



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DO SOLO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

JOÃO MARCOS RODRIGUES DOS SANTOS

***TRICHODERMA* COMO BIOESTIMULANTE DO CRESCIMENTO DE MUDAS DE
CAJUEIRO-ANÃO**

**FORTALEZA
2020**

JOÃO MARCOS RODRIGUES DOS SANTOS

***TRICHODERMA* COMO BIOESTIMULANTE DO CRESCIMENTO DE MUDAS DE
CAJUEIRO-ANÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciência do Solo. Área de concentração: Química, fertilidade e biologia do solo.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Guirado Artur.

Coorientador: Dr. Carlos Alberto Kenji Taniguchi.

FORTALEZA
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S235t Santos, João Marcos Rodrigues dos.
Trichoderma como bioestimulante do crescimento de mudas de cajueiro-anão / João Marcos Rodrigues dos Santos. – 2020.
65 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Fortaleza, 2020.

Orientação: Profa. Dra. Adriana Guirado Artur.

Coorientação: Prof. Dr. Carlos Alberto Kenji Taniguchi.

1. Ácido-indol-3acético. 2. Fruticultura. 3. Sideróforos. 4. Solubilização de fosfato. I. Título.

CDD 631.4

JOÃO MARCOS RODRIGUES DOS SANTOS

***TRICHODERMA* COMO BIOESTIMULANTE DO CRESCIMENTO DE MUDAS DE
CAJUEIRO-ANÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciência do Solo. Área de concentração: Química, fertilidade e biologia do solo.

Aprovada em: 30/11/2020.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Adriana Guirado Artur (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. William Natale
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Christiana de Fátima Bruce da Silva
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

A Deus, pelo dom da vida

E a mim por nunca ter desistido dos meus
sonhos

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por ter me dado coragem para vencer cada obstáculo encontrado nessa jornada, por ter me levantado todas as vezes que tropecei e caí, pelo seu amor, pelo seu carinho, pela sua proteção e por seus livramentos.

Aos meus pais, Josefina e José Pedro, por serem os melhores pais do mundo, por terem me incentivado em cada escolha feita nessa vida, pois sem eles nada teria sentido.

Aos meus irmãos, Jamilly Rodrigues e Rodrigo Rodrigues, pelo incentivo e por me apoiarem em cada decisão tomada.

À senhora Natália Beleza, agradeço por todos os ensinamentos, por sentar e me ajudar a entender o passo a passo de cada análise que, por sua vez, era bastante obscura para mim, pelos momentos de distração em nossos cafés da manhã e da tarde, pelo companheirismo e pela amizade que construímos durante esse tempo que passei na Embrapa, levarei essa amizade para o resto da vida.

À minha orientadora Dra. Adriana Guirado, pelo incentivo, por todos os ensinamentos, todas as correções necessárias, pelas risadas e por todas as dicas que levarei por toda vida.

Ao meu coorientador, Dr. Carlos Taniguchi, pelo incentivo, por todos os ensinamentos e pela paciência em ensinar.

À Dra. Christiana Bruce, por ter aberto as portas do seu laboratório e ter dado todo o suporte para que esse trabalho fosse realizado e por todos os ensinamentos na área de controle biológico.

Ao grande mestre professor William Natale, por todas as correções, sugestões e ensinamentos que foram essenciais para a minha formação profissional.

À Universidade Federal do Ceará e ao programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo em nome dos professores William Natale, Maria Eugênia Escobar e Fernando Ferreyra que foram fundamentais na minha formação profissional.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela concessão da bolsa de estudos durante todo o curso.

À Embrapa Agroindústria Tropical por toda estrutura cedida para realização desse projeto, e ao grupo Embrapa por mais uma vez contribuir diretamente na minha formação profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo financiamento dessa pesquisa através de recursos via PROAP.

A toda equipe do laboratório de solos, em especial a Lilian, por todos os ensinamentos e dicas durante as análises de plantas feitas no laboratório, no qual levarei por toda minha vida, assim como pelas conversas nos momentos de descontração.

Aos secretários do PPCGS Edilson Dote e Marilene pela atenção e disponibilidade em me atender.

Aos meus amigos Tancio Gutier, Ericka Paloma, Wesley Souza, Ana Carla, Ícaro Vasconcelos, André Nogueira, Emannuela Barbosa, Isadora Vieira e Regimara Bernardo por todo apoio dado no período de disciplinas e pelos momentos inesquecíveis que compartilhamos juntos. Aos meus amigos Gabriel Santos, Marcos Ricardo, Mercia Luciana pelo companheirismo e incentivo.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes” (Martin Luther King).

RESUMO

A disponibilização de mudas de cajueiro-anão em quantidade e com alta qualidade é fundamental para atender a demanda promovida pela retomada da cajucultura no Brasil. Dentre as diversas tecnologias existentes, a utilização de insumos biológicos como o *Trichoderma* pode ser uma alternativa para a produção de mudas de cajueiro-anão de qualidade. Assim, objetivou-se avaliar a capacidade de cepas de *Trichoderma* em promover o crescimento de porta-enxerto e de mudas enxertadas de cajueiro-anão. Foram conduzidos dois experimentos em viveiro localizado no Campo Experimental de Pacajus. No experimento para a produção do porta-enxerto ‘CCP 06’, o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com três tratamentos (testemunha e aplicação de *Trichoderma longibrachiatum* e *T. asperellum* no momento da sementeira), e para a produção de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’ foram sete tratamentos (testemunha, aplicação de *T. longibrachiatum* e *T. asperellum* na sementeira, aplicação de *T. longibrachiatum* e *T. asperellum* após a enxertia e aplicação de *T. longibrachiatum* e *T. asperellum* na sementeira e após a enxertia). As cepas de *T. longibrachiatum* e *T. asperellum* foram obtidas da rizosfera de bananeiras e de produto comercial respectivamente. Em cada experimento as plantas foram avaliadas quanto à altura, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar, massa seca de folhas, da parte aérea, de caule, de raízes e total, além da avaliação do estado nutricional via folhas. As cepas inoculadas foram reisoladas e purificadas para quantificar a produção de ácido indol-3-acético, de sideróforos e solubilização de fosfato de cálcio *in vitro*. No experimento para a produção do porta-enxerto, a cepa *T. longibrachiatum* promoveu incrementos na altura de planta, área foliar, diâmetro do caule, massa seca de folhas, de caule, da parte aérea e total, em relação à cepa comercial e à testemunha. Na produção de mudas enxertadas, as cepas influenciaram as variáveis: diâmetro do caule, área foliar e massa seca de folhas. Ambas as cepas produziram sideróforos e solubilizaram fosfatos de cálcio *in vitro*, no entanto, não produziram ácido indol-3-acético, tanto na fase de produção do porta-enxerto quanto na de muda enxertada. Os tratamentos não diferiram quanto ao acúmulo de macro e micronutrientes nas folhas do porta-enxerto e das mudas enxertadas de cajueiro-anão. A cepa *T. longibrachiatum* promoveu aumento do crescimento do ‘CCP 06’ utilizado como porta-enxerto de mudas enxertadas de cajueiro-anão. A utilização das cepas de *T. longibrachiatum* e *T. asperellum* mostrou-se vantajosa apenas para o diâmetro do caule de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’.

Palavras-chave: Ácido-indol-3-acético, Fruticultura, Solubilização de fosfatos, Sideróforos.

ABSTRACT

The availability of dwarf cashew seedlings in quantity and with high quality is essential to meet the demand promoted by the resumption of cajuculture in Brazil. Among the various existing technologies, the use of biological inputs such as *Trichoderma* can be an alternative for the production of quality dwarf cashew seedlings. Thus, the objective was to evaluate the ability of *Trichoderma* strains to promote the growth of rootstock and grafted dwarf cashew seedlings. Two experiments were carried out in a nursery located in the Experimental Field of Pacajus. In the experiment for the production of the 'CCP 06' rootstock, the design used was entirely randomized with three treatments (control and application of *Trichoderma longibrachiatum* and *T. asperellum* at the time of sowing), and for the production of grafted cashew seedlings. 'BRS 226' were seven treatments (control, application of *T. longibrachiatum* and *T. asperellum* at sowing, application of *T. longibrachiatum* and *T. asperellum* after grafting and application of *T. longibrachiatum* and *T. asperellum* at sowing and after sowing grafting). The strains of *T. longibrachiatum* and *T. asperellum* were obtained from the rhizosphere of banana trees and commercial product respectively. In each experiment the plants were evaluated for height, stem diameter, number of leaves, leaf area, dry leaf mass, aerial part, stem, roots and total, in addition to the assessment of nutritional status via leaves. The inoculated strains were re-isolated and purified to quantify the production of indole-3-acetic acid, siderophores and calcium phosphate solubilization *in vitro*. In the experiment for the production of the rootstock, the *T. longibrachiatum* strain promoted increases in plant height, leaf area, stem diameter, dry mass of leaves, stem, aerial and total, in relation to the commercial strain and the witness. In the production of grafted seedlings, the strains influenced the variables: stem diameter, leaf area and dry leaf mass. Both strains produced siderophores and solubilized calcium phosphates *in vitro*, however, they did not produce indole-3-acetic acid, both in the rootstock production and in the grafted seedling phase. The treatments did not differ regarding the accumulation of macro and micronutrients in the rootstock leaves and the grafted dwarf cashew seedlings. The *T. longibrachiatum* strain promoted an increase in the growth of 'CCP 06' used as a rootstock for grafted dwarf cashew seedlings. The use of the strains of *T. longibrachiatum* and *T. asperellum* proved to be advantageous only for the stem diameter of grafted dwarf cashew tree 'BRS 226'.

Keywords: Índole-3-acetic acid. Fruit growing. Phosphate solubilization. Siderophores.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Teores de fosfato de cálcio solubilizados ($\mu\text{g L}^{-1}$), em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i> (porta-enxerto).....	38
Figura 2	– Produção de sideróforos (%), em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i> (porta-enxerto).....	39
Figura 3	– Teores de fosfato de cálcio solubilizados ($\mu\text{g L}^{-1}$), em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i> (mudas enxertadas).....	46
Figura 4	– Produção de sideróforos (%), em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i> (mudas enxertadas).....	47
Figura 5	– Mudanças enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da inoculação com <i>Trichoderma</i>	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Crescimento de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	33
Tabela 2	–	Produção de matéria seca de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	34
Tabela 3	–	Teores de macronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	35
Tabela 4	–	Teores de micronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	35
Tabela 5	–	Acúmulo de macronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	36
Tabela 6	–	Acúmulo de micronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	37
Tabela 7	–	Crescimento de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	41
Tabela 8	–	Produção de matéria seca de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas <i>Trichoderma</i>	42
Tabela 9	–	Teores de macronutrientes em folhas de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	43
Tabela 10	–	Teores de micronutrientes em folhas de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	43
Tabela 11	–	Acúmulo de macronutrientes em folhas de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	44
Tabela 12	–	Acúmulo de micronutrientes em folhas de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas de <i>Trichoderma</i>	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	1-aminociclopropano-1-carboxilato
ACCD	1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase
AIA	Ácido-3-indolacético
ATP	Adenosina trifosfato
BD	Caldo Batata-dextrose
BDA	Batata-dextrose-ágar
CAS	Solução de Cromoazurol
DC	Diâmetro do caule
DNA	Ácido desoxirribonucléico
FAO	Food and Agriculture Organization
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MSP	Microrganismos solubilizadores de fosfatos
NBRIP	National Botanical Research Institute`s Phosphate growth medium
RNA	Ácido ribonucléico

LISTA DE SÍMBOLOS

- % Porcentagem
- ® Marca registrada
- °C Grau Celsius

SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO	14
2.0	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Aspectos gerais sobre a cultura do cajueiro.....	16
2.2	Microrganismos na agricultura.....	17
2.3	Aspectos gerais do gênero <i>Trichoderma</i>.....	18
2.4	<i>Trichoderma</i> na promoção do crescimento vegetal.....	20
2.5	<i>Trichoderma</i> na solubilização de fosfatos.....	21
2.6	<i>Trichoderma</i> na biossíntese de sideróforos e disponibilização de ferro para as plantas.....	22
3.0	HIPÓTESE.....	25
4.0	OBJETIVO GERAL.....	25
5.0	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
6.0	MATÉRIAL E MÉTODOS.....	26
6.1	Localização e delineamento experimental.....	26
6.2	Esterilização do substrato e higienização dos tubetes.....	26
6.3	Obtenção das cepas, preparo da suspensão e dose aplicada.....	26
6.4	Instalação do experimento: plantio, aplicação das cepas, processo de enxertia e irrigação.....	28
6.5	Análises biométricas das mudas.....	29
6.6	Reisolamento e cultivo das cepas.....	29
6.7	Produção e quantificação de ácido-3-indolacético (AIA), siderofóros e solubilização de fosfato de cálcio.....	29
6.8	Análises de macro e micronutrientes.....	31

6.9	Análises estatísticas.....	32
7.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
7.1	Produção do porta-enxerto.....	33
7.2	Mudas enxertadas.....	41
	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	50
	ANEXO A: PREPARO DA SOLUÇÃO CROMOAZUROL (CAS).....	61
	ANEXO B: PREPARO DA SOLUÇÃO VANADO-MOLIBDÍCO.....	62

1 INTRODUÇÃO

A fruticultura tem se mostrado uma das atividades mais rentáveis do Agronegócio brasileiro. Segundo dados apresentados pela Associação Brasileira dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados - ABRAFRUTAS (2019), em 2019 foram exportadas cerca de 980 mil toneladas de frutas, correspondendo a 858 milhões de dólares injetados na economia nacional.

No estado do Ceará, a fruticultura é representada, principalmente, pela cultura do caju (*Anacardium occidentale* L.), sendo obtidos diversos produtos a partir dessa planta, destacando-se o pseudofruto, podendo ser consumido *in natura* ou utilizado na fabricação de sucos, doces e geleias, além da castanha, que possui maior valor econômico agregado.

No período de 2009 a 2019 a cajucultura no estado do Ceará apresentou queda de 31% na área colhida, passando de 396 para 271 mil hectares (IBGE, 2009; 2020). Essa diminuição se deveu à estiagem ocorrida entre os anos de 2012 e 2016, resultando em morte de plantas, especialmente de cajueiro-comum. Por outro lado, entre os anos de 2012 e 2017, a área de cultivo de cajueiro-anão apresentou expansão, indicando a retomada da cajucultura (BRAINER; VIDAL, 2018) e a mudança no sistema de produção, com a substituição do cajueiro-comum pelo anão (SERRANO *et al.*, 2013).

Assim, a disponibilização de mudas em quantidade e com qualidade para atender a demanda, torna-se um desafio no sistema de produção do cajueiro. O uso de mudas de cajueiro-anão de alta qualidade pode reduzir o estresse inicial do plantio em campo, assegurando a sobrevivência das plantas e garantindo a uniformidade do pomar.

O uso de microrganismos inoculados no substrato tem se mostrado uma alternativa promissora no processo de produção de mudas, apresentando diversos benefícios como a promoção do crescimento e o aumento na eficiência de absorção e uso de nutrientes.

A promoção do crescimento vegetal, mediada por cepas de *Trichoderma*, envolve mecanismos como a produção e a exsudação de metabólitos capazes de interagir com as plantas, como o ácido-3-indolacético, promovendo ampliação do sistema radicular e, conseqüentemente, crescimento da parte aérea, além da solubilização de minerais que se encontram nos solos em formas não assimiláveis pelas plantas, deixando-os em formas mais prontamente disponíveis, melhorando a nutrição do vegetal. Outro mecanismo bastante estudado é a biossíntese de quelantes orgânicos, como os sideróforos, capazes de quelatizar íons de ferro, facilitando o processo de absorção de nutrientes pelas plantas.

A busca de tecnologias alternativa cada vez mais completa e eficiente para atender às necessidades da produção de alimentos, faz com que o aumento das pesquisas e o

conhecimento sobre os sistemas biológicos sejam um passo importante para o futuro da agricultura. Nesse sentido, busca-se por meio desta pesquisa estudar a capacidade de cepas de *Trichoderma* em atuar como bioestimulante de mudas de cajueiro-anão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais sobre a cultura do cajueiro

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é considerado uma frutífera nativa da região Nordeste do Brasil, sendo sua exploração de importância tanto social, quanto econômica. A importância social se dá pela quantidade de empregos que são criados de forma direta e indireta com o cultivo da planta. Para o semiárido, essa importância é ainda maior, pois os empregos do segmento de campo são criados na entressafra das culturas tradicionais, como feijão, algodão e milho (MARINHO, 2011).

Dados apresentados pelo IBGE (2018) apontam que a área ocupada pelo cajueiro no Brasil em 2017 era de 505,5 mil hectares, sendo a região Nordeste a principal produtora, com cerca de 99,5% dessa área. Nesse cenário, o estado do Ceará se torna o principal produtor, com área de 311,5 mil hectares, o que representa cerca de 61,6% da área nacional e 61,9% da área nordestina. A produção nacional calculada para a castanha de caju em 2017 foi de 133,4 mil toneladas, sendo o Nordeste responsável por cerca de 98,83% e o estado do Ceará por cerca de 60,67%.

O cajueiro é uma planta perene, de ramificação baixa e de médio porte. A copa do cajueiro comum chega a atingir de 5 a 15 m de altura, com envergadura entre 12 e 14 m. O seu florescimento é iniciado no segundo ou terceiro ano, podendo variar de acordo com as condições climáticas e do solo (CAJUCULTURA, 2011). Já o cajueiro-anão apresenta baixo porte, com altura de planta em torno de 3 a 4 m, copa compacta e homogênea e, envergadura de copa média em torno de 7 a 9 m, iniciando seu florescimento entre 6 e 18 meses após o plantio no campo (BARROS; PAIVA; CAVALCANTI JUNIOR, 1998; MONTENEGRO; VIDAL NETO; SERRANO, 2011). Atualmente, o cajueiro-anão vem substituindo o comum, pois, apresenta maior produtividade, facilidade de colheita e de manejo dos pomares, devido ao seu baixo porte, além de apresentar boa uniformidade da castanha e da produção, o que permite excelente exploração comercial, tornando-se mais rentável (ARAÚJO, 2017).

A cultura é bem adaptada ao clima tropical, com temperaturas variando entre 20 e 30 °C, apresentando sensibilidade ao frio. O seu bom desempenho produtivo ocorre em torno de temperaturas próximas dos 27 °C, umidade relativa do ar em torno de 70 a 80%, com precipitação entre 800 e 1.500 mm anuais (OLIVEIRA, 2005; OLIVEIRA, 2011).

Apesar da importância social e econômica que a cultura do caju representa para o semiárido brasileiro, a cajucultura vem passando por um período crítico, em função das baixas produções consecutivas. Como resultado do modelo exploratório extrativista, a não adoção de técnicas agrônomicas como irrigação localizada, manejo da adubação e fitossanitário e o não

replântio das plantas mortas pela seca, o que vem comprometendo todo o processo produtivo (ANJOS JUNIOR; CIRÍACO; PAIXÃO, 2017). Com os avanços das pesquisas e a introdução do cajueiro-anão, o cenário da cajucultura tem mudado de forma expressiva, como se pode verificar pela produção no estado do Ceará. Em 2007 a produção de caju foi de 53 mil toneladas e, no ano de 2017, foi de 81 mil toneladas (IBGE, 2018), representando aumento significativo para o Estado.

2.2 Microrganismos na agricultura

Segundo dados apresentados pela FAO (2020), a população mundial estimada para 2050 será em torno de 9,7 bilhões de pessoas, o que significa aumento de mais de 2 bilhões de seres humanos quando comparado à população atual que está em torno de 7,7 bilhões. Com esse crescimento, a demanda por alimentos deve aumentar expressivamente, sendo necessário produzir cerca de 3,2 milhões de toneladas a mais que a produção atual para suprir a demanda da população.

Devido a explosão populacional e a busca acelerada pela produção de alimentos, o uso de insumos químicos, defensivos e fertilizantes tornaram-se as práticas mais utilizadas para elevar a produção agrícola. Entretanto, muitos malefícios vêm sendo causados, como a poluição do solo e da água, a degradação do solo e as mudanças climáticas, afetando diretamente toda a cadeia produtiva (PICARD; BARUFFA; BOSCO, 2008; VANDENBERGHE *et al.*, 2017).

Nas últimas décadas, algumas alternativas foram discutidas a fim de amenizar os efeitos de produtos que degradem diretamente o ambiente como a introdução de insumos à base de microrganismos, como bioprotetores, bioncontroladores, biofertilizantes ou bioestimulantes (REBAH *et al.*, 2007).

O uso desses insumos trouxe benefícios, desde a promoção do crescimento vegetal, a melhoria na nutrição de plantas, o controle de doenças de plantas, a resistência aos estresses ambientais, além da melhoria na qualidade biológica do solo (VESSEY 2003; BHARDWAJ *et al.*, 2014; KANG *et al.*, 2014; GARCIA; KNAAK; FIUZA, 2015).

A promoção do crescimento vegetal advinda do uso de insumos biológicos está diretamente relacionada à produção e à exsudação de fitohormônios, como as auxinas, que ao interagirem com as plantas são capazes de promover o crescimento e o alongamento celular, refletindo em crescimento do sistema radicular e da parte aérea da planta (FELESTRINO *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2018).

Já a melhoria do estado nutricional das culturas está associada à capacidade desses

microrganismos em solubilizar nutrientes do solo, como fosfatos e micronutrientes, além de fixar nitrogênio atmosférico. Para realizar tais atividades, esses microrganismos utilizam o seu aparato bioquímico e fisiológico para produzir e liberar ácidos orgânicos e enzimas, sendo capazes de reduzir o pH do meio, deixando os nutrientes nas formas assimiláveis às plantas. São também capazes de transformar o nitrogênio atmosférico em amônio, forma essa prontamente assimilável (RIBAS *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2018) pelas plantas. Esses e outros fatores tendem a melhorar o estado nutricional das culturas, favorecendo o crescimento e o desenvolvimento vegetal.

Outro benefício bastante conhecido oriundo do uso de microrganismos é o controle de doenças de plantas. Os mecanismos que ajudam a explicar é o processo de antibiose, no qual são produzidos metabólitos, como os fungicidas, os antibióticos e os nematicidas, sendo estes capazes de degradar a membrana celular do patógeno, causando sua morte (FERREIRA, 2019). Além desses, há o parasitismo, o processo de competição, a predação e a indução de resistência (WU *et al.*, 2015; FERREIRA, 2019).

Os insumos a base de microrganismos também são conhecidos como indutores de resistência a estresses ambientais e, dentre os mais estudados encontram-se o estresse hídrico e o estresse salino. Em relação ao estresse hídrico, essa resistência é advinda de forma indireta, visto que, na medida em que esses microrganismos são capazes de promover o crescimento e a melhoria do estado nutricional, as raízes das plantas são capazes de explorar maior volume de solo favorecendo a absorção de água. Com isso, as plantas conseguem resistir por maiores períodos aos estresses hídricos. No que tange ao estresse salino, os microrganismos são capazes de exsudar osmólitos, como a prolina, responsável pelo balanço iônico e osmótico causado pelo acúmulo de sais na planta (ISLAM *et al.*, 2016; TIWARI *et al.*, 2017).

2.3 Aspectos gerais do gênero *Trichoderma*

O gênero *Trichoderma* compreende um grande número de fungos, classificados como Ascomycetos anamórficos, da ordem *Hypocreales*, família *Hypocreaceae* e gênero *Hypocrea* (*Trichoderma*) (DRUZHININA; KUBICEK, 2005). São considerados fungos habitantes do solo, sendo encontrados em ampla faixa climática, podendo viver saprofiticamente ou endofiticamente (HARMAN *et al.*, 2004). Já foram descritas 433 espécies (INDEX FUNGORUM, 2020), as quais apresentam rápida taxa de crescimento e boa capacidade de sobrevivência em condições ambientais adversas (AL-SADI *et al.*, 2015).

O *Trichoderma* é um microrganismo filamentososo, cuja principal característica é a presença de estruturas vegetativas, o micélio, que apresenta alta taxa de crescimento. A sua

coloração inicial é esbranquiçada e, posteriormente, torna-se esverdeada. A coloração pode sofrer influência de diversos fatores, tais como o pH, a luminosidade e o meio de cultivo. As suas estruturas reprodutivas são os conídios (esporos), que estão sustentados em conidióforos com fiáides (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são um dos mais estudados, apresentando diversos benefícios para a produção vegetal e para a indústria, sendo utilizados no controle biológico, como indutores do crescimento vegetal e como solubilizadores de minerais (SAITO *et al.*, 2009; BROTMAN; KAPUGANTI; VITERBO, 2010; SILVA *et al.*, 2019).

Pesquisas com controle biológico têm revelado o potencial desse gênero como antagonista de fungos fitopatogênicos. Esse potencial é devido a fatores, tais quais, a alta capacidade reprodutiva, o que favorece o aumento da sua população; a capacidade de sobrevivência em condições adversas; a utilização eficiente de elementos essenciais ao seu metabolismo bioquímico; a capacidade de aumentar a diversidade microbiana na rizosfera e, de incrementar o sistema de defesa das plantas (BENÍTEZ *et al.*, 2004).

O micoparasitismo é um dos mecanismos envolvidos na relação antagonista/patógeno, e decorre da produção e da liberação de compostos como toxinas e enzimas (gliotoxinas, quitinases e glucanases) pelo antagonista, resultando na inibição do patógeno (LIU; ZHANG; XU, 2009; OSÓRIO-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011). Os microrganismos antagonistas podem também produzir metabólitos secundários (antraquinonas) que combinadas com outras enzimas são capazes de provocar a degradação da parede celular do patógeno (SLATER *et al.*, 1967; REINO *et al.*, 2008). Além disso, o mecanismo de competição por nutrientes, principalmente nitrogênio e ferro, é comum para as espécies de *Trichoderma*. Estes microrganismos têm alta capacidade de mobilizar os nutrientes do solo, em relação aos demais microrganismos, o que se justifica pela produção de ácidos orgânicos capazes de reduzir o pH do solo rizosférico, favorecendo a solubilização de minerais, a exemplo do fósforo e do ferro (VINALE *et al.*, 2014).

Outro benefício oriundo do uso de *Trichoderma* é a sua capacidade de promover o crescimento vegetal. É sabido que a interação microrganismo/planta é dinâmica e mediada por reações bioquímicas, sendo liberados compostos (metabólitos secundários) pelos fungos que são reconhecidos pelas plantas (HERMOSA *et al.*, 2012). Dentre esses compostos liberados encontra-se o ácido indol-3-acético (AIA), cuja função é regular o desenvolvimento radicular e o crescimento das plantas (MARTÍNEZ-MEDINA *et al.*, 2014).

2.4 *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal

O uso de promotores de crescimento de plantas para o aumento da produção agrícola tem se tornado uma das técnicas mais eficientes e importantes para a agricultura no mundo todo. Isso devido à busca para reduzir o uso de fertilizantes e de defensivos, além da necessidade de se desenvolver uma agricultura que implique em ínfimos impactos ao ambiente (MACHADO *et al.*, 2012).

A utilização desses microrganismos na formulação de inoculantes, além de ser uma alternativa eficiente para diminuir os riscos ao ambiente, contribui para o aumento da produção. Com isso, o produto se torna mais competitivo e diminui os custos na utilização de insumos pelos agricultores, como os fertilizantes e os defensivos (POMELA; RIBEIRO, 2009; MACHADO *et al.*, 2012).

Nesse cenário, pesquisas têm revelado o potencial de algumas linhagens de *Trichoderma* capazes de promover o crescimento e o desenvolvimento de vegetais. Essa capacidade está atrelada à produção de alguns metabólitos secundários pelos fungos, sendo os mais comuns o ácido indol-3-acético (MARTÍNEZ-MEDINA *et al.*, 2014), as giberelinas (JAROSZUK-SCISEL *et al.*, 2019) e a enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase (ACCD) (VITERBO *et al.*, 2010).

O ácido indol-3-acético (AIA), mais conhecido como auxina, é um dos principais reguladores do crescimento vegetal, atuando principalmente na região meristemática apical do caule da planta, sendo transportado em seguida para o sistema radicular via parênquima. Sua função na planta está atrelada à produção e ao crescimento de raízes laterais, expansão e diferenciação celular, bem como ao crescimento da parte aérea (HEDDEN; THOMAS, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013). Já as giberelinas têm suas funções relacionadas ao crescimento do caule e dos frutos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Sofo *et al.* (2011), estudando *Trichoderma harzianum* na indução dos níveis de fitohormônio em porta-enxertos de cerejeira (*Prunus cerasus* x *P. canescens*), verificaram que as plantas inoculadas com a cepa tiveram aumento em torno de 76% no comprimento médio da raiz e, 65% na altura da planta na fase de enraizamento do porta-enxerto. Foi constatado pelos mesmos autores aumento de 49% e 40% nos teores de AIA nas folhas e nas raízes, respectivamente, das plantas inoculadas com a cepa.

Outro metabólito produzido por cepas do gênero *Trichoderma* é a 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase (ACCD), capaz de neutralizar a atividade do aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), precursor na síntese do fitormônio etileno. O etileno é um importante sinalizador, indicando quando as plantas estão sob ataque de patógenos ou

sob estresses bióticos ou abióticos. Quando as plantas são inoculadas com cepas capazes de sintetizar o ACCD, este neutraliza o ACC, provocando redução na produção de etileno, culminando em maior crescimento das raízes e em menor inibição no desenvolvimento das plantas (TODOROVIC; GLICK, 2008).

Gravel, Antoun e Tweddell (2007), estudando a atividade do *Trichoderma atroviride* na promoção do crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), verificaram que a redução na biossíntese de etileno foi resultante da diminuição de seu precursor, o ACC, o qual foi degradado pela atividade da ACCD produzida pelo microrganismo.

2.5 *Trichoderma* na solubilização de fosfatos

O fósforo é um dos nutrientes que mais limita a produção agrícola, perdendo apenas para o nitrogênio, uma vez que a maior parte do fósforo do solo encontra-se em formas não assimiláveis pelas plantas (PRADHAN; SUKLA, 2005). Este elemento atua diretamente na constituição de diversas moléculas vegetais, tais como o ácido ribonucléico (RNA), o ácido desoxirribonucléico (DNA), os fosfolipídios, além de ser fonte de energia, como a molécula adenosina trifosfato (ATP). Assim, o suprimento adequado deste nutriente se torna essencial para o crescimento e o desenvolvimento do vegetal. Em plantas saudias, este elemento representa cerca de 0,2% do seu peso seco (KAPRI; TEWARI, 2010). A baixa solubilidade e disponibilidade de fósforo no solo impulsionam a utilização de adubos fosfatados para a obtenção de altas produtividades.

O uso de fertilizantes fosfatados na agricultura tem aumentado de maneira significativa, trazendo impactos negativos, tanto econômico, quanto ambiental, uma vez que sua produção tem custo elevado, além de utilizar fontes não renováveis e finitas de energia (GRAHAM; VANCE, 2003).

Nesse sentido, o uso de microrganismos solubilizadores de fosfatos (MSP) tornou-se uma técnica bastante utilizada na agricultura, possibilitando melhoria na eficiência das fontes de fósforo existente, ou do adicionado ao solo, além do baixo custo e do risco mínimo de impacto ao ambiente. Estudos relatam que os fungos apresentam maior capacidade em solubilizar fosfatos, quando comparados às bactérias (SIQUEIRA *et al.*, 1999), apesar destas serem encontradas em maior número. Espécies do gênero *Trichoderma* são mencionadas na literatura como solubilizadores de fosfatos e de micronutrientes (AZARMI; HAJIEGHRARI; GICLOU, 2011), tanto *in vitro* quanto em ambiente rizosférico (ALTOMARE *et al.*, 1999; TANDON *et al.*, 2018).

Os principais mecanismos envolvidos no processo de solubilização de fosfatos mediados por cepas do gênero *Trichoderma* são a produção e a liberação de ácidos orgânicos (acético, láctico, málico, oxálico), que atuam como agentes complexantes e, também, a produção de enzimas extracelulares como as fosfatases (BEHERA *et al.*, 2014).

Os ácidos orgânicos exsudados pelos MSP podem atuar tanto na redução do pH do meio, quanto como agente quelante dos íons cálcio, alumínio e/ou ferro que estão acompanhados de íons fosfatos, deixando o fósforo em formas que podem ser assimiladas pelas plantas (BOLAN *et al.*, 1994; LIN *et al.*, 2006).

As fosfatases são enzimas produzidas pelos MSP capazes de hidrolisar ligações dos organofosfatos ou ligações de alta energia da matéria orgânica do solo, sendo também responsáveis por catalisar a conversão do fósforo de formas orgânicas para inorgânicas, o que permite a ciclagem do P no ecossistema (CHEN *et al.*, 2008; NANNIPIERI *et al.*, 2011). O tipo de fosfatase a ser liberada pelos MSP vai depender do pH do meio em que estes microrganismos estão inseridos, podendo ser liberadas fosfatases ácidas em solos com características ácidas e, fosfatases alcalinas em solos com características alcalinas e/ou neutras (JUMA; TABATABAI, 1998; RENELLA *et al.*, 2006).

Segundo Juma e Tabatabai (1988) e Criquet *et al.* (2004), as plantas são capazes de produzir fosfatases ácidas, contudo, em quantidades ínfimas, o que indica que os MSP são mais eficientes em produzir esse tipo de fosfatase. Estudos realizados por Richardson *et al.* (2009) sugerem que as fosfatases oriundas de microrganismos possuem maior afinidade pelos compostos de fósforo orgânico, quando comparadas às biossintetizadas pelas raízes das plantas.

Bader *et al.* (2020), estudando cepas nativas de *Trichoderma harzianum* na promoção do crescimento e no controle da murcha no tomate (*Solanum lycopersicum*), verificaram que as quatro cepas estudadas foram capazes de solubilizar fosfato de cálcio *in vitro*. Já *in vivo*, as cepas também foram eficientes em promover o crescimento do tomateiro. Gravel, Antoun e Tweddell (2007) sugeriram que a solubilização de fosfato realizada por microrganismos envolve a liberação de ácidos orgânicos ou a exsudação de enzimas do tipo fosfatase.

2.6 *Trichoderma* na biossíntese de sideróforos e na disponibilização de ferro

O ferro é um elemento importante para o crescimento e o desenvolvimento vegetal, pois está diretamente envolvido em diversos processos fundamentais, como fotossíntese, respiração, fixação de nitrogênio, síntese de DNA e de hormônios e na

manutenção dos cloroplastos. Cerca de 80% do ferro na planta é encontrado em células responsáveis pela fotossíntese, como os cloroplastos, o que demonstra que a sua principal função está atrelada ao processo fotossintético (HANSCH; MENDEL, 2009). Em plantas saudias a concentração de ferro varia entre 30 e 300 μg^{-1} do seu peso seco (PUGH; DICK; FREDEEN, 2002).

Mesmo sendo encontrado no solo em abundância, esse micronutriente não está em formas assimiláveis pelas plantas. Quando em ambientes aeróbicos, devido a sua baixa solubilidade em solos com pH elevado, é encontrado principalmente na forma iônica Fe^{3+} . Com isso, fungos e bactérias desenvolveram mecanismos capazes de captar esse íon, permitindo que as plantas o absorvam com maior facilidade (HIDER; KONG, 2010; MARSCHNER, 2012).

Dentre os mecanismos, a biossíntese de sideróforos pelos microrganismos tem sido bastante estudada. Os sideróforos são definidos como quelantes de baixo peso molecular e ligantes específicos do íon Fe^{3+} . A sua principal função é sequestrar e transportar íons de Fe^{3+} , facilitando a absorção pelas plantas. Há ampla variedade de microrganismos capazes de sintetizar este quelante orgânico, como: bactérias entéricas, bactérias patogênicas de animais, fitopatógenos, microrganismos do solo, bactérias Gram positivas e negativas, além das fixadoras de nitrogênio (NEILANDS, 1981; EMERY, 1986; NEILANDS, 1995; HIDER; KONG, 2010).

O processo de produção dos sideróforos está diretamente relacionado às concentrações de ferro encontradas no ambiente em que os microrganismos estão inseridos (HIDER; KONG, 2010). Em ambientes com alta concentração de ferro a produção e a exsudação de sideróforos são interrompidas, sendo comum a exsudação em ambientes com baixa concentração do elemento.

Os processos necessários para que haja solubilização e captação do ferro mediado por sideróforos são: quelação seletiva do íon Fe^{3+} , reconhecimento molecular do complexo Fe^{3+} - sideróforo, transporte do ferro quelatizado via membrana celular e, deposição do Fe em um sítio apropriado na célula (ALBRECHT-GARY; CRUMBLISS, 1998).

Santiago *et al.* (2011), estudando o efeito do *Trichoderma asperellum* na absorção de ferro pelo trigo (*Triticum* spp.), observaram que a cepa foi capaz de aumentar os teores de ferro nas folhas do cereal cultivado em ambiente com baixa concentração do elemento, resultado explicado pela biossíntese de sideróforos pela cepa estudada.

Pesquisando o efeito da cepa de *T. asperellum* na nutrição de ferro em pepino (*Cucumis sativus* L.), cultivado em solos calcários, Santiago *et al.* (2013) verificaram que o microrganismo foi capaz de aumentar o acúmulo de ferro na parte aérea dessa olerícola.

Segundo os autores, o acúmulo de ferro na parte aérea não está somente associado ao acúmulo desse micronutriente nas raízes, mas também, ao transporte desse íon mediado por sideróforos produzidos pela cepa (CARRILLO-CASTAÑEDA *et al.*, 2005; DE MARIA *et al.*, 2011).

Outros autores já descreveram na literatura a eficiência de cepas de *Trichoderma* em aumentar a absorção de ferro pelas plantas, atribuindo esse benefício ao efeito do sideróforos em transportar o ferro (HARMAN *et al.*, 2004; VERMA *et al.*, 2007). Santiago *et al.* (2009), estudando a absorção de ferro em tremoço branco (*Lupinus albus* L.), verificaram que houve aumento no teor de Fe na parte aérea das plantas.

3 HIPÓTESE

A aplicação de cepas de *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma asperellum* no substrato promove o crescimento de porta-enxerto e de mudas enxertadas de cajueiro-anão.

4 OBJETIVO GERAL

Verificar a capacidade do fungo *Trichoderma* em atuar como bioestimulante do crescimento de porta-enxerto e de mudas enxertadas de cajueiro-anão.

5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a capacidade de cepas de *Trichoderma* na produção de ácido-3-indolacético, de sideróforos e, na solubilização de fosfatos *in vitro*;

Avaliar o estado nutricional de porta-enxerto e de mudas enxertadas de cajueiro-anão, após a inoculação de cepas de *Trichoderma*.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Localização e delineamento experimental

Os experimentos foram conduzidos em viveiro localizado no Campo Experimental de Pacajus pertencente a Embrapa Agroindústria Tropical, em Pacajus/CE, com coordenadas geográficas: 4°11'12" S, 38°30'01" W e 79 m de altitude. O clima da região é classificado como tropical com inverno seco (Aw), segundo a classificação climática de Köppen (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007).

Para avaliar a produção do porta-enxerto 'CCP 06', o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com três tratamentos (testemunha – sem inóculo, aplicação de *Trichoderma longibrachiatum* na sementeira e aplicação de *T. asperellum* na sementeira) e dez repetições. Cada unidade experimental foi constituída por um tubete contendo uma muda de cajueiro-anão.

Para avaliar as mudas enxertadas ('CCP 06' e 'BRS 226' como porta-enxerto e copa, respectivamente), o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com sete tratamentos (testemunha – sem inóculo; aplicação de *T. longibrachiatum* na sementeira – LPPC299 S; aplicação de *T. asperellum* na sementeira – comercial S; aplicação de *T. longibrachiatum* após a enxertia – LPPC299 E; aplicação de *T. asperellum* após a enxertia – comercial E; aplicação de *T. longibrachiatum* na sementeira e após a enxertia – LPPC299 SE e aplicação de *T. asperellum* na sementeira e após a enxertia – comercial SE) e dez repetições. Cada unidade experimental foi constituída por um tubete contendo uma muda de cajueiro-anão.

6.2 Esterilização do substrato e desinfestação dos tubetes

De modo a evitar contaminações, os tubetes foram lavados com detergente neutro e enxaguados em água corrente e, em seguida, submersos em solução de hipoclorito de sódio a 3% durante 8 horas, sendo novamente lavados em água corrente para retirar o excesso do hipoclorito.

Empregou-se substrato comercial à base de turfa, que foi acomodado em sacos de pano, cuja esterilização foi efetuada em autoclave a 121 °C durante 1 hora; decorridas 24 horas, o processo de esterilização foi repetido.

6.3 Obtenção das cepas, preparo da suspensão e dose aplicada

A cepa *Trichoderma asperellum* foi obtida de produto comercial ‘Quality®’ (empresa registrante: Lallemand, registro MAPA: 8611). Já a cepa *Trichoderma longibrachiatum*, denominada ‘LPPC229’, faz parte da coleção de trabalho do Laboratório de Patologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical e foi coletada em rizosfera de bananeiras sadias em área de produção localizada na cidade de Pacoti/CE.

A suspensão e, conseqüentemente a concentração da cepa comercial, foi obtida pesando-se 1 g do produto em balança analítica e, em seguida, diluída em 9 mL de água destilada esterilizada e homogeneizada com uso de agitador de tubos tipo vórtex. Logo após, a suspensão foi filtrada com gaze em béquer. Para a contagem dos conídios foi utilizada a câmara de Neubauer, a qual foi preenchida com a suspensão e levada ao microscópio de luz (40x) para contagem dos conídios (ALFENAS; ZAUZA; MAFIA, 2016).

A quantidade de conídios na suspensão foi determinada a partir da seguinte equação:

$$C = \text{Média} \times \text{F.C} \times \text{P.C} \times \text{D}$$

$$C = 108,6 \times 5 \times 10^4 \times 10^3$$

$$C = 543 \times 10^4 \times 10^3$$

$$C = 5,4 \times 10^2 \times 10^4 \times 10^3$$

$$C = 5,4 \times 10^9 \text{ conídios mL}^{-1}$$

Em que: C = concentração, Média = a média dos conídios contados, F.C = fator de correção (quadrantes analisados), P.C = volume da câmara e D = diluição.

A cepa ‘LPPC299’ foi reativada em placas de Petri contendo meio BDA (batata dextrose e ágar) e incubada por sete dias a 28 °C com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro).

O inóculo foi preparado a partir dessas colônias, retirando-se três discos (5 mm cada) de meio BDA contendo micélio e conídios da cepa e repicados para erlenmeyer contendo 50 g de arroz parboilizado + 30 mL de água deionizada (esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 minutos). O inóculo foi mantido em incubadora tipo BOD a 28 °C e fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro) por 15 dias. Decorrido esse período, o arroz colonizado pelo fungo foi transferido assepticamente para envelopes de papel kraft (30 x 15 cm), e colocado para secar em estufa tipo BOD à temperatura de 32 °C, por cinco dias. Depois de seco, o arroz colonizado foi triturado com o uso de liquidificador.

Para estimar a concentração (conídios mL⁻¹) foi preparada uma suspensão utilizando 1 g do pó diluído em 9 mL de água destilada esterilizada e homogeneizado com uso de agitador de tubos tipo vórtex. Logo após, a suspensão foi filtrada com gaze em béquer.

Uma câmara de Neubauer foi preenchida com a suspensão e levada ao microscópio de luz (40x) para contagem dos conídios.

A quantidade de conídios na suspensão foi obtida a partir da seguinte equação:

$$C = \text{Média} \times \text{F.C} \times \text{P.C} \times \text{D}$$

$$C = 64,4 \times 5 \times 10^4 \times 10^3$$

$$C = 322 \times 10^4 \times 10^3$$

$$C = 3,2 \times 10^2 \times 10^4 \times 10^3$$

$$C = 3,2 \times 10^9 \text{ conídios mL}^{-1}$$

Em que: C = concentração, Média = a média dos conídios contados, F.C = fator de correção (quadrantes analisados), P.C = volume da câmara e D = diluição.

A dose aplicada de ambas as cepas foi baseada na recomendação do produto comercial (200 g do produto para cada 100 kg de sementes) e na sua concentração (10^9 conídios mL).

6.4 Instalação do experimento: plantio, aplicação das cepas, processo de enxertia e irrigação

Tubetes com capacidade para 288 cm^3 foram preenchidos com o substrato esterilizado e, em seguida, foi semeada uma castanha-semente do genótipo ‘CCP 06’ no centro do tubete a 2 cm da superfície do substrato, na posição vertical com a ponta para baixo.

Sessenta dias após a germinação foi realizado o processo de enxertia via garfagem em fenda lateral, utilizando-se garfos do genótipo ‘BRS 226’. A irrigação do experimento seguiu a mesma metodologia dos viveiristas, com irrigação no início da manhã com uso de mangueira. Para evitar que houvesse dispersão do fungo entre os tratamentos no momento da irrigação, tomou-se cuidado de acomodar as bandejas em espaço suficiente para evitar a contaminação.

As cepas de *Trichoderma* foram aplicadas em forma de suspensão. Para isso, a dose selecionada no item 6.3 foi diluída em 600 mL de água destilada e esterilizada; logo após, foram aplicados 10 mL da suspensão por tubete com o auxílio de pipeta automática. No experimento de produção do porta-enxerto, a suspensão foi aplicada ao redor das castanhas-sementes, enquanto no de mudas enxertadas a aplicação foi feita na superfície do substrato logo após a enxertia. Tomou-se o cuidado de suspender a irrigação nas 24 horas subsequentes à aplicação da suspensão de *Trichoderma*.

6.5 Análises biométricas das mudas

A avaliação do porta-enxerto e das mudas enxertadas foi realizada aos 60 e aos 120 dias após a semeadura respectivamente. As mudas foram avaliadas em relação à altura (do colo à gema apical), diâmetro do caule (a 5 cm do substrato), número de folhas e área foliar. A altura das mudas foi mensurada com o auxílio de trena. O diâmetro do caule foi determinado com o auxílio de paquímetro digital. O número de folhas determinado por meio de contagem de todas as folhas totalmente expandidas da planta. A área foliar foi mensurada por meio de um integrador de área foliar LI-3100C, LI-COR[®].

As raízes foram lavadas e secas em papel toalha. Para comprovar a presença do microrganismo nas plantas, retirou-se fragmentos de 3 cm das raízes e procedeu ao reisolamento indireto (ALFENAS *et al.*, 2016). Em seguida, as raízes foram lavadas e secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, para a obtenção da massa de matéria seca.

6.6 Reisolamento e cultivo dos isolados

O isolamento das cepas foi feito pelo método de plaqueamento indireto de raízes, em que fragmentos com cerca de 3 centímetros de raízes foram lavados com detergente neutro e mergulhados em béquer contendo água destilada sendo, em seguida, secos em papel filtro esterilizado (ALFENAS *et al.*, 2016). Logo após, os fragmentos foram depositados em placas de Petri contendo meio BDA + Rosa de bengala e incubados por 7 dias a 28 °C, com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro).

Para a purificação dos isolados, após o período de incubação, um disco contendo micélio e conídios foi plaqueado em meio BDA e incubado nas mesmas condições acima descritas. Esses isolados em BDA foram utilizados em todos os ensaios.

6.7 Produção e quantificação de ácido-3-indolacético (AIA), sideróforos e solubilização de fosfato de cálcio

a) Produção de ácido-3-indolacético (AIA)

Para a determinação da produção e quantificação de ácido-3-indolacético (AIA) por *Trichoderma*, três discos do meio BDA contendo micélio e conídios fúngicos foram transferidos para erlenmeyer com capacidade para 250 mL contendo 50 mL de caldo BD (esterilizado a 121 °C por 15 minutos), na ausência e na presença de seu precursor o L-

triptofano. Foram utilizados 5 mL da solução de L-triptofano ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) para cada 50 mL de meio líquido.

Após sete dias de incubação em mesa incubadora com agitação orbital a 150 rpm e temperatura de $28 \text{ }^\circ\text{C}$, o meio colonizado foi centrifugado a 5.000 rpm por 15 minutos, reservando o sobrenadante. A quantificação do AIA foi realizada utilizando o método colorimétrico descrito por Gordon e Weber (1951), sendo 2 mL do reagente de Salkowski e 4 mL do sobrenadante obtidos do isolado, o qual foi mantido no escuro à $28 \text{ }^\circ\text{C}$ por 25 minutos para a obtenção da coloração rosa. Após o tempo de reação, o fitohormônio foi quantificado em espectrofotômetro a 530 nm de comprimento de onda e as concentrações em $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram calculadas a partir da curva padrão com concentrações conhecidas da forma sintética do fitohormônio (0 a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$). Com as leituras, calculou-se a concentração de AIA nas amostras.

b) Produção de sideróforos

A quantificação da produção de sideróforos pelas cepas foi realizada pelo método universal de Schwyn e Neilands (1987). Adicionaram-se 100 mL de meio BD em erlenmeyer com capacidade para 250 mL, e submeteu-se à esterilização em autoclave a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos. Após resfriamento foram adicionados ao meio três discos (5 mm) de meio BDA contendo micélio e conídios fúngicos. Todos os erlenmeyers foram incubados pelo período de sete dias em mesa incubadora com agitação orbital a 150 rpm e temperatura de $28 \text{ }^\circ\text{C}$.

Decorrido o período de incubação todo material contido nos erlenmeyers foi centrifugado a 5.000 rpm para separar a massa fúngica, sendo o sobrenadante reservado. Misturou-se uma alíquota de 2 mL do sobrenadante a 2 mL da solução CAS em tubos de vidro. A mistura reacional foi mantida por 1 hora em temperatura ambiente e protegida da luz. Após esse período, a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Cary 50) a 630 nm de absorvância. Para os cálculos utilizou-se a equação abaixo, definida por Payne, (1988):

$$\text{Unidades (\%)} = (\text{Ab} - \text{Aa}) \cdot 100 / \text{Ab}$$

Em que: Ab: Absorbância do controle e, Aa: Absorbância da amostra.

c) Solubilização de fosfato

O potencial das cepas na solubilização de fosfatos foi verificado adicionando-se 100 mL de meio de cultura NBRIP modificado (NAUTIYAL, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2012) em erlenmeyer com capacidade para 250 mL, procedendo-se a esterilização em autoclave a

121 °C por 15 minutos. Após resfriamento, três discos (5 mm cada) contendo meio BDA + micélio e conídios foram adicionados ao meio. O material foi incubado por sete dias em mesa incubadora com agitação orbital a 150 rpm e temperatura de 28 °C e, em seguida, centrifugado a 5.000 rpm por 15 minutos.

A concentração do fósforo (P) solubilizado foi determinada utilizando o método colorimétrico de Murphy e Riley (1962), subtraindo o fósforo contido nos tratamentos pelo contido na testemunha (meio NBRIP + fosfato e sem o fungo).

Para quantificar as concentrações de fósforo utilizou-se 0,5 mL do sobrenadante, 5 mL de água destilada e 2,5 mL da solução vanado-molibídico (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989). Após 20 minutos de reação ao abrigo da luz, o fósforo solúvel foi quantificado em espectrofotômetro (Cary 50) a 420 nm de comprimento de onda. Para calcular as concentrações de fósforo nas amostras uma curva padrão de KH_2PO_4 foi construída (8 a 160 $\mu\text{g L}^{-1}$).

6.8 Análises de macro e micronutrientes

As mudas foram separadas em folhas, caule e raízes e, posteriormente lavadas em água corrente, ácido clorídrico (HCl) a 3% (v:v) por 30 segundos e enxaguadas com água deionizada. Em seguida, acondicionou-se em saco de papel e colocou-se em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até peso constante. Após a secagem, foram obtidas as massas da matéria seca dos diferentes órgãos das mudas e, com a soma destes, foi obtida a massa seca total.

As folhas foram moídas em moinho tipo Willey® e passadas em peneira de malha com abertura de 1 mm de diâmetro, sendo armazenadas em recipientes de plástico com tampa de pressão.

Posteriormente, as amostras de folhas das mudas foram submetidas à digestão sulfúrica, seguida de destilação e titulação para a determinação dos teores totais de nitrogênio; e digestão nítrico-perclórica para a determinação dos teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, sódio, cobre, ferro, manganês e zinco, por espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). Para a determinação do teor de boro, as amostras foram incineradas em mufla, seguida de quantificação por meio de espectrofotometria pelo método da azometina-H. Os procedimentos adotados foram os descritos em Miyazawa *et al.* (2009). Posteriormente, com base nos resultados de massa de matéria seca e dos teores de nutrientes nas folhas, foram determinados os acúmulos de nutrientes nesse órgão da parte da planta.

6.9 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e, quando significativa, as médias das análises biométricas e nutricional foram comparadas por meio do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Na fase de produção do porta-enxerto as médias das análises microbiológicas foram comparadas por meio do teste t e, nas mudas enxertadas por meio de Scott-Knott, ambas a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JUNIOR, 2015).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1. Produção do porta-enxerto

A aplicação da cepa *Trichoderma longibrachiatum* (LPPC299) no momento da semeadura influenciou a maioria das variáveis biométricas analisadas na fase de produção do porta-enxerto de cajueiro-anão (Tabela 1). Os maiores valores foram observados para a altura de planta (27,81 cm), diâmetro do caule (6,74 mm) e área foliar (423,90 cm²), proporcionando incremento de 12,4%, 6,6% e 21,9%, respectivamente, em relação ao tratamento testemunha. Já a aplicação da cepa obtida de produto comercial (*Trichoderma asperellum*) não diferiu estatisticamente da testemunha.

O aumento da altura de planta, diâmetro do caule e área foliar proporcionado pela cepa *T. longibrachiatum* (LPPC299) pode ser atribuído, em parte, à capacidade do *Trichoderma* em regular o sistema respiratório e metabolismo da planta, fornecendo energia e açúcar para o crescimento do vegetal (SHORESH; HARMAN; MASTOURI, 2010).

O aumento no diâmetro do caule na fase de porta-enxerto promovido pelo *T. longibrachiatum* (LPPC299) é desejável no sistema de produção de mudas de cajueiro, uma vez que plantas que apresentam maior diâmetro podem ser enxertadas precocemente, reduzindo o tempo de permanência no viveiro (SERRANO; CAVALCANTI JUNIOR, 2016).

Tabela 1. Crescimento de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	Altura	Diâmetro	Área foliar (cm ²)	Número de folhas
	cm	mm	cm ²	
Testemunha	24,75 b	6,32 b	347,70 b	9,80 a
LPPC299	27,81 a	6,74 a	423,90 a	11,00 a
Comercial	24,06 b	6,15 b	348,70 b	10,10 a
CV (%)	13,55	5,93	13,51	16,12

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299: *Trichoderma longibrachiatum* e Comercial: *T. asperellum*.

**Fonte: o próprio autor.

Os resultados obtidos divergem dos encontrados por Santos (2017) que, estudando o crescimento de mudas de frutíferas sob a ação de microrganismos promotores do crescimento vegetal (*Trichoderma* spp., *Bacillus* e *Azospirillum*), verificaram que para as mudas de cajueiro-comum (*Anacardium occidentale*) os inóculos não influenciaram as

variáveis estudadas (altura, diâmetro de caule, massa seca da parte aérea e da raiz). Por outro lado, Sofo *et al.* (2011), analisando o potencial do *Trichoderma harzianum* em porta-enxertos de cerejeira (*Prunus cerasus* x *P. canescens*), observaram que as plantas inoculadas com a estirpe apresentaram aumento de 61% na altura.

Diferenças significativas também foram encontradas para a produção de matéria seca de folhas, matéria seca de caule, matéria seca da parte aérea e matéria seca total na fase de porta-enxerto, sendo os maiores valores verificados com a aplicação da cepa *T. longibrachiatum* (LPPC299), quando comparados aos demais tratamentos (Tabela 2). A inoculação das mudas de cajueiro-anão com *T. longibrachiatum* (LPPC299) resultou em aumentos de 19,9%; 28,0%; 24,2% e 22,0%, respectivamente, na matéria seca de folhas, do caule, da parte aérea e total, em relação à testemunha.

Tabela 2: Produção de matéria seca de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	Matéria seca					Relação parte aérea/raízes
	Folhas	Caule	Raízes	Parte aérea	Total	
 g por planta					
Testemunha	1,96 b	1,43 b	0,97 a	3,39 b	4,36 b	3,45 a
LPPC299	2,35 a	1,86 a	1,11 a	4,21 a	5,32 a	3,86 a
Comercial	1,96 b	1,55 b	1,01 a	3,51 b	4,52 b	3,57 a
CV (%)	19,90	18,67	20,62	18,03	17,71	13,93

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299: *Trichoderma longibrachiatum* e Comercial: *T. asperellum*.

**Fonte: o próprio autor.

Resultados semelhantes foram encontrados por Santos, Mello e Peixoto (2010) no estudo com a associação de isolados de *Trichoderma* no enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro (*Passiflora edulis*). A cepa CEN 280 (*T. longibrachiatum*) incrementou em mais de 100% o acúmulo de matéria seca comparada ao controle, enquanto a cepa CEN 201 (*T. asperellum*) não diferiu da testemunha. López *et al.* (2019), estudando cepas nativas de *Trichoderma* na promoção do crescimento de erva-mate (*Ilex paraguariensis*), verificaram que a inoculação com estirpes de *Trichoderma atrovirida*, *T. stibohypoxylis* e *T. koningiopsis* aumentaram significativamente a matéria seca da parte aérea e a matéria seca total, em relação as plantas não inoculadas.

Em relação aos teores de macro e micronutrientes nas folhas de cajueiro-anão na

fase de porta-enxerto, observa-se que houve variação entre os tratamentos para potássio, cálcio e manganês, sendo verificados menores valores com a aplicação da cepa *T. longibrachiatum* (LPPC299), enquanto a cepa *T. asperellum* (Comercial) não deferiu da testemunha. Os teores foliares de potássio, cálcio e manganês encontrados nas mudas inoculadas com a cepa ‘LPPC299’ foram 15,3; 20,9 e 21,0% menores do que nas plantas do tratamento testemunha respectivamente.

Tabela 3: Teores de macronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
..... g kg ⁻¹						
Testemunha	19,00 a	1,40 a	9,30 a	6,52 a	2,94 a	1,08 a
LPPC299	16,92 a	1,26 a	7,88 b	5,16 b	2,48 a	0,94 a
Comercial	18,32 a	1,32 a	9,14 a	6,34 a	2,66 a	1,00 a
CV (%)	7,16	6,15	6,53	9,57	14,42	8,11

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299: *Trichoderma longibrachiatum* e Comercial: *T. asperellum*.

**Fonte: o próprio autor.

Tabela 4: Teores de micronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	Cu	Fe	Zn	Mn	B
..... mg kg ⁻¹					
Testemunha	4,2 a	39,4 a	10,2 a	279,2 a	25,6 a
LPPC299	3,8 a	33,2 a	9,6 a	220,0 b	22,2 a
Comercial	4,2 a	37,0 a	10,2 a	272,8 a	23,4 a
CV (%)	14,89	18,73	11,83	12,01	8,70

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299: *Trichoderma longibrachiatum* e Comercial: *T. asperellum*.

**Fonte: o próprio autor.

Apesar das variações nos teores de macro e micronutrientes, as plantas não apresentaram sintomas de deficiências minerais. Considerando-se a faixa crítica de nutrientes nas folhas adultas de cajueiro-anão, estabelecida por Martins (2019), as mudas se encontravam dentro da mesma faixa, indicando estarem supridas adequadamente, apesar de terem sido coletadas em plantas de idades diferentes.

Diversos estudos relataram a influência direta ou indireta do *Trichoderma* nos teores de nutrientes nas plantas. Cepas do gênero *Trichoderma* são capazes de solubilizar nutrientes no solo, disponibilizando-os às plantas (FRANÇA *et al.*, 2017; TANDON *et al.*, 2018). Contudo, estudos relatam que esses fungos podem tanto solubilizar quanto imobilizar os nutrientes em sua biomassa microbiana (ALTOMARE *et al.*, 1999). Altomare *et al.* (1999), estudando a solubilização de fosfatos e micronutrientes *in vitro* pela cepa de *Trichoderma harzianum*, verificaram que ao mesmo tempo em que a cepa solubilizou fosfato, o teor de fósforo solúvel reduziu substancialmente, concluindo que o fósforo teria sido sequestrado para o crescimento micelial do fungo.

Além do processo de imobilização de nutrientes em sua biomassa microbiana, linhagens de *Trichoderma* também podem competir diretamente com as plantas por nutrientes, quando estes se encontram em quantidades ínfimas no ambiente (LI, M. *et al.*, 2018). Santiago *et al.* (2013) em seu estudo sugerem que a cepa de *Trichoderma asperellum* foi capaz de diminuir significativamente os teores de cobre, zinco e manganês na parte aérea de plantas de trigo (*Triticum*).

Por outro lado, quando considerado o acúmulo de macro e micronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão (Tabela 5 e 6) não foram verificadas diferenças entre os tratamentos, indicando a ocorrência de efeito de diluição desses elementos na planta. Este efeito é caracterizado quando a taxa de crescimento de matéria seca é maior que a taxa de absorção do nutriente.

Tabela 5: Acúmulo de macronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
..... g kg ⁻¹						
Testemunha	37,26 a	2,78 a	18,22 a	12,70 a	5,70 a	2,10 a
LPPC299	39,74 a	2,96 a	18,58 a	12,12 a	5,78 a	2,14 a
Comercial	35,58 a	2,52 a	17,68 a	12,46 a	5,06 a	1,96 a
CV (%)	13,60	12,35	14,05	17,76	9,98	13,42

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299: *Trichoderma longibrachiatum* e Comercial: *T. asperellum*.

**Fonte: o próprio autor.

Tabela 6: Acúmulo de micronutrientes em folhas de porta-enxerto de cajueiro-anão ‘CCP 06’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	Cu	Fe	Zn	Mn	B
 mg kg ⁻¹				
Testemunha	8,20 a	72,40 a	20,20 a	547,20 a	50,40 a
LPPC299	8,80 a	78,00 a	22,80 a	516,20 a	55,20 a
Comercial	8,20 a	77,20 a	19,60 a	530,20 a	43,40 a
CV (%)	18,94	24,53	14,43	16,39	14,48

*Médias seguidas de mesma letra dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299: *Trichoderma longibrachiatum* e Comercial: *T. asperellum*.

**Fonte: o próprio autor.

De modo geral, a promoção do crescimento de plantas mediadas por fungos do gênero *Trichoderma* está relacionada à produção de fitohormônios, de sideróforos e da solubilização de fosfatos, os quais são responsáveis pelo crescimento e pelo aumento na produção de matéria seca (KOTASTHANE *et al.*, 2015; LI, Y. T. *et al.*, 2018). Nesse sentido, López *et al.* (2019) atribuíram o aumento de matéria seca da parte aérea e total de erva-mate à produção de sideróforos e à solubilização de fosfatos pelas estirpes de *Trichoderma atrovirida*, *T. stibohypoxylis* e *T. koningiopsis*.

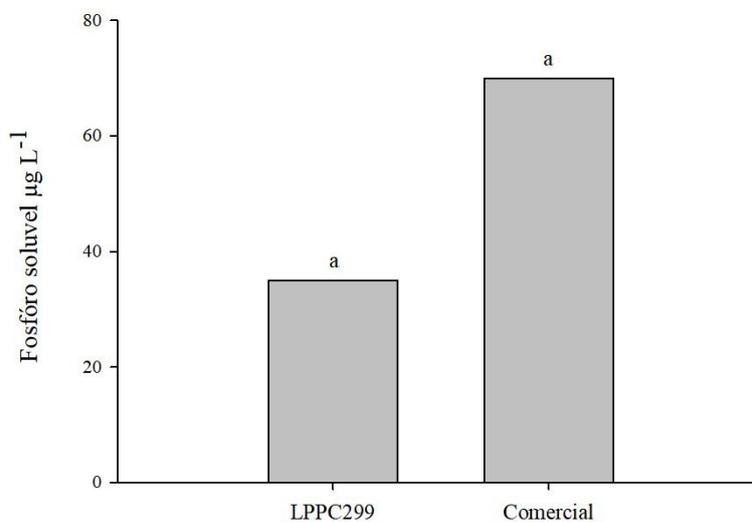
Em relação à produção de fitohormônios como as auxinas, no presente estudo, ambas as estirpes de *Trichoderma* não foram capazes de produzir auxinas *in vitro*, tanto na ausência quanto na presença do seu precursor, o L-triptofano (dados não apresentados). Os resultados divergem dos obtidos por Ortuño *et al.* (2016), que verificaram que todas as cepas de *Trichoderma* avaliadas foram capazes de produzir auxinas. A ausência de produção de auxinas pelos isolados estudados explica o efeito não significativo entre os tratamentos no número de folhas de cajueiro-anão, uma vez que o crescimento vegetal está diretamente relacionado com a produção de ácido-3-indolacético. As auxinas são substâncias sintetizadas principalmente nos primórdios foliares e em folhas jovens e sua biossíntese acontece na presença do seu principal precursor o triptofano, cujo deslocamento da parte aérea para as raízes se dá via floema. Nas plantas, suas funções estão atreladas ao alongamento celular, divisão celular, diferenciação de tecidos vasculares, inibição da senescência foliar e crescimento das raízes (SIMON; PETRASEK, 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Por outro lado, as estirpes avaliadas foram capazes de solubilizar fosfato de cálcio e de biossintetizar sideróforos (Figuras 1 e 2). As cepas foram capazes de solubilizar fosfato de cálcio *in vitro*, contudo, não foram verificadas diferenças entre elas. Espécies do gênero *Trichoderma* são solubilizadoras de fosfatos e micronutrientes, tanto *in vitro* quanto na

rizosfera (ALTOMARE *et al.*, 1999; TANDON *et al.*, 2018). Essa solubilização de fosfatos mediada por *Trichoderma* é devida a exsudação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como o ácido acético, o lático, o málico e o oxálico, além da liberação de enzimas do tipo fosfatase (ALTOMARE *et al.*, 1999; BEHERA *et al.*, 2014). O produto obtido a partir da solubilização por cepas do gênero *Trichoderma* é o íon fosfato, forma essa prontamente assimilável pelas plantas. Esse elemento é responsável pelo crescimento das raízes das plantas, as quais apresentando sistema radicular mais desenvolvido tendem a melhorar a absorção de água e nutrientes, favorecendo o crescimento da parte aérea (SARAVANAKUMAR; ARASU; KATHIRESAN, 2013; BUCHER *et al.*, 2018).

Os isolados fúngicos também foram capazes de biossintetizar sideróforos *in vitro* em quantidades semelhantes (Figura 2). Sideróforos são moléculas de baixo peso molecular, responsáveis por quelatizar íons ferro e, assim, facilitar a absorção desses íons pelas plantas (HIDER; KONG, 2010), sendo sintetizados em ambientes com baixo teor de ferro (LEMANCEAU *et al.*, 2009).

Figura 1: Teores de fosfato de cálcio solubilizado ($\mu\text{g L}^{-1}$), em função da aplicação de cepas de *Trichoderma* (porta-enxerto)

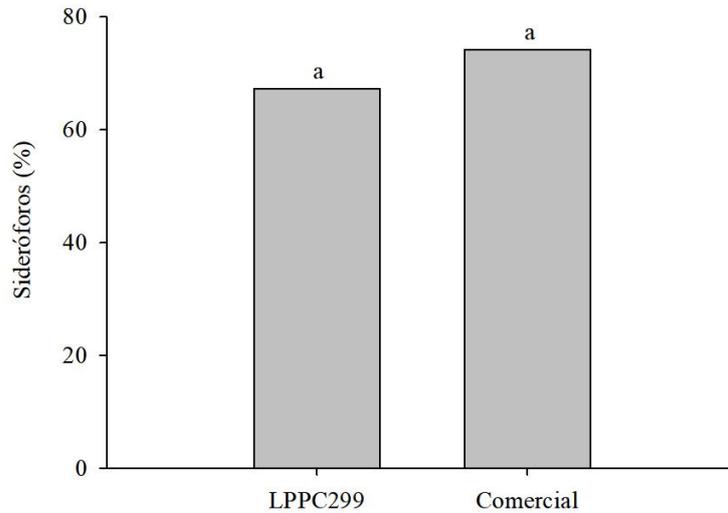


*Médias seguidas de mesma letra nas barras, não diferem entre si pelos testes t a 5% de probabilidade. LPPC299: *Trichoderma longibrachiatum* e Comercial: *T. asperellum*.

**CV(%): 69,45.

***Fonte: o próprio autor.

Figura 2: Produção de sideróforos (%), em função da aplicação de cepas de *Trichoderma* (porta-enxerto)



*Médias seguidas de mesma letra nas barras, não diferem entre si pelos testes t a 5% de probabilidade. LPPC299: *Trichoderma longibrachiatum* e Comercial: *T. asperellum*.

**CV(%): 7,15.

***Fonte: o próprio autor.

Os sideróforos exsudados por fungos desempenham importante papel na disponibilidade e absorção de ferro pelas plantas (LEHNER *et al.*, 2013; MUKHERJEE *et al.*, 2018). O ferro, por sua vez, é responsável por desempenhar funções na planta relacionadas à biossíntese de clorofila, que é o pigmento responsável pela fotossíntese (DECHEN *et al.*, 2018). Nesse sentido, plantas com maior capacidade para realizar fotossíntese tendem a apresentar crescimento e desenvolvimento mais elevados, quando comparadas às plantas que apresentam baixa atividade fotossintética.

As cepas *T. longibrachiatum* (LPPC299) e *T. asperellum* (Comercial) apresentaram capacidades semelhantes para a solubilização do fosfato e para a produção de sideróforo; entretanto, segundo Harman *et al.* (2004), diferenças entre cepas de *Trichoderma* são esperadas. De acordo com esses autores, algumas cepas são eficientes em aumentar a superfície do sistema radicular, possibilitando maior acesso aos nutrientes do solo, enquanto outras são mais eficientes em solubilizar nutrientes, produzir auxinas e/ou biossintetizar sideróforos. Há espécies, ainda, que são capazes de aperfeiçoar os mecanismos responsáveis pela absorção de nutrientes, como o fósforo e o nitrogênio (ALTOMARE *et al.*, 1999; ZEILINGER *et al.*, 2016). Nesse sentido, essa diferença reflete na capacidade e no potencial de cada isolado em realizar suas atividades.

Assim, devido à semelhança entre os isolados em relação aos principais mecanismos de promoção de crescimento, não foi possível explicar o aumento no crescimento

das mudas de cajueiro-anão na fase de porta-enxerto promovido pelo *T. longibrachiatum*, em relação ao produto comercial contendo *T. asperellum*. A exsudação de outros fitohormônios, como as citocininas e as giberelinas, não avaliadas no presente estudo, pode estar relacionada ao maior desenvolvimento das plantas. As citocininas têm efeitos em diversos processos fisiológicos, de crescimento e de desenvolvimento dos vegetais, estando relacionada à divisão celular, redução da dominância apical, indução da formação e atividade dos meristemas apicais, desenvolvimento do sistema vascular e quebra da dormência de gemas, fatores que contribuem para o crescimento do sistema radicular, expansão das folhas e retardamento da senescência foliar (TAIZ *et al.*, 2017). Já o grupo das giberelinas é composto por hormônios capazes de promover a extensão do caule e por induzir a divisão mitótica dos brotos foliares (TAIZER; ZEIGER, 2013).

A ausência de efeito da cepa *T. asperellum* (Comercial) no crescimento do porta-enxerto de cajueiro pode estar associada ao processo de colonização do sistema radicular, seja por problemas quanto à sobrevivência do inóculo ou por condições ambientais desfavoráveis ao crescimento e ao desenvolvimento do microrganismo, como variações bruscas na temperatura e umidade elevada. Se os microrganismos não colonizarem a rizosfera de forma adequada, não haverá interação com a planta (FREITAS, 2007). Mesmo havendo colonização é necessário que haja o reconhecimento dos metabólitos, sejam estes exsudados pelas plantas ou pelos microrganismos, para que aconteça a interação e a planta possa desfrutar dos benefícios (HERMOSA *et al.*, 2012).

7.2 Mudas enxertadas

Na fase de produção de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’ observou-se diferença entre os tratamentos para o diâmetro do caule (Tabela 7). Mudanças-enxertadas inoculadas com *Trichoderma longibrachiatum* após a enxertia (LPPC299 E) e as inoculadas na sementeira e reinoculadas após a enxertia, tanto com o *T. longibrachiatum* (LPPC299 SE) quanto com o *T. asperellum* (Comercial SE), resultaram em maior diâmetro do caule em relação ao tratamento testemunha. Considerando o efeito semelhante desses tratamentos nessa variável, a aplicação única do *T. longibrachiatum* após a enxertia (LPPC299 E) mostrou-se mais vantajosa para a adoção no viveiro de mudas do que a inoculação nas duas fases de crescimento do cajueiro-anão.

A avaliação do diâmetro do pseudocaule (DC) é fundamental, pois, está diretamente relacionada ao crescimento e a sobrevivência das espécies em campo (WARD; GENT; STEPHENS, 2000; DAVIS e JACOBS, 2005). Estudos sugerem (DC) como o principal indicador da qualidade da muda após o plantio, por estar intimamente relacionado ao vigor da muda, pois, caules com maiores diâmetros têm alta possibilidade de apresentarem maior número de gemas, favorecendo o surgimento de primórdios foliares, com posterior formação dos primeiros brotos após o plantio das mudas em campo (ROSE; HASSE, 1995; RITCHIE; LANDIS, 2008), além de suportarem mudanças bruscas nas variações climáticas, como ventos fortes.

Diferenças significativas foram encontradas para a área foliar das mudas enxertadas de cajueiro-anão (Tabela 7), sendo os melhores resultados observados com a aplicação das cepas *T. asperellum*, tanto na sementeira (Comercial S) quanto após a enxertia (Comercial E) e, do *T. longibrachiatum* na sementeira (LPPC299 S).

Tabela 7: Crescimento de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	Altura	Diâmetro	Área foliar	Número de folhas
	cm	mm	cm ²	
Testemunha	21,61 a	6,55 b	115,19 b	7,25 a
LPPC299 S	21,78 a	6,89 b	136,49 a	6,75 a
Comercial S	22,45 a	6,94 b	128,83 a	6,50 a
LPPC299 E	20,73 a	7,48 a	95,74 b	6,13 a
Comercial E	22,42 a	7,09 b	145,49 a	7,62 a
LPPC299 SE	22,25 a	7,31 a	112,15 b	6,12 a
Comercial SE	21,88 a	7,65 a	108,99 b	6,00 a

CV(%)	5,04	9,11	24,69	22,87
-------	------	------	-------	-------

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299 S: *Trichoderma longibrachiatum* aplicado na sementeira; Comercial S: *T. asperellum* aplicado na sementeira; LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; Comercial E: *T. asperellum* aplicado após a enxertia; LPPC299 SE: *T. longibrachiatum* aplicado na sementeira e após a enxertia e Comercial SE: *T. asperellum* aplicado na sementeira e após a enxertia.

**Fonte: o próprio autor.

Em relação à produção de matéria seca, verificou-se efeito dos tratamentos somente para a produção de matéria seca de folhas (Tabela 8). Foram obtidos aumentos na produção de matéria seca de folhas de 25,0%, 18,2% e 17,0%, respectivamente, com a aplicação das cepas *T. asperellum* após a enxertia (Comercial E), na sementeira (Comercial S) e do *T. longibrachiatum* na sementeira (LPPC299 S), em relação à testemunha; tais resultados foram diretamente relacionados aos obtidos para aérea foliar (Tabela 7), ou seja, plantas com maior aérea foliar apresentaram maior produção de matéria seca de folhas.

Para a massa seca de caule, raízes e parte aérea, as mudas que foram inoculadas com *T. longibrachiatum* ou *T. asperellum*, seja na sementeira, após a enxertia ou na sementeira e após a enxertia, não apresentaram ganhos em relação às mudas do tratamento testemunha.

Sobre o estado nutricional das mudas enxertadas de cajueiro-anão, observa-se que os tratamentos influenciaram somente o teor de N das folhas (Tabelas 9 e 10). A inoculação das mudas com *T. longibrachiatum* após a enxertia (LPPC299 E) aumentou em 16% o teor de N nas folhas, em relação às mudas não inoculadas. Em todos os tratamentos os teores de macro e micronutrientes nas folhas encontravam-se dentro da faixa crítica estabelecida por Martins (2019) para o cajueiro, apesar de terem sido coletadas folhas específicas (folhas 5 e 6 do ramos com inflorescência) em plantas adultas (com diferente idade), enquanto no presente estudo foram coletadas todas as folhas das mudas.

Tabela 8: Produção de matéria seca de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	Matéria seca					Relação parte aérea/raízes
	Folhas	Caule	Raízes	Parte aérea	Total	
 g por planta					
Testemunha	0,88 b	2,28 a	1,76 a	3,16 a	4,92 a	1,89 a
LPPC299 S	1,03 a	2,36 a	1,78 a	3,39 a	5,18 a	2,00 a
Comercial S	1,04 a	2,33 a	1,69 a	3,37 a	5,07 a	2,16 a
LPPC299 E	0,71 b	2,43 a	1,74 a	3,14 a	4,89 a	1,83 a
Comercial E	1,10 a	2,53 a	1,66 a	3,64 a	5,31 a	2,49 a

LPPC299 SE	0,77 b	2,38 a	1,75 a	3,15 a	4,91 a	1,80 a
Comercial SE	0,82 b	2,35 a	1,81 a	3,17 a	4,98 a	1,85 a
CV(%)	24,13	17,15	28,80	13,87	16,71	27,90

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299 S: *Trichoderma longibrachiatum* aplicado na sementeira; Comercial S: *T. asperellum* aplicado na sementeira; LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; Comercial E: *T. asperellum* aplicado após a enxertia; LPPC299 SE: *T. longibrachiatum* aplicado na sementeira e após a enxertia e Comercial SE: *T. asperellum* aplicado na sementeira e após a enxertia.

**Fonte: o próprio autor.

Tabela 9: Teores de macronutrientes em folhas de mudas enxertadas de cajueiro-anão 'BRS 226', em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
 g kg ⁻¹					
Testemunha	12,63 b	1,08 a	9,89 a	4,85 a	3,03 a	0,86 a
LPPC299 S	12,91 b	1,03 a	9,50 a	4,15 a	2,69 a	0,90 a
Comercial S	12,28 b	1,09 a	9,82 a	4,54 a	2,68 a	0,83 a
LPPC299 E	14,68 a	1,13 a	11,13 a	4,87 a	3,09 a	1,00 a
Comercial E	11,79 b	1,09 a	10,47 a	4,17 a	2,43 a	0,82 a
LPPC299 SE	13,28 b	1,29 a	11,12 a	4,92 a	2,90 a	0,92 a
Comercial SE	11,71 b	1,05 a	10,32 a	4,36 a	2,83 a	0,90 a
CV (%)	8,72	11,63	8,82	11,05	9,53	10,33

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299 S: *Trichoderma longibrachiatum* aplicado na sementeira; Comercial S: *T. asperellum* aplicado na sementeira; LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; Comercial E: *T. asperellum* aplicado após a enxertia; LPPC299 SE: *T. longibrachiatum* aplicado na sementeira e após a enxertia e Comercial SE: *T. asperellum* aplicado na sementeira e após a enxertia.

**Fonte: o próprio autor

Tabela 10: Teores de micronutrientes em folhas de mudas enxertadas de cajueiro-anão 'BRS 226', em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	Cu	Fe	Zn	Mn	B
 mg kg ⁻¹				
Testemunha	4,75 a	42,50 a	14,50 a	127,50 a	20,90 a
LPPC299 S	4,25 a	37,25 a	11,75 a	120,75 a	16,75 a
Comercial S	5,00 a	33,50 a	12,25 a	133,75 a	18,93 a
LPPC299 E	5,25 a	51,25 a	12,50 a	128,00 a	19,01 a
Comercial E	4,75 a	43,25 a	12,25 a	108,50 a	19,52 a
LPPC299 SE	5,50 a	42,50 a	13,75 a	124,50 a	15,73 a

Comercial SE	4,50 a	36,25 a	12,50 a	117,75 a	20,03 a
CV (%)	13,47	47,45	16,89	19,06	14,71

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299 S: *Trichoderma longibrachiatum* aplicado na sementeira; Comercial S: *T. asperellum* aplicado na sementeira; LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; Comercial E: *T. asperellum* aplicado após a enxertia; LPPC299 SE: *T. longibrachiatum* aplicado na sementeira e após a enxertia e Comercial SE: *T. asperellum* aplicado na sementeira e após a enxertia.

**Fonte: o próprio autor.

Os dados obtidos para o teor de nitrogênio em folhas de cajueiro-anão no tratamento ‘LPPC299 E’ divergem dos encontrados por Soldan (2014), que verificou que as cepas de *Trichoderma* não foram capazes de influenciar no teor de nitrogênio em folhas de Mirtáceas, quando comparadas com a testemunha. Para os teores de enxofre, cálcio, magnésio, potássio e fósforo, os dados corroboram com os encontrados pelo mesmo autor, onde os tratamentos inoculados com as cepas de *Trichoderma* não diferiram da testemunha.

Em estudo com uvaieira (*Eugenia pyriformis* (cambes) kausel), Soldan (2014) verificou que as cepas apresentaram comportamento diferente quanto aos teores dos nutrientes nas folhas. A cepa Trichonat PM – *Trichoderma* spp. foi capaz de aumentar os teores de nitrogênio, cálcio, potássio, enxofre e magnésio, quando comparada com as plantas não inoculadas, enquanto a inoculação com a cepa *Trichoderma* spp. – FS1 foi capaz de influenciar somente nos teores de nitrogênio enxofre, fósforo e magnésio.

Apesar de a aplicação da cepa *T. longibrachiatum* após a enxertia (LPPC299 E) ter proporcionado teores mais altos de N nas folhas, esse aumento não resultou em incrementos na área foliar e na produção de matéria seca de folhas (Tabelas 7 e 8), ao contrário, houve diminuição nessas variáveis. Isso se deve ao efeito concentração de nutrientes, como pode ser observado nas Tabelas 11 e 12, em que os tratamentos não influenciaram no acúmulo do nitrogênio e dos demais nutrientes nas folhas de cajueiro-anão.

Tabela 11: Acúmulo de macronutrientes em folhas de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’, em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
 g kg ⁻¹					
Testemunha	11,23 a	0,98 a	8,85 a	4,35 a	2,69 a	0,77 a
LPPC299 S	13,24 a	1,06 a	9,84 a	4,29 a	2,78 a	0,93 a
Comercial S	12,70 a	1,13 a	10,29 a	4,67 a	2,78 a	0,85 a
LPPC299 E	9,93 a	0,76 a	7,72 a	3,26 a	2,09 a	0,66 a
Comercial E	13,02 a	1,22 a	11,62 a	4,61 a	2,69 a	0,91 a

LPPC299 SE	10,23 a	0,97 a	8,50 a	3,85 a	2,26 a	0,72 a
Comercial SE	9,63 a	0,87 a	8,44 a	3,56 a	2,31 a	0,73 a
CV (%)	20,53	22,76	24,43	22,56	22,00	18,72

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299 S: *Trichoderma longibrachiatum* aplicado na semente; Comercial S: *T. asperellum* aplicado na semente; LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; Comercial E: *T. asperellum* aplicado após a enxertia; LPPC299 SE: *T. longibrachiatum* aplicado na semente e após a enxertia e Comercial SE: *T. asperellum* aplicado na semente e após a enxertia.

**Fonte: o próprio autor

Tabela 12: Acúmulo de micronutrientes em folhas de mudas enxertadas de cajueiro-anão 'BRS 226', em função da aplicação de cepas de *Trichoderma*

Tratamentos	Cu	Fe	Zn	Mn	B
 mg kg ⁻¹				
Testemunha	4,22 a	37,80 a	12,80 a	110,82 a	18,25 a
LPPC299 S	4,40 a	37,37 a	12,07 a	125,02 a	17,22 a
Comercial S	5,22 a	32,75 a	12,62 a	133,50 a	19,72 a
LPPC299 E	3,60 a	34,52 a	8,32 a	86,95 a	13,10 a
Comercial E	5,35 a	47,32 a	13,67 a	120,27 a	21,47 a
LPPC299 SE	4,22 a	31,20 a	10,57 a	96,55 a	12,62 a
Comercial SE	3,70 a	29,85 a	10,17 a	95,90 a	16,47 a
CV (%)	26,50	40,08	24,30	22,66	23,88

*Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299 S: *Trichoderma longibrachiatum* aplicado na semente; Comercial S: *T. asperellum* aplicado na semente; LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; Comercial E: *T. asperellum* aplicado após a enxertia; LPPC299 SE: *T. longibrachiatum* aplicado na semente e após a enxertia e Comercial SE: *T. asperellum* aplicado na semente e após a enxertia.

**Fonte: o próprio autor.

Esses resultados sugerem que as cepas de *Trichoderma* se comportam de maneira diferente em relação ao tipo de planta em que são inoculadas. Como consequência, a interação microrganismo/planta é dinâmica e mediada por reações bioquímicas, sendo liberados exsudados radiculares que são reconhecidos pelo fungo e/ou pelas plantas, a fim de que a interação aconteça de forma eficiente e a planta possa usufruir de todos os benefícios (HERMOSA *et al.*, 2012).

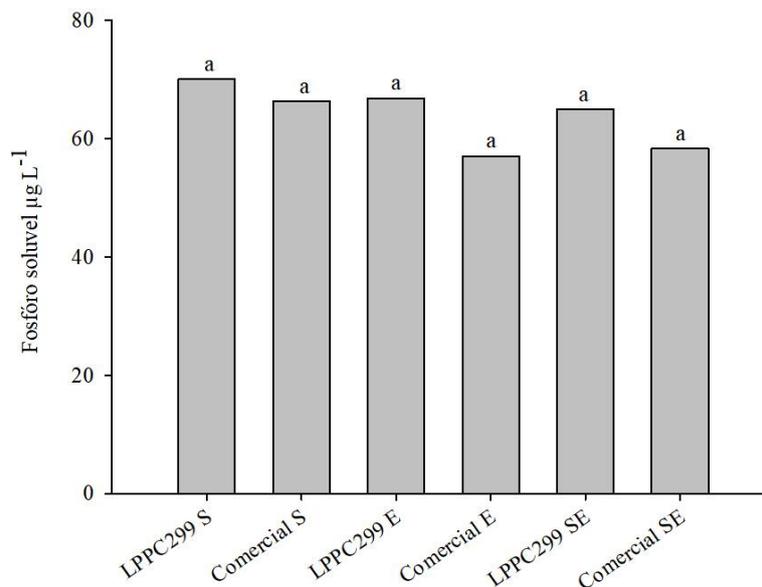
As cepas em estudo não foram capazes de biossintetizar ácido-3-indolacético, tanto na ausência como na presença do L-triptofano (dados não apresentados). Assim, como verificado na fase de produção do porta-enxerto, o número de folhas nas mudas enxertadas

não foi influenciado nem pela aplicação, nem pela reaplicação dos isolados de *Trichoderma*, possivelmente devido a incapacidade desses microrganismos em biossintetizar a auxina.

Para que haja produção de auxinas pelos isolados de *Trichoderma* é necessário que as plantas sintetizem compostos que serão reconhecidos pelos microorganismos que, em resposta, produzem sinais, permitindo o processo de colonização microbiana (BERG, 2009). As raízes das plantas também exsudam açúcares como fonte de alimento para os microrganismos para que a colonização aconteça de forma eficiente (DRUZHININA *et al.*, 2011; VARGAS; CRUTCHER; KENERLEY, 2011). Caso não haja o reconhecimento dos compostos, a interação fica comprometida e, tanto o fungo quanto a planta não usufruem dos benefícios. Esse fato que pode ter ocorrido e determinado a não produção de auxinas pelos isolados estudados.

Os isolados foram capazes de solubilizar fosfato de cálcio *in vitro* (Figura 3) e produzir sideróforos (Figura 4); entretanto, não houve diferença entre os tratamentos. Desse modo, observa-se que a época (semeadura, após enxertia, e semeadura e após a enxertia) em que foram inoculadas as cepas não interferiu na capacidade desses microrganismos em solubilizar fosfatos de cálcio, bem como em produzir sideróforos, indicando serem características intrínsecas das cepas em estudo.

Figura 3: Teores de fosfato de cálcio solubilizado ($\mu\text{g L}^{-1}$), em função da aplicação de cepas de *Trichoderma* (mudas enxertadas)

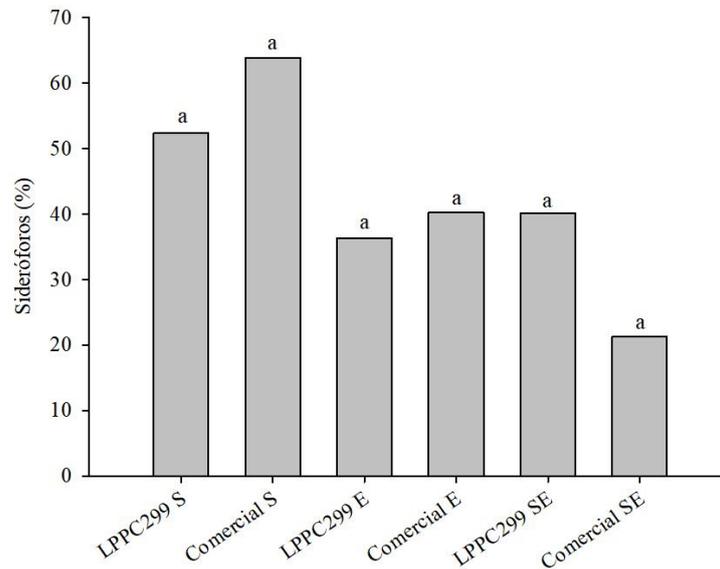


*Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299 S: *Trichoderma longibrachiatum* aplicado na semeadura; Comercial S: *T. asperellum* aplicado na semeadura; LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; Comercial E: *T. asperellum* aplicado após a enxertia; LPPC299 SE: *T. longibrachiatum* aplicado na semeadura e após a enxertia e Comercial SE: *T. asperellum*

aplicado na semente e após a enxertia. **CV (%): 11,91.

***Fonte: o próprio autor.

Figura 4: Produção de sideróforos (%), em função da aplicação de cepas de *Trichoderma* (mudas enxertadas)



*Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade. LPPC299 S: *Trichoderma longibrachiatum* aplicado na semente; Comercial S: *T. asperellum* aplicado na semente; LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; Comercial E: *T. asperellum* aplicado após a enxertia; LPPC299 SE: *T. longibrachiatum* aplicado na semente e após a enxertia e Comercial SE: *T. asperellum* aplicado na semente e após a enxertia. **CV (%): 51,11.

***Fonte: o próprio autor.

Figura 5: Mudanças enxertadas de cajueiro-anão 'BRS 226', em função da inoculação de *Trichoderma*



*01: Testemunha, 02: Comercial E: *Trichoderma asperellum* aplicado após a enxertia; 03: LPPC299 E: *T. longibrachiatum* aplicado após a enxertia; 04: Comercial S: *T. asperellum* aplicado na semente; 05: LPPC299 S: *T. longibrachiatum* aplicado na semente; 06: Comercial SE: *T. asperellum* aplicado na semente e após a enxertia e 07: LPPC299 SE: *T.*

longibrachiatum aplicado na semeadura e após a enxertia.

**Fonte: o próprio autor.

A falta de resposta da planta a inoculação com cepas de *Trichoderma* pode também ser justificada pela especificidade na relação planta x microrganismo. Para que a planta estabeleça uma relação benéfica com o *Trichoderma* é preciso que haja reconhecimento da planta ao microrganismo, que se dá pela liberação de exsudados. As estirpes utilizadas no presente estudo não foram coletadas em rizosfera de cajueiro-anão. A cepa *T. longibrachiatum* (LPPC299) foi coletada em área produtora de bananeira (*Musa*) e, estudos preliminares (resultados ainda não publicados) com bananeira mostraram resultados superiores aos encontrados na presente pesquisa, enquanto que a cepa *T. asperellum* foi obtida via produto comercial, cuja indicação é para uso em algodão (*Gossypium*), feijão (*Phaseolus vulgaris*) e soja (*Glycine max*).

Para aproveitamento total dos benefícios derivados do uso de microrganismos na agricultura, o processo de inoculação deve levar em conta fatores que podem ser limitantes a eficiência desses microrganismos após a inoculação, seja na produção de mudas ou em campo. Dentre eles, o manejo que preconiza a incorporação da matéria orgânica para ser utilizada como fonte de alimento para os microrganismos (SILVA *et al.*, 2012); também deve considerar fatores tais como a textura do solo e/ou substrato, pH, temperatura, umidade e disponibilidade de nutrientes no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

CONCLUSÕES

A cepa *Trichoderma longibrachiatum* promoveu aumento do crescimento do ‘CCP 06’ utilizado como porta-enxerto de mudas enxertadas de cajueiro-anão.

A utilização das cepas *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma asperellum* apresentou-se vantajoso apenas para o aumento do diâmetro do caule de mudas enxertadas de cajueiro-anão ‘BRS 226’.

REFERÊNCIAS

- ALBRECHT-GARY, A. M.; CRUMBLISS, A. L. Coordination chemistry of siderophores: thermodynamics and kinetics of iron chelation and release. **Metal Ions in Biological Systems**, New York, v. 35, p. 239-327, 1998.
- ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; MAFIA, R. G.; GONÇALVES, R. C. Isolamento de fungos fitopatogênicos. *In*: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. 2. ed. Viçosa: editora UFV, 2016. p. 55-91.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G. Produção, determinação e calibração da concentração de inóculo em suspensão. *In*: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. 2. ed. Viçosa: editora UFV, 2016. p.107-121.
- AL-SADI, A. M.; AL-OWEISI, F. A.; EDWARDS, S. G.; AL-NADABI, H.; AL-FAHDI, A. M. Genetic analysis reveals diversity and genetic relationships among *Trichoderma* isolates from potting media, cultivated soil and uncultivated soil. **Biomed Central Microbiology**, [S.l.], v.15, p.1-11, 2015.
- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 65, p. 2926-2933, 1999.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES EXPORTADORES DE FRUTAS E DERIVADOS. **Exportação de frutas cresce 16% em 2019**. Disponível em: <https://abrafrutas.org/2020/01/28/exportacoes-de-frutas-cresce-de-16-em-2019/>. Acesso em: 30 de mar 2020.
- ANJOS JUNIOR, O. R.; CIRÍACO, J. S.; PAIXÃO, M. C. S. Produtividade da castanha de caju no estado do Ceará: uma análise de convergência. **Extensão Rural**, Santa Maria, v. 24, p. 65-85, 2017.
- ARAÚJO, E. B. G. **Produção de porta-enxerto de cajueiro anão precoce com águas salinizadas e doses de matéria orgânica**. 2017. 68 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) – Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2017.
- AZARMI, R.; HAJIEGHRARI, B.; GIGLOU, A. Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. **African Journal of Biotechnology**, [S.l.], v. 10, p. 5850-5855, 2011.
- BADER, A. N.; SALERNO, G. L.; COVACEVICH, F.; CONSOLO, V. F. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-a acetic and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of King Saud University Science**, [S.l.], v. 32, p. 867-873, 2020.
- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **Experimentação agrônômica e AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. Jaboticabal: Multipress. 2015.

BARROS, L. M.; PAIVA, J. R.; CAVALCANTI JUNIOR, J. V. Cajueiro-anão-precoce. **Biociência e Desenvolvimento**, Rio Grande do Norte, v. 2, p. 18-21, 1998.

BEHERA B. C.; SINGDEVSACHAN S. K.; MISHRA R. R.; DUTTA S. K.; THATOI H. N. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove - A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S.l.], v. 3, p. 97-110, 2014.

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

BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 84, p. 11-18, 2009.

BHARDWAJ, D.; ANSARI, M. W.; SAHOO, R. K.; TUTEJA, N. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. **Microbial Cell Factories**, [S.l.], v. 13, p. 1-10, 2014.

BOLAN, N. S.; NAIDU, R.; MAHIMAIRAJA, S.; BASKARAN, S. Influence of low-molecular-weight organic acids on the solubilization of phosphates. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 18, p. 311- 319, 1994.

BRAINER, M. S. C. P.; VIDAL, M. F. **Cajucultura nordestina em recuperação**. Caderno Setorial ETENE, n. 54, p. 1-13, 2018.

BROTMAN, J.; KAPUGANTI, G.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, London, v. 20, p. 390-391, 2010.

BUCHER, C. A.; BUCHER, C. P. C.; ARAUJO, A. D.; SPERANDIO, M. V. L. Fósforo. In: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. **Nutrição Mineral de Plantas**. 2. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2018. p. 401-428.

CAJUCULTURA. **Noções elementares de botânica do cajueiro**. Fortaleza, 2011. Disponível em: <http://www.cajucultura.com.br>. Acesso em: 16 out 2019.

CARRILLO-CASTAÑEDA, G.; MUÑOZ, J. J.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GOMEZ, E.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Modulation of uptake and translocation of iron and copper from root to shoot in common bean by siderophore-producing microorganisms. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 28, p. 1853-1865, 2005.

CHEN, W.; WU, L.; FRANKENBERGER JUNIOR, R. W.; CHANG, A. C. Soil enzyme activities of long-term reclaimed wastewater - irrigated soils. **Journal of Environmental Quality**, [S.l.], v. 37, p. 36-42, 2008.

CRIQUET, S.; FERRE, E.; FARNET, A. M.; PETIT, J. L. Annual dynamics of phosphatase activities in evergreen oak litter: influence of biotic and abiotic factors. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 36, p. 1111-1118, 2004.

DAVIS, A. S.; JACOBS, D. F. Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. **New Forests**, Dordrecht, v. 30, p. 295-311, 2005.

- DE MARIA, S.; RIVELLI, A. R.; KUFFNER, M.; SESSITSCH, A.; WENZEL, W. W.; GORFER, M.; STRAUSS, J.; PUSCHENREITER, M. Interactions between accumulation of trace elements and macronutrients in *Salix caprea* after inoculation with rhizosphere microorganisms. **Chemosphere**, Oxford, v. 84, p. 1256-1261, 2011.
- DECHEN, A. R.; NACHTIGALL, G. R.; CARMELLO, Q. A. C.; SANTOS, L. A.; SPERANDIO, M. V. L. Micronutrientes. *In*: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. **Nutrição Mineral de Plantas**. 2. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2018. p. 491-562.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of Soil Fungi**. 1. ed. Londres: Academic Press (London) Ltd, 1980. 630p.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 9, p. 749-759, 2011.
- DRUZHININA, I.; KUBICEK, C. P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters?. **Journal of Zhejiang University Science**, [S.l.], v. 6, p. 100-112, 2005.
- EMERY, T. Exchange of iron by gallium in siderophores. **Biochemistry**, New York, v. 25, p. 4629- 4633, 1986.
- FAO. **Representante da FAO Brasil apresenta cenário da demanda por alimento**. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detailevents/pt/c/901168>. Acesso em: 17 jan 2020.
- FELESTRINO, E. B.; VIEIRA, I. T.; CANESCHI, W. L.; CORDEIRO, I. F.; ASSIS, R. A. B.; LEMES, C. G. C.; FONSECA, N. P.; SANCHEZ, A. B.; CEPEDA, J. C. C.; FERRO, J. A.; GARCIA, C. C. M.; CARMO, F. F.; KAMINO, L. H. Y.; MOREIRA, L. M. Biotechnological potential of plant growth-promoting bacteria from the roots and rhizospheres of endemic plants in ironstone vegetation in southeastern Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 34, p. 2-14, 2018.
- FERREIRA, T. C. Biocontrole de patógenos de solo e promoção de crescimento vegetal promovidos por *Bacillus* spp. em milho. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, [S.l.], v. 15, p. 337-356, 2019.
- FRANÇA, D. V. C.; KUPPER, K. C.; MAGRI, M. M. R.; GOMES, T. M.; ROSSI, F. *Trichoderma* spp. Isolates with potential of phosphate solubilization and growth promotion in cherry tomato. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 47, p. 360-368, 2017.
- FREITAS, S. S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. *In*: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. 1. ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. p. 1-20.
- GARCIA, T. V.; KNAACK, N.; FIUZA, L. M. Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico na orizicultura. **Agricultural Microbiology**, [S.l.], v. 82, p. 1-9, 2015.

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

GRAHAM, P. H; VANCE, C. P. Legumes: importance and constraints to greater use. **Plant Physiology**, Washington, v. 131, p. 872- 877, 2003.

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 and Biochemistry**, [S.l.], v. 39, p. 1968-1977, 2007.

HANSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, [S.l.], v. 12, p. 259-266, 2009.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, [S.l.], v.2, p.43-56, 2004.

HEDDEN, P.; THOMAS, S. G. **Plant Hormone Signaling: Annual Plant Reviews**. 24. ed. Nova Jersey: Blackwell publishing Ltd, 2006, 372p.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, [S.l.], v.158, p. 17-25, 2012.

HIDER, R. C.; KONG, X. Chemistry and biology of siderophores. **Natural Product Reports**, London, v. 27, p. 637-657, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da Produção Agrícola**. Fortaleza, 2018. (Documento impresso).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola: Tabela 1 - Área, produção e rendimento médio - Confronto das estimativas Janeiro/Fevereiro - Brasil**. Maio, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?edicao=27808&t=resultados>. Acesso em: 17 set 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro, 2009. p.1-93.

INDEX FUNGORUM. **Banco de Dados de Taxonomia de Fungos**. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>. Acesso em: 15 fev 2020.

ISLAM, F.; YASMEEN, T.; ARIF, M. S.; ALI, S.; ALI, B.; HAMEED, S.; ZHOU, W. Plant growth promoting bacteria confer salt tolerance in vigna radiata by up-regulating antioxidant defense and biological soil fertility. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 80, p. 23-36, 2016.

JAROSZUK- SCISEL, J.; SKIEWICZ, R. T.; NOWAK, A.; OZIMEK, E.; MAJEWSKA, M.; HANAKA, A.; SKIEWICZ, K. T.; PAWLIK, A.; JANUSZ, G. Phytohormones (auxin, gibberellin) and ACC deaminase *in vitro* synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this strain conidia. **International Journal of Molecular Sciences**,

[s.l.] v. 20, p. 2-35, 2019.

JUMA, N. G.; TABATABAI, M. A. Hydrolysis of organic phosphates by corn and soybean roots. **Plant and Soil**, The Hague, v. 107, p. 31-38, 1988.

KANG, S. M.; KHAN, A. L.; WAGAS, M.; YOU, Y. H.; KIM, J.; KIM, J. G.; HAMAYUN, M.; LEE, I. J. Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in *Cucumis sativus*. **Journal of Plant Interactions**, [S.l.], v. 9, p. 673-682, 2014.

KAPRI, A.; TEWARI, L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. Brazilian. **Journal of Microbiology**, [S.l.], v. 41, p. 787-795, 2010.

KOTASTHANE, A.; AGRAWAL, T.; KUSHWAH, R.; RAHATKAR, O.V. *In-vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter melon. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 141, p. 523-543, 2015.

LEHNER, S. M.; ATANASOVA, L.; NEUMANN, N. K. N.; KRŠKA, R.; LEMMENS, M.; DRUZHININA, I. S.; SCHUHMACHER, R. Isotope-assisted screening for iron-containing metabolites reveals a high degree of diversity among known and unknown siderophores produced by *Trichoderma* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 79, p. 18-31, 2013.

LEMANCEAU, P.; EXPERT, D.; GAYMARD, F.; BAKKER, P. A. H. M.; BRIAT, J. F. Chapter 12 role of iron in plant-microbe interactions. **Advances in Botanical Research**, New York, v. 51, p. 491-549, 2009.

LI, M.; COZZOLINO, V.; MAZZEI, P.; DROSOS, M.; MONDA, H.; HU, Z.; PICCOLO, A. Effects of microbial bioeffectors and P amendments on P forms in a maize cropped soil as evaluated by ³¹P-NMR spectroscopy. **Plant and Soil**, The Hague, v. 427, p. 87-104, 2018.

LI, Y. T.; HWANG, S. G.; HUANG, Y. M.; HUANG, C. H. Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and *Fusarium* wilt of tomato. **Crop Protection**, Guildford, v. 110, p. 275-282, 2018.

LIN, T. F.; HUANG, H.; SHEN, F. T.; YOUNG, C. C. The protons of gluconic acid are the major factor responsible for the dissolution of tricalcium phosphate by *Burkholderia cepacia* CC-A174. **Bioresource Technology**, Essex, v. 97, p. 957-960, 2006.

LIU, L. N.; ZHANG, J. Z.; XU, T. Histopathological studies of sclerotia of *Rhizoctonia solani* parasitized by the EGFP transformant of *Trichoderma virens*. **Applied Microbiology**, Washington, v. 49, p. 745-750, 2009.

LÓPEZ, A. C.; ALVARENGA, A. E.; ZAPATA, P. D.; LUNA, M. F.; VILLALBA, L. L. *Trichoderma* spp. from Misiones, Argentina: effective fungi to promote plant growth of the regional crop *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Mycology**, [S.l.], v. 10, p. 210-221, 2019.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35,

p. 274-288, 2012.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Metodologia para análise de elementos em material vegetal. *In: Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. p. 135-189.

MARINHO, M. M. **Análise da composição das cinzas do bagaço do pedúnculo do caju (*Anacardium occidentale* L.) e sua atividade antifúngica *in vitro* contra espécies de *Fusarium***. 2011. 44 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Unidade acadêmica de Sobral, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2011.

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ALGUACIL, M. D. M.; PASCUAL, J. A.; WEES, S. C. M. V. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 40, p. 804-815, 2014.

MARSCHNER, P. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. Londres: Academic Press (London) Ltd, 2012. 651p.

MARTINS, T. S. **Folha-diagnóstica e faixa crítica de nutrientes em folhas de cajueiro-anão**. 2019. 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MURAOKA, T.; CARMO, C. A. F. S. do; MELO, W. J. Análise química de tecido vegetal. *In: SILVA, F. C (Ed). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica / Embrapa Solos, 2009. p. 191-234.

MONTENEGRO, A. A. T.; VIDAL NETO, F. C.; SERRANO, L. A. L. Clones de Cajueiro-anão. *In: MONTENEGRO, A. A. T.; SERRANO, L. A. L.; MESQUITA, A. L. M.; CARDOSO, J. E.; MOURA, C. F. H.; PAULA PESSOA, P. F. A. Plantio, manejo e comercialização da cultura do cajueiro anão precoce*. Fortaleza: Instituto Frutal, 2011. p. 15-23.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA. 2006. 744p.

MUKHERJEE, P. K.; HURLEY, J. F.; TAYLOR, J. T.; PUCKHABER, L.; LEHNER, S.; DRUZHININA, I.; SCHUMACHER, R.; KENERLEY, C. M. Ferricrocin, the intracellular siderophore of *Trichoderma virens*, is involved in growth, conidiation, gliotoxin biosynthesis and induction of systemic resistance in maize. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 505, p. 605-611, 2018.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. **Analytical Chemistry Acta**, [S.l.], v. 27, p. 31-36, 1962.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E. CARVALHO, J. G. **Inter-relação Fertilidade, Biologia de solo e Nutrição de Plantas**. 1. ed. Viçosa: SBCS/UFLA, 1999. p. 818.

NANNIPIERI, P.; GIAGNONI, L.; LANDI, L.; RENELLA, G. Role of phosphatase enzymes in soil. *In: BUNEMANN, E. k.; OBERSON, A.; FROSSARD, E. Phosphorus in Action:*

Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling. 26. ed. Berlin: Springer, 2011. p. 215-243.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 170, p. 265-270, 1999.

NEILANDS, J. B. Microbial iron compounds. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 50, p. 715-731, 1981.

NEILANDS, J. B. Siderophores: Structure and function of microbial iron transport compounds. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 270, p. 26723-26726, 1995.

OLIVEIRA, A. G.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SANTOS, G. R.; MILLER, L. O.; CHAGAS, L. F. B. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [S.l.], v. 7, p. 149-155, 2012.

OLIVEIRA, C. A. **Cultura do cajueiro**, 2011. Disponível em: <http://jornalagricola.wordpress.com/cultura-do-cajueiro>. Acesso em: 22 set 2019.

OLIVEIRA, V. H. Produção, pós-colheita e processamento. *In*: OLIVEIRA, V. H.; MESQUITA, A. L. M.; SILVA, E. O.; PAIVA, F. F. A.; SILVA NETO, R. M. **Cajucultura: produção, processamento e certificação**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2005. p. 75.

ORTUÑO, N.; CASTILLO, J. A.; MIRANDA, C.; CLAROS, M.; SOTO, X. The use of secondary metabolites extracted from *Trichoderma* for plant growth promotion in the Andean highlands. **Renewable Agriculture and Food Systems**, [S.l.], v. 32, p. 366-375, 2016.

OSORIO-HERNÁNDEZ, E.; HERNÁNDEZ- CASTILLO, F. D.; GALLEGOS- MORALES, G.; RODRÍGUEZ- HERRERA, R.; CASTILLO- REYES, F. *In-vitro* behavior of *Trichoderma* spp. against *Phytophthora capsici* Leonian. **African Journal of Agricultural Research**, [S.l.], v. 6, p. 4594-4600, 2011.

PAYNE, S. M. Iron and virulence in the family Enterobacteriaceae. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v. 16, p. 81-111, 1988.

PELL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, [S.l.] v. 11, p. 1633-1644, 2007.

PICARD, C.; BARUFFA, E.; BOSCO, M. Enrichment and diversity of plant-probiotic microorganisms in the rhizosphere of hybrid maize during four growth cycles. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, p. 106-115, 2008.

POMELA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle Biológico com *Trichoderma* em Grandes Culturas – Uma Visão Empresarial. *In*: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. 1. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Norte, 2009. p. 239-244.

PRADHAN, N.; SUKLA, L. B. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. **African Journal of Biotechnology**, [S.l.], v. 5, p. 850-854, 2005.

PUGH, R. R.; DICK, D. G.; FREDEEN, A. L. Heavy metal (Pb, Zn, Cd, Fe, and Cu) contents of plant foliage near the anvil range lead/zinc mine, faro, Yukon territory. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 52, p. 273-279, 2002.

REBAH, B.; PRÉVOST, D.; YEZZA, A.; TYAGI, R. D. Agro-industrial waste materials and waste-water sludge for rhizobial inoculant production: A review. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 98, p. 3535-3546, 2007.

REINO, J. L.; GUERRERO, R. F.; HERNÁNDEZ- GALÁN, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, [S.l.], v. 7, p. 89-123, 2008.

RENELLA, G.; EGAMBERDIYEVA, D.; LANDI, L.; MENCH, M.; NANNIPIERI, P. Microbial activity and hydrolase activities during decomposition of root exudates released by an artificial root surface in Cd-contaminated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 38, p. 702-708, 2006.

RIBAS, P. P.; RECH, R.; MATSUMURA, A. T. S.; SAND, S. T. V. D. Potencial *in vitro* para solubilização de fosfato por *Trichoderma* spp. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 14, p. 70-75, 2016.

RICHARDSON, A. E.; BAREA, J. M.; MCNEILL, A. M.; PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant and Soil**, The Hague, v. 321, p. 305,339, 2009.

RITCHIE, G. A.; LANDIS, T. D. **The container tree nursery manual**. Disponível em: [http:// www.rngr.net/Publications/ctnm/ volume7](http://www.rngr.net/Publications/ctnm/volume7). Acesso em: 20 de maio 2020.

ROSE, R.; HASSE, D. L. The target seedling concept: Implementing a Program. *In*: LANDIS, T. D.; CREGG, B. **Forest and Conservation Nursery Associations Proceedings**. 1. ed. Portland: General Technical Report, 1995. p. 124-130.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S.; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 2, p. 203-208, 2009.

SANTIAGO, A.; GARCÍA-LÓPEZ, A. M.; QUINTERO, J. M.; AVILÉS, M.; DELGADO, A. Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 and glucose addition on iron nutrition in *cucumber* grown on calcareous soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 57, p. 598-605, 2013.

SANTIAGO, A.; QUINTERO, J. M.; AVILÉS, M.; DELGADO, A. Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 on iron nutrition in *White lipun*. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 41, p. 2453-2459, 2009.

SANTIAGO, A.; QUINTERO, J. M.; AVILÉS, M.; DELGADO, A. Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 on iron, copper, manganese, and zinc uptake by wheat grown on a calcareous medium. **Plant and Soil**, The Hague, v. 342, p. 97-104, 2011.

SANTOS, C. H. B. **Crescimento de mudas frutíferas sob ação de microrganismos**

promotores de crescimento. 2017. 82 F. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2017.

SANTOS, H. A.; MELLO, S. C. M.; PEIXOTO, J. R. Associação de isolados de *Trichoderma* spp. e ácido indol-3-butírico (AIB) na promoção de enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, p. 966-972, 2010.

SARAVANAKUMAR, K.; ARASU, V. S.; KATHIRESAN, K. Effect of *Trichoderma* on soil phosphate solubilization and growth improvement of *Avicennia marina*. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 104, p. 101-105, 2013.

SCHWYN, B.; NEILANDS, J. B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophore. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 160, p. 47-56, 1987.

SERRANO, L. A. L.; CAVALCANTI JUNIOR, A. T. Produção de mudas de cajueiro. In: SERRANO, L. A. L. **Sistema de Produção do Caju**. 2. ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2016.

SERRANO, L. A. L.; MELO, D. S.; TANIGUCHI, C. A. K.; VIDAL-NETO, F. C.; CAVALCANTI-JUNIOR, L. F. Porta-enxertos para a produção de mudas de cajueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 1237-1245, 2013.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, [S.l.] v. 48, p. 21-43, 2010.

SILVA, C. F. B.; BRÍGIDA, A. I. S.; TANIGUCHI, C. A. K.; PINTO, G. A. S. Uso do *Trichoderma* na cultura da banana. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. **Trichoderma: uso na agricultura**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2019. p. 433-444.

SILVA, J. F.; SILVA, T. R.; ESCOBAR, I. E. C.; FRAIZ, A. C. R.; SANTOS, J. W. M.; NASCIMENTO, T. R.; SANTOS, J. M. R.; PETERS, S. J. W.; MELO, R. F.; DEON, D. S.; FERNANDES-JUNIOR, P. I. Screening of plant growth promotion ability among bacteria isolated from field-grown sorghum under different managements in Brazilian drylands. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 34, p. 1-10, 2018.

SILVA, M. S. C.; SILVA, E. M. R.; PEREIRA, M. G.; SILVA, C. F. Estoque de serapilheira e atividade microbiana em solo sob sistemas agroflorestais. **Floram**, Seropédica, v. 14, p. 431-441, 2012.

SIMON, S.; PETRÁSEK, J. Why plants need more than one type of auxin. **Plant Science**. Limerik, v. 180, p. 454-460, 2011.

SLATER, G. P.; HASKINS, R. H.; HOGGE, L. R.; NESBITT, L. R. Metabolic products from a *Trichoderma viride* Pers. ex Fries. **Canadian Journal of Chemistry**, Ottawa, v. 45, p. 92-96, 1967.

SOFO, A.; SCOPA, A.; MANFRA, M.; NISCO, M.; TENORE, G.; TROISI, J.; FIORI, R.; NOVELLINO, E. *Trichoderma harzianum* strain T-22 induces changes in phytohormone levels in cherry rootstocks (*Prunus cerasus* X *P. canescens*). **Plant Growth Regulation**,

Dordrecht, v. 65, p. 421-425, 2011.

SOLDAN, A. M. **Desenvolvimento e estado nutricional de mirtáceas sob o efeito de *Trichoderma* spp. e fosfato natural**. 2014. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal). Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

TANDON, A.; FATIMA, T.; GAUTAM, A.; YADAV, U.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, P. C. Effect of *Trichoderma koningiopsis* on chickpea rhizosphere activities under different fertilization regimes. **Open Journal of Soil Science**, [S.l.], v. 8, p. 261-275, 2018.

TIWARI, S.; PRASAD, V.; CHAUHAN, P. S.; LATA, C. *Bacillus amyloliquefaciens* confers tolerance to various abiotic stresses and modulates plant response to phytohormones through osmoprotection and gene expression regulation in rice. **Frontiers in Plant Science**, [S.l.], v. 8, p. 1-13, 2017.

TODOROVIC, B.; GLICK, B. R. The interconversion of ACC deaminase and D-cysteine desulphydrase by directed mutagenesis. **Planta**, Berlin, v. 229, p. 193-205, 2008.

VANDENBERGHE, L. P. S.; GARCIA, L. M. B.; RODRIGUES, C.; CAMARA, M. C.; PEREIRA, G. V. M.; OLIVEIRA, J.; SOCCOL, C. R. Potential applications of plant probiotic microorganisms in agriculture and forestry. **AIMS Microbiology**, [S.l.], v. 3, p. 629-648, 2017.

VARGAS, W. A.; CRUTCHER, F. K.; KENERLEY, C. M. Functional characterization of a plant-like sucrose transporter from the beneficial fungus *Trichoderma virens*. Regulation of the symbiotic association with plants by sucrose metabolism inside the fungal cells. **New Phytologist**, Cambridge, v. 189, p. 777-789, 2011.

VERMA, M.; BRAR, S. K.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y.; VALÉRO, J. T. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, [S.l.], v. 37, p. 1-20, 2007.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, The Hague, v. 255, p. 571-586, 2003.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; WOO, S. L.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; RUOCCO, M.; LANZUISE, L.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. **The Open Mycology Journal**, [S.l.], v. 8, p. 127-139, 2014.

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

WARD, J. S.; GENT, M. P. N.; STEPHENS, G. R. Effects of planting stock quality and browse protection-type on height growth of northern red oak and eastern white pine. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 127, p. 205-216, 2000.

WU, L.; WU, H. J.; QIAO, J.; GAO, X.; BORRIS, R. Novel routes for improving biocontrol activity of *Bacillus* based bioinoculants. **Frontiers in Microbiology**, [S.l.], v. 6, p. 1-13, 2015.

ZEILINGER, S.; GRUBER, S.; BANSAL, R.; MUKHERJEE, P. K. Secondary metabolism in *Trichoderma* – chemistry meets genomics. **Fungal Biology Reviews**, Amsterdam, v. 30, p. 74-90, 2016.

ZHANG, Y.; KANG, X.; LIU, H.; LIU, Y.; LI, Y.; YU, X.; ZHAO, K.; GU, Y.; XU, K.; CHEN, C.; CHEN, Q. Endophytes isolated from ginger rhizome exhibit growth promoting potential for *Zea mays*. **Archives of Agronomy and Soil Science**, [S.l.], v. 64, p. 1302-1314, 2018.

ANEXO A: PREPARO DA SOLUÇÃO CROMOAZUROL (CAS)

- Solução A:

- ✓ 12,2 mg de Cromo Azurol S,
- ✓ 10 mL de água deionizada.

Preparar a solução em balão volumétrico, transferindo analiticamente o corante com água deionizada.

- Solução B:

- ✓ 84 μL de HCL concentrado,
- ✓ 100 mL de água deionizada,
- ✓ 27 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Dissolver primeiramente o FeCl_3 na água destilada em um béquer de vidro, e, após completa dissolução acrescentar o HCL. Homogeneizar com bastão de vidro.

- Solução C:

- ✓ 21,9 mg de HDTMA (Brometo de hexadeciltrimetilamônio),
- ✓ 25 mL de água deionizada morna,

Dissolver o reagente em um béquer de vidro, e, homogeneizar com bastão de vidro.

- Solução D:

- ✓ 4,307 g de piperazina Anidra,
- ✓ 40 mL de água deionizada,

Preparar a solução em um béquer de vidro, e, homogeneizar com bastão de vidro.

Preparo da solução final: em um béquer de vidro adicionar 7,5 mL da solução A e 1,5 mL da solução B. Em seguida, acrescentar a mistura vagarosamente ao conteúdo da solução C. Transferir o conteúdo dessa mistura para um balão volumétrico de 100 mL. Transferir a solução D para o balão volumétrico e avolumar com água deionizada. Após homogeneização transferir a solução para um béquer de vidro envolto em papel alumínio e em ambiente escuro ajustar vagarosamente o pH com HCL (12 M) para 5,6. Armazenar a solução em geladeira em frasco totalmente escuro.

ANEXO B: PREPARO DA SOLUÇÃO VANADO-MOLIBDÍCO

- Solução 01: solução de molibdato 50 g L^{-1}

- ✓ 50 g de molibdato de amônio;

Em um béquer de vidro dissolver 50 g de molibdato de amônio em 800 mL de água destilada quente, deixar esfriar até temperatura ambiente. Completar o volume para 1000 mL com água destilada em balão volumétrico. Armazenar em frasco escuro e na geladeira.

- Solução 02: solução de metavanadato de amônio (NH_4VO_3) $2,5 \text{ g L}^{-1}$

- ✓ 2,5 g de NH_4VO_3 ,

- ✓ 350 mL de ácido nítrico a 65% (HNO_3)

Dissolver 2,5 g de NH_4VO_3 em 500 mL de água destilada quente, logo após, adicionar vagarosamente 350 mL de ácido nítrico (HNO_3 65%), deixar esfriar em banho de gelo. Após resfriamento avolumar para 1000 mL com água destilada, a solução deve ser armazenada em frasco escuro e mantida em geladeira. Observação: Misturar em partes iguais as soluções 01 (molibdato) e 02 (metavanadato de amônio) e, as duas soluções são misturadas apenas na hora do uso.