isolate TR7 promoted an increase in physic nut nitrogen content and root dry weight. Isolates TC40 and 312 promoted an increase in castor bean plant height, while isolates TCS12, TCS6, ES8, 312, TCS1, ES5, ES6, TC40 and ES6 increased stem diameter. Only isolate TR7 was able to increase shoot dry matter of castor bean plants. None of the isolates tested promoted an increase in the number of leaves and root dry matter. Isolates TR7, TR8 and TSO4 increased plant nitrogen content, but had no effect on phosphorus and potassium contents. Thirty-day incubation periods promoted the best results for plant shoot and root dry matter. Soil inoculation with isolates ES3, TCS30, TCS4, ES4, TC40, ES15, ES5, TC10 and TCS12 of *Trichoderma* spp. and incubation for 25 days promoted

the best results for plant height. ES3 promoted an increase in shoot dry weight and TC40 in root dry weight. Isolates TCS24, ES15, TR7 and TR8 are producers of cellulase, while TC8 and TCS27 were able to solubilize phosphate. The other isolates were not able to produce chitinase, xylanase and indol acetic acid. All isolates were able to colonize the root system of both plant species, with the exception of TCS12 in castor bean. Linear and positive correlation was observed for root colonization and plant height for both physic nut and castor bean. Further research work is necessary in order to gain more knowledge regarding the interaction of the fungus *Trichoderma* and bioenergy crops.

Key words: Renewable energy, biodiesel, seedling production

INTRODUÇÃO

O Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), lançado pelo Governo Federal em 6 de dezembro de 2004, incentiva a utilização de combustíveis provenientes de fontes renováveis de energia, garantindo o fornecimento energético com base na sustentabilidade ambiental, econômica, social e tecnológica. A crescente demanda por este tipo de combustível derivado de biomassa renovável revela o potencial brasileiro, devido ao clima e solo, para atender essa necessidade, gerando emprego e renda para a agricultura familiar, reduzindo as disparidades regionais.

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) e a mamoneira (*Ricinus communis* L.) são das poucas culturas adaptadas às condições semi-áridas do nordeste brasileiro e com potencial para a produção de biodiesel em sistemas de cultivo familiares. Ambas são culturas de escolha para o desenvolvimento de projetos relacionados com a agricultura familiar e programas de produção de biodiesel na Bahia por apresentarem características adaptativas ao clima e solo dessa região, além de certa rusticidade ao estresse hídrico.

Os sistemas de produção agrícola com base nos princípios agroecológicos, que visam a sustentabilidade da produção agrícola, estão cada vez mais voltados para a melhor compreensão e utilização dos processos microbiológicos que ocorrem no solo e na planta. A produção sustentável do pinhão manso e da mamoneira exige estudos das interações com microrganismos associados à cultura, a exemplo da associação com *Trichoderma* spp. Estes fungos podem agir como promotores de crescimento de plantas e indutores de resistência a doenças, aumentando o potencial produtivo da cultura, com melhor utilização dos recursos naturais.

Em face ao quase total desconhecimento da associação do pinhão manso e da mamoneira com isolados de *Trichoderma* spp., o objetivo geral deste trabalho foi estudar diferentes isolados de *Trichoderma* spp. da coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola da UFRB para promoção de crescimento e colonização radicular dessas culturas.

O capítulo 1 apresenta a revisão bibliográfica sobre os aspectos gerais da cultura do pinhão manso e mamoneira, bem como sobre o fungo *Trichoderma* e suas aplicações na agricultura, e em outros setores de importância econômica.

O capítulo 2 apresenta os experimentos realizados com 24 isolados de *Trichoderma* spp. para a promoção do crescimento e colonização radicular em mudas de pinhão manso. Determinou-se a produção de enzimas extracelulares, ácido indolacético, capacidade de solubilização de fosfatos e de promoção de crescimento desses isolados e os teores de N, P e K para as mudas tratadas com apenas quatro isolados.

No capítulo 3, são apresentados os trabalhos conduzidos com os 24 isolados de *Trichoderma* spp. para a promoção de crescimento e colonização radicular em mudas de mamoneira. Foi avaliado também o efeito da inoculação do solo com *Trichoderma* spp. e incubação por diferentes períodos de tempo, na promoção de crescimento da mamoneira.

CAPÍTULO 1

Aspectos gerais da cultura do pinhão manso e da mamoneira e aplicabilidade do fungo *Trichoderma* na agricultura e em outros setores de interesse econômico

RESUMO

MARTINS, C. Y. S. Aspectos gerais da cultura do pinhão manso e da mamoneira e aplicabilidade do fungo *Trichoderma* na agricultura e em outros setores de interesse econômico.

Neste capítulo foi realizada uma revisão sobre os aspectos gerais da cultura do pinhão manso e da mamoneira que são plantas oleaginosas com grande potencial para a produção de biodiesel. Informações a respeito do centro de origem, breve descrição botânica, uso para fins medicinais, proteção do solo, utilização dos produtos e co-produtos na indústria química, entre outras são trazidas a fim de elucidar e ressaltar a importância que essas plantas possuem para o homem do campo e para regiões do semi-árido nordestino, onde essas culturas apresentam características de rusticidade e adaptabilidade às condições edafoclimáticas desses locais. Adicionalmente, foi abordada a descrição taxonômica do fungo *Trichoderma* e sua aplicação em diversas áreas de interesse tanto agrônomo, pela promoção de crescimento de plantas e controle biológico, quanto industrial, devido à produção de enzimas utilizadas no processamento de alimentos, na indústria têxtil, de celulose e na alimentação animal.

Palavras-chaves: Plantas oleaginosas, semi-árido, controle biológico

ABSTRACT:

MARTINS, C. Y. S. General aspects of the cultivation of jatropha and castor bean and applicability of the fungus *Trichoderma* in agriculture and other sectors of economic interest.

This chapter is a review about the general aspects of jatropha and castor oil plants which are crops with great potential for biodiesel production. Information about the center of origin, brief botanical description, use for medical purposes, protection of soil, use of products and by-products in the chemical industry is pointed out in order to elucidate and emphasize the importance that these plants have in the rural and semi-arid regions of the Northeastern region of Brazil, where these crops exhibit adaptability to the ecological conditions. Additionally, we addressed the taxonomic description of the fungus *Trichoderma* and its application in various areas of agronomic interest, both by promoting plant growth and biological control, and also of industrial interest, due to production of enzymes used in food processing, in textiles, pulp and animal feed.

Key words: Oilseeds, semi-arid, biological control

1.1. A cultura do pinhão manso

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma planta originária da América Central onde ocorre naturalmente nas florestas tropicais da região costeira do México, mas já foi disperso e encontrado em áreas tropicais e subtropicais da África e da Ásia (OPENSHAW, 2000). Pertence à família Euphorbiaceae, conhecida popularmente como figo-do-inferno, grão-de-maluco, medicineira, pinhão de cerca, pinhão do paraguai, entre outros. É um arbusto/árvore com até 4 m de altura. As flores são pequenas amarelo-esverdeadas e o fruto é uma cápsula com três sementes escuras, lisas, das quais se extrai a amêndoa branca, tenra e rica em óleo. É uma planta que pode ser usada para prevenir e/ou controlar a erosão, na produção de sabão, apresenta aplicação medicinal devido a forte ação purgativa, podendo ser utilizada como cerca viva para conter animais, além de possuir valor biocida tais como molusquicida, nematocida e fungicida, entre outros (KUMAR & SHARMA, 2008). As sementes contêm vários compostos tóxicos ou antinutricionais como inibidores de tripsina, lecitinas, saponinas, fitatos, cursina e principalmente ésteres de forbol (MAKKAR et al.;1997). A ingestão das sementes pode causar tonturas, diarreias, vômitos e nos casos mais graves levar à morte (BECKER & MAKKAR, 1998). Portanto, a completa remoção das toxinas é necessária antes da aplicação na indústria, na medicina humana ou para usos comerciais (KUMAR & SHARMA, 2008).

As perspectivas com o cultivo do pinhão manso para a produção de biodiesel são grandes, principalmente por suas sementes serem ricas em óleo, apresentar baixo custo de produção por ser uma planta perene, ser resistente ao estresse hídrico, o que favorece seu cultivo na região semi-árida do país devido às condições climáticas (BELTRÃO et al., 2006). Seu desenvolvimento ocorre em amplo regime pluviométrico, entre 200 a 1.500 mm por ano (OPENSHAW, 2000).

Seu potencial energético é reconhecido e o óleo da semente é constituído por quatro dos principais ácidos graxos: palmítico, esteárico, oléico e linoléico (HELLER, 1996), sendo seu óleo de excelente qualidade para produção de biodiesel (ATCHEN et al., 2008).

Os investimentos massivos com o pinhão ao redor do mundo não estão suficientemente embasados nos conhecimentos científicos sobre esta cultura. O pinhão ainda não foi totalmente domesticado e ainda não existe nenhum programa de melhoramento genético bem estabelecido no mundo que tenha alcançado resultados em, pelo menos, uma cultivar, cuja exploração seja segura do ponto de vista agro-econômico e industrial (BELTRÃO et al. 2006). Apesar de diversos países da América do Sul e Central, África e Ásia manterem programas oficiais ou iniciativas particulares incentivando o plantio de pinhão manso, em nenhum deles esta cultura é tradicional onde se possa confirmar sua produtividade e rentabilidade (SEVERINO et al., 2006).

Apesar do seu grande potencial, faltam informações técnicas referentes aos aspectos agrônômicos, produção do óleo para fins combustíveis, e estudos para cada região do nosso país com aptidão ao desenvolvimento dessa cultura. Portanto, há necessidade de reforçar os investimentos em pesquisa para esta cultura, e sua manutenção por longo prazo, para que as atividades possam chegar a resultados satisfatórios (BELTRÃO et al., 2006).

1.2. A cultura da mamoneira

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma planta pertencente à família da Euphorbiaceae que apresenta alto teor de óleo na semente. Esta oleaginosa, possivelmente originária da Ásia (BELTRÃO et al., 2002) está disseminada em quase todo território brasileiro e, por ser uma planta xerófila e heliófila é tolerante a seca, exigente em calor e luminosidade. Necessita de chuvas regulares na fase vegetativa e de seca na maturação dos frutos, condições climáticas encontradas principalmente na região nordeste.

É uma cultura que tem vários produtos e co-produtos com novos usos na indústria química fina, com mais de 700 produtos manufaturados. Seu óleo tem características como alta densidade e viscosidade, solúvel em álcool a temperatura ambiente, conferindo-lhe uma importante característica para a produção do biodiesel.

A torta, produto da extração do óleo é rica em fibra, com mais de 35%, e cerca de 5% de nitrogênio, sendo um excelente fertilizante e condicionante do solo (BELTRÃO et al., 2003a). Além do seu uso como adubo orgânico, por conter 89% de matéria orgânica (SAVY, 2007), a torta tem efeito nematicida como em trabalho demonstrado por Dutra et al. (2006) em cafeeiros irrigados. Depois de moída, a torta poderia ser utilizada para obtenção do farelo em rações animais, devido ao seu alto teor de proteínas. Contudo, o seu uso como alimento animal é inviável por conter elementos tóxicos e alergênicos na sua composição (HOFFMAN et al., 2007). O processo de destoxificação por tratamentos térmicos e químicos é facilmente obtido, porém falta tecnologia economicamente viável em nível industrial para seu processamento (HOFFMAN et al., 2007).

O Brasil importa o diesel mineral na forma de petróleo e também já pronto, o equivalente a cerca de 30% do diesel que é consumido hoje no país, ou seja, mais de 10 bilhões de litros por ano. Poder-se-ia produzir esses 30% com o óleo da mamona no semi-árido brasileiro nos nove Estados do Nordeste e no Norte de Minas Gerais, gerando emprego e renda para mais de 2,5 milhões de pessoas (BELTRÃO, 2003b).

Os principais produtores são a Índia e a China, com 60% e 20% da produção mundial, respectivamente. Na América do Sul, os principais produtores são o Brasil, com cerca de mais de 100 mil toneladas, em 2005, e o Paraguai, com produção entre 10 e 25 mil toneladas (HOFFMAN et al., 2007). No Brasil, a produção de mamoneira está concentrada na Região Nordeste, principalmente no estado da Bahia, com cerca de 80% do total de área plantada (SAVY, 2007).

A baixa produtividade, na maioria das regiões produtoras do Brasil, deve-se a sementes não selecionadas de mamona (FREIRE et al., 2001). A utilização da semente melhorada representa fator de grande importância numa cultura, pois a produtividade e a qualidade de produto dependem principalmente da qualidade da semente. As principais cultivares melhoradas disponíveis no mercado brasileiro são: IAC 38, Campinas, Guarani, IAC 80, IAC 226, BRS 188 Paraguaçu, BRS 149 Nordestina (MENDES, 2005).

No Nordeste brasileiro são utilizadas cultivares locais adaptadas à região como Canela-de-juriti, Amarela-de-irecê, Sangue-de-boi, Pernambucana, Sipeal 28, Baianita e outras, que são pouco produtivas, deiscentes, de porte alto, tardias,

de baixo teor de óleo e susceptíveis às principais doenças que ocorrem na região. (MENDES, 2005).

A EBDA (Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola) desenvolve atividades de pesquisa com a mamoneira e abriga o Banco Ativo de Germoplasma, que já introduziu 859 acessos dos quais 512 tiveram suas características morfológicas descritas utilizando-se descritores mínimos e 227 destes acessos encontram-se na Coleção de Base do CENARGEN (BELTRÃO, 2009).

As cultivares EBDA MPB 01 (porte baixo) e MPA 11 (porte alto) são indicadas para a agricultura familiar em sistema de consórcio com culturas alimentares, e representam mais uma opção para o fornecimento de matéria prima no programa de Biodiesel por permitir a utilização de tecnologias mais avançadas como adubação e irrigação, possibilitando um maior retorno por unidade de capital aplicado, permitindo a inserção do empresário agrícola no programa e redução do custo final do biodiesel (SANTIAGO et al., 2009).

1.2.1. O óleo de mamona

O óleo de mamona apresenta propriedades que lhe conferem vantagem quando comparado com as demais espécies, pois sua viscosidade é bem superior a de outros óleos vegetais por conter atipicamente em sua composição um ácido graxo de cadeia insaturada e hidroxila (ácido ricinoléico) (KHALIL, 2004). A alta viscosidade do óleo é indicada na fabricação de lubrificantes, mas por outro lado, é um problema a ser contornado na produção do biodiesel, pois a viscosidade deste combustível tem que se enquadrar no limite especificado pela ANP (2003). Outra vantagem é a sua solubilidade em álcool a temperatura quase que ambiente, enquanto que nos demais óleos a dissolução só ocorre em temperaturas superiores a 75 °C (BELTRÃO, 2003b).

Além da utilização na fabricação do biodiesel, o óleo de mamona tem várias aplicações industriais sendo utilizado na fabricação de tintas, vernizes, cosméticos, sabões, plásticos, fibras sintéticas, lubrificantes, corantes, anilinas,

desinfetantes, germicidas, colas, aderentes, fungicidas, inseticidas, nylon, próteses e implantes (SANTOS et al., 2001).

A porcentagem do óleo nas sementes varia de acordo com o ambiente de cultivo e a cultivar, ficando em torno de 40 a 60 tendo como valor ideal entre 45 e 50% para que o teor do ácido graxo ricinoléico esteja pelo menos em 89% do total do óleo, garantindo as propriedades adequadas para sua utilização (BELTRÃO, 2003b).

A adição de óleos vegetais ao diesel mineral pode proporcionar uma redução significativa na emissão de gases poluentes e, a adição de apenas 5% de biodiesel na mistura (B5) poderá promover uma redução na poluição atmosférica de mais de 13%, sendo que, quando puro (B100) a redução dos gases causadores do efeito estufa pode diminuir entre 78 a 100% (BELTRÃO, 2003b).

Para os agricultores familiares, o cultivo de plantas oleaginosas como dendê, pinhão manso, mamoneira, ao contrário de outras culturas como soja, girassol, algodão, representa a fixação e manutenção do trabalhador rural no campo, gerando renda e atenuando o problema de evasão da área rural e inchamento das áreas urbanas. Estudos envolvendo essas culturas devem ser conduzidos e incentivados, não só do ponto de vista agrônomo, mas biológico, considerando que pouco se conhece sobre as interações dessas plantas com microrganismos do solo.

1.3. *Trichoderma* spp.

1.3.1 Descrição Taxonômica

Trichoderma spp. é um fungo de solo, cosmopolita, gênero classificado como imperfeito, pertencente ao filo Ascomycota e ordem Hypocreales (DRUZHININA & KUBICEK, 2005). O gênero *Trichoderma* foi proposto por Persoon em 1794 com base em materiais coletados na Alemanha, incluindo quatro espécies na descrição. Em 1969 foi reclassificado por Rifai. A partir daí,

um maior número de espécies foi agregado ao gênero, chegando à atualidade com cerca de 83 taxons (espécies, formas e variedades), incluindo *Trichoderma* spp. e *Hypocrea* (SAMUELS, 2006).

Hypocrea é o gênero que constitui a segunda fase que *Trichoderma* spp. possui, denominada de teleomórfica.

As espécies do gênero *Trichoderma* apresentam micélio constituído de hifas hialinas muito ramificadas e de parede lisa. Em meio de cultura, as colônias apresentam inicialmente, superfície lisa e quase translúcida, tornando-se posteriormente flocosas e quase compactas (ETHUR, 2006). O crescimento rápido em culturas, a produção de um micélio aéreo esparso, o tipo de ramificação dos conidióforos e o modo de disposição das fiáldes são características utilizadas para distinguir as espécies desse gênero (BISSET, 1991).

Apesar do gênero *Trichoderma* ser encontrado em quase todos os solos e ser coletado em matéria orgânica em várias latitudes, algumas espécies têm ampla distribuição enquanto outras têm distribuição geograficamente limitada, como no caso do *T. polysporum* e *T. minutisporum* que são espécies de regiões frias (SAMUELS, 2006). Turner et al. (1997) observaram que *T. longibrachiatum* foi encontrado na América do Norte e do Sul, Europa, África e Índia, mas não no sudeste da Ásia e Austrália. Algumas espécies de *Trichoderma* como *T. harzianum* e *T. asperellum* são cosmopolitas (SAMUELS, 2006).

1.3.2. Aplicações de *Trichoderma* spp.

Fungos do gênero *Trichoderma* têm sido relatados como promotores de crescimento de plantas por meio de mecanismos como produção de fitohormônios, a exemplo do ácido indolacético, (WAHID et al., 2007), citocinina, giberilina (ALTOMARE et al., 1999), que estimulam a germinação e desenvolvimento das plantas, atividade solubilizadora de fosfato (VALENCIA et al., 2007), e decomposição de matéria orgânica, disponibilizando nutrientes para as plantas (GODES, 2007).

Diversas enzimas hidrolíticas e celulolíticas são produzidas por *Trichoderma*, a exemplo de *T. reesei* que produz múltiplas enzimas celulolíticas e

hemicelulósicas. Essas enzimas podem ser aplicadas na reciclagem de materiais compostos de celulose produzindo derivados úteis (ESPOSITO & SILVA, 1998).

As xilanases podem ser aplicadas na indústria para alimentação animal, no processamento de alimentos, na indústria têxtil, na fabricação de papel e celulose, na disponibilidade de nutrientes por meio da hidrólise de hemicelulose, sendo os fungos do gênero *Trichoderma*, a principal fonte dessas enzimas (XIONG et al., 2004).

Este fungo é utilizado para o controle biológico devido à alta capacidade reprodutiva, a sobrevivência em condições ambientais não favoráveis, eficiência na utilização de nutrientes, agressividade contra fungos fitopatogênicos, (BENÍTEZ et al, 2004). De acordo com estes autores, *Trichoderma* pode agir de forma indireta no controle competindo por espaço e nutrientes, modificando as condições ambientais, promovendo crescimento de plantas, ativando mecanismos de defesa de plantas, produzindo antibióticos, inativando as enzimas do patógeno ou, diretamente, mediante o micoparasitismo. Enzimas capazes de degradar a parede celular de fungos fitopatogênicos, tais como quitinase, endoquitinase e glucanase parecem ter importante papel na ação antagônica de *Trichoderma viride* sobre patógenos de pós-colheita, como observado por RAJENDIRAN et al. (2010).

Alguns produtos comerciais de espécies de *Trichoderma* são encontrados no mercado. O Trichodex tem como agente o *Trichoderma harzianum* utilizado para o controle do fungo causador da podridão pós-colheita da maçã. Essa mesma espécie, misturada com *Trichoderma polysporum* compõem o produto Binab-T, utilizado para controlar o apodrecimento da madeira (RICARD, 1981). *Trichoderma harzianum* AG2, obtido a partir da fusão de protoplasto é usado para o controle de diversas doenças veiculadas pelo solo (HARMAN, 1990). O GlioGard tem como agente ativo o *Trichoderma virens*, usado para prevenir o tombamento de plântulas causado por espécies de *Pythium* e *Rhizoctonia* (LUMSDEN & LOCKE, 1989).

Trichoderma spp. são reconhecidos como organismos que atuam na decomposição da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes. Diversos trabalhos demonstram o potencial que esses fungos possuem para a decomposição de xenobióticos, a exemplo *T. harzianum* e *T. viride* que

apresentaram capacidade de degradação de compostos organoclorados, em testes *in vitro* (SMITH, 1995). O fungo *Trichoderma harzianum* é capaz de degradar compostos clorofenólicos, incluindo pesticidas como o Glifosato, DDT, Dieldrin, Endosulfan, entre outros (KATAYAMA & MATSUMURA, 1993). Foi demonstrada a capacidade de *Trichoderma viride* de transformar o inseticida photodieldrin em compostos não tóxicos e solúveis em água (TABET & LINCHTENSTEIN, 1976).

O gênero *Trichoderma* apresenta grande potencial para aplicação em diversas áreas de interesse ambiental, industrial e agrícola. A melhor compreensão da taxonomia, definição de espécies, estudos morfológicos e bioquímicos, bem como os estudos sobre as interações que ocorrem entre as plantas e esses microrganismos servirão de impulso para a geração de conhecimento e novas tecnologias aplicadas aos sistemas de produção destas culturas de importância econômica.

CAPÍTULO 2

Promoção de crescimento e colonização radicular por *Trichoderma* spp. em pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)

RESUMO

MARTINS, C. Y. S. Promoção de crescimento e colonização radicular por *Trichoderma* spp. em pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento e colonização radicular de mudas de pinhão manso. Foram testados 24 isolados, sendo 10 obtidos da cultura do cacau (*Theobroma cacao* L.) (ES3, ES4, ES5, ES6, ES8, ES15, TC8, TC10, TC40 e 312), 10 da cultura do sisal (*Agave sisalana* L.) (TCS1, TCS4, TCS6, TCS8, TCS9, TCS12, TCS24, TCS27, TCS30 e TCS32) e quatro da cultura do pinhão manso (TSO3, TSO4, TR7 e TR8). As sementes de pinhão manso foram microbiolizadas em suspensão de esporos de *Trichoderma* (10^7 conídios por mL⁻¹) e plantadas em sacos de polietileno, contendo solo de área de pastagem. Aos 45 dias após a germinação, as mudas foram coletadas e foram realizadas as avaliações de altura das plantas, número de folhas, diâmetro do caule, produção de matéria seca na parte aérea e raiz. Foi avaliada a capacidade de produção das enzimas celulase, xilanase e quitinase, de ácido indolacético, de solubilização de fosfato e de colonização radicular *in vitro* pelos isolados de *Trichoderma*. Foram analisados os teores de N, P e K na parte aérea das mudas oriundas de sementes microbiolizadas com os isolados TSO3, TSO4, TR7 e TR8. Os isolados TCS4, TCS1, TC10, 312 e ES15 proporcionaram aumento na altura das plantas. Os isolados TCS24, ES15, TR7, TR8 apresentaram atividade celulolítica, enquanto que TCS27 e TC8 apresentaram capacidade de solubilização de fosfato. Nenhum isolado avaliado apresentou atividade quitinolítica, xilanolítica e nem produção de ácido indolacético. Apenas o isolado TR7 proporcionou aumento do conteúdo de nitrogênio e na matéria seca da raiz. Todos os isolados colonizaram o sistema radicular, mas só houve correlação linear positiva entre a colonização radicular e a altura das plantas. Os isolados de *Trichoderma* spp. testados neste trabalho não demonstraram potencial para promoção de crescimento das mudas de pinhão manso, nas condições estudadas.

Palavras chaves: Microbiolização de sementes, mudas, oleaginosas

ABSTRACT

MARTINS, C. Y. S. Physic nut (*Jatropha curcas* L.) growth promotion and root colonization by *Trichoderma* spp.

The aim of this study was to evaluate growth promotion and endophytic colonization by *Trichoderma* spp. in seedlings of physic nut. Twenty four isolates were tested: 10 from cacao plants (*Theobroma cacao* L.) (ES3, ES4, ES5, ES6, ES8, ES15, TC8, TC10, TC40 and 312), 10 from sisal (*Agave sisalana* Perrine) plants (TCS1, TCS4, TCS6, TCS8, TCS9, TCS12, TCS24 , TCS27, and TCS30 TCS32) and four from physic nut (TSO3, TSO4, TR7 and TR8). Seeds inoculated with *Trichoderma* spp. were planted in a greenhouse and after 45 days were harvested and evaluated for plant height, leaf number, stem diameter, shoot and root dry weight. Production of cellulase, xylanase and chitinase, indol acetic acid, capacity for phosphate solubilization and root colonization were evaluated in vitro. The contents of the macronutrients N, P and K were determined for plants treated with isolates TSO3, TSO4, TR7 and TR8. Only isolates TCS4, TCS1, TC10, 312 and ES15 promoted an increase in plant height. Isolates TCS24, ES15, TR7, and TR8 presented celulolytic activity and isolates TCS27 and TC8 presented capacity for phosphate solubilization. The isolates did not present chytinolytic and xilanolytic activity nor indol acetic acid production. Only isolate TR7 promoted an increase in leaf nitrogen content and in root dry matter. All isolates colonized the root system. A positive linear correlation was found between root colonization and plant height. The *Trichoderma* spp. isolates did not show high potential for physic nut growth promotion under the conditions of this study.

Keywords: Seed microbiolization, seedling growth, oilseeds

INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) pertence à família das Euphorbiaceas, com características fisiológicas adaptadas às regiões áridas e semi-áridas, principalmente por apresentar relativa rusticidade e certa tolerância à seca (BANERJI et al., 1985). No Brasil, sua distribuição geográfica é bastante ampla, podendo ser encontrada na região Nordeste, Sudeste e no estado do Paraná (ARRUDA et al., 2004; SATURNINO et al., 2005).

A planta pode ser aproveitada integralmente, com utilização econômica na medicina tradicional, produção de sabão, iluminação através de lamparinas, geradores de eletricidade, combustível para fogões, extratos da semente como molusquicida, inseticida e nematicida. É considerada planta melífera, podendo ser utilizada como cerca-viva em pastagens e campos agrícolas, por não ser palatável, e para suporte para plantas epífitas como no caso da baunilha (*Vanilla aromatica*) (SATO et al., 2009).

O interesse por essa planta oleaginosa deve-se ao fato das suas sementes serem utilizadas como fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel. Em cultivos comerciais, a produtividade média é de 5 t/ha, com a cultura estabelecida em condições favoráveis (disponibilidade de água e nutrientes) e cerca de 32% deste valor pode ser convertido em óleo vegetal (aproximadamente 1600 L/ha) (TEIXEIRA, 2005), aspecto que torna a cultura competitiva economicamente frente às outras oleaginosas (MIRAGAYA, 2005).

Trichoderma é um gênero de fungo de vida-livre que se reproduz assexuadamente, comumente encontrado em quase todos os solos de clima temperados e tropicais (HARMAN et al., 2004). Segundo estes autores, a fase sexual, teleomórfica (gênero *Hypocrea*) é mais frequentemente encontrada na superfície de plantas lenhosas e herbáceas. Este fungo apresenta alta diversidade genética e pode ser explorado para a produção de vários produtos de interesse comercial e ecológico. Diversas espécies de *Trichoderma* são eficientes produtoras de enzimas extracelulares que degradam celulose, além de produzirem substâncias com atividades antibióticas (HARMAN et al., 2004). Este fungo é um promissor agente de biocontrole por apresentar mecanismos com

ação direta sobre outros fungos, como o micoparasitando (BENÍTEZ et al., 2004) ou com ação indiretamente, competindo com outros microrganismos por nutrientes e/ou espaço (ELAD, 1996), produzindo antibióticos, inibindo ou degradando pectinases e outras enzimas essenciais para fungos patogênicos de plantas, como *Botrytis cinerea* que penetra pela superfície da folha (ZIMAND et al., 1996).

Fungos do gênero *Trichoderma* também exercem efeitos benéficos no crescimento de plantas, proporcionando o aumento do crescimento das raízes, o controle de microrganismos deletérios, a degradação de metabólitos tóxicos produzidos por esses microrganismos deletérios e o controle direto de patógenos da raiz (HARMAN et al., 2004).

Estudos agrônômicos referentes ao manejo e também sobre as interações ecológicas do pinhão manso com microrganismos do solo, a exemplo de *Trichoderma* spp., poderão contribuir para maximizar seu potencial de produção como fonte de matéria-prima para o biodiesel. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento e colonização radicular de mudas de pinhão manso.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados de *Trichoderma* spp.

Os isolados de *Trichoderma* spp. foram multiplicados em meio de cultura BDA 1/5 (Batata Dextrose Agar com o teor de nutrientes diluído para 1/5 com água), a temperatura ambiente ($28\pm 2^\circ\text{C}$), por aproximadamente sete dias. Vinte isolados da coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Campus Cruz das Almas – BA, foram utilizados, sendo que seis isolados foram obtidos de ramos de cacaueteiro em decomposição (ES3, ES4, ES5, ES6, ES8 e ES 15), quatro do interior de troncos de cacaueteiros sadios (TC8, TC10, TC40 e 312) e dez de solo rizosférico da cultura do sisal (TCS1, TCS4, TCS6, TCS8, TCS9, TCS12, TCS24, TCS27, TCS30 e TCS32). Adicionalmente, quatro isolados foram obtidos de solo rizosférico (TSO3 e TSO4) e raízes (TR7 e TR8) de pinhão-manso e

utilizados separadamente em experimentos para avaliação da promoção de crescimento e dos conteúdos de N, P e K em mudas de pinhão manso.

O inóculo para os experimentos foi produzido por raspagem dos conídios da superfície das culturas de *Trichoderma* spp., com água destilada e esterilizada, com auxílio da alça de Drigalsky. Em seguida, a concentração de conídios foi ajustada para 10^7 conídios mL⁻¹, por contagem em câmara de Neubauer, sob microscópio ótico.

Microbiolização da semente de pinhão manso por *Trichoderma* spp.

Sementes de pinhão manso foram cedidas gentilmente pela empresa Biojan-MG Agroindustrial Ltda. Estas foram tratadas por imersão em suspensão de conídios de *Trichoderma* spp., contendo 10^7 conídios mL⁻¹, por um período de 15 min e em seguida realizado o plantio de duas sementes por saco de polietileno contendo aproximadamente 3 L de solo de pastagem não esterilizado. Após a semeadura, aplicou-se uma alíquota de 1000 µl de cada tratamento (suspensão de esporos de *Trichoderma* spp. na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹) sobre a semente. No tratamento controle, as sementes foram imersas em água destilada e esterilizada pelo mesmo período. As plantas foram mantidas em estufa agrícola no campo experimental do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola, Campus de Cruz das Almas.

Foi feito o desbaste, deixando-se apenas uma planta por saco. As plantas foram irrigadas diariamente e, aos 45 dias avaliou-se a altura das plantas, com auxílio de trena, número de folhas e diâmetro do caule a 1 cm da base, com auxílio de paquímetro digital. Aos 45 dias realizou-se a coleta das plantas, separando-se a parte aérea das raízes, sendo estas lavadas em água corrente. Pesou-se a massa fresca da parte aérea e ambas as partes vegetativas foram colocadas em estufa com ventilação forçada a temperatura de 65°C para secagem até obtenção da massa constante. Após secagem em estufa, determinou-se o peso da matéria seca da parte aérea e das raízes em balança analítica.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cinco repetições por tratamento. Os dados foram submetidos a análise de variância e

comparação de médias pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

Caracterização química do solo

O solo foi coletado na camada de 0-20 cm de profundidade, em área de pastagem no Campus de Cruz das Almas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. A análise química da amostra de solo foi realizada no Laboratório de Solos da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, conforme metodologia proposta pela Embrapa (1997). Foram determinadas as seguintes características químicas: pH, potássio (K), fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), acidez potencial (H+Al), e teor de matéria orgânica (MO) (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química da amostra de solo coletada na camada de 0-20 cm.

Determinação	pH	P (mg dm ⁻³)	K	Ca (cmol _c dm ⁻³)	Mg	H+Al (mmol _c kg ⁻¹)	CTC	MO (g kg ⁻¹)
Solo pastagem	5,2	0,8	0,05	0,7	0,5	1,65	2,93	11,37

*Solo coletado na área de pastagem do Campus de Cruz das Almas da UFRB.

Avaliação nutricional da parte aérea de mudas de pinhão manso

A avaliação dos teores de nutrientes da parte aérea foi realizada apenas em mudas oriundas de sementes microbiolizadas com os isolados TSO3, TSO4, TR7 e TR8, obtidos de solo e raízes de pinhão manso.

Após coleta, secagem e pesagem, a parte aérea das plantas foi moída em moinho tipo Willy, e em seguida submetida à digestão ácida em uma mistura de H₂SO₄(conc.) e H₂O₂ 30% (JONES, 2001). Foram adicionados 3,5 mL de H₂SO₄ a 0,5 g do material vegetal seco e moído. Após 30 minutos de repouso, foram adicionados 3,5 mL de H₂O₂ 30% e em seguida a mistura foi aquecida a 350 °C por 30 minutos. Após resfriamento, foram acrescentados novamente 2,0 mL de H₂O₂, aquecidos por 30 minutos. Posteriormente, adicionou-se 1 mL de H₂O₂ até a digestão completa do material. Após essa etapa, o extrato foi filtrado e

transferido para balão volumétrico e o volume completado para 100 mL com água deionizada.

O teor de nitrogênio foi determinado colorimetricamente (625 nm), em uma alíquota de 0,4 mL do extrato convenientemente diluído, pelo método do fenol-hipoclorito (WEATHERBURN, 1967), utilizando o espectrofotômetro SP 2000 UV (Bel photonics).

A determinação do teor de fósforo foi realizada colorimetricamente (660 nm), em uma alíquota de 1,0 mL do extrato convenientemente diluído, pelo método do molibdato de amônio (SARRUGE & HAAG, 1974). Para a leitura do fósforo utilizou-se o espectrofotômetro SP 2000 UV (Bel photonics).

As determinações de potássio foram realizadas por fotometria de chama (Quimis).

Caracterização bioquímica dos isolados de *Trichoderma* spp.

Produção de celulase e xilanase

Para determinação da atividade celulolítica e xilanolítica os isolados foram multiplicados em meio BDA 1/5 e repicados em meio de sais sólido (BRECCIA et al., 1995) segundo metodologia descrita por Lewis (1988), suplementado com xilana e carboximetilcelulose como única fonte de carbono. Após dois dias de cultivo, foram adicionados 10 mL de solução vermelho congo (0,5%) em cada placa, sendo estas incubadas a temperatura ambiente por um período de 15 min. A solução de vermelho congo foi removida, adicionando-se 10 mL de solução salina (NaCl a 1M) em cada placa, sendo estas incubadas a temperatura ambiente por 30 minutos. Em seguida, foi removida a solução salina e observada formação ou não de uma zona de hidrólise de coloração alaranjada em torno das colônias crescidas, indicando a degradação do polímero.

Produção de quitinase

Os isolados de *Trichoderma* spp. foram multiplicados em BDA1/5 e posteriormente repicados para o meio de sais sólido (BRECCIA et al, 1995), suplementado com quitina coloidal (HSU & LOCKWOOD, 1975), peneirada em malha de 60 mesh, como única fonte de carbono. Após dois dias de cultivo, foi avaliada a atividade quitinolítica por meio da formação do halo hialino ao redor da colônia.

Solubilização de fosfato inorgânico

A capacidade de solubilização de fosfato foi determinada segundo o método proposto por Katznelson e Boston (1959) modificando-se o meio no qual os isolados foram cultivados (BDA 1/10 - Batata Dextrose Agar reduzido a 1/10) e incubados a temperatura ambiente durante dois dias. Após esse período, avaliou-se a formação de uma zona de solubilização de aspecto opaco em torno das colônias dos isolados de *Trichoderma* spp.

Produção de ácido indolacético

Para a determinação da produção de ácido indolacético, foi utilizada a metodologia de Bric et al., (1991). Os isolados de *Trichoderma* spp. foram cultivados em meio de cultura BDA 1/5 e repicados para o meio triptocaseína de soja (10%) sólido, acrescido com 5 mM de L-triptofano durante oito dias a 28 °C. Posteriormente, as culturas foram cobertas com uma membrana de nitrocelulose e as placas incubadas a temperatura ambiente por três dias. Após este período, as membranas foram removidas e saturadas com solução de Salkowski (GORDON & WEBER, 1951). Os isolados que formaram halo avermelhado na membrana, no período de 30 min, foram considerados produtores de ácido indolacético.

Colonização radicular por *Trichoderma* spp. na cultura do pinhão manso

O experimento foi montado de forma asséptica para garantir que a colonização radicular fosse apenas dos isolados de interesse, inoculados na

planta. As sementes não germinaram *in vitro*, por isso o trabalho foi dividido em duas etapas, sendo a primeira etapa em casa de vegetação e a segunda em condições *in vitro*, no laboratório. Na primeira etapa, as sementes foram previamente imergidas em álcool 70% e flambadas para a desinfestação, sendo semeadas em recipientes plásticos contendo substrato (Plantmax®) previamente esterilizado em autoclave a 120°C por duas horas. Após cinco dias de germinação, as plântulas foram lavadas e transportadas para o laboratório. Em câmara de fluxo laminar, as raízes foram desinfestadas em álcool 70% (1 minuto), hipoclorito 1% (1 minuto), seguindo de seis lavagens em água destilada e esterilizada. As raízes foram imersas em suspensão de esporos de *Trichoderma* spp. na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹ por um período de 15 min. No tratamento controle, as raízes ficaram imersas em água destilada e esterilizada, pelo mesmo período. As raízes foram transferidas para placas de Petri (150 x 30 mm) contendo meio de cultura Ágar Água 6% e incubadas a temperatura ambiente durante cinco dias até a esporulação do fungo. Após a esporulação do fungo, foi realizada nova desinfestação das raízes que foram cortadas em cinco pedaços de aproximadamente 0,5 cm com bisturi esterilizado e transferidas para meio BDA 1/5 suplementado com bactericida oxytetraciclina e incubadas a temperatura de 28 °C por cinco dias, para observação da colonização desses segmentos de raízes pelo fungo. O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado com três repetições por tratamento.

RESULTADOS

Promoção de crescimento por *Trichoderma* spp. em pinhão manso

Os isolados TCS4, TCS1, TC10, 312 e ES15 proporcionaram o aumento de 23,8%, 15,2%, 14,4%, 13,7% e 11,7% respectivamente, na altura da planta, em relação às plantas do tratamento controle (Figura 1A). Nenhum dos tratamentos apresentou crescimento superior à testemunha em relação ao número de folhas e diâmetro do caule (Figura 1B e Figura 1C). Alguns isolados de *Trichoderma* spp. proporcionaram um efeito deletério na produção de matéria seca da parte aérea (Figura 1D). O isolado TCS1 proporcionou aumento de 42,5% na produção de

matéria seca da raiz, enquanto que os demais isolados não diferiram do tratamento controle ou apresentaram efeito deletério em relação a essa característica (Figura 1E).

Promoção de crescimento por *Trichoderma* spp. isolado da rizosfera e da raiz de pinhão manso

Quando analisados os resultados referentes à altura das plantas, observa-se que os isolados de *Trichoderma* spp. testados foram deletérios ao crescimento do pinhão manso, em relação à testemunha (Figura 2A). Com relação ao número de folhas, não houve diferença entre os isolados testados e a testemunha (Figura 2B) e nenhum isolado diferiu do controle em relação ao diâmetro do caule (Figura 2C). A produção de matéria seca na parte aérea das plantas no tratamento testemunha foi superior aos tratamentos com os isolados TSO4 (26,7%), TR8 (16,1%) e TSO3 (10,0%), além de não apresentar diferença com TR7, demonstrando efeito deletério destes isolados ao crescimento do pinhão manso (Figura 2D). Apenas o tratamento com o isolado TR7 promoveu aumento significativo (73,4%) na produção de matéria seca nas raízes das plantas, comparado com a testemunha (Figura 2E).

Avaliação nutricional da parte aérea do pinhão manso

Plantas oriundas de sementes microbiolizadas com o isolado TR7, apresentaram aumento de 9,7% do conteúdo de nitrogênio na parte aérea em relação às plantas do tratamento controle (Figura 3A). Não foi observado maior acúmulo de fósforo e potássio nas mudas tratadas com os isolados TSO3, TSO4, TR7 e TR8 na parte aérea das plantas de pinhão manso (Figura 3B e 3C).

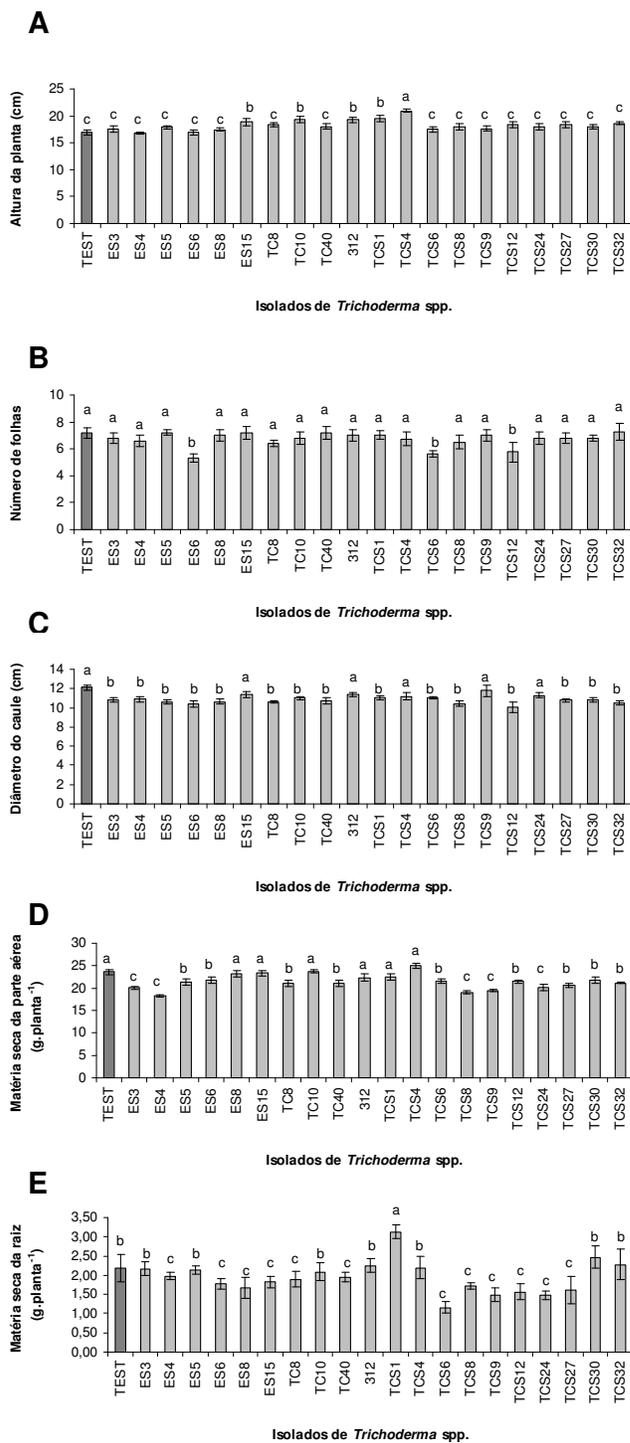


Figura 1. Mudanças de pinhão manso oriundas de sementes microbiolizadas com isolados de *Trichoderma* spp. de plantas de cacau e de solo rizosférico de plantas de sisal. **(A)** Altura, **(B)** número de folhas, **(C)** diâmetro do caule, **(D)** matéria seca da parte aérea, **(E)** matéria seca da raiz. Barras seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

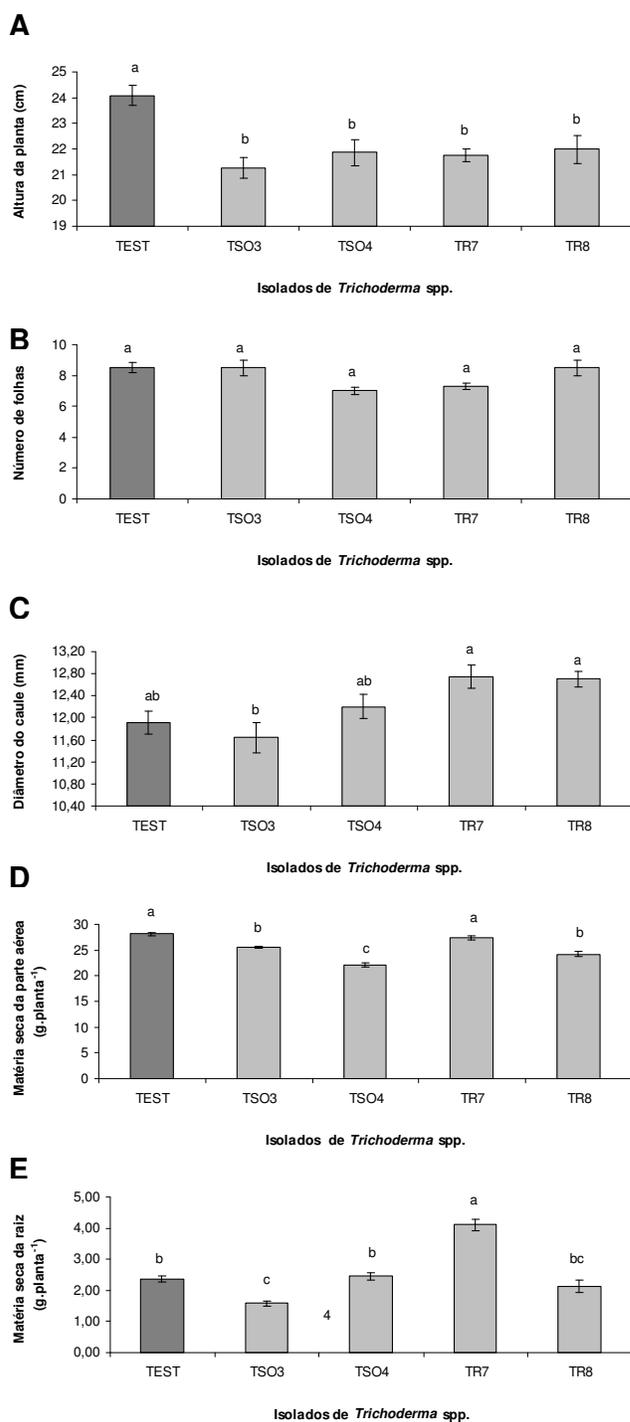


Figura 2. Mudanças de pinhão manso oriundas de sementes microbiolizadas com isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de solo rizosférico e da raiz da cultura de pinhão manso. **(A)** Altura da planta, **(B)** número de folhas, **(C)** diâmetro do caule **(D)** matéria seca da parte aérea, **(E)** matéria seca da raiz. Barras seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

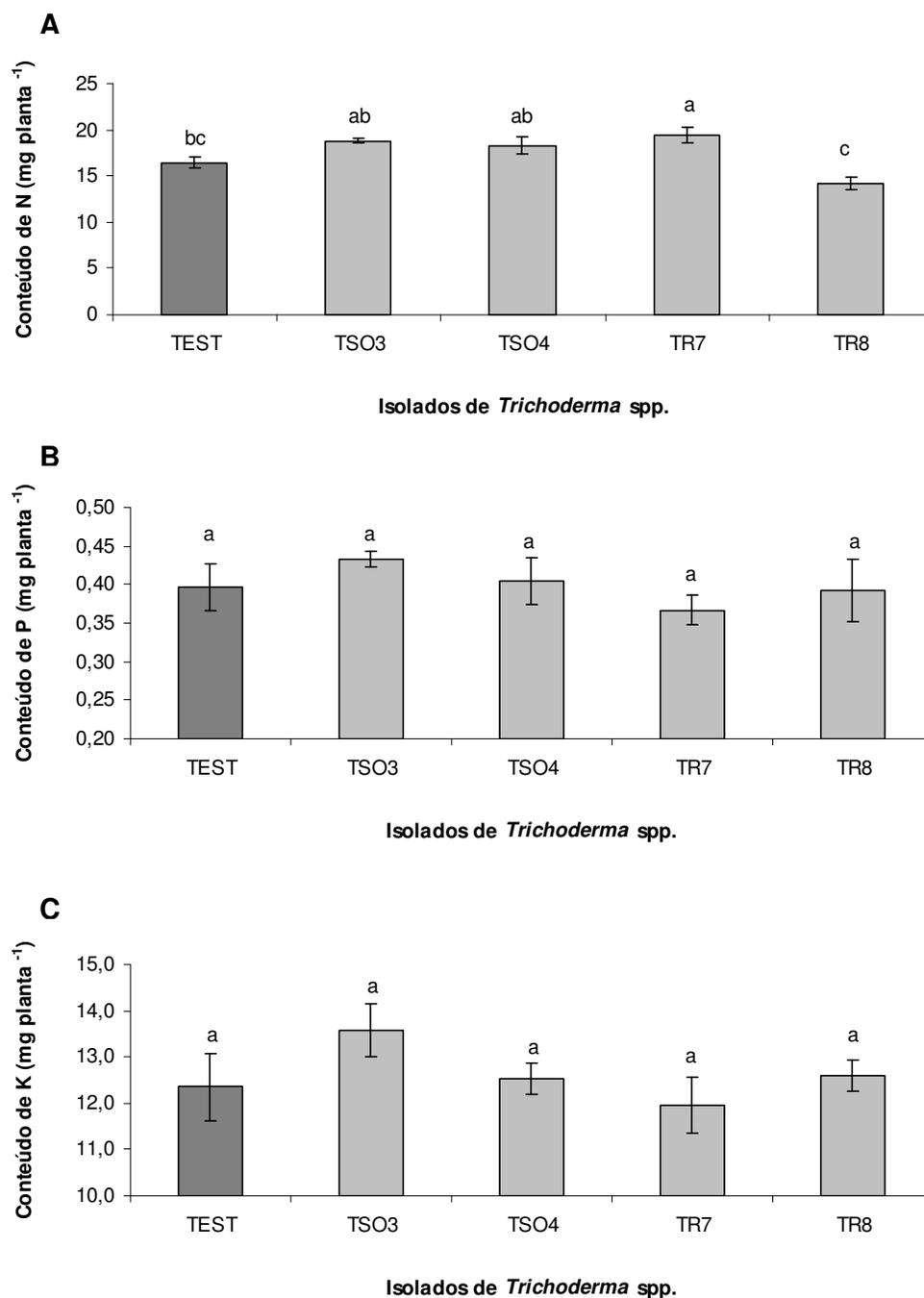


Figura 3. Acúmulo de macronutrientes na parte aérea das plantas de pinhão manso oriundas de sementes microbiolizadas com isolados de *Trichoderma* spp. provenientes da rizosfera e raízes da cultura do pinhão manso. **(A)** Nitrogênio, **(B)** Fósforo, **(C)** Potássio. Barras seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Caracterização bioquímica dos isolados de *Trichoderma* spp.

Os isolados TCS24, ES15, TR7 e TR8 apresentaram atividade celulolítica e os isolados TCS27 e TC8 apresentaram capacidade de solubilização de fosfato. Nenhum dos isolados avaliados apresentou atividade quitinolítica, xilanolítica e nem a produção de ácido indolacético (Tabela 2).

Tabela 2. Produção de enzimas extracelulares, ácido indolacético (AIA) e solubilização de fosfato *in vitro* por 24 isolados de *Trichoderma* spp.

Isolados	Enzimas extracelulares			Solub. de	Ácido
	Celulase	Quitinase	Xilanase	Fosfato	Indolacético
TCS 1	-	-	-	-	-
TCS4	-	-	-	-	-
TCS6	-	-	-	-	-
TCS8	-	-	-	-	-
TCS9	-	-	-	-	-
TCS12	-	-	-	-	-
TCS24	+	-	-	-	-
TCS27	-	-	-	+	-
TCS30	-	-	-	-	-
TCS32	-	-	-	-	-
TC8	-	-	-	+	-
TC10	-	-	-	-	-
TC40	-	-	-	-	-
ES3	-	-	-	-	-
ES4	-	-	-	-	-
ES5	-	-	-	-	-
ES6	-	-	-	-	-
ES8	-	-	-	-	-
ES15	+	-	-	-	-
312	-	-	-	-	-
TSO3	-	-	-	-	-
TSO4	-	-	-	-	-
TR7	+	-	-	-	-
TR8	+	-	-	-	-

Colonização radicular por *Trichoderma* spp. em plântulas de pinhão manso

Todos os isolados testados foram capazes de colonizar endofiticamente as raízes do pinhão manso. Os isolados menos eficientes foram TCS32 com 26,7% de colonização, ES6 com 60% e TC8, TC9 e TCS24 com 66,7% de colonização. O controle, tratado com água destilada e esterilizada, não apresentou raízes colonizadas (Figura 4).

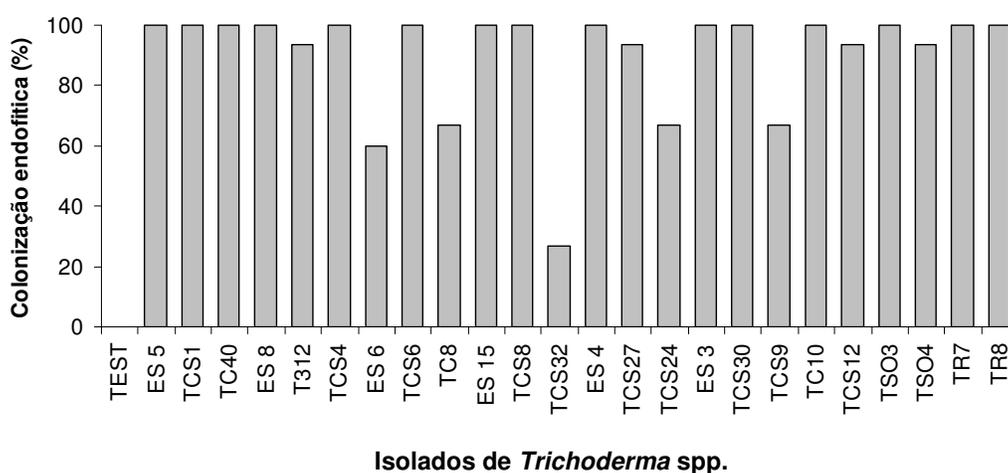


Figura 4. Colonização radicular dos isolados de *Trichoderma* spp. em raízes de plântulas de pinhão manso, após dez dias da inoculação e incubadas em placa de Petri contendo meio de cultura BDA 1/5 suplementado com bactericida, a temperatura de 28 °C.

Foi observada correlação linear baixa e positiva entre a colonização radicular e a altura da planta. Não houve correlação significativa entre a colonização das raízes e as características como número de folhas, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea e da raiz (Tabela 3).

Tabela 3. Coeficiente de correlação de Pearson entre a porcentagem de colonização radicular por vinte e quatro isolados de *Trichoderma* spp. e os parâmetros de crescimento de mudas de pinhão manso.

Parâmetros	Valor r
Altura da planta	0,304*
Número de folhas	ns
Diâmetro do caule	ns
Produção de mat. seca na parte aérea	ns
Produção de matéria seca nas raízes	Ns

ns: não-significativo a 5%

DISCUSSÃO

Considerando a escassez de estudos com pinhão manso e a promoção de crescimento desta cultura por microrganismos, a exemplo de *Trichoderma*, vinte e quatro isolados de *Trichoderma* spp foram avaliados com este propósito. Alguns autores observaram que *Trichoderma* spp. foi capaz de incrementar o crescimento, a produtividade, a absorção e concentração de nutrientes nas raízes das plantas hospedeiras, tais como feijão, abóbora e maracujá (HARMAN et al., 2004; LO & LIN, 2002; HINOJOSA et al., 2009). Porém, dos isolados testados neste trabalho, apenas TCS4, TCS1, TC10, 312 e ES15 promoveram incremento na altura das plantas (Figura 1A), enquanto o isolado TR7 proporcionou aumento na produção de matéria seca das raízes e no conteúdo de nitrogênio na parte aérea (Figura 2A e 3A) Esperava-se obter melhores resultados na promoção de crescimento do pinhão manso inoculado com *Trichoderma* spp., considerando os resultados positivos observados em vários estudos envolvendo *Trichoderma*, a exemplo do *T. harzianum* em cultivos de berinjela, aveia, café, tomate, batata, espécies florestais, entre outros (ZAMBRANO, 1989; BÖRKMAN et al., 1998; DANDURAND & KNUDSEN, 1993).

Lorito et al. (2010) relataram que este fungo apresenta melhor desempenho junto à planta quando submetido a condições de estresses bióticos e abióticos.

Bae et al. (2009) observaram a promoção de crescimento em plantas de cacau com o isolado endófito *T. hamatum* DIS 219b, sob condições de estresse hídrico. No presente trabalho, os estresses bióticos não foram analisados e, como as plantas foram irrigadas, estas não sofreram estresse por déficit hídrico. Entretanto, o solo utilizado para o cultivo das mudas de pinhão manso apresentou baixo teores de macronutrientes e de matéria orgânica (Tabela 1) indicando que as plantas foram submetidas a estresses nutricionais. Esta condição de elevado estresse nutricional e baixo teor de matéria orgânica no solo pode ter afetado o desenvolvimento da planta e também do fungo no solo, uma vez que este necessita de fontes de nutrientes e da matéria orgânica para o seu desenvolvimento (WEN et al., 2005). Portanto, é necessário avaliar os níveis e tipos de estresses abióticos que beneficiam a associação fungo-planta e a promoção de crescimento da planta. Isto pode explicar o efeito deletério da maioria dos isolados de *Trichoderma*, oriundos das culturas do cacau, do sisal e também do pinhão manso, observado em algumas características de crescimento analisadas, a exemplo do diâmetro do caule, produção de matéria seca na parte aérea e raízes (Figura 1C, 1D e 1E). A utilização dos nutrientes de fontes inorgânicas e orgânicas do solo pelos isolados de *Trichoderma* pode ter causado competição por nutrientes entre o fungo e a planta, resultando no efeito deletério observado. A interação dos isolados de *Trichoderma* com pinhão manso deve ser mais estudada, inclusive envolvendo avaliações referentes à produção de metabólitos e dos genes envolvidos na interação fungo-planta-ambiente, pois as funções ecológicas destes fungos ainda permanecem indefinidas (ALBRECHTSEN et al., 2010).

O crescimento e o desenvolvimento das plantas dependem de fatores como luz, água e gás carbônico, além de um fluxo contínuo de nutrientes que têm fundamental importância para o desempenho das principais funções metabólicas da célula (BONATO et al., 1998). Por esta razão, buscou-se avaliar o efeito de *Trichoderma* no conteúdo de nitrogênio, fósforo e potássio. Foi realizada análise nutricional somente das plantas oriundas de sementes microbiolizadas com os quatro isolados de *Trichoderma* associados com o pinhão manso e que supostamente deveriam possuir estreita relação com a planta hospedeira, uma vez que foram retirados do solo rizosférico e das raízes. Somente plantas do

tratamento com o isolado TR7, apresentaram incremento do acúmulo de N em relação à testemunha (Figura 3A). Segundo Lorito et al. (2010), a íntima relação entre *Trichoderma* spp e a planta proporciona benefícios como aumento na eficiência do uso do nitrogênio por mecanismos de redução e assimilação deste nutriente. Este isolado também proporcionou aumento na produção de matéria seca das raízes. Nenhum isolado promoveu aumento dos conteúdos de fósforo e potássio nas plantas.

A produção de enzimas extracelulares por fungos pode induzir as plantas a produzirem substâncias de defesa, aumentando a síntese de enzimas e metabólitos com atividade antifúngica (ONGENA et al., 2000), ou ainda favorecer a degradação de matéria orgânica, disponibilizando nutrientes para a planta.

Dentre os mecanismos utilizados pelos fungos do gênero *Trichoderma* que possuem efeito sobre o crescimento de plantas e controle de fitopatógenos, destacam-se a produção de enzimas extracelulares como celulase, quitinase, xilanase, solubilização de fosfato e a produção de ácido indolacético (AIA), os quais foram avaliados no presente estudo. No entanto, não foi observada nenhuma relação entre a produção dos metabólitos e o crescimento das plantas de pinhão manso. Talvez os métodos de determinação desses metabólitos tenham sido menos sensíveis do que os adotados por outros autores, como por exemplo, a determinação de AIA que foi realizada com base na metodologia proposta por Bric et al. (1991), que utiliza membranas de nitrocelulose para detecção do AIA, ao invés de espectrofotometria para sua detecção (Gravel et al. 2007). Apenas o isolado TR7 demonstrou ser produtor de celulase, sendo este o isolado que promoveu aumento na produção de matéria seca das raízes e no conteúdo de nitrogênio na parte aérea das mudas de pinhão manso. Entretanto, não se pode concluir sobre os mecanismos de ação deste isolado.

Algumas espécies do gênero *Trichoderma* são capazes de colonizar as raízes das plantas, promovendo seu crescimento e induzindo resistência às doenças (HARMAN, 2000; HOLMES et al., 2004; YEDIDIA et al., 2000). No presente trabalho foi verificado que todos os isolados apresentaram a capacidade de colonizar as raízes do pinhão manso, em condições *in vitro*. Outros autores (PAPAVIZAS, 1981, 1985; CHAO et al., 1986; AHMAD & BAKER, 1987; DE SOUZA et al., 2008) relataram que algumas espécies de *Trichoderma* não

apresentam boa capacidade de competição em solo não esterilizado, o que reforça a necessidade de avaliar as duas condições de solo em estudos futuros. É importante destacar que foram feitos testes *in vitro*, com raízes desinfestadas, após o crescimento das plântulas de pinhão manso em solo estéril, por cinco dias em casa de vegetação. As análises do solo rizosférico das plântulas de pinhão manso e das sementes, confirmaram a ausência do *Trichoderma* nas sementes e neste solo, indicando que a colonização das raízes foi oriunda dos isolados testados. Apesar de os isolados de *Trichoderma* não terem sido identificados ao nível de espécie, foram observadas diferenças morfológicas e de crescimento nas colônias crescidas em meio BDA. Estas apresentaram características diferentes em relação ao tempo de crescimento, produção de micélio aéreo, esporulação e coloração da colônia, além da diferença dos isolados na capacidade de colonização das raízes de pinhão manso.

A colonização radicular dos isolados utilizados neste trabalho apresentou correlação positiva apenas com a altura da planta, mas não com outros parâmetros avaliados. Dessa forma, pode-se concluir que os isolados de *Trichoderma* são eficientes em colonizar as raízes de pinhão manso, mas não apresentam eficiência em promover o seu crescimento. Sugere-se que novos estudos sejam conduzidos avaliando outros métodos, além da microbiolização das sementes, como por exemplo, a inoculação e incubação do solo com *Trichoderma*, e outras condições de crescimento das plantas, como em solo estéril e com diferentes teores de nutrientes e matéria orgânica.

CAPÍTULO 3

Promoção de crescimento e colonização radicular por *Trichoderma* spp. em mamoneira (*Ricinus communis* L.)

RESUMO

MARTINS, C. Y. S. Promoção de crescimento e colonização radicular por *Trichoderma* spp. em mamoneira (*Ricinus communis* L.)

O presente trabalho teve como objetivo avaliar 24 isolados de *Trichoderma* spp., quanto ao potencial de promoção de crescimento e colonização radicular da mamoneira. Foram testados 10 isolados de cacau (*Theobroma cacao* L.) (ES3, ES4, ES5, ES6, ES8, ES15, TC8, TC10, TC40 e 312), 10 do sisal (*Agave sisalana* Perrine) (TCS1, TCS4, TCS6, TCS8, TCS9, TCS12, TCS24, TCS27, TCS30 e TCS32) e quatro do pinhão manso (TSO3, TSO4, TR7 e TR8). Além da inoculação por microbiolização de sementes, foi avaliado o efeito da inoculação e incubação (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias) do solo com *Trichoderma* no crescimento da mamoneira. Determinou-se *in vitro*, a produção de enzimas extracelulares (celulase, xilanase e quitinase), de ácido indolacético e a solubilização de fosfato pelos isolados de *Trichoderma*. Foram analisados os conteúdos de N, P e K na parte aérea das mudas oriundas de sementes microbiolizadas com os isolados TSO3, TSO4, TR7 e TR8. Foi avaliada a capacidade de colonização radicular de todos os isolados e sua correlação com o crescimento das mudas. Os isolados TC40 e 312 promoveram aumento na altura da muda, enquanto os isolados TCS12, TCS6, ES8, 312, TCS1, ES5, TC40 e ES6 promoveram o aumento do diâmetro do caule. Apenas o TR7 promoveu o aumento da matéria seca da parte aérea. Os isolados TR7, TSO4 e TR8 proporcionaram o aumento do conteúdo de nitrogênio na parte aérea da muda. A incubação por 30 dias do solo inoculado com *Trichoderma* proporcionou o aumento na matéria seca da parte aérea e da raiz, e 25 dias de incubação também proporcionou o aumento da matéria seca da raiz. Os isolados ES3, TCS30, TCS4, ES4, TC40, ES15, ES5, TC 10 e TCS12, quando inoculados no solo e incubados por 25 dias, proporcionaram aumento na altura da muda. O ES3 proporcionou aumento na matéria seca da parte aérea e TC40 na matéria seca da raiz. Todos os isolados, com exceção do TCS12, colonizaram o sistema radicular, mas somente houve correlação positiva entre esta variável e a altura das mudas.

Palavras chave: Mamona, oleaginosas, mudas

ABSTRACT

MARTINS, C. Y. S. Growth promotion and root colonization by *Trichoderma* spp. in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings

This study aimed to evaluate the growth promotion and root colonization by *Trichoderma* spp. in castor bean seedlings. Twenty four isolates, 10 from cacao (*Theobroma cacao* L.) (ES3, ES4, ES5, ES6, ES8, ES15, TC8, TC10, TC40 and 312), 10 from sisal (*Agave sisalana* Perrine) (TCS1, TCS4, TCS6, TCS8, TCS9, TCS12, TCS24, TCS27, TCS30 and TCS32) and four from physic nut (*Jatropha curcas* L.) (TSO3, TSO4, TR7 and TR8) were tested. Inoculation by seed microbiolization and soil inoculation and incubation with *Trichoderma* spp. for different periods of time (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days) were evaluated for their effects on castor bean growth. Production in vitro of extracellular enzymes (cellulase, xylanase and chitinase), indol acetic acid, and phosphate solubilization by the *Trichoderma* isolates were evaluated. The content of N, P and K in shoots of plants grown from seeds treated with isolates TSO3, TSO4, TR7 and TR8 was determined. Root colonization was analyzed and correlated with plant growth parameters. The isolates TC40 and 312 promoted an increase in plant height, while isolates TCS12, TCS6, ES8, 312, TCS1, ES5, TC40 and ES6 promoted an increase in stem diameter. Only isolate TR7 promoted an increase in shoot dry weight. Isolates TR7, TSO4 and TR8 promoted an increase in plant nitrogen content. Soil incubation for thirty days with *Trichoderma* spp. promoted an increase in plant shoot and root dry matter, and with 25 days of incubation, an increase in root dry matter was also observed. Isolates ES3, TCS30, TCS4, ES4, TC40, ES15, ES5, TC 10 and TCS12, when inoculated in soil and incubated for 25 days, promoted higher increases in plant height. ES3 promoted an increase in shoot dry matter and TC40 in root dry matter. All isolates colonized the castor bean root system, but with a linear and positive correlation only with plant height.

Keywords: Castor bean, oilseeds, seedlings

INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) já ocupou um lugar de grande destaque no Agronegócio brasileiro. Na década de 1970, o Brasil foi o maior produtor de mamoneira e o maior exportador de seu óleo (FAO, 2010). O declínio da produção ocorreu principalmente pelo baixo nível tecnológico da agricultura e a desorganização do mercado interno (SAVY, 2007).

A cultura da mamoneira tem potencial para se soerguer e contribuir para o desenvolvimento agrícola sustentável do país, entretanto, são necessários investimentos visando à melhoria dos insumos, sementes e sistemas de preparo do solo, plantio e colheita, como também o desenvolvimento da logística de distribuição e comercialização da mamoneira (AZEVEDO et al., 2001).

Esta oleaginosa tem importância econômica, pois produz um óleo de excelentes propriedades industriais, e social, pelo emprego de mão-de-obra em todas as etapas produtivas da cultura, desde o campo até a obtenção do produto final.

A comercialização da mamoneira pode ser feita tanto na forma bruta e de pouco valor agregado (mamoneira em baga) quanto em formas intermediárias (óleo bruto ou refinado) ou através da exploração de seus derivados de alto valor agregado a exemplo do ácido graxo destilado de óleo de mamoneira desidratado, óleo de mamoneira hidrogenado, óleo de mamoneira sulfuricinado, ácido 12-hidróxido esteárico e outros, com usos diferenciados como poliuretanos, resinas plásticas, etc. (SANTOS & KOURI, 2006).

O Brasil destaca-se pela sua grande diversidade e produtividade de grãos que podem ser utilizados na fabricação de óleos vegetais, apresentando, nesse sentido, uma grande abertura para uma nova alternativa energética (BILICH & DA SILVA, 2006). Parente (2003) acrescenta à vocação brasileira aos biocombustíveis as diversidades sociais, econômicas e ambientais que podem gerar distintas motivações regionais para a produção e consumo desses combustíveis.

A produção de mamoneira é realizada no âmbito da agricultura familiar, com muita dificuldade, pois o pouco investimento em tecnologia e a baixa

produtividade ocasionam perda de lavouras devido a doenças e pragas (REIS et al., 2007).

Trichoderma é um fungo habitante do solo, pertencente à ordem *Hypocreales*, que exerce antagonismo a vários fitopatógenos, através do parasitismo e/ou antibiose (MELO, 1998). Pesquisas demonstram a importância da utilização desses microrganismos não só para o controle biológico, mas também na promoção de crescimento de plantas (HARMAN et al., 2000; HARMAN et al., 2004).

A falta de estudos relacionados com culturas regionais de importância econômica e social, a exemplo da mamoneira, envolvendo tecnologias de utilização de microrganismos do solo com potencial para promoção de crescimento de plantas nos sistemas de cultivo, levou ao desenvolvimento deste trabalho com a finalidade de avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* para promoção de crescimento de plantas de mamoneira e estudar a capacidade de colonização radicular da mamoneira por estes microrganismos.

MATERIAL E MÉTODOS

Microbiolização da semente de mamoneira por *Trichoderma* spp. e efeito na promoção de crescimento

Os 24 isolados de *Trichoderma* descritos no capítulo 2 foram utilizados em todos os experimentos, seguindo a metodologia descrita para o pinhão manso.

Sementes de mamoneira, cultivar MPA11 cedidas pela EBDA de Itaberaba, foram tratadas por imersão em suspensão de conídios de *Trichoderma* spp., contendo 10^7 conídios mL⁻¹, conforme descrito no capítulo 2.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com cinco repetições para os 20 isolados obtidos do cacau e sisal, mais o controle não inoculado, tratado apenas com água destilada e esterilizada. Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000), sendo realizada a análise de variância e posteriormente a comparação de médias pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Separadamente, foi conduzido outro experimento em delineamento em blocos casualizados com seis repetições avaliando os quatro isolados obtidos da rizosfera e raiz do pinhão manso e o tratamento controle. Foi avaliada a altura das plantas, número de folhas, diâmetro do caule, matéria seca da parte aérea e raízes e conteúdo de N, P e K na parte aérea das plantas. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000), realizando a análise de variância e em seguida, a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Inoculação e incubação do solo *Trichoderma* spp. em diferentes períodos de tempo para promoção de crescimento da mamoneira

Preparo do arroz

Para hidratação, foram adicionados 500 mL de água destilada a 300 g de arroz parboilizado. Após uma hora de imersão, o excesso de água foi removido, utilizando-se uma peneira de 35 mesh e porções de 50 g do arroz hidratado foram colocadas em Erlenmeyers de 250 mL vedados com folha de alumínio e plástico PVC. O arroz foi esterilizado em autoclave a 120° C, por 55 minutos.

Preparo do inóculo em arroz e incubação do solo

Foi escolhido o isolado 312 para a inoculação do arroz esterilizado devido ao seu rápido crescimento. Este isolado foi multiplicado em meio de cultura BDA1/5 (BDA diluído em água para 1/5 dos teores de nutrientes) e em seguida as placas foram incubadas durante quatro dias, a temperatura ambiente (28 ± 2 °C). Após este período, foi realizada a raspagem das colônias, com auxílio da alça de platina e transferência deste inóculo para os frascos contendo 50 g de arroz esterilizado que foram incubados por cinco dias a temperatura ambiente. De acordo com a metodologia adotada no laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola (UFRB – Campus Cruz das Almas) para inoculação de solo com inóculo de actinomicetos produzido em arroz (dados não publicados), foram pesados 12,5 g do arroz colonizado pelo *Trichoderma* spp., sendo este inóculo misturado em 10

L de solo, o qual foi homogeneizado por revolvimento manual e incubado por 30 dias, em sacos de polietileno, a temperatura ambiente. Para os demais períodos de incubação (25, 20, 15, 10, 5 e 0) seguiu-se a mesma metodologia de inoculação do solo, com o cuidado de utilizar sempre uma cultura nova do isolado de *Trichoderma* spp. O tempo zero correspondeu à inoculação do solo com *Trichoderma* spp. e semeadura no mesmo dia. A semeadura da mamoneira ocorreu no mesmo dia para todos os tratamentos, ou seja, para todos os períodos de incubação do solo, uma vez que a inoculação do solo foi realizada em dias programados para que o período final de incubação e o tempo zero ocorressem no mesmo dia. Para todos os tratamentos, foi realizada a semeadura de duas sementes de mamoneira em cada saco de polietileno (20 x 22 cm) contendo 2 L de solo de área de pastagem não esterilizado. Sete dias após a germinação, procedeu-se o desbaste, deixando-se apenas uma planta por saco. Quarenta e cinco dias após a semeadura, fez-se a coleta das plantas e avaliações de altura de planta, número de folhas, diâmetro do caule e matéria seca da parte aérea e raízes. A parte aérea e as raízes das mudas foram separadas, lavadas e colocadas para secagem em estufa com ventilação forçada a 65 °C, até atingir massa constante. O experimento seguiu o delineamento em blocos casualizados com cinco repetições. Os dados obtidos foram analisados pelo programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000), realizando a análise de variância e em seguida, a comparação das médias pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Inoculação e incubação do solo com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento da mamoneira

O procedimento para obtenção de inóculo de *Trichoderma* em arroz foi conforme descrito acima. Foram testados 20 isolados de *Trichoderma* spp., sendo 10 do cacau (ES3, ES4, ES5, ES6, ES8, ES15, TC8, TC10, TC40 e 312) e 10 do sisal (TCS1, TCS4, TCS6, TCS8, TCS9, TCS12, TCS24, TCS27, TCS30 e TCS32). Padronizou-se 12 dias como tempo médio para multiplicação dos isolados no arroz, após a observação do crescimento e esporulação dos isolados. Conforme trabalhos já conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola (UFRB – Campus Cruz das Almas) com actinomicetos, 15 g do arroz

colonizado pelo *Trichoderma* foram transferidos para 12 L de solo, sendo este incubado por 25 dias a temperatura ambiente. Após incubação, efetuou-se a semeadura da mamoneira, com duas sementes por saco de polietileno (20 x 22 cm) contendo 2 L de solo de área de pastagem, não esterilizado. Foi realizado o desbaste aos sete dias após a germinação, deixando-se apenas uma planta por saco. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições por tratamento.

As plantas foram coletadas aos 45 dias após a semeadura, sendo avaliado a altura das plantas, número de folhas, diâmetro do caule, matéria seca da parte aérea e da raiz. Separou-se a parte aérea das raízes que foram lavadas em água corrente e colocadas para secagem em estufa com ventilação forçada a 65 °C até obtenção da massa constante. Os dados obtidos foram analisados pelo programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000), realizando a análise de variância e em seguida, a comparação das médias pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Caracterização química do solo

Foi utilizado o mesmo solo de área de pastagem do experimento de pinhão manso, cujas análises das características químicas são apresentadas no capítulo 2.

Avaliação nutricional da mamoneira, caracterização bioquímica dos isolados de *Trichoderma* spp. e colonização radicular por *Trichoderma* spp. na cultura da mamoneira

A metodologia adotada neste experimento para todas as avaliações analisadas segue a mesma descrita no capítulo 2.

RESULTADOS

Promoção de crescimento por *Trichoderma* spp. em mamoneira

Os isolados TC40 e 312 promoveram incremento de 15,4% e 12,4%, respectivamente na altura das plantas quando comparados com a testemunha (Figura 1A). Entretanto, os isolados TCS30, ES4, TCS8, TCS32, TCS12, TC8, ES5, TCS9, TCS24, ES3 e TC10 causaram redução na altura das plantas (Figura 1A). Os isolados TCS12, TCS6, ES8, 312, TCS1, ES5, TC40 e ES6 promoveram um aumento no diâmetro do caule, comparados com os demais isolados e a testemunha, sendo que o ES6 foi superior, promovendo um aumento de 11,82% (Figura 1C).

Não houve diferença em relação ao número de folhas, massa seca da parte aérea e da raiz das mudas de mamoneira inoculadas com os diferentes isolados de *Trichoderma* spp. (Figura 1B, 1D e 1C).

Promoção de crescimento por isolados de *Trichoderma* spp. obtidos da rizosfera e da raiz da cultura de pinhão manso

Os isolados TSO3 e TR8 promoveram uma redução na altura das mudas de mamoneira (Figura 2A). O isolado TR7 promoveu incremento na produção de matéria seca da parte aérea das plantas (14,6%) quando comparado ao tratamento testemunha (Figura 2D). Para as demais características avaliadas (número de folhas, diâmetro do caule e produção de matéria seca nas raízes), a inoculação com os isolados de *Trichoderma* spp. não afetou o crescimento das mudas de mamoneira (Figura 2B, .2C e 2E)

Avaliação nutricional da parte aérea de mudas de mamoneira

Todos os isolados promoveram incrementos de até 50,8% no conteúdo de N na parte aérea das plantas em relação à testemunha (Figura 3A). Não foi observado maior acúmulo no conteúdo de fósforo e potássio na parte aérea das mudas tratadas com os isolados TSO3, TSO4, TR7 e TR8 (Figura 3B e 3C).

Efeito de diferentes períodos de incubação do solo com *Trichoderma* sp. no crescimento das mudas de mamoneira

A inoculação e incubação do solo com o isolado 312 promoveu os melhores resultados aos 20, 25 e 30 dias de incubação, com respectivamente, 49,6%, 47,1% e 50,4% de aumento na altura da planta, em comparação com o tratamento testemunha (Figura 4A). Os períodos de 15, 20 e 30 dias de incubação não promoveram diferenças em relação à testemunha em termos de número de folhas das mudas. Com relação a produção de massa seca na parte aérea, a inoculação e incubação do solo com *Trichoderma* por 30 dias promoveu incrementos de 81,0% quando comparado com a testemunha (Figura 4D).

A incubação por 25 e 30 dias promoveu um aumento de 82,7% e 100,0%, respectivamente, na massa seca da raiz em relação à testemunha (Figura 4E).

Inoculação e incubação do solo com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento de mudas de mamoneira

Dos 20 isolados avaliados apenas dez favoreceram a altura das plantas, que variou de 11,6% (TCS12) a 26,8% (ES3) comparados com a testemunha (Figura 5A). Para o número de folhas e diâmetro do caule nenhum dos isolados promoveu diferenças entre si e em relação à testemunha (Figura 5B e 5C). O isolado ES3 promoveu incremento na produção de matéria seca na parte aérea (94,5%) enquanto que o isolado TC40 favoreceu aumento de 218,42% na produção de matéria seca das raízes quando comparados com a testemunha (Figura 5D e 5E).

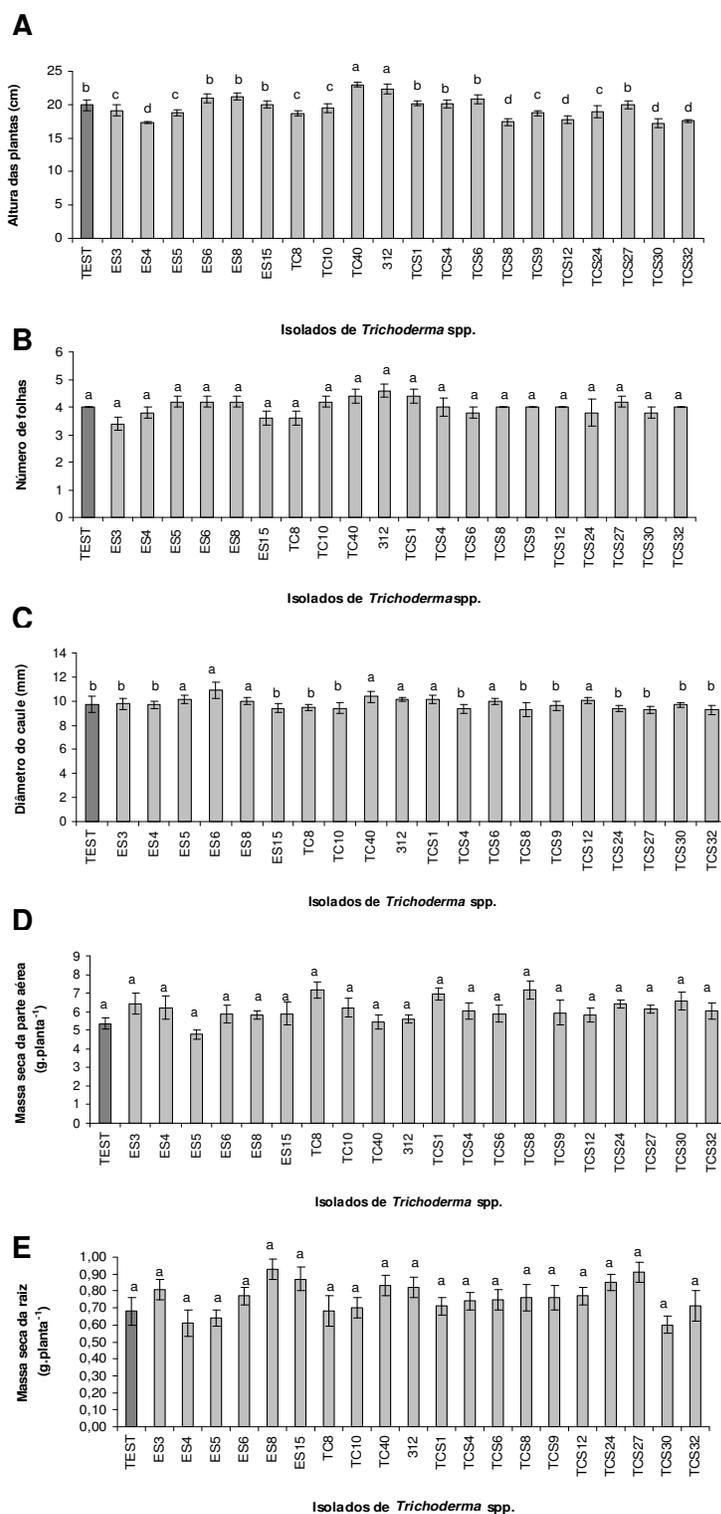


Figura 1. Mudanças de mamoneira oriundas de sementes microbiolizadas com isolados de *Trichoderma* spp. do cacau e do solo rizosférico de plantas de sisal. **(A)** Altura da planta, **(B)** número de folhas, **(C)** diâmetro do caule, **(D)** matéria seca da parte aérea, **(E)** matéria seca da raiz. Barras seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

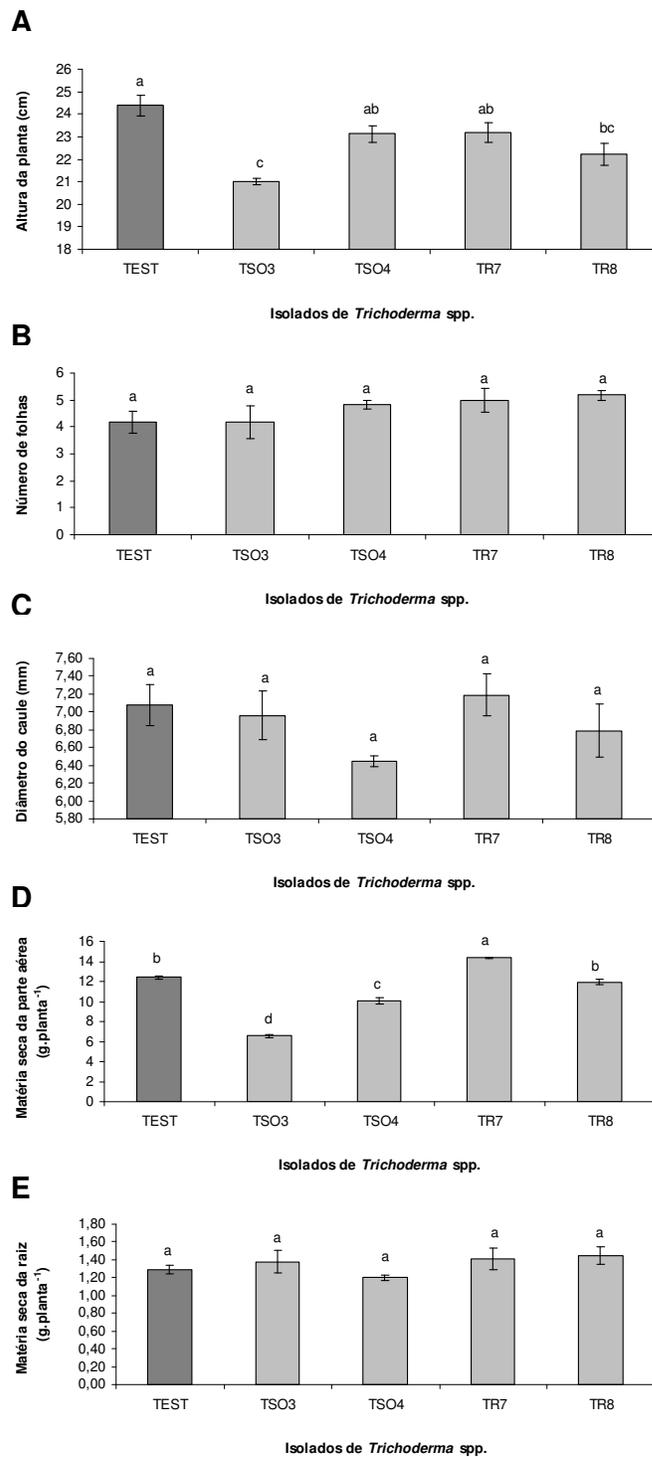


Figura 2. Mudanças de mamoneira oriundas de sementes microbiolizadas com isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de solo rizosférico e da raiz da cultura de. **(A)** Altura da planta, **(B)** número de folhas, **(C)** diâmetro do caule, **(D)** matéria seca da parte aérea, **(E)** matéria seca da raiz. Barras seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

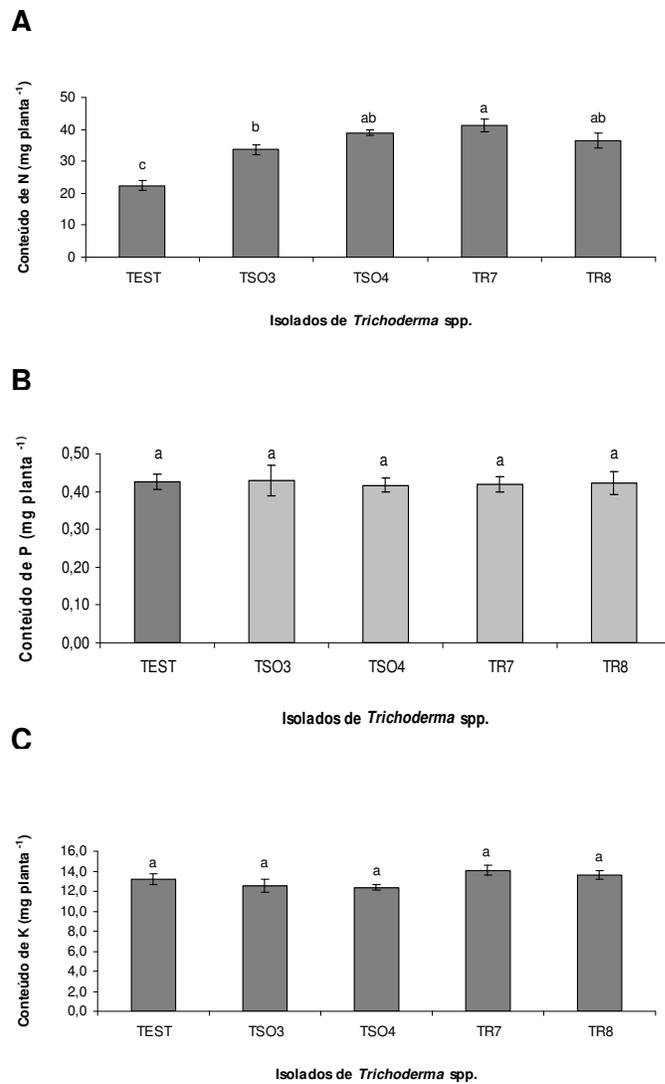


Figura 3. Acúmulo de macronutrientes na parte aérea das mudas de mamoneira produzidas por sementes microbiolizadas com isolados de *Trichoderma* spp. provenientes do solo rizosférico e da raiz da cultura de pinhão manso. **(A)** Nitrogênio, **(B)** Fósforo, **(C)** Potássio. Barras seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

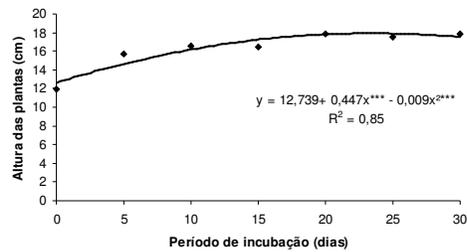
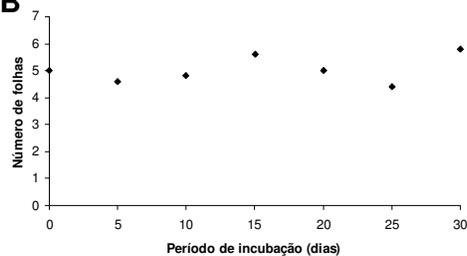
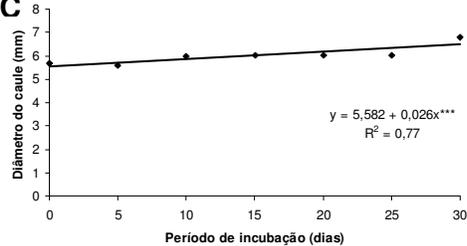
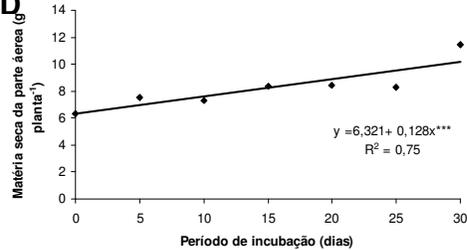
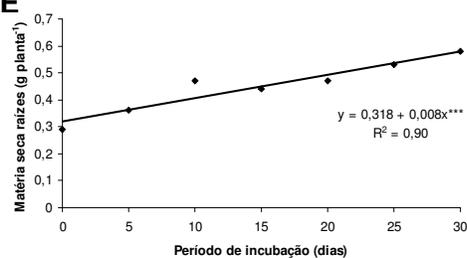
A**B****C****D****E**

Figura 4. Altura (A), número de folhas (B), diâmetro do caule (C), matéria seca da parte aérea (D) e raízes (E) das mudas de mamoneira produzidas em solo inoculado e incubado por diferentes períodos com o isolado 312.

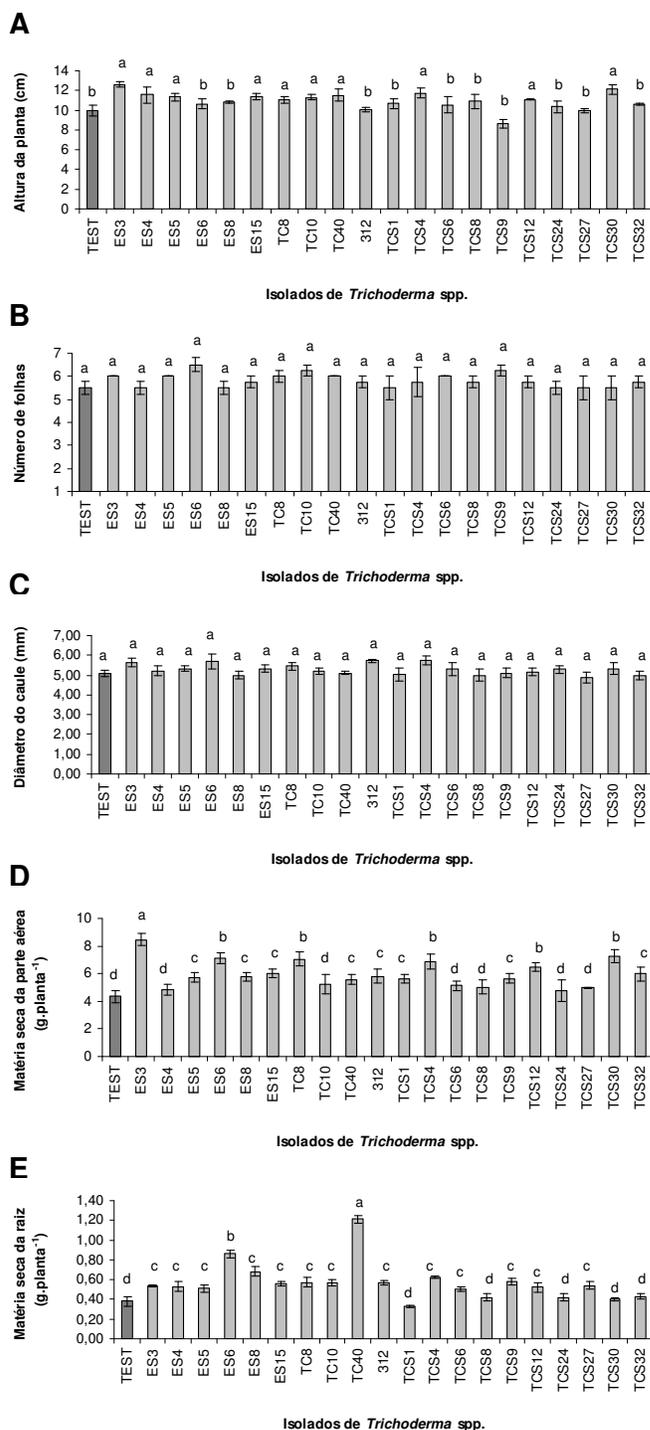


Figura 5. Mudanças de mamoneira produzidas em solo inoculado com isolados de *Trichoderma* spp. e incubado durante 25 dias. **(A)** Altura da planta, **(B)** número de folhas, **(C)** diâmetro do caule, **(D)** matéria seca da parte aérea, **(E)** matéria seca da raiz. Barras seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Colonização radicular por *Trichoderma* spp. em plântulas de mamoneira

Apenas o isolado TCS12 não apresentou capacidade de colonização radicular das plântulas de mamoneira. Os isolados com menor capacidade de colonização foram TCS32 (26,67%) e TCS9 (60%). A testemunha não inoculada, tratada apenas com água destilada e esterilizada, não apresentou colonização.

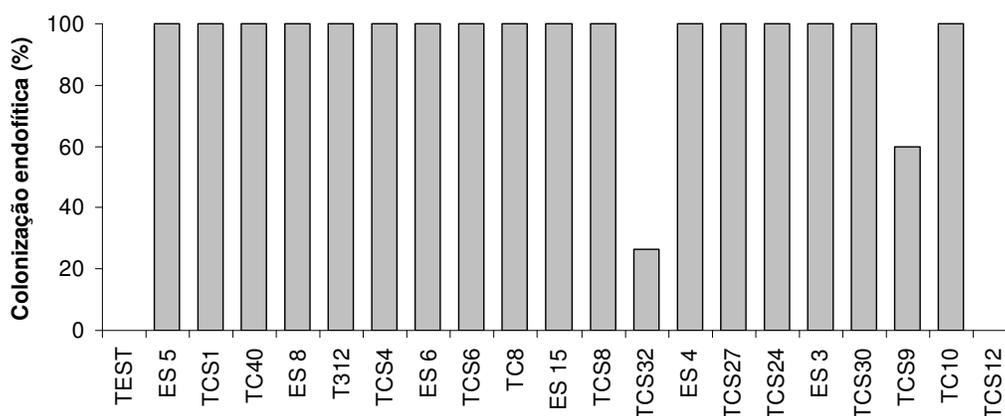


Figura 6. Colonização radicular dos isolados de *Trichoderma* spp. em raízes de plântulas de mamoneira após 10 dias inoculadas e incubadas em placa de Petri contendo meio de cultura BDA 1/5 suplementado com bactericida, a temperatura de 28 °C.

A colonização radicular apresentou correlação linear baixa e positiva apenas para altura da planta, sendo que para as demais características avaliadas como número de folhas, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea e da raiz a correlação não foi significativa (Tabela 1).

Tabela 1. Coeficiente de correlação de Pearson entre a porcentagem de colonização radicular por vinte e quatro isolados de *Trichoderma* spp. e os parâmetros de crescimento de mudas de mamoneira.

Parâmetro	Valor r
Altura da planta	0,299*
Número de folhas	ns
Diâmetro do caule	ns
Produção de mat. seca na parte aérea	ns
Produção de mat. seca nas raízes	ns

ns: não-significativo a 5%

DISCUSSÃO

Até o presente momento não foram encontrados na literatura científica consultada, trabalhos referentes à promoção de crescimento da cultura da mamoneira com *Trichoderma* spp., embora existam vários relatos sobre promoção de crescimento por *Trichoderma* em culturas como feijão (*Phaseolus vulgaris*), abóbora (*Cucumis sativus*), pimenta (*Capsicum annum*), cravo (*Dianthus carophyllus*), milho (*Zea mays*), trigo (*Triticum aestivum*) (LO & LIN, 2002) e sementes de maracujá (HINOJOSA et al., 2009).

Neste trabalho foi avaliado o potencial de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. em promover o crescimento de plantas de mamoneira e a capacidade de colonizar suas raízes. Pode verificar que a maioria dos isolados não foram benéficos ao crescimento da mamoneira, apesar de quase todos, exceto TCS12, apresentarem capacidade de colonizar as raízes. Estudos realizados com alguns destes isolados de *Trichoderma* spp., em plantas de guandu (*Cajanus cajan* L.) demonstraram que estes promoveram o crescimento do guandu (SANTOS et al., dados não publicados). Os isolados de *Trichoderma* apresentam certa especificidade quanto à interação com a planta e promoção de crescimento.

Verificou-se que alguns isolados que promoveram aumento na altura das plantas não apresentaram efeito positivo sobre outras características avaliadas. Estas respostas diferenciadas por isolados de *Trichoderma* foram evidenciadas no trabalho desenvolvido por Ousley et al. (1993). Esses autores utilizaram isolados produtores de viridiol, um antibiótico que aparentemente teve efeito negativo na germinação de alface (*Lactuca sativa* L.) e outros isolados produtores de ácidos graxos e glicerol, que atuaram positivamente no crescimento de trigo (*Triticum aestivum*). O estudo dos diferentes compostos produzidos por *Trichoderma* não foi o objetivo deste trabalho, entretanto é possível que estes apresentem papel importante na resposta das plantas ao crescimento.

No presente trabalho, foi avaliado o potencial de promoção de crescimento por meio da microbiolização de sementes e da inoculação e incubação do solo com isolados de *Trichoderma* spp. por diferentes períodos de tempo. Estudos conduzidos por Harman em casa de vegetação e campo com *T. harzianum* (T-22) aplicado no solo demonstraram o aumento na taxa de desenvolvimento do tomateiro. Este autor postula que esse efeito tenha ocorrido pelo controle da microbiota deletéria nas raízes, uma vez que este fungo foi encontrado colonizando os pêlos radiculares (Harman et al., 2004).

Foi possível observar que a incubação do solo influenciou de forma positiva na promoção de crescimento da mamoneira. Contudo há necessidade de se estudar a esporulação do *Trichoderma* no arroz, quantificando e adequando sua concentração para a inoculação e incubação do solo. Trabalhos futuros deverão ser conduzidos utilizando essa metodologia para a cultura da mamoneira, avaliando diferentes substratos e fontes de matéria orgânica. Em trabalho realizado por Sousa et al. (2009), os autores observaram que o substrato infestado e incubado com estreptomicetos promoveu aumentos significativos na altura, produção de matéria seca da parte aérea e raízes, o diâmetro do caule e o acúmulo de nutrientes na parte aérea das mudas de tomateiro. Entretanto, no substrato infestado, mas não incubado não se observou efeito benéfico no crescimento das mudas. Estes autores sugerem que estes microrganismos agem na matéria orgânica do substrato, tornando os nutrientes disponíveis para a planta. Embora o trabalho citado acima tenha sido realizado com outro grupo de microrganismo, sabe-se que *Trichoderma* spp. também produz enzimas

extracelulares, a exemplo da celulase, que participa no processo de degradação da matéria orgânica do solo (AUER et al., 2006)

Os microrganismos são responsáveis pelos processos de mineralização da matéria orgânica, transformando os nutrientes em formas disponíveis para as plantas. Os nutrientes armazenados na biomassa microbiana podem atingir valores equivalentes a 100 Kg de nitrogênio, 80 Kg de fósforo, 70 Kg de potássio e 11 Kg de cálcio por ha (ANDREOLA & FERNANDES, 2007). O fluxo de N e P via biomassa microbiana pode alcançar valores equivalentes a 40 e 10-20 Kg ha⁻¹ ano⁻¹ respectivamente (HOLTZ & SÁ, 1995). Em condições ideais, a microbiota do solo permite que os nutrientes sejam, gradualmente, liberados para a nutrição das plantas, sem perdas por lixiviação. No presente trabalho foi realizada a microbiolização das sementes com quatro isolados de *Trichoderma* spp. provenientes do solo rizosférico de pinhão manso para avaliação do potencial destes em promover o melhor crescimento e estado nutricional das mudas de mamoneira. Yedidia et al. (2001) observaram que houve aumento na absorção e acúmulo de vários nutrientes (cobre, fósforo, ferro, manganês e sódio) em raízes de abóbora sob cultivo hidropônico com *T. harzianum*, em condições axênicas. Entretanto, neste estudo foram testados apenas N, P e K e os isolados TR7, TSO4 e TR8 proporcionaram aumento do conteúdo de nitrogênio nas folhas de mamoneira, embora não tenham favorecido o incremento de P e K. Sendo o nitrogênio um nutriente que tem origem de fontes orgânicas ou por fixação biológica ou química, estes resultados sugerem que é possível que este nutriente tenha sido disponibilizado a partir da decomposição da matéria orgânica pelo *Trichoderma*, resultando em efeito benéfico no crescimento e nutrição das plantas de mamoneira.

Conforme abordado no capítulo 2, o estresse nutricional promovido pelos baixos teores de nutrientes e matéria orgânica do solo pode ter influenciado no potencial dos isolados de *Trichoderma* em promover o crescimento da mamoneira. Estes isolados podem ter competido por nutrientes com a planta e inibido o crescimento vegetal. Assim, sugere-se que novos estudos sejam conduzidos com condições diferentes de cultivo, em termos de fertilidade do solo e fontes de matéria orgânica.

As espécies de *Trichoderma* têm sido estudadas por produzirem uma série de enzimas extracelulares (MENEZES & SOUZA, 1995). Espécies como *Hypocrea jecorina*/*T. reesei* são as mais estudadas pela capacidade de secretar grandes quantidades de enzimas celulolíticas com importância econômica na indústria (LORITO et al.; 2010). Wen et al. (2005), verificou que *T. reesei* produziu celulase em esterco de curral, pois este substrato apresentava componentes como carbono em maior quantidade, nitrogênio, cálcio, potássio, fósforo, magnésio entre outros que são nutrientes ideais para a desenvolvimento do fungo.

A produção de celulase pelos isolados de *Trichoderma* pode não ter sido demonstrada satisfatoriamente no presente trabalho devido à metodologia adotada, pois experimentos com substrato aguapé (*Eichhornia crassipes*) e meio Toyoma Ogowa (TO) conduzidos por Deshpande et al. (2008), demonstraram produção máxima desta enzima por *T. reesei*.

Com base nos resultados, pode-se concluir que não houve nenhuma correlação entre a produção de celulase e solubilização de fosfato e os efeitos de *Trichoderma* sobre as mudas de mamoneira. Contudo, são necessários mais estudos e utilização de outras metodologias, para quantificação da produção de enzimas e de solubilização de fosfato.

Apesar da correlação da colonização das raízes da mamoneira pelos vinte e quatro isolados utilizados neste trabalho ter sido baixa para a altura da planta e não existir para os outros parâmetros de crescimento, quase todos os isolados foram capazes de colonizar as raízes da mamoneira. Esses dados sugerem que mediante condições adequadas de crescimento, pode ocorrer a promoção de crescimento nesta cultura, pois segundo Harman et al. (2004) e Bae et al. (2009) a promoção de crescimento de plantas é frequentemente observada em resposta a colonização por *Trichoderma*, embora os mecanismos envolvidos não estejam totalmente explicados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Plantas oleaginosas representam hoje um excelente campo para o desenvolvimento de pesquisas voltadas para a produção de combustíveis que substituam o petróleo, garantindo a produção de energia renovável, com menor impacto para o meio ambiente. Destacam-se como plantas com grande potencial para a produção do biodiesel àquelas pertencentes à família das Euphorbiaceae, como pinhão manso e mamoneira, que além de representarem uma fonte alternativa de energia, são culturas que podem contribuir para o desenvolvimento econômico e social das regiões menos favorecidas, como o Nordeste brasileiro, principalmente pelos aspectos edafoclimáticos, devido às características que essas plantas possuem de rusticidade e adaptabilidade a esses ambientes.

Para tanto, são necessários estudos que abranjam diversas áreas do conhecimento como a botânica, agronomia, e também a microbiologia, para garantir a geração de informações que proporcionem o estabelecimento dessas culturas no campo. Com este objetivo, foi desenvolvido o presente trabalho com o propósito de avaliar o potencial de diferentes isolados de *Trichoderma* para a promoção de crescimento e colonização radicular do pinhão manso e da mamoneira.

Apenas alguns isolados utilizados neste estudo apresentaram capacidade em promover o crescimento do pinhão manso e da mamoneira, considerando algumas características analisadas, como altura da planta, diâmetro do caule, matéria seca da parte aérea e da raiz. Entretanto, a exceção do isolado TR7, os demais isolados testados para o pinhão manso não apresentaram o mesmo comportamento para a mamoneira. Percebe-se com isto que existem diferenças nas associações que ocorrem entre microrganismos e espécies de plantas. Dessa forma, são necessários estudos que envolvam espécies de *Trichoderma* isolados do ambiente rizosférico da planta, e avaliá-los em diferentes condições de cultivo (com e sem estresses abióticos, solo com maior teor de matéria orgânica, solo esterilizado e não esterilizado). A especificidade do *Trichoderma* aparentemente não é o fator principal, pois mesmo isolados obtidos do pinhão manso não foram benéficos ao crescimento desta plantas, com exceção do isolado TR7 que merece estudos mais aprofundados.

A microbiolização das sementes é uma técnica comumente utilizada. Porém, é interessante testar outras formas de inoculação do fungo na planta para avaliar o efeito na promoção de crescimento. A inoculação e incubação do solo com o *Trichoderma* spp., por um período de 25 a 30 dias, demonstrou que o tempo de incubação do solo com o fungo pode influenciar no crescimento e nutrição da planta.

O período de avaliação em que o experimento foi realizado (45 dias) pode não ter sido suficiente para que o fungo promovesse resultados satisfatórios, pois tanto o pinhão manso como a mamoneira são plantas perenes, o que permite que avaliações tardias sejam realizadas (100 a 120 dias), considerando as características avaliadas neste trabalho (altura da planta, número de folhas, diâmetro do caule, produção de matéria seca da parte aérea e raízes), como também a produção de frutos.

Os microrganismos saprófitas presentes no solo produzem constantemente enzimas extracelulares que atuam na degradação da matéria orgânica do solo, liberando nutrientes para as plantas, além de agirem como antagonistas de fungos fitopatogênicos. As características bioquímicas do *Trichoderma* spp. foram avaliadas neste trabalho, porém poucos demonstraram ser produtores de celulase e solubilizadores de fosfato. Nenhum dos isolados produziram quitinase, xilanase ou ácido indolacético.

Trichoderma spp. foi eficiente em colonizar *in vitro* as raízes do pinhão manso e da mamoneira. Sugere-se que novos estudos sejam conduzidos sob condições não esterilizadas a fim de verificar a capacidade da colonização radicular por *Trichoderma* spp. em solo natural.

Trabalhos futuros deverão ser conduzidos com as culturas de pinhão manso e mamoneira, envolvendo *Trichoderma* spp, visando aprimorar e estabelecer o uso destes microrganismos, encontrados abundantemente na natureza, e que por diversos relatos científicos, favorecem o crescimento e desenvolvimento das plantas. Com isso, a geração de conhecimento e de técnicas de fácil aplicação, muitos agricultores familiares poderão se beneficiar, garantindo sua permanência no campo, refletindo na melhoria da qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

AHMAD, J. S., BAKER, R. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 77, p. 182–189, 1987.

ALBRECHTSEN, B. R.; BJÖRKÉN, L.; VARAD, A.; HAGNER, Å.; WEDIN, M.; KARLSSON, J.; JANSSON, S. Endophytic fungi in European aspen (*Populus tremula*) leaves-diversity, detection, and a suggested correlation with herbivory resistance. **Fungal Diversity**, v. 41, p. 17-28, 2010.

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMANN, Y. T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. **Applied and Environment Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.

ATCHEN, W. M. J.; VERCHOT, L.; FRANKEN, Y. J.; MATHIJS, E.; SINGH, V. P.; AERTS, R.; MUYS, B. Jatropha bio-diesel production and use. **Biomass and Bioenergy**, 2008.

ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P. A Microbiota do Solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas. p. 21-39. In.: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S. DOS S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, p. 312, 2007.

ANP. Portaria nº 255/2003. Estabelece a especificação do biodiesel puro a ser adicionado ao óleo diesel automotivo. **Agência Nacional do Petróleo**, Brasília, DF, 2003.

ARRUDA, F. P., BELTRÃO, N. E. M.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. S.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.

AUER, C. G.; GHIZELINI, A. M.; PIMENTEL, I. C.; BIZI, R. M. Fungos em acículas da serapilheira de *Pinus taeda* L. em povoamentos com diferentes idades. **Floresta**, Curitiba, v. 36, n. 3, 2006.

BAE, H.; SICHER, R. C.; KIM, M. S.; KIM, S. H.; STREM, M. D.; MELNICK, R. L.; BAILEY, B. A. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 11, p. 3279–3295, 2009.

BANERJI, R.; CHOWDHURY, A. R.; MISRA, G.; SUDARSANAM, G.; VERMA, S. C.; SRIVASTAVA, G. S. Jatropha seed oils for energy. **Biomass**, v. 8, p. 277-282, 1985.

BECKER, K.; MAKKAR, H. P. S. Toxic effects of Phorbol esters in carp (*Cyprinus carpio* L.). **Veterinary & Human Toxicology**, v. 40, p. 82-86, 1998.

BELTRÃO, N. E.; OLIVEIRA, M. I. P. de; AMORIM, M. L. C. M. de. **Opções para a produção de biodiesel no semiárido brasileiro em regime de sequeiro: por que algodão e mamoneira**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Algodão Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 40p. (Documentos, 220), 2009.

BELTRÃO, N. E. de M.; SEVERINO, L. S.; VELOSO, J. F.; JUNQUEIRA, N.; FIDELIS, M.; GONÇALVES, N. P.; SATURNINO, H. M.; ROSCOE, R.; GAZZONI, D.; DUARTE, J. O.; DRUMOND, M. A.; ANJOS, J. B. **Alerta sobre o plantio de pinhão manso no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 15p. (Documentos, 155), 2006.

BELTRÃO, N. E. de M.; MELO, F. de B.; CARDOSO, G. D.; SEVERINO, L. S. **Mamoneira: Árvore do Conhecimento e Sistemas de produção para o Semi-Árido Brasileiro**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 19p. (Circular Técnica 70), 2003a.

BELTRÃO, N. E. de M. **Informações sobre o biodiesel, em especial feito com o óleo de mamoneira**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 3p. (Comunicado Técnico 177), 2003b.

BELTRÃO, N. E. de M.; SILVA, L. C.; MELO, F. de B. **Cultivo da mamoneira (*Ricinus communis* L.) consorciada com feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) para o semi-árido nordestino, em especial do Piauí**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 47p. (Documentos, 97), 2002.

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

BIELY, P. Biochemical aspects of the production of microbial hemicellulases. In: COUGHLAN, M. P.; HAZLEWOOD, A. (Eds.). **Hemicellulose and hemicellulases**. p. 29-51, 1993.

BILICH, F.; SILVA, R. da. Análise do potencial brasileiro na produção do biodiesel Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/agricultura/AnalisePotencial.pdf> Acessado em: 10 de março de 2010.

BISSET, J. A revision of the genus *Trichoderma* spp. II Infrageneric classification. **Canadian of Journal Botany**, v.68, p 2357 – 2372, 1991.

BONATO, C. M.; FILHO, C. J. R.; MELGES, E.; SANTOS, V. D. dos. **Nutrição mineral de plantas**. Universidade Estadual de Maringá, Maringá (PR), p. 58, 1998.

BJÖRKMAN, T. Effect of *Trichoderma* colonization on auxin-mediated regulation of root elongation. **Plant Growth Regulation**, 43, p. 89-92, 2004.

BRIC, J. M.; BOSTOCK, R. M.; SILVERSTONE, S. E. Rapid in so assay for indolacético acid production by bacteria immobility on a nitrocellulose membrane. **Applied and Environment Microbiology**, Washington, v. 57, p. 535-538, 1991.

BRECCIA, J. D.; CASTRO, G. R.; BAIGARI, M. D. & SIÑERIZ, F. Screening of xylanolitic bacteria using a colour plate method. **Journal of Applied Bacteriology**. v. 78, pp. 469-472, 1995.

CHAO, W. L.; NELSON; E. B.; HARMAN, G. E.; HOCH, H. C. Colonization of the rhizosphere by biological control agents applied to seeds. **Phytopathology**, v. 76, p. 60–65, 1986.

DANDURAND, L.; KNUDSEN, G. Influence of *Pseudomonas fluorescent* on hyphal growth and biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* in the spermosphere and rhizosphere of pea. **Phytopathology**, v. 83, n. 3, p. 265-270, 1993.

DE SOUZA, J. T.; BAILEY, B. A.; POMELLA, A. W. V.; ERBE, E. F.; MURPHY, C. A.; BAE, H.; HEBBAR, P. K. Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. **Biological Control**, v. 46, p. 36–45, 2008.

DESHPANDE, S. K.; BHOTMANGE, M. G.; CHAKRABARTI, T.; SHASTRI, P. N. Production of cellulase and xylanase by *Trichoderma reesei* (QM 9414 mutant), *Aspergillus niger* and mixed culture by solid state fermentation (SSF) of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Indian Journal of Chemical Technology**. v. 15, p. 449-456, 2008.

DRUZHININA, I.; KUBICEK, C. P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters? **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 6 (2), p. 100-112, 2005.

DUTRA, M. R., PAIVA, B. R. T. L.; MENDONÇA, P. L. P.; GONZAGA, A.; CAMPOS, V. P.; NETO, P. C.; FRAGA, A. C. **Utilização de silicato de cálcio e torta de mamona no controle do nematóide *Meloidogyne exigua* em cafeeiro irrigado**. In: Congresso Brasileiro de Mamona, 2. Cenário Atual e Perspectivas. Campina Grande: Embrapa Algodão. 2006.

ELAD, Y. Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases **European Journal of Plant Pathology**. v.102, p. 719–732, 1996.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2 ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, p. 212, 1997.

ESPOSITO, E.; SILVA, M. Da. Systematics and Environmental Application of the Genus *Trichoderma*. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 24(2): p. 89–98, 1998.

ETHUR, L. Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro**. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Santa Maria, RS, 154 fl., 2006.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <http://www.fao.org/>. Acessado em: 17 de janeiro de 2010.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria, 45, 2000a, São Carlos, **Programa e resumos...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

FREIRE, E. C.; LIMA, E. F.; ANDRADE, F. P. Melhoramento genético. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Ed.). **O agronegócio da mamoneira no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 229-256, 2001.

GAMERITH, G.; GROICHER, R.; ZELLINGER, S.; HERZOG, P.; KUBICEK, C. P. Cellulase-poor xylanases produced by *Trichoderma reesei* RUT C-30 on hemicellulose substrates. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 38, p. 315-322, 1992.

GODES, A. Perspectivas de los inoculantes fúngicos en Argentina. En: IZAGUIRRE-MAYORAL, M. L.; LABANDERA, C.; SANJUÁN, J. (Eds.). **Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial**. Imprenta Denad Internacional, Montevideo, p. 11-14, 2007.

GOODAY, G. The ecology of chitin degradation. **Microbiol Ecology**. v. 10, p. 387-431, 1990.

GOODAY, G. H.; ZHU, W. Y., DONNELL, R. W. What are the roles of chitinases in the growing fungus. **FEMS Microbiology Letters**. v. 100, p. 387-392, 1992.

GORDON, S. A.; WEBER, R. P. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 26, p. 192-195, 1951.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 39, p. 1968-1977, 2007.

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

HARMAN, G. E. Myths and Dogmas of Biocontrol: Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease** v. 84, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E. Development tactics for biocontrol fungi in plant pathology. In: BAKER, R. R.; DUNN, P. E. (Eds.). **New Directions in Biological Control**. Alan R. Liss, New York, p. 779, 1990.

HELLER, J. **Physic nut. *Jatrofa curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected**. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gaterleben. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, p. 66, 1996.

HOFFMAN, L. V.; DANTAS, A. C. A.; MEDEIROS, E. P. De; SOARES, L. S. **Ricina: Um Impasse para Utilização da Torta de Mamona e suas Aplicações**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 25p. (Embrapa Algodão, Documentos, 174), 2007.

HOLFORD, I. C. R. Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants. *Aust. Journal of Soil Research*. v.35, p. 227-239, 1997.

HOLMES, K. A., SCHROERS, H. J., THOMAS, S. E., EVANS, H. C., SAMUELS, G. J. Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin of South America. *Mycological Progress* v. 3, p. 199–210, 2004.

HOLTZ, G. P.; SÁ, J. C. Resíduos culturais: reciclagem de nutrientes e impacto na fertilidade do solo. In: Curso sobre manejo do solo no sistema de plantio direto. *Anais*. Fundação ABC, Castro, Paraná. p. 21-36, 1995.

HINOJOSA, J. C.; VALERO, N.; MEJÍA, L. *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Agronomía Colombiana*. v. 27(1), p. 81-86, 2009

HSU, S. U.; LOCKWOOD, J. L. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *American Society for Microbiology*, v. 29, p. 422-426, 1975.

JONES, J. B. **Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis**. Boca Raton: CRC Press LLC, p. 363, 2001.

KHALIL, C. N. **Processo de Produção de Biodiesel a partir de Sementes de Mamoneira**. I Congresso Brasileiro de Mamoneira – Energia e Sustentabilidade, Embrapa Algodão, Campina Grande, 2004.

KATZNELSON, H.; BOSE, B. Metabolic activity and phosphate-dissolving capability of bacterial isolates from wheat roots, rhizosphere soil. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 5, p. 79-85, 1959.

KAPRI, A.; TEWARI, L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2010.

KATAYAMA, A.; MATSUMURA, F. Degradation of organochlorine pesticides, particularly endosulfan, by *Trichoderma harzianum*. *Environmental and Toxicological Chemistry*, v.12, p.1059-1065, 1993.

KUMAR, A.; SHARMA, S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. *Industrial crops and products*, v. 28, p.1–10, 2008.

LEWIS, K. J. **Biological control mechanism of the mycoparasite *Phytium oligandum* Dreschler**. PhD Thesis. Sheffield. University of Sheffield. 1988.

LIMA, L. H. C.; DE MARCO, J. L.; FELIX, C. R. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle por micoparasitismo. In: MELO, I. S de; AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPMA, v.2, p. 263-304, 1998.

LO, C. T.; LIN, C. Y. Screening strains of *Trichoderma* spp. for plant growth enhancement in Taiwan. **Plant Pathology Bulletin**. v. 11, p. 215–220, 2002.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational Research on *Trichoderma*: From 'Omics to the Field. **Annual Review Phytopathology**. 48:19.1–19.23, 2010.

LUMSDEN, R. D.; LOCKE, J. C. Biological control of damping-off caused by *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* in soilless mix. **Phytopathology**, v. 79, p. 361, 1989

LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; VAN, W. H.; ZYL, Y. I.; PRETORIUS, S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology Molecular Biologic Reviews**, v. 66, p. 506-577, 2002.

MAKKAR, H. P. S., BECKER, K., SPORER, F., WINK, M. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 45, 3152–3157, 1997.

MELO, J. C.; BRANDER Jr, W.; CAMPOS, R. J. A.; PACHECO, J. G. A.; SCHULER, A. R. P.; STRAGEVITCH, L. Avaliação preliminar do potencial do pinhão-mansão para a produção de biodiesel. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, Brasília. **Anais**. Brasília: MCT/ ABIPTI, v. 2, p. 198-203, 2006.

MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. **Controle biológico**. Jaguariúna, Embrapa, v. 1, p. 262, 1998.

MENDES, R. de E. **Diagnóstico, análise de governança e proposição de gestão para a cadeia produtiva do biodiesel da mamona (CP/BDMA): o caso do Ceará**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Transportes), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 159 fl., 2005.

MENEZES, M.; SOUZA, E. E. B. Avaliação de isolados de *Trichoderma* através da análise eletroforética em gel de poliacrilamida. **Fitopatologia Brasileira**, n. 20, suplemento, agosto, 1995.

MIRAGAYA, J. C. G. Biodiesel: tendências no mundo e no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p.

MURASHIMA, K.; KOSUGI, A.; DOI, R. H. Synergistic effects on crystalline cellulose degradation between cellulosomal cellulases from *Clostridium cellulovorans*. **Journal of Bacteriology**, v. 184, p. 5088-5095, 2002.

OKSANEN, T.; PERE, J.; PAAVILAINEN, L.; BUCHERT, J.; VIKARI, L. Treatment of recycled kraft pulps with *Trichoderma reesei* hemicellulases and cellulases. **Journal of Biotechnology**. v. 78, p.39-48, 2000.

ONGENA, M.; DAAYF, F.; JACQUES, P.; THONART, P.; BENHAMOU, N.; PAULITZ, T. C.; BELANGER, R. R. Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent pseudomonas. **Phytopathology**, v. 49, p. 523-530, 2000.

OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas* . An oil plant unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, v. 19, p. 1-15, 2000.

OUSLEY, M. A.; LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M. Effects of *Trichoderma* on plant growth: a balance between inhibition and growth promotion. **Microbiol Ecology**, New York, v. 26, p. 277-285, 1993.

PAPAVIZAS, G. C. Survival of *Trichoderma harzianum* in soil and in pea and bean rhizosphere. **Phytopathology**, v. 71, p. 121–125, 1981.

PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, p. 23–54, 1985.

PARENTE, E. J. de S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. Ano: 2003. Disponível em: <http://www.tecbio.com.br/artigos/Livro-Biodiesel.pdf>. Acessado em: 21 de novembro de 2009.

RAJENDIRAN, R.; JEGADEESHKUMAR, D.; SURESHKUMAR, B. T.; NISHA, T. *In vitro* assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* against post harvest pathogens. **Journal of Agricultural Technology**, v.6, n.1, p. 31-35, 2010.

RICARD, J. L., Commercialization of a *Trichoderma*- based mycofungicide-some problems and solutions. **Biocontrol News and Information**, v. 2, p. 95, 1981.

SAHA, B. C. Production, purification and properties of endoglucanase from a newly isolated strain of *Mucor circinelloides*. **Process Biochemistry**, v. 39, p.1871–6, 2004.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state and ecology. **Phytopathology**, v.96, p. 195-206, 2006.

SANTIAGO, A. S.; LARANGEIRAS, L. A. P.; DOURADO, V. V.; LEITE, V. M.; OLIVEIRA, A. S.; SILVA, S. A.; PINTO, M. F. S.; PEIXOTO, C. P.; GONÇALVES, N. P. EBDA MPB 01 nova variedade de mamoneira com potencial produtivo para agricultura tecnificada, Disponível em: <http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamoneira/publicacoes/cbm3/trabalhs/melhoramento%20genetico/mg%2032.pdf>, Acessado em: 15 de maio de 2010.

SANTOS, R. F. dos; KOURI, K. **Panorama mundial do agronegócio da mamoneira**. In: Congresso Brasileiro de Mamoneira, 2. Cenário Atual e Perspectivas. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006.

SANTOS, R. F.; BARROS, M. A. L.; MARQUES, F. M.; FIRMINO, P. T.; REQUIÃO, L. E. G. Análise Econômica. In: AZEVEDO, D. M. P. e LIMA, E. F., **O Agronegócio da Mamoneira no Brasil**, Embrapa, Brasília, 2001.

SARRUGE, J. R. S.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: USP-ESALQ, p. 56, 1974.

SATO, M.; BUENO, O. de C.; ESPERANCINI, M. S. T.; FRIGO, E. P. A cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.): Uso para fins combustíveis e descrição agrônômica. **Revista Varia Scientia**, v. 07, n. 13, p. 47-62, 2009.

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SAVY, F. A. **Mamoneira (Ricinus communis)** - Desenvolvimento de tecnologia de produção, 2007.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphate uptake by plants from soil to cell. **Plant Physiology**, v. 116, p. 447-453, 1998.

SEVERINO, L. S.; NÓBREGA, M. B. M.; GONÇALVES, N. P.; EGUIA, M. T. J. **Viagem à Índia para prospecção de tecnologias sobre mamona e pinhão**

manso. Campina Grande: Embrapa Algodão, 56p. (Embrapa Algodão, Documentos, 153), 2006.

SMITH, W.H. Forest occurrence of *Trichoderma* species: emphasis on potential organochloride (Xenobiotic) degradation. **Ecotoxicology Environment Saf.**, v. 32, p. 179, 1995.

SOUSA, C. S.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M.da S. Produção de mudas de tomateiro em substrato orgânico incubado com estreptomicetos. **Bragantia**, v. 68, p. 195-203, 2009.

TABET, J. C; LICHTENSTEIN, E. P., Degradation of [14C]photodieldrin by *Trichoderma viride* as affected by other insecticides. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, p. 1345, 1976.

TEIXEIRA, L. C. Potencialidades de Oleaginosas para produção de biodiesel. **Informe Agropecuario**, v. 26, n. 229, p.18-27, 2005.

TURNER, D.; KOVACS, W.; KUHLS, K.; LIECKFELDT, E.; PETER, B.; ARISAN-ATAC, I.; STRAUSS, J.; SAMUELS, G. J.; BÖRNER, T.; KUBICEK, C. P. Biogeography and phenotypic variation in *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum* and associated *Hypocrea* species. **Mycological Research.**, 101:449-459, 1997.

VALENCIA, H.; SÁNCHEZ, J.; VERA, D.; VALERO, N.; CEPEDA, Y. M. **Microorganismos solubilizadores de fosfatos y bacterias fijadoras de nitrógeno en páramos y región cálida tropical.** p. 169-183, 2007.

WAHID, O. A. A.; MOUSTAFA, A.; METWALLY, M. R. **Enhancement of plant growth through implementation of different *Trichoderma* species.** Proceeding of the Second Scientific Environmental Confer, 43-59, 2007.

WEATHERBURN, M. W. Phenol-hipochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry.**, v. 39, p. 971-974, 1967.

WEN, Z.; LIAO, W.; CHEN, S. Production of cellulase by *Trichoderma reesei* from dairy manure. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 491-499, 2005.

XIONG, H.; WEYMARN, N. V.; TURUNEN, O.; LEISOLA, M.; PASTINEN, O. Influence of pH on the production of xylanases by *Trichoderma reesei* Rut C-30. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 731-736, 2004.

YEDIDIA, I.; SRIVASTVA, A. K.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant Soil**, v. 235, p. 235–242, 2001.

YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 863–873, 2000.

ZAMBRANO, C. **Efecto de la concentración de inóculo de *Trichoderma harzianum* sobre el desarrollo de *Macrophomina phaseolina***. En: Resúmenes XI Seminario Nacional de Fitopatología. Sociedad Venezolana de Fitopatología. Trujillo, Venezuela, p. 56, 1989.

ZIMAND, G.; ELAD, Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. **Phytopathology**, v. 86, p. 1255–1260, 1996.