

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE α -MANOSIDASE, α -ARABINOFURANOSIDASE E LIPASE SECRETADA POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. EM PRESENÇA DE PAREDE CELULAR DE *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* E *Sclerotinia sclerotiorum*.

João Paulo Cabral de Brito^{1,a,b}; Fabyano Alvares Cardoso Lopes^{2,a}; Cirano José Ulhoa^{3,a}

^aInstituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, 74001-970, Brasil

^bE-mail: jp_brito_8@msn.com

Palavras-chave: *Trichoderma*, enzimologia, fitopatógenos, controle biológico.

1 INTRODUÇÃO

Microorganismos fitopatógenos têm coexistido com plantas desde o início da agricultura, causando danos e perdas econômicas. Métodos tradicionais para o controle desses fitopatógenos tem sido a aplicação de pesticidas químicos e fungicidas, porém o uso dos agrotóxicos tem causado drásticos impactos ambientais. Uma das maneiras mais promissoras de conseguir que se tenha uma redução no uso desses químicos, até uma futura substituição, é a utilização de agentes de controle biológico (ACBs) (HOWELL, 2002; ZIMAND *et al.* 1996; VERMA *et al.* 2007).

O gênero *Trichoderma* consiste em fungos de vida livre e podem ser reconhecidos, normalmente, através de características macroscópicas, as quais incluem crescimento rápido em cultura, rede micelial aérea hialina, septada, bastante ramificada e esparsa e produção de pústulas conidiógenas diferenciais (brancas ou verdes). Os conídios, que são produzidos abundantemente, podem ser soltos ou muito compactados em tufo. A estrutura e tamanho dos conidióforos são utilizados para a diferenciação de espécies, podendo ser subglobosos, ovóides, elipsóides ou elíptico-cilíndricos, sendo produzidos em série e acumulados no ápice das fiáides formando uma estrutura globosa ou subglobosa com menos de 15 μ m de diâmetro. Podem ser lisos ou ligeiramente rugosos, hialinos ou com coloração variando do amarelo ao verde-escuro (CORABI-ADELL, 2004; SCHUSTER and SCHMOLL, 2010).

Texto revisado pelo orientador.

¹ Bolsista do CNPq (PIVIC/UFG), orientando do Prof. Dr. Cirano José Ulhoa.

² Aluno de Mestrado e Bolsista CAPES, orientando do Prof. Dr. Cirano José Ulhoa e colaborador da presente pesquisa.

³ Departamento de Bioquímica e Biofísica/ICB/UFG, orientador da presente pesquisa.

Atualmente, a atuação e utilização de espécies de *Trichoderma* abrange diversas áreas relacionadas à indústria e agropecuária. Sabe-se que linhagens de *Trichoderma* podem produzir e secretar diversas enzimas extracelulares (HARAN, *et al.* 1996; SIVAN and CHET, 1989), produzir antifúngicos e antibióticos (BLUMENTHAL, 2004; GHISALBERTI and ROWLAND, 1993), atuarem como competidores de fungos patógenos (WOO, *et al.* 2006; ZIMAND *et al.* 1996), promover crescimento e induzir resistência em plantas (DE MEYER, *et al.* 1998; HARMAN *et al.* 2004; YEDIDIA, 1999).

Na indústria alimentícia, várias enzimas produzidas por *Trichoderma* são aplicadas para melhorar processos de fermentação (β -glicanases), produção de suco de frutas (pectinases, celulases, hemicelulases), como aditivo na pecuária e de alimentos para animais de estimação (xilanases), e na produção de álcool de cereais (celulases) (BLUMENTHAL, 2004; SCHUSTER and SCHMOLL, 2010), assim como várias espécies de *Trichoderma* são usadas para proteger os frutos e vegetais comercialmente importantes, tais como banana, maçã, morango, manga, batata, e tomate durante seu armazenamento pós-colheita (MORTUZA, 1999; OKIGBO and OIKEDIUGWU, 2000; THANGAVELU, *et al.* 2004).

Um exemplo de uma espécie de *Trichoderma* que é hoje particularmente focado como um potente produtor de celulase é o *T. reesei*. As enzimas produzidas por este fungo juntamente com outras enzimas diminuiriam os custos totais de produção de bioetanol a partir de resíduos celulósicos, além de sua aplicação na indústria de celulose e papel, e na indústria têxtil. (KUMAR *et al.* 2008; SCHUSTER and SCHMOLL, 2010).

Espécies de *Trichoderma* também já são comercialmente conhecidas e aplicadas no controle biológico de diversos fitopatógenos. Atualmente, a definição de controle biológico é uma combinação de diferentes mecanismos que trabalham sinergicamente para conseguir o controle da doença. Dentre os diferentes mecanismos de ação de fungos do gênero *Trichoderma* já citados, o micoparasitismo é o mais estudado. Neste mecanismo, o *Trichoderma* se liga ao patógeno através de carboidratos da parede celular, e uma vez ligado, ele se enovela em volta do patógeno através de estruturas denominadas de apressório. Em seguida, ocorre a secreção de enzimas hidrolíticas que degradam a parede celular do fungo hospedeiro (ALMEIDA *et al.* 2007; VINALE, *et al.* 2007; HARMAN, 2004).

Espécies de *Trichoderma* já são usadas comercialmente como ACBs contra fungos fitopatogênicos como *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pythium* spp., *Fusarium* spp., entre outros. Em países como Estados Unidos, Índia, Israel, Nova Zelândia e Suécia já é uma promissora alternativa aos fungicidas químicos

(DELGADO *et al.* 2007; KUNIEDA-ALONSO, 2005; VERMA *et al.* 2007; DE MEYER, *et al.* 1998; ZIMAND *et al.* 1996; HOWELL, 2002).

O *S. sclerotiorum* é um fungo de solo que causa doenças conhecidas como mofo branco e podridão mole, que atinge cerca de 400 espécies de plantas, como feijão e soja. Este fungo sobrevive no solo através do processo de formação do esclerócito, uma forma resistente do seu micélio, e tem-se observado a atuação do *Trichoderma* como inibidor de crescimento deste fungo (ABDULLAH *et al.* 2007; DELGADO *et al.* 2007).

O fungo *R. solani* é um dos principais patógenos que ocorrem em culturas diversas, como soja (BASSETO, 2007), mamão (CAMPOS *et al.* 2009), algodão (GOULART, 2002), arroz (SPANNEBERG, 2009), feijão, e até mesmo em culturas de pepinos (LUCON *et al.* 2009) e eucalipto. Nas culturas de eucalipto, o espaçamento reduzido entre as plantas, a irrigação e o intenso crescimento das mudas em viveiro favorecem a disseminação e a multiplicação do fitopatógeno. Dentre os fungos utilizados em programas de controle biológico nestes casos, destacam-se muitas espécies do gênero *Trichoderma* que parasitam hifas e escleródios de *Rhizoctonia* sp, e podem reduzir sua sobrevivência. (KUNIEDA-ALONSO, 2005; LUCON *et al.* 2009).

O gênero *Fusarium* ganhou importância devido ao seu envolvimento na patogênese de plantas e biodegradação de lignina. (OLIVAIN, 2006). Esse fungo possui uma ampla distribuição geográfica, apresentando espécies cosmopolitas e outras ocorrendo somente em determinados ambientes, predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais ou em condições de clima frio das regiões temperadas. Trabalhos recentes relataram o efeito inibitório de *T. koningii* sobre *Fusarium oxysporum* e observa-se que a interação com de *T. harzianum* com a hifa de *Fusarium* sp. ocorre de um modo diferente onde há apenas um contato entre eles, diferentemente do modo clássico de contato onde há enrolamento na hifa do hospedeiro. (MONTEIRO, 2008).

No processo de micoparasitismo, a primeira barreira encontrada pelo fungo é a parede celular. A composição química da parede celular dos fungos é bastante complexa, constituída principalmente por polissacarídeos, ligados ou não a proteínas ou lipídeos, polifosfatos e íons inorgânicos formando a matriz de cimentação. Quitina, glucanas, galactomananas, manoses e proteínas são compostos mais frequentes, embora sua quantidade varie entre as diferentes espécies de fungos (FUKUDA *et al.*, 2009).

A L-arabinose é a segunda pentose mais abundante ao lado de D-xilose e é encontrada em polissacarídeos da parede celular de plantas. Fungos produzem um grande número de arabinanases extracelulares, incluindo a-L arabinofuranosidases e endo-arabinanases,

especificamente para liberação de L-arabinose dos polímeros vegetais (SEIBOTH and METZ, 2011). Estudos demonstram que L-arabinose é o principal indutor da ABFase em *T. reesei* (NOGAWA *et al.* 1999; XIONG 2004; AKEL *et al.*, 2009) mas ainda há poucos estudos sobre a produção dessa enzima pelo *T. reesei* em processos de micoparasitismo.

As α -manosídeses pertencem a uma família de exoglicosídeses as quais hidrolisam resíduos de α -D-manosil a partir de terminais não redutores de oligossacarídeos, essas enzimas são implicadas no catabolismo de carboidratos. A degradação das hemiceluloses em constituintes monoméricos requer a atividade de várias enzimas; dessa forma, a α e β -glicosídeses e α -manosídeses são responsáveis pela hidrólise de glicomananas e mananas, constituintes das hemiceluloses. (PERES *et al.* 2000; BEG, 2001).

Até agora, a purificação e a caracterização de α -manosídeses foi descrita a partir de fungos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Sclerotium rolfsii*, *Trichoderma reesei*, e algumas leveduras e bactérias. Essa enzima não é constitutiva, ou seja, é secretada apenas quando oligossacarídeos obtidos por acetólise de manana são usados como fonte de carbono (KESKAR *et al.*, 1996). Juntamente com α -mananases, as α -manosídeses são amplamente utilizadas na sacarificação de hemicelulose para produção produtos químicos e combustíveis, na alimentação animal, na indústria de alimento e panificação (POLIZELI, 2005; SHALLOM and SHONAM, 2003), e como uma alternativa no clareamento de celulose e papel, diminuindo a quantidade de cloro usado nesse processo (BEG, 2001).

Dentre as enzimas hidrolíticas secretadas, podem-se destacar as lipases. As lipases são enzimas que hidrolisam as ligações éster dos glicerídeos na interface água-óleo. Durante a hidrólise, a lipase captura o grupo acil do glicerídeo formando um complexo acil-lipase, e então transfere para um grupo hidroxila da água. Em condições não-aquosas, a lipase pode transferir o grupo acil do ácido carboxílico para outro nucleófilo além da água (MARTINELLE and HULT, 1995; GUNSTONE, 1999).

Alguns trabalhos revelam que o gênero *Trichoderma* é utilizado como produtor de lipases (KASHMIRI *et al.*, 2006), sendo que atuação da lipase na síntese e na degradação de moléculas orgânicas é de grande relevância, e por isso, atualmente são utilizadas na indústria alimentícia, cosmética, têxtil, farmacêutica (GANDHI, 1997), e pode ser observada em estudos no antagonismo entre espécies de *Trichoderma* e fitopatógenos como *Cladosporium herbarum* (BARBOSA, 2001).

2 OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade de α -manosidase, α -arabinofuranosidase e lipase secretada por isolados de *Trichoderma spp.* em presença de parede celular dos fitopatógenos *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*

3 MATERIAS E MÉTODOS

Foram utilizados vinte e quatro isolados de *Trichoderma spp.* e os fitopatógenos *F. solani*, *F. oxysporum*, *R. solani* e *S. sclerotiorum* (EMBRAPA-CNPAF).

3.1 Condições de cultivo

Para a produção de enzimas hidrolíticas, discos de 3 mm de diâmetro originados das placas dos isolados de *Trichoderma spp.* foram colocados em Erlenmeyer de 125 mL contendo 10 mL de meio TLE [$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,3 g L⁻¹, KH_2PO_4 2,0 g L⁻¹, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,4 g L⁻¹, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,3 g L⁻¹, Uréia 0,3 g L⁻¹, Peptona 1,0 g L⁻¹ e solução elementos traços (Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+}) 0,1%] e micélio dos fitopatógenos, liofilizado e macerado (0,5%) como fonte de carbono e nitrogênio. Os frascos foram incubados em agitador rotatório à 28°C e velocidade de 120 rpm. Após 48 horas de incubação, o sobrenadante de cultura foi coletado, através de filtração à vácuo, e utilizado como fonte de enzimas hidrolíticas.

3.2 Ensaio enzimáticos

A atividade de α -manosidase foi determinada pela reação com o substrato p-nitrofenil- α -D-manopiranosídeo ($p\text{NP-M}$ 5mmol L⁻¹) em microplaca. Amostras de 10 μL da enzima foram incubadas com 40 μL de substrato e 100 μL de tampão citrato/fosfato (50mmol L⁻¹ pH 5,5) e incubadas a 50°C por 15 minutos e a reação foi parada com a adição de 100 μL de NaOH 0,1M. A concentração de $p\text{NP}$ liberado foi determinada por espectrofotometria a 405nm. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μmol de p -nitrofenol por minuto de reação. Foram aceitos apenas resultados que apresentaram variância de, no máximo, 20%.

A atividade de ABFase foi determinada pela reação com o substrato p -nitrofenil- α -L-arabinofuranosídeo ($p\text{NP-A}$ 5mmol L⁻¹) em microplaca. Amostras de 10 μL da enzima foram incubadas com 40 μL de substrato e 100 μL de tampão acetato de sódio (50mmol L⁻¹ pH 4,8) e incubadas a 37°C por 15 minutos e a reação foi parada com a adição de 100 μL de NaOH

0.1M. A concentração de pNP liberado foi determinada por espectrofotometria a 405nm. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1µmol de p-nitrofenol por minuto de reação. Foram aceitos apenas resultados que apresentaram variância de, no máximo, 20%.

A atividade da lipase foi determinada pela reação com o substrato pNP-palmitato (5mmol L⁻¹, solubilizado em acetonitrila). Foram incubadas 100µl de amostra com 100µl de tampão fosfato de sódio (pH 7.0 0,1mol L⁻¹, cloreto de sódio 0,27mol L⁻¹ e Triton X-100 0,9%) e 20µl de substrato por 30 minutos a 37°C, em seguida colocadas no microondas por 30 segundos. A concentração de pNP liberada será determinada por espectrofotometria a 405nm. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1µmol de p-nitrofenol por minuto de reação. Foram aceitos apenas resultados que apresentaram variância de, no máximo, 20%.

A concentração de proteínas totais foi determinada pelo método descrito por Bradford (1976) utilizando-se albumina sérica bovina (Sigma) como padrão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade enzimática da ABFase foi observada apenas nos isolados crescidos em presença de micélio de *S. sclerotiorum*. Dentre eles, os isolados *T. asperellum* 356/02 (0,006528 U.ml⁻¹), *T. asperellum* 362/02 (0,004658 U.ml⁻¹), *T. tomentosum* 29/11 (0,004444 U.ml⁻¹), *T. asperellum* 11/11 (0,00407 U.ml⁻¹) e *T. gamsii* 11/09 (0,00391 U.ml⁻¹) foram os que apresentaram maior expressão dessa enzima (Gráfico 1).

Quanto à atividade específica de ABFase, os isolados que se destacaram foram *T. erinaceum* 17/06 (0,4424 U.mg⁻¹), *T. asperellum* 11/11 (0,24007 U.mg⁻¹), *T. asperellum* 356/02 (0,2351 U.mg⁻¹), *T. gamsii* 11/09 (0,2213 U.mg⁻¹) e *T. tomentosum* 29/11 (0,2168 U.mg⁻¹) (Gráfico 2).

O micélio de *S. sclerotiorum* foi capaz de induzir a produção de ABFase, o que não ocorre nos outros micélios, provavelmente por possuir polissacarídeos em sua parede que liberam L-arabinose, já que estudos demonstram que L-arabinose é o principal indutor da ABFase em *Trichoderma* (NOGAWA *et al.* 1999; XIONG 2004; AKEL *et al.*, 2009).

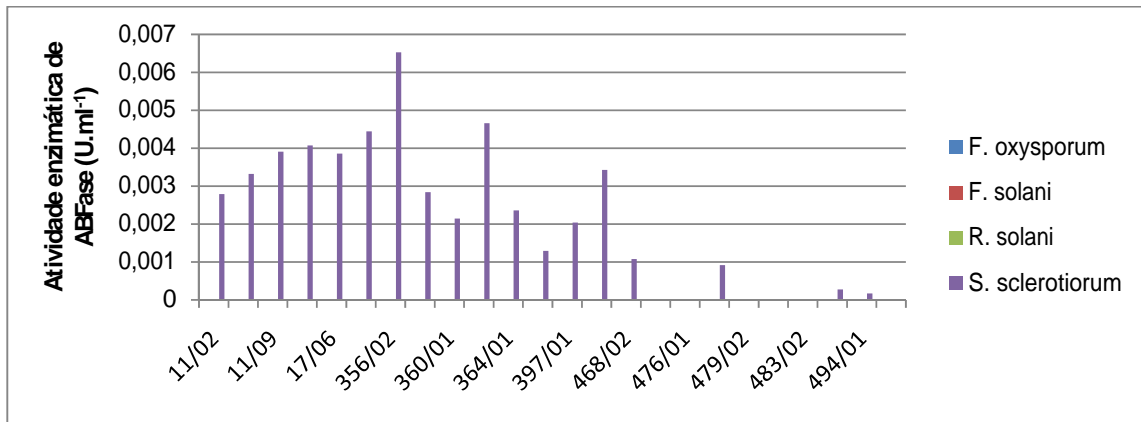


Gráfico 1 – Atividade enzimática de ABFase de *Trichoderma* spp. em presença de micélio de *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. Solani* e *S. sclerotiorum*.

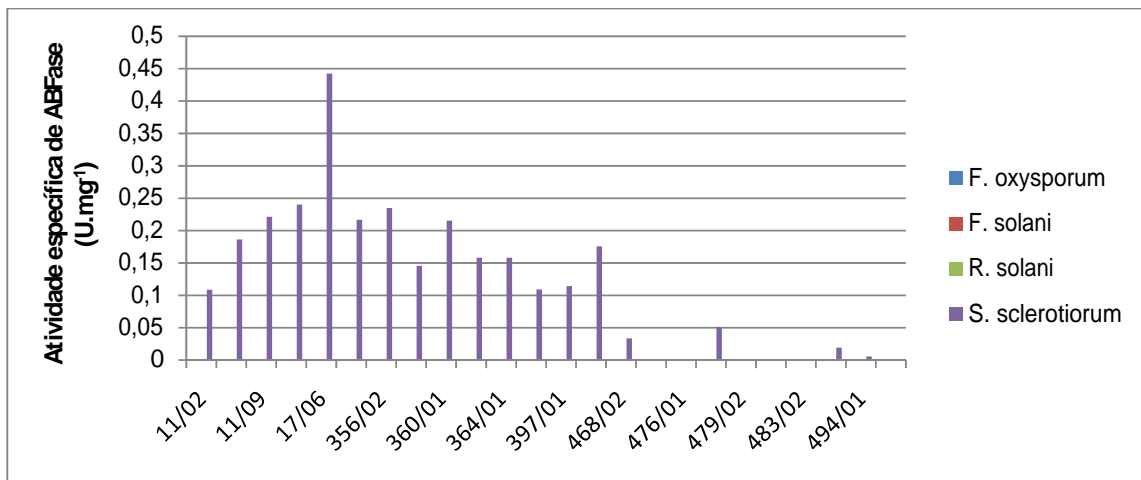


Gráfico – Atividade específica de ABFase de *Trichoderma* spp. em presença de micélio de *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. Solani* e *S. sclerotiorum*.

Sobre a atividade enzimática de α -manosidase, observa-se que a maior atividade enzimática foi em presença de micélio de *S. sclerotiorum*, com destaque para os isolados *T. harzianum* 487/02 (0,04872 U.ml⁻¹) e *T. harzianum* 479/02 (0,00407 U.ml⁻¹). Alguns isolados como o *T. erinaceum* 17/06 e o *T. asperellum* 356/02, apresentaram atividades tanto em micélio de *S. sclerotiorum* quanto em micélio de *R. Solani*, e o isolado *T. harzianum* ALL-42, apresenta atividade quando crescido em micélio de *S. sclerotiorum* e de *F. solani* (Gráfico 3).

Em relação à atividade específica de α -manosidase, destaca-se o isolado *T. harzianum* 487/02 (0,3428 U.mg⁻¹) quando crescido em micélio de *S. sclerotiorum*, e o isolado *T. erinaceum* 17/06, quando crescido em micélio tanto de *S. sclerotiorum* (0,2585 U.mg⁻¹), quanto em micélio de *R. solani* (0,2197 U.mg⁻¹) (Gráfico 4), esses dois isolados demonstram

ser bons candidatos na produção de α -manosidase. Provalmente, o micélio de *S. sclerotiorum* possui em sua composição compostos que induzem a produção dessa enzima, diferente quando os mesmo isolados de *Trichoderma* estão em contato com o micélio de *F. oxysporum*, condição onde não houve atividade de α -manosidase em nenhum dos isolados. Monteiro *et al.* (2008) relatam que o isolado *T. harzianum* ALL-42 produz α -manosidase em parede de *Fusarium* sp. e *R. solani*, enquanto nesse trabalho, o isolado *T. harzianum* ALL-42 produziu α -manosidase quando crescido em micélio de *F. solani* e *S. Sclerotiorum*, porém, diferentemente dos resultados de Monteiro *et al.* (2008), não se observou atividade em presença do micélio de *R. Solani*, isso se deve provavelmente pelas diferenças nas condições de crescimento, já que no trabalho citado a rotação usada foi de 160rpm e no meio de cultura foi adicionado 0,5% de parede tratada, enquanto nesse presente trabalho foi utilizado rotação de 120rpm e adicionado no meio de cultura 1% de micélio (parede não tratada).

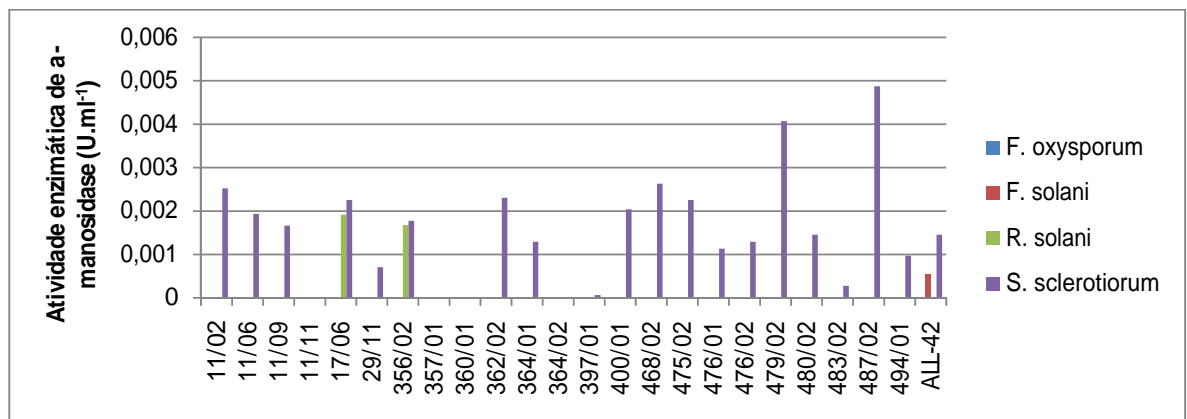


Gráfico 3 – Atividade enzimática de α -manosidase de *Trichoderma* spp. em presença de micélio de *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. Solani* e *S. sclerotiorum*.

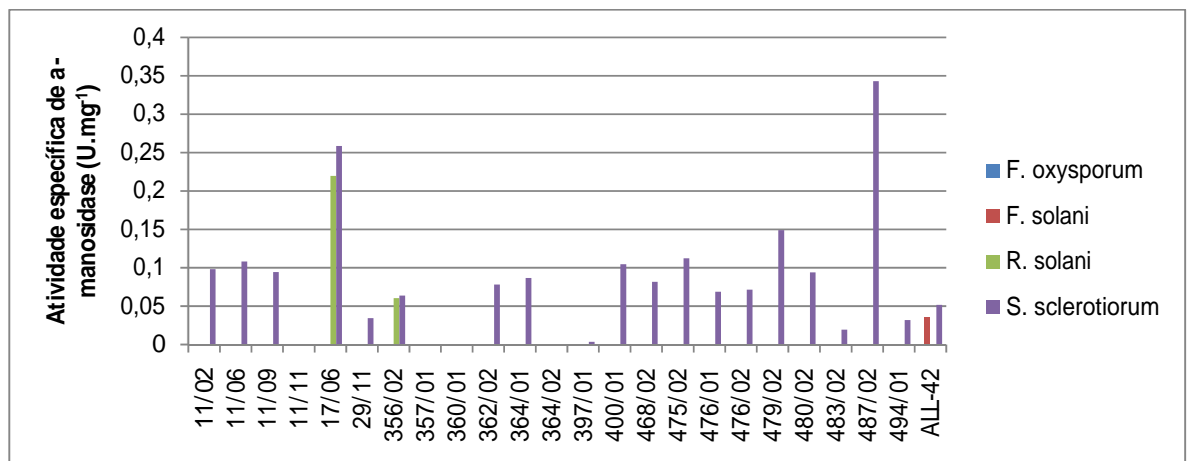


Gráfico 4 – Atividade específica de α -manosidase de *Trichoderma* spp. em presença de micélio de *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. Solani* e *S. sclerotiorum*.

Em relação à atividade enzimática de lipases, os isolados que se destacaram foram o *T. gamsi* 11/09 (0,00585 U.ml⁻¹), *T. asperellum* 362/02 (0,0053 U.ml⁻¹), *T. harzianum* 480/02 (0,0059 U.ml⁻¹), *T. asperellum* 468/02 (0,0046 U.ml⁻¹) e *T. asperellum* 400/01 (0,0056 U.ml⁻¹), sendo que este último também apresentou uma atividade relativamente alta de lipase em micélio de *R. solani* (0,0084 U.ml⁻¹), quando comparado aos outros isolados crescidos neste mesmo micélio (Gráfico 5).

Quanto à atividade específica de lipase, os isolados que se destacaram foram o *T. asperellum* 468/02 (0,702 U.mg⁻¹), *T. gamsi* 11/09 (0,331 U.mg⁻¹), *T. harzianum* 480/02 (0,362 U.mg⁻¹), *T. asperellum* 362/02 (0,179 U.mg⁻¹), e o isolado *T. asperellum* 400/01 (0,447 U.mg⁻¹), crescidos em micélio de *F. oxysporum*, sendo que este último isolado também apresentou uma alta atividade específica (0,674 U.mg⁻¹) quando crescido em micélio de *R. solani* (Gráfico 6).

Baseando-se nesses dados, *F. oxysporum* parece ser capaz de induzir uma maior produção dessa enzima, provavelmente, esse fungo deve possuir compostos lipídicos em maior quantidade em seu micélio em relação à composição do micélio dos outros fitopatógenos. O isolado *T. asperellum* 400/01 possui um grande potencial para a produção de lipase, pois apresentou uma maior atividade dessa enzima, em relação aos outros isolados testados, quando crescido em micélio de *F. oxysporum* (0,0056 U.ml⁻¹; 0,447 U.mg⁻¹) e *R. solani* (0,0084 U.ml⁻¹; 0,674 U.mg⁻¹), e uma produção mediana quando crescido em parede de *F. solani* (0,0012 U.ml⁻¹; 0,0927 U.mg⁻¹). Isto indica que esses isolados tem potencial para serem aplicados na produção industrial de lipases ou no uso como ACB's no combate a fitopatógenos em culturas que estejam ameaçadas por esse fungo.

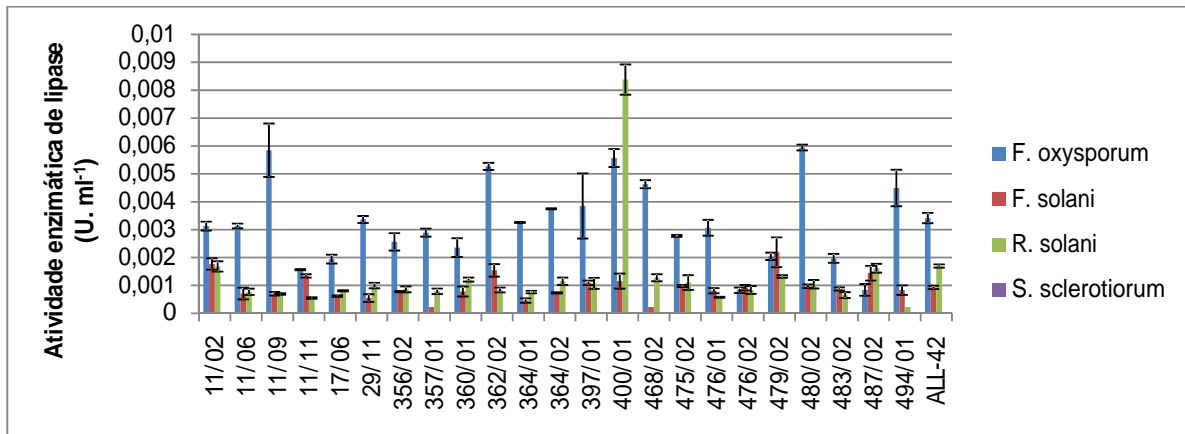


Gráfico 5 – Atividade enzimática de lipase de *Trichoderma* spp. em presença de parede celular de *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. Solani* e *S. sclerotiorum*.

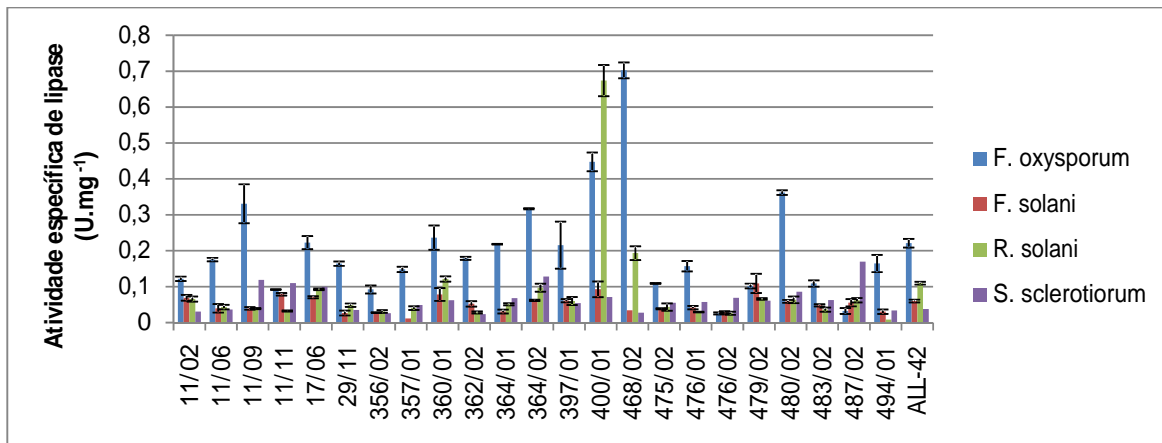


Gráfico 6 – Atividade específica de lipase de *Trichoderma* spp. em presença de parede celular de *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. Solani* e *S. sclerotiorum*.

5 CONCLUSÃO

A secreção de lipase foi observada nas quatro condições, porém com atividades diferenciadas, sendo que em presença do fitopatógeno *F. oxysporum* se obteve as maiores atividades, tanto enzimática quanto específica. A produção das xilanases, α -manosidase e α -arabinofuranosidase, foi mais comum na presença de *S. sclerotiorum*, provavelmente, isso esteja relacionado com a composição da parede celular desse fitopatógeno. Estes dados corroboram que o gênero *Trichoderma* é um ótimo candidato para atuar como ACB's contra os fitopatógenos estudados.

6 REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, M.T.; ALI, N.Y.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop protection**. 27: 1354-1359. 2008.
- AKEL, E., METZ, B., SEIBOTH, B., and KUBICEK, C.P. Molecular Regulation of Arabinan and L-Arabinose Metabolism in *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*). **Eukaryotic Cell**, 8 (12): 1837–1844. 2009.
- ALMEIDA, F. B. R., CERQUEIRA, F. M., SILVA, R. N., ULHOA, C. J. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. **Biotechnology Letters**. 29:1189–1193. 2007.
- BARBOSA, M.A.G., REHN, K.G., MENEZES, M. e MARIANO, R.L.R. Antagonism of *Trichoderma* Species on *Cladosporium herbarum* and their Enzimatic Characterization. **Brazilian Journal of Microbiology** 32:98-104. 2001.
- BASSETO, M.A; CERESINI, P.C.; VALÉRIO FILHO, W.V. Severidade da mela da soja causada por *Rhizoctonia solani* AG-1 IA em função de doses de potássio. **Summa Phytopathologica**, 33 (1): 56-62, 2007.
- BEG, Q. K., KAPOOR, M., MAHAJAN, L., HOONDAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 56:326–338. 2001.
- BLUMENTHAL, C.Z. Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** 39: 214–228. 2004.
- CAMPOS, S.C., SILVEIRA, S.F., SILVA, R.F., VIANA, A.P., CONCEIÇÃO, P.M. Tratamento químico de sementes de mamão visando ao controle de *Rhizoctonia solani*. **Tropical Plant Pathology**, 34 (3): 192-197, 2009
- CORABI-ADELL, C. **Biodiversidade do gênero *Trichoderma* (HYPOCREALES – FUNGI) mediante técnicas moleculares e análise ecofisiográfica**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil. 2004.
- DELGADO, G. V. *et al.* Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. in vitro. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 12: 1676 - 1340. 2007.
- DE MEYER, G., BIGIRIMANA, J., ELAD, Y. and HÖFTE, M. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology** 104: 279–286. 1998.
- FUKUDA, E. K. *et al.* Polissacarídeos de parede celular fúngica: Purificação e Caracterização. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, 30 (1): 117-134. 2009.

GHISUERTI, E.L. and OWLAND, C.R. Antifungal metabolites from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, 56 (10): 1799-1804. 1993.

GOULART, A.C.P. Efeito do tratamento de sementes de algodão com fungicidas no controle do tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira** 27: 399-402. 2002.

GUNSTONE, F.D. Enzymes as biocatalysts in the modification of natural lipids. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 79:1535 – 1549. 1999.

HARAN. S., SCHICKLER, H. and CHET, I. Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. **Microbiology**, 142: 2321-2331. 1996.

HOWELL, C. R. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. **Phytopathology** 92:177-180. 2002.

KESKAR, S. S., GAIKWAD, S. M. and KHAN, M. I. Microbial α -mannosidases. **Enzyme and Microbial Technology** 18: 602- 604. 1996.

KUMAR, R., SINGH, S., SINGH, O. V. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *J. Ind. Microbiology and Biotechnology* 35: 377–391. 2008.

KUNIEDA-ALONSO, S., ALFENAS, A.C. & MAFFIA, L.A. Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. **Fitopatologia Brasileira** 30:164-168. 2005.

LUCON, C.M.M., KOIKE, C.M., ISHIKAWA, A.I., PATRÍCIO, F.R.A e HARAKAVA, R. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 44 (3): 225-232, 2009.

MARTINELLE, M. and HULT, K. Kinetics of acyl transfer reactions in organic media catalysed by *Candida antarctica* lipase B. **Biochimica et Biophysica Acta** 1251: 191-197. 1995.

MONTEIRO, V.N. **Avaliação do perfil de proteínas secretadas pelo isolado de *Trichoderma harzianum* (ALL42) obtido do solo do Cerrado induzido por fitopatógenos.** 2008. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Goiás, Goiás, Brasil.

MORTUZA, M.G. and ILAG, L.L. Potential for Biocontrol of *Lasioidiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in banana fruits by *Trichoderma* species. **Biological Control**. 15: 235–240. 1999.

NEENA N., GANDHI, N. N. Applications of Lipase. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 74 (6). Canada. 1997.

NOGAWA, M., YATSUI, K., TOMIOKA A., OKADA, H., and MORIKAWA, Y. An a-L-Arabinofuranosidase from *Trichoderma reesei* Containing a Noncatalytic Xylan-Binding Domain. **Applied and Environmental Microbiology**, 65 (9): 3964–3968. 1999.

OKIGBO, R.N. and OIKEDIUGWU, F.E.O. Studies on biological control of postharvest rot in yams (*Dioscorea* spp.) using *Trichoderma viride*. **Phytopathology**, 148: 351-355. 2000.

OLIVAIN, C., et al. Colonization of Tomato Root by Pathogenic and Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Strains Inoculated Together and Separately into the Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, 72 (2): 1523–1531. 2006.

PERES, A.P., MACHADO, J.C., CHITARRA, A.B., LIMA, L.C.O. Perfil Enzimático De Fungos Associados À Podridão Peduncular Do Mamão. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, 24 (1): 295-299. 2000.

POLIZELI, M. L. T. M., RIZZATTI, A. C. S., MONTI R., TERENCE, H. F., JORGE, J. A., AMORIM, D. S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 67: 577–591. 2005.

SEIBOTH, B. and METZ, B. Fungal arabinan and L-arabinose metabolism. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 89: 1665–1673. 2011.

SHALLOM, D. and SHOHAM, Y. Microbial hemicellulases. **Current Opinion in Microbiology**. 6: 219–228. 2003.

SIVAN, A. and CHET, I. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. **Journal of General Microbiology**, 135: 675-682. 1989.

SPANNEBERG, R. **Manejo da queima e da Mancha-da Bainha (*Rhizoctonia* spp.) na cultura do arroz irrigado**. 2009. Dissertação (Pós-Graduação em Fitossanidade) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

THANGAVELU, R., PALANISWAMI, A., VELAZHAHAN, R. Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing fusarium wilt of banana. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 103: 259–263. 2004.

WOO, S. L., SCALA, F., RUOCCO, M., and LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology** 96: 181-185. 2006.

XIONG, H. **Production and characterization of *Trichoderma reesei* and *Thermomyces lanuginosus* xylanases**. Espoo, Helsinki University of Technology. 2004.

YEDIDIA, I., BENHAMOU, N. and CHET, I. Induction of Defense Responses in Cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) by the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, 65 (3): 1061–1070. 1999.

ZIMAND, G., ELAD, Y., and CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. **Phytopathology** 86: 1255-1260. 1996.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.