

LARISSA LARA ROCHA

POTENCIAL DE *Aspergillus niger* PARA BIOCONTROLE DE
PATÓGENOS FÚNGICOS DE SOLO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes

Coorientador

Prof. Dr. Bruno Sérgio Vieira

UBERLÂNDIA

2021

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

R672	Rocha, Larissa Lara, 1996-
2021	Potencial de Aspergillus niger para biocontrole de patógenos fúngicos de solo. [recurso eletrônico] / Larissa Lara Rocha. - 2021.
<p>Orientador: Gilberto De Oliveira Mendes. Coorientador: Bruno Sérgio Vieira. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Agronomia. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.448 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p>	
<p>1. Agronomia. I. Mendes, Gilberto De Oliveira, 1983-, (Orient.). II. Vieira, Bruno Sérgio, 1978-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Agronomia. IV. Título.</p>	
CDU: 631	

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

LARISSA LARA ROCHA

POTENCIAL DE *Aspergillus niger* PARA BIOCONTROLE DE
PATÓGENOS FÚNGICOS DE SOLO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 30 de Julho de 2021

Dr. André Luiz Firmino UFU

Dr. Lucas Carvalho Basilio de Azevedo UFU

Dr. Maurício Dutra Costa UFV

Dr. Gilberto de Oliveira Mendes

ICIAG - UFU
(orientador)

UBERLÂNDIA

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Rodovia BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 206 - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 2512-6715/6716 - www.ppga.iciag.ufu.br - posagro@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia			
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 010/2021, PPGAGRO			
Data:	Trinta de julho de dois mil e vinte e um	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:
Matrícula do Discente:	11912AGR011			
Nome do Discente:	Larissa Lara Rocha			
Título do Trabalho:	Potencial de <i>Aspergillus niger</i> para biocontrole de patógenos fúngicos de solo.			
Área de concentração:	Produção Vegetal			
Linha de pesquisa:	Uso e Recuperação de Solos e Resíduos na Agricultura			

Reuniu-se por videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: André Luiz Firmino - UFU; Lucas Carvalho Basílio de Azevedo - UFU; Maurício Dutra Costa - UFV; Gilberto de Oliveira Mendes - UFU, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. Gilberto de Oliveira Mendes, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Lucas Carvalho Basílio de Azevedo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/07/2021, às 11:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **André Luiz Firmino, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/07/2021, às 11:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maurício Dutra Costa, Usuário Externo**, em 30/07/2021, às 16:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site
https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2872506** e o código CRC **C5B0AA89**.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me iluminou, dando-me força, coragem e companhia em todos os momentos da minha vida.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade de realizar o curso.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes, pela orientação, atenção, amizade, dedicação, confiança e pelos ensinamentos.

Ao Thúlio Mattos, técnico do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, pela colaboração e pelos ensinamentos.

Às minhas amigas, Ana Tamiosso, Bruna Valoto, Mariana Mendes, Rafaela Goulart, Thalita Almeida, pela disposição, pelo inestimável apoio na execução dos experimentos e das análises, pela excelente convivência e pela amizade.

Aos meus amados pais Ângela e Valdeci, por todo carinho, amor, apoio, orações, incentivo, força e por serem meu “porto seguro”. Esse sonho só foi possível graças a vocês. Minha gratidão é imensa. Sem vocês nada eu seria.

RESUMO

ROCHA, Larissa Lara. **Potencial de *Aspergillus niger* para biocontrole de patógenos fúngicos de solo.** 2021. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.¹

A necessidade de aumentar a produtividade das culturas agrícolas de forma sustentável, conciliado com preservação ambiental, é desafio para a agricultura moderna. No que diz respeito ao controle de doenças radiculares, causador de impactos ambientais negativos em razão do uso intensivo de fungicidas, uma das estratégias estudadas para superar este desafio é a introdução de microrganismos antagonistas para o controle biológico de patógenos. *Aspergillus niger* apresenta características benéficas ao crescimento de plantas e, por isso, apresenta potencial para o desenvolvimento de inoculantes. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* o potencial de biocontrole de *A. niger* sobre os seguintes patógenos de solo: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum* e *Sclerotium rolfsii*. O potencial de biocontrole de duas linhagens de *A. niger* (ATCC 1015 e FS1) foi avaliado por meio dos métodos de cultivo pareado, produção de metabólitos voláteis e produção de metabólitos termoestáveis. Em cultivo pareado *F. oxysporum*, *F. solani* e *R. solani* apresentaram percentuais de inibição acima de 45% e não houve diferença significativa entre as linhagens de *A. niger*. Possíveis metabólitos voláteis secretados no meio pelas linhagens reduziram o crescimento de *S. cepivorum*, *S. rolfsii* e *F. oxysporum*. A inibição de crescimento por metabólitos termoestáveis foi detectada apenas em *M. phaseolina* exposta a metabólitos da linhagem ATCC 1015. Os resultados deste trabalho indicam o potencial de *A. niger* para o biocontrole dos fungos *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *S. cepivorum*, *S. rolfsii* e *M. phaseolina*.

Palavras-chave: biocontrole; fungos fitopatogênicos; doenças radiculares

¹ Orientador: Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes - UFU

ABSTRACT

ROCHA, Larissa Lara. **Potential of *Aspergillus niger* for biocontrol of soilborne fungal pathogens.** 2021. 58 f. Dissertation (Master Program Agronomy) Federal University of Uberlândia, Uberlândia, 2021.¹

The need to increase the productivity of agricultural crops in a sustainable way, combined with environmental preservation, is a challenge for modern agriculture. Regarding the control of root diseases, which cause negative environmental impacts due to the intensive use of fungicides, one of the strategies studied to overcome this challenge is the introduction of antagonistic microorganisms for biological control of pathogens. *Aspergillus niger* has characteristics beneficial to plant growth and, therefore, has potential for inoculants development. Thus, the objective of this work was to evaluate *in vitro* biocontrol potential of *A. niger* on the following soil pathogens: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum* and *Sclerotium rolfsii*. The biocontrol potential of two *A. niger* strains (ATCC 1015 and FS1) was evaluated using the methods of paired cultivation, production of volatile metabolites and production of thermostable metabolites. In paired culture, *F. oxysporum*, *F. solani* and *R. solani* showed inhibition percentages above 45% and there was no significant difference between *A. niger* strains. Possible volatile metabolites secreted in the medium by the strains reduced the growth of *S. cepivorum*, *S. rolfsii* and *F. oxysporum*. Growth inhibition by thermostable metabolites was detected only in *M. phaseolina* exposed to metabolites from strain ATCC 1015. The results of this work indicate the potential of *A. niger* for biocontrol of the fungi *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *S. cepivorum*, *S. rolfsii* and *M. phaseolina*.

Keywords: biocontrol; phytopathogenic fungi; root diseases

¹ Advisor: Prof. Dr. Gilberto de Oliveira Mendes - UFU

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1.	<i>Promoção de Crescimento Vegetal por Microrganismos</i>	2
2.2.	<i>Aspergillus spp.</i>	4
2.3.	<i>Mecanismos de Promoção de Crescimento Vegetal</i>	6
2.3.1.	<i>Mecanismos Diretos de Promoção de Crescimento</i>	7
2.3.2	<i>Mecanismos Indiretos de Promoção de Crescimento</i>	13
3.	MATERIAL E MÉTODOS	21
	<i>Microrganismos</i>	21
	<i>Técnica do cultivo pareado</i>	22
	<i>Produção de metabólitos voláteis</i>	23
	<i>Produção de metabólitos termoestáveis</i>	23
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
	<i>Efeito antagônico de A. niger em cultivo pareado com fungos patogênicos de solo</i>	25
	<i>Inibição de crescimento de fungos patogênicos de solo por metabólitos voláteis de A. niger</i>	29
	<i>Inibição de crescimento de fungos patogênicos de solo por metabólitos termoestáveis de A. niger e seu efeito sob a viabilidade de escleródios de S. rolfsii, S. cepivorum e S. scleotiorum</i>	33
5.	CONCLUSÕES.....	38
	REFERÊNCIAS	39

1. INTRODUÇÃO

As doenças provocadas por patógenos do solo podem ocorrer em todos os sistemas agrícolas e são comuns nas principais espécies de plantas cultivadas. Esses patógenos passam a maior parte do ciclo de vida no solo (BETTIOL; MORANDI, 1995), apresentando a capacidade de permanecerem vivos por longos períodos, mesmo em condições edafoclimáticas desfavoráveis e na ausência do seu hospedeiro. Esses patógenos podem formar estruturas de resistência como clamidósporos, esclerócios, oósporos, dentre outras (BELLÉ; FONTANA, 2018).

Os principais organismos responsáveis pelas doenças vasculares e radiculares das culturas são as bactérias, fungos e nematoídes, tendo como destaque os fungos como principais patógenos (BELLÉ; FONTANA, 2018). Os fungos de solo mais comuns e estudados são *Fusarium* sp., *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*, (KHAMARI et al., 2018; KUSHWAHA et al., 2019; LYU et al., 2016; MARCUZZO; SCHMOELLER, 2017; MEENA et al., 2018; NOMILA MERLIN et al., 2013; OKUBARA; DICKMAN; BLECHL, 2014; PANABIERES et al., 2016; WHISSON et al., 2016). Esses patógenos infectam caules, rizomas e raízes das plantas, tornando seu controle extremamente trabalhoso, pois além de terem coevoluído com as plantas e estarem adaptados com o ambiente abaixo do nível do solo, os sintomas das doenças causadas por esses microrganismos são visíveis somente quando se encontram em estádios avançados, tornando praticamente impossível seu controle depois de introduzidos na áerea (MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005).

O controle de doenças radiculares mais eficiente é o preventivo, utilizando produtos fitossanitários, o que é feito pelo cuidado de proteção, para que a doença não entre na área e não se estabeleça (VIDA et al., 2004). Contudo, o uso intensivo destes produtos tem ocasionado desequilíbrio ambiental, como a resistência de patógenos, desequilíbrio biológico, a contaminação dos alimentos, da água, do solo, dos animais e a intoxicação de agricultores. Uma outra maneira de controle, depois de instalada a doença em campo, é o controle biológico, por meio de microrganismos antagonistas (BETTIOL; MORANDI, 1995). O controle biológico é uma das alternativas de controle de doenças de forma mais sustentável, incluindo o controle biológico natural ou daquele que ocorre por meio da inclusão de agentes de biocontrole. Além disso, os custos do controle

biológico são inferiores àqueles dos tratamentos químicos, sendo cerca de um terço dos custos do controle com fungicidas (FANTINEL et al., 2018).

Para que se tenha sucesso no controle biológico, o microrganismo antagonista tem que ter o nicho ecológico semelhante ao do patógeno. Além disso, é importante que o microrganismo atenda uma ou mais das seguintes características: facilidade para colonizar e conseguir competir com o patógeno em seu ambiente; ter resistência a variações nas condições do meio, tais como temperatura, umidade, radiação e outros; não ser prejudicial ao homem e aos animais; que tenha aptidão para diferentes culturas e vasto espectro de ação contra diferentes patógenos; ser de fácil cultivo, multiplicação, aplicação e formulação (BETTIOL; MORANDI, 1995).

O fungo *Aspergillus niger* atende a mais de uma dessas características sendo uma espécie comumente encontrada em vários ambientes, sendo capaz de crescer em vários substratos orgânicos e possui rápido crescimento. A espécie destaca-se, também, pela capacidade de crescer em ampla faixa de temperatura (6-47 °C) e em ambientes de baixa umidade (BLACKBURN, 2006). Além disso, o fungo *A. niger* é relatado como eficiente solubilizador de fosfato (MENDES et al., 2014; WHITELAW, 1999), demonstrando, também, a capacidade de produção de fitormônios (LUBNA et al., 2018). Mudas de cafeeiro inoculadas com a linhagem de *A. niger* FS1 apresentaram maior altura, diâmetro de coleto, número de folhas, volume e massa seca de raiz quando comparadas às não inoculadas (ARAÚJO et al., 2020). Assim, a espécie *A. niger* é promissora opção para desenvolvimento de inoculantes com diferentes aplicações na promoção de crescimento de plantas. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi estudar o potencial de *A. niger* como agente de biocontrole para os seguintes patógenos de solo: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum* e *Sclerotium rolfsii*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. *Promoção de Crescimento Vegetal por Microrganismos*

Os microrganismos podem interagir de diferentes formas com as plantas, funcionando coletivamente como um microbioma. Podem colonizar os tecidos internos

das plantas (endófitos), a superfície da parte aérea (filosfera) e os três compartimentos da raiz separadamente: rizosfera, rizoplano e endosfera. O efeito da interação planta-microrganismo pode ser benéfico para a planta hospedeira, auxiliando no seu desenvolvimento (MENDES; GARBEVA; RAAIJMAKERS, 2013). O conhecimento e a manipulação do microbioma das plantas pode configurar um recurso biotecnológico alinhado aos interesses de diminuição dos custos de produção e aumento da sustentabilidade na agricultura. Um exemplo é a inoculação de microrganismos com capacidade de promover o crescimento vegetal ou microrganismos que atuam como agentes de controle biológico de pragas e doenças (MENDES; GARBEVA; RAAIJMAKERS, 2013).

Diversas espécies vegetais têm sido beneficiadas com a habilidade que alguns microrganismos possuem de promover o crescimento de plantas por meio de mecanismos intrínsecos. Vários ensaios foram realizados comprovando o benefício da interação planta-microrganismo em culturas perenes anuais (GOPALAKRISHNAN et al., 2014; PEDRO et al., 2012), hortaliças (GUIMARÃES et al., 2013), além de espécies florestais (MOREIRA; ARAÚJO, 2013) e outras culturas de interesse econômico. Entretanto, a relação estabelecida entre planta e microrganismo é muito particular, visto que cada espécie vegetal possui um padrão de colonização.

Diversos microrganismos podem ser explorados como promotores de crescimento de plantas, como bactérias residentes de filoplano ou de rizosfera, fungos endofíticos e fungos micorrízicos (TRIVEDI et al., 2021). Muitos são capazes de atuar como estimulantes na produção de compostos nas plantas, como as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) que colonizam o interior dos tecidos das plantas e a rizosfera e os fungos simbiontes micorrízicos e saprófitas (MARIANO et al., 2004). Essa diversidade microbiana atrelada ao desenvolvimento de plantas é comum na natureza e pode ser explorada pelo homem como técnica de promoção de crescimento das plantas de interesse (TRIVEDI et al., 2021).

Na rizosfera das plantas são encontrados muitos microrganismos capazes de estimular o crescimento vegetal. Esses microrganismos são divididos em duas classes principais: rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR) e fungos promotores de crescimento vegetal (PGPF). Em ambos os casos, os microrganismos apresentam a capacidade de crescer em associação com a planta hospedeira, resultando em estímulo do crescimento vegetal (COSTA et al., 2010). Microrganismos promotores de crescimento colonizam a rizosfera, a superfície da raiz ou até mesmo os espaços

intercelulares da epiderme e do córtex radicular, embora, na maioria das vezes, encontram-se principalmente aderidos à superfície da raiz (COSTA et al., 2010).

A rizosfera representa a região do solo que é influenciada em suas propriedades químicas, físicas e biológicas pelas raízes das plantas, é onde a interação de microrganismos, plantas e o solo ocorrem (STURZ; NOWAK, 2000). Alguns desses microrganismos são fungos e bactérias que promovem o crescimento vegetal (STURZ; NOWAK, 2000). Além disso, podem atuar como agentes no controle biológico de patógenos, uma vez que induzem resistência sistêmica em plantas, produzem antibióticos e sideróforos que inibem o crescimento de vários patógenos, por meio da captura de Fe³⁺, proporcionando ao microrganismo que produz o sideróforo maior capacidade de competição (RAMAMOORTHY et al., 2001).

Alguns gêneros de bactérias (*Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Hydrogenophaga*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* e outras) são conhecidos por promoverem o crescimento vegetal, mesmo sendo considerados como microrganismos de vida livre ou de rizosfera (BENIZRI; BAUDOIN; GUCKERT, 2001). Quanto aos fungos com potencial de promoção do crescimento de plantas, pode-se citar, como exemplo, as espécies do gênero *Trichoderma*. Os fungos desse gênero atuam tanto na promoção de crescimento quanto como agentes de biocontrole de doenças em plantas (REIS et al., 2013). Outro fungo com atividade promotora de crescimento vegetal comprovada é o *Penicillium citrinum* por meio da enzima de ACC (1-aminociclopropano-1- carboxilato) desaminase (JIA et al., 2014). A ação da ACC desaminase fúngica sobre a promoção de crescimento vegetal foi demonstrada em plantas de canola, onde a inoculação com linhagem de *Trichoderma* provocou a longevidade das raízes pelo retardamento da senescência desta parte vegetativa (VITERBO et al., 2010).

O fungo *Aspergillus niger* é relatado como um eficiente solubilizador de fosfato (MENDES et al., 2014; WHITELAW, 1999), o que o qualifica como promissora opção para desenvolvimento de inoculantes. Além da solubilização de fosfato hipotetiza-se que esse fungo possa também promover o crescimento de plantas por meio de outros mecanismos, como demonstrado por Araújo et al., (2020) para a linhagem FS1 de *A. niger*.

2.2. *Aspergillus* spp.

Aspergillus é um gênero fúngico composto por, aproximadamente, 446 espécies e possui distribuição cosmopolita (HOUBRAKEN et al., 2020). A maioria das espécies é de ocorrência rara, porém, outras estão entre as mais comuns do planeta (KIRK et al., 2008). Sistematicamente, situa-se no Reino Fungi, sub-reino Dikarya, Divisão Ascomycota, subdivisão Pezizomycotina, classe Eurotiomycetes, ordem Eurotiales, família Trichocomaceae (KIRK et al., 2008).

Seus representantes reproduzem-se geralmente de modo assexuado através da produção de conídios (KIRK et al., 2008). No entanto, espécies como *Aspergillus nidulans* e *A. glaucus* apresentam também reprodução sexuada, produzindo corpos de frutificação (ascomas chamados de cleitotécios) e esporos sexuados (ascósporos) (KEARNS; LOUDIS, 2003). As espécies de *Aspergillus* são saprófitas e habitam preferencialmente o solo, mas podem ser isolados em amostras de água, ar, plantas e animais (SANTOS, 2011). Seus esporos são dispersos principalmente pelo vento (SCHNEIDER et al., 2010).

Algumas espécies de *Aspergillus* podem causar infecções em humanos, sendo as mais comuns *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. terreus* (LACAZ et al., 1998). Aspergilose é o nome dado à infecção micótica provocada por qualquer espécie pertencente ao gênero *Aspergillus*. Em humanos com sistema imunológico atuante, a aspergilose pode manifestar-se sob a forma de infecções alérgicas como asma, aspergilose broncopulmonar saprofítica, alveolite alérgica extrínseca e aspergilose broncopulmonar alérgica, além de infecções superficiais como infecção cutânea, otomicose e sinusite (Lacaz et al., 1998). No entanto, comparado com outros fungos filamentosos, a espécie *A. niger* não se destaca como problema específico em relação a alergia ou micopatologias. Alguns casos médicos, por exemplo, infecções pulmonares, foram relatados, mas sempre em pacientes severamente imunocomprometidos (SCHUSTER et al., 2002).

Por outro lado, existem diversas aplicações biotecnológicas da espécie *A. niger*, como a produção de enzimas e ácidos orgânicos (SCHUSTER et al., 2002). A espécie é utilizada na produção de ácido cítrico, um dos ácidos mais utilizado na indústria (BAKER, 2006). *Aspergillus niger* também produz outros ácidos orgânicos, tais como ácido oxálico e glicônico (MAGNUSON; LASURE, 2004; SCHUSTER et al., 2002).

Diversas pesquisas demonstraram o potencial de *A. niger* na solubilização de minerais, em especial de P, em decorrência de sua capacidade de produção de ácidos orgânicos. Reddy et al., (2002) observaram que o percentual solubilizado de P de rocha

fosfática chega a 75% pelo fungo *A. niger*. Por outro lado, Mendes et al. (2014) verificaram que o fungo solubiliza de 14 a 100% o mesmo nutriente. Brandão; Lopes-Assad; Ceccato-Antonini (2014) observaram que o K era solubilizado cerca de 16,8% pelo fungo *A. niger*. Além do ácido cítrico, foi demonstrado que o ácido oxálico contribui para a solubilização de rocha fosfática em cultivo direto com *A. niger* (MENDES et al., 2014, 2020, 2021).

2.3. Mecanismos de Promoção de Crescimento Vegetal

Diversos são os mecanismos de promoção de crescimento de plantas por microrganismos do solo, podendo ser diretos ou indiretos (Tabela 1). Exemplos de mecanismos diretos incluem a produção de hormônios ou outras substâncias análogas a estes, os quais influenciam diretamente no crescimento ou desenvolvimento da planta, ou ainda suprindo as suas necessidades nutricionais, por mecanismos como a fixação biológica do nitrogênio (TAIZ; ZEIGER, 2013) e solubilização de fosfatos (BLOEMBERG; LUGTENBERG, 2001). Os benefícios indiretos da inoculação de microrganismos em sementes ou plântulas podem ser por meio da supressão de patógenos (HARMAN et al., 2004).

Tabela 1: Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento de plantas por microrganismos

Mecanismo	Tipo de Mecanismo	Referência
Direto	Produção e transporte de fitormônios e reguladores de crescimento como auxinas, citocininas, etileno e giberelina	(VACHERON et al., 2013)
Direto	Solubilização de fósforo	(RODRÍGUEZ; FRAGA, 1999)
Direto	Fixação de nitrogênio	(OLIVEIRA, 2011)
Indireto	Produção de sideróforo	(LUDWIG; MOURA; GOMES, 2013)
Indireto	Hiperparasitismo	(LIRA et al., 2019)

Indireto	Competição por nutrientes entre os fitopatógenos (SOTTERO et al., 2006)
Indireto	Antibiose (VIEIRA et al., 2016)

2.3.1. Mecanismos Diretos de Promoção de Crescimento

Fitormônios Reguladores de Crescimento

As plantas, assim como os animais, produzem hormônios que atuam na regulação do crescimento e desenvolvimento. Os hormônios de plantas são chamados de fitormônios. Através da produção de fitormônios, os microrganismos podem estimular o crescimento vegetal e aumentar a produção de metabólitos pelas plantas que podem ser utilizados para o seu próprio crescimento (MANULIS et al., 1998).

Os fitormônios são compostos orgânicos de ocorrência natural produzidos na planta, e translocados para outra parte, o qual, a baixas concentrações, promove, inibe ou modifica processos morfológicos e fisiológicos do vegetal, influenciando em processos como germinação, crescimento vegetativo, formação de flores e frutos, e senescência (OLIVEIRA; URQUIAGA; BALDANI, 2003; VIEIRA et al., 2010). Eles são os principais meios de comunicação intercelular, atuando como mensageiros químicos primários que carregam informação entre células e, desta forma, coordenam o seu crescimento e desenvolvimento. Dentre as classes de hormônios, algumas promovem enquanto outras inibem vários aspectos do desenvolvimento da planta, podendo as mesmas atuar sozinhas ou em conjunto (balanço hormonal) (TAIZ; ZEIGER, 2013)

O termo regulador de crescimento é normalmente empregado para compostos naturais (fitormônio e substâncias naturais de crescimento) ou sintéticos (hormônio sintético e regulador sintético) que exibem atividade no controle do crescimento e desenvolvimento da planta (VIEIRA et al., 2010). A produção de reguladores de crescimento ativos como fitormônios faz parte do metabolismo de diversas espécies de bactérias associadas aos vegetais e podem ser considerados agentes causais da alteração do crescimento e desenvolvimento vegetal (BASHAN; HOLGUIN, 1997).

As principais classes de fitormônios são auxinas, citocininas, giberelinas, o ácido abscísico e etileno. Descobertas mais recentes incluem os fitormônios estrigolactona, brassinosteróides, jasmonato, ácido salicílico, poliaminas e óxido nítrico (SPAEPEN,

2015).

A auxina foi o primeiro hormônio de crescimento estudado em plantas e muitos trabalhos pioneiros na fisiologia do mecanismo de expansão celular foram realizados em relação à ação desse hormônio (TAIZ; ZEIGER, 2013). Na metade da década de 1930, foi identificado o ácido indol-3-acético (AIA) como a principal auxina natural (VIEIRA et al., 2010). Diversas auxinas vegetais possuem sua estrutura química identificada, porém o AIA é considerado mais importante. Mais tarde, várias outras auxinas foram descobertas em plantas superiores, mas o AIA é incomparavelmente mais abundante e fisiologicamente mais importante (TAIZ; ZEIGER, 2013). As auxinas são sintetizadas a partir do aminoácido triptofano, e possuem como característica principal a capacidade de induzir o alongamento celular (KENDE; ZEEVAART, 1997). O ácido indolbutírico (AIB) é uma auxina sintética que apresenta maior estabilidade e menor solubilidade que a auxina endógena (AIA), sendo considerado um dos melhores estimuladores do enraizamento (LOSS et al., 2008)

As giberelinas apresentam o efeito estimulatório no processo germinativo quando aplicadas em sementes com dormência e, também, em sementes não dormentes. Apesar de existir um grande número de giberelinas promotoras da germinação de sementes, a forma mais frequentemente utilizada para estimular o processo germinativo de sementes é a do ácido giberélico (GA3) (BERNARDES et al., 2008). O ácido giberélico estimula a alfa-amilase e outras enzimas hidrolíticas, promovendo hidrólise de reservas armazenadas na semente. Além da alfa-amilase, existem outras enzimas hidrolíticas (protease, N-redutases), as quais são produzidas em resposta ao GA3 (KENDE; ZEEVAART, 1997).

De todas as GAs descobertas, uma pequena fração possui atividade biológica e entre essas podemos citar a GA1, GA3, GA4 E GA7. A GA1 é a bioativa mais comum nas plantas e o grupo mais bem estudado é o GA3, também conhecido por ácido giberélico, sendo produzido pelo fungo *Fusarium fujikuroi* (=*Gibberella fujikuroi*) (SAUTER; KENDE, 1992). Todas as outras GAs são consideradas precursores ou intermediários na biossíntese, podendo ainda se constituírem em compostos inativos (LAVAGNINI et al., 2014). Diferentemente das auxinas, que são definidas pelas suas propriedades biológicas, as GAs compartilham estrutura química semelhante, mas poucas apresentam atividade biológica intrínseca. Muitas das GAs que não têm atividade biológica intrínseca são precursores metabólicos de GAs bioativas ou seus produtos de desativação. Muitas vezes, apenas poucas GAs ativas estão presentes em

uma dada planta e seus níveis estão geralmente relacionados com o comprimento do caule (LAVAGNINI et al., 2014). As giberelinas também desempenham papel importante em vários outros fenômenos fisiológicos, tais como a germinação de sementes, na transição para o florescimento e no desenvolvimento do pólen, e no crescimento do caule (LAVAGNINI et al., 2014).

A habilidade das bactérias de produzir hormônios vegetais caracteriza um mecanismo direto de promoção do crescimento vegetal (LUCY; REED; GLICK, 2004). O AIA bacteriano interfere diretamente na expansão radicular, proporcionando maior acesso aos nutrientes. Além disso, as auxinas também estão associadas às respostas de defesa da planta, pois atuam como sinalizadores afetando a expressão de microrganismos fitopatogênicos (LUCY; REED; GLICK, 2004).

Solubilização de Nutrientes por Microrganismos

Outra função exercida pelos microrganismos é auxiliar na assimilação de nutrientes com pouca disponibilidade ou insolúveis no solo (KAPRI; TEWARI, 2010). Diversos pesquisadores têm observado elevada proporção de solubilização de fosfatos por microrganismos, especialmente bactérias, fungos e actinobactérias rizosféricas, desempenhando papel importante na nutrição vegetal (KAPRI; TEWARI, 2010).

A transformação do fosfato insolúvel, mineral ou orgânico, através dos processos de solubilização ou mineralização, já é amplamente conhecida (GERRETSEN, 1948). O processo de solubilização ocorre graças à produção de ácidos orgânicos tanto pelas raízes das plantas (HOFFLAND; FINDENEGG; NELEMANS, 1989), mas, principalmente, por microrganismos do solo que atuam diretamente na dissolução do fósforo ou pela ação quelante sobre os cátions liberando fosfatos solúveis (CEREZINE; NAHAS; BANZATTO, 1988).

Os microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) são capazes, por meio de mecanismos específicos, de extrair ou solubilizar P de frações de baixa solubilidade no solo e de fosfatos inorgânicos naturais pouco solúveis, favorecendo a nutrição e o desenvolvimento vegetal (ALVES; MENDOZA; FILHO, 2002). Além dos MSF, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) favorecem direta e indiretamente a nutrição e o desenvolvimento vegetal e possuem forte interrelação com os grupos microbianos supracitados (DA SILVA et al., 2021).

Apesar dos teores de fósforo (P) no solo serem relativamente elevados (400 a 1200 mg kg⁻¹ de solo), a concentração de P solúvel disponível para assimilação pelas raízes

vegetais é muito baixa, normalmente 1 mg kg⁻¹ de solo ou menos (OLIVEIRA; URQUIAGA; BALDANI, 2003). Seu ciclo não possui intercâmbio com a atmosfera, sendo regido principalmente por microrganismos. A principal fonte de P para o solo são minerais primários, como as apatitas (SPIER; KUMAR; NUNES, 2020). Em segundo lugar vem a matéria orgânica do solo, que pode constituir 30 a 50 % do P do solo. O P orgânico está principalmente na forma de fosfato-inositol (fitato), sintetizado por microrganismos e plantas (OLIVEIRA; URQUIAGA; BALDANI, 2003).

Como outros microrganismos já mencionados, as rizobactérias são ditas como capazes de solubilizar o fósforo e degradar a matéria orgânica presente no solo disponibilizando formas solúveis de fosfatos por meio de enzimas fosfatases (RODRÍGUEZ; FRAGA, 1999). Esse mecanismo depende de vários fatores, como a composição do material orgânico, as populações de microrganismos envolvidos, temperatura, umidade, aeração, pH do solo e práticas culturais, como adições de fertilizantes (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP), caracterizadas por colonizarem o ambiente radicular, realizam a mineralização da matéria orgânica e aumentam a disponibilidade de nutrientes por meio da conversão de formas insolúveis e disponíveis para a planta, como a solubilização de fosfatos (KIM; JORDAN; MCDONALD, 1997), solubilização de K, fixação de N pelas bactérias diazotróficas e aumento da solubilidade de micronutrientes, como a produção de sideróforos para a quelação de Fe. Assim, o suprimento de nutrientes solúveis na rizosfera proporciona efeito positivo na nutrição de plantas (RAJKUMAR et al., 2010).

Dentre as atividades dos ácidos produzidos por fungos na rizosfera, encontram-se: a solubilização e disponibilização de espécies de baixa solubilidade de fósforo e micronutrientes (MARSCHENER, 1998); redução da toxicidade de elementos, principalmente devido à presença de Al³⁺ (ROUT; SAMANTARAY; DAS, 2001; TAYLOR, 1988); regulação da comunidade microbiana e inibição do crescimento de plantas concorrentes (NARDI et al., 2000).

Já foi detectado substâncias como ácido oxálico em culturas de *Aspergillus foetidus* e *Aspergillus japonicus*; ácido cítrico, oxálico, glicônico e ácido málico em culturas de *A. niger*; ácido cítrico, málico, succínico, láctico e fumárico em culturas de *T. harzianum*; ácido glicônico em culturas de *Penicillium radicum* (DA SILVA et al., 2021). Vazquez et al. (2000) propuseram que a produção de ácidos orgânicos por

microrganismos da rizosfera de manguezais foi em decorrência de possíveis mecanismos envolvidos na solubilização de fosfato de cálcio insolúvel. Para isso trabalharam com 6 espécies de bactérias, sendo elas, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus licheniformis*, *Vibrio proteolyticus*, *Paenibacillus macerans*, *Xanthobacter agilis* e uma espécie de fungo, *A. niger*. Em média, a solubilização do fungo *A. niger* foi superior a qualquer espécie de bactéria.

Segundo Whitelaw (1999), os fungos solubilizadores de fósforo inorgânico podem ser inoculados em cultivos vegetais promovendo o crescimento e aumentando o fósforo capturado pelas plantas. Wahid e Mehana (2000) inocularam *A. niger*, *A. fumigatus* e *Penicillium pinophilum* em solos deficientes em fósforo tratados com rocha fosfática, determinando aumento no P disponível no solo para a planta alcançando maior eficiência da cultura, como crescimento vegetal e produtividade. Estudos com bactérias e fungos micorrízicos são relatados na maioria das publicações sobre solubilização de fósforo microbiano (BAR-YOSEF et al., 1999; CHABOT; ANTOUN; CESCAS, 1993; LAPEYRIE; RANGER; VAIRELLES, 1991; TORO; AZCON; BAREA, 1997). No entanto, alguns fungos não micorrízicos, especialmente dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, são bem conhecidos por sua capacidade de solubilização de fósforo (ILLMER; SCHINNER, 1992).

Os fungos filamentosos são amplamente utilizados como produtores de ácidos orgânicos, em especial o *A. niger* e algumas espécies de *Penicillium*. Exemplos disso são os processos comerciais usando *A. niger* em reatores de tanque agitado aerados, que podem converter glicose em ácido cítrico com eficiência superior a 80% e em concentrações finais em centenas de gramas por litro (MAGNUSON; LASURE, 2004). Dentre os ácidos orgânicos produzidos por microrganismos, podem-se citar: fórmico, lático, propiônico, acético, cítrico, butírico, succínico, fumárico, glicônico, itacônico, láctico, málico, micofenólico e oxálico (BEHERA et al., 2014).

O fungo *A. niger* destaca-se como grande produtor de ácidos orgânicos, sendo o organismo utilizado na indústria para produção de ácido cítrico (ARAÚJO et al., 2017). Essa capacidade reflete no potencial de solubilização de minerais, onde o fungo também se destaca. As principais vantagens no uso do *A. niger* estão relacionadas à facilidade de manipulação, sua habilidade de fermentar uma grande variedade de matérias-primas de baixo custo e produzir rendimentos elevados de ácido cítrico (BAUER et al., 1989).

Três espécies de fungos (*A. niger*, *A. terreus* e *Rhizopus oryzae*) produzem variedade de ácidos orgânicos, que podem refletir diferentes estratégias para competir com outros

microrganismos. Muitas cepas de *A. niger* podem diminuir o pH de seu ambiente oxidando a glicose fora da parede celular, convertendo-a em ácido glicônico através da ação da enzima glicose oxidase. Outras cepas de *A. niger* produzem ácido cítrico por via intracelular, como agente quelante e acidificante, que também pode ser reabsorvido para uso como fonte de carbono. A acidificação do ambiente com ácido itacônico inibe o crescimento de muitos microrganismos. Desta forma, a natureza do ácido itacônico permitiria que *A. terreus* e apenas algumas outras espécies catabolizem o ácido (MAGNUSON; LASURE, 2004). Além do ácido cítrico, *A. niger* produz ácido oxálico, o qual possui elevado potencial para solubilização de minerais em geral, dentre eles as rochas fosfáticas (MENDES et al., 2020, 2021).

As propriedades complexantes de metal desses ácidos orgânicos auxiliam a nutrição de fungos, outros microrganismos e plantas, e determinam a especiação e a mobilidade do metal no ambiente, incluindo a transferência entre habitats terrestres e aquáticos, biocorrosão e intemperismo. Os processos de solubilização de metais também têm potencial para recuperação de metais de resíduos sólidos contaminados, solos e minérios de baixa qualidade. Essa "lixiviação heterotrófica" pode ocorrer por vários mecanismos, mas os ácidos orgânicos ocupam posição central no processo geral, fornecendo prótons e um ânion de ácido orgânico complexador de metais. A maioria dos oxalatos de metal simples, exceto os de metais alcalinos, Fe (III) e Al, são moderadamente solúveis e precipitam como sólidos cristalinos ou amorfos (GADD, 1999).

O oxalato de cálcio é a manifestação mais importante disso no ambiente e, em uma variedade de estruturas cristalinas, está onipresentemente associado a fungos simbióticos. As principais formas são o mono-hidrato (whewellite) e o di-hidrato (weddellite) e sua formação é importante na biomineralização, uma vez que afetam a heterogeneidade nutricional no solo, principalmente a ciclagem de Ca, P, K e Al. A formação de oxalatos metálicos insolúveis pode conferir tolerância e garantir a sobrevivência em ambientes contaminados com metais tóxicos. Em ambientes semiáridos, a formação de oxalato de cálcio é importante na formação e alteração de calcários subterrâneos (GADD, 1999).

A compreensão da eficiência e capacidade da comunidade microbiana do solo em solubilizar fosfato de ferro pode favorecer a seleção de estirpes potencialmente úteis para disponibilizar o P complexado a essa fonte de baixa solubilidade. Tal habilidade tornaria

atraente seu uso na agricultura, principalmente nos solos do Cerrado (GOMES, 2010). Um maior entendimento da capacidade e da eficiência de microrganismos em solubilizar diferentes fosfatos pode levar à seleção de isolados com alto potencial de uso para a inoculação em plantas (SOUCHE et al., 2007). Em alguns estudos de solubilização de rochas fosfóricas com *A. niger*, Goenadi, Siswanto e Sugiarto (2000) encontraram estreita relação entre o pH e a quantidade de fósforo solubilizado. Eles detectaram que alguns ácidos orgânicos, a exemplo do citrato e do malato, são conhecidos por solubilizar compostos de fósforo relativamente de baixa solubilidade (ILLMER; BARBATO; SCHINNER, 1995).

2.3.2 Mecanismos Indiretos de Promoção de Crescimento

Microrganismos podem favorecer o crescimento das plantas por meio do controle biológico, sendo este um dos principais mecanismos indiretos. Os principais modos de ação que envolvem o biocontrole é a competição com os fitopatógenos por nutrientes e espaço, resistência sistêmica induzida na planta hospedeira e produção de metabólitos antifúngicos e antibióticos (VALIDOV; KAMILOVA; LUGTENBERG, 2009).

Algumas bactérias são capazes de produzir compostos orgânicos voláteis, os quais agem indiretamente beneficiando o desenvolvimento das plantas por meio da supressão de patógenos. A maioria desses compostos produzidos em ensaio realizado com estirpes de *Pseudomonas fluorescens* continham enxofre, como dissulfeto de dimetila, com propriedades antifúngicas e promotoras de crescimento em plantas (HERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2015).

A biossíntese da enzima ACC (aminocyclopropane-1-carboxylate) desaminase produzida por algumas bactérias e fungos quando a planta está submetida a estresse, também é característica relevante no processo de promoção de crescimento de plantas, pois esta enzima age na diminuição dos níveis de etileno no solo (GLICK, 2014).

Biocontrole

O controle biológico ou biocontrole de microrganismos é simplesmente o controle de microrganismo por outro microrganismo (BETTIOL; MORANDI, 1995). Um conceito mais amplo é o de Baker e Cook (1974), que definem o biocontrole como a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por

um patógeno, realizada por um ou mais organismos vivos que não o homem.

Segundo Baker e Cook (1974), o Controle Biológico de doenças de plantas teve início como ciência em 1926, com estudos sobre *Streptomyces scabies*, agente causal da sarna comum da batata. Ainda, de acordo com esses autores, no ano de 1931 foi utilizado pela primeira vez o termo “controle biológico” em um artigo sobre *Gaeumannomyces graminis*, agente causal da doença conhecida como mal-do-pé do trigo.

O controle biológico é resultado da interação tríplice patógeno, planta hospedeira e agente antagonista, sob a influência do ambiente (BAKER; COOK, 1974). Modificações ambientais provocadas no sítio de infecção podem resultar em limitações para as atividades do patógeno ou induzir a resistência do hospedeiro. Nessas modificações estão envolvidas práticas culturais capazes de promover condições favoráveis ao desenvolvimento do antagonista em detrimento do patógeno ou a resistência do hospedeiro (BETTIOL; MORANDI, 2009).

De forma simplificada, define-se controle biológico como o uso de um microrganismo para controle de outro, podendo o agente apresentar efeito biocida, causando a morte do alvo, ou biostático, inibindo seu desenvolvimento (ZAMBOLIM, 2010).

As atividades determinantes de doença são o crescimento, a infectividade, a agressividade, a virulência e outros atributos do patógeno ou processos que determinam a infecção, o desenvolvimento dos sintomas e a reprodução do patógeno (BETTIOL; MORANDI, 2009). O Biocontrole, pela análise dessas definições, visa a manter, através de certas práticas, o equilíbrio do agrossistema, de forma que o hospedeiro em presença do patógeno não seja significativamente afetado, graças à ação antagônica dos biocontroladores. Além disso, os antagonistas podem induzir tão simplesmente a resistência da planta hospedeira ao ataque de patógenos (AGRIOS, 2005).

Cultivo Pareado

O método da cultura pareada em disco de ágar é o utilizado em estudos de antagonismo *in vitro*, existindo inúmeros relatos de sucesso na seleção de microrganismos, visando ao controle biológico de fitopatógenos (MARIANO, 1993). É um método que permite mensurar o crescimento micelial, bem como os tipos de interação, como hiperparasitismo, formação de clámidósporos, dentre outros (FARIA;

CASSETARI NETO; ALBUQUERQUE, 2002).

Os testes *in vitro* possuem as vantagens de possibilitar a análise de grande número de potenciais antagonistas, permitir o estudo do mecanismo de ação e facilitar a observação das interações antagonistas-patógenos, ao nível ultraestrutural, com auxílio de microscopia ótica ou eletrônica. Além disso, os organismos selecionados *in vitro* podem servir como fonte de genes para transformação de microrganismos não antagônicos (MARIANO, 1993).

O método da cultura pareada está entre os mais frequentes nos trabalhos com antagonismo (FUGA et al., 2016; JANE; SHEILA; JAMES, 2011; LAKHDARI et al., 2018; VIEIRA et al., 2016). Esse método tanto pode ser feito com ágar em placa, ou em lâmina. O método do ágar em lâmina é considerado uma versão microscópica do método do ágar em placa, apresentando vantagem sobre o primeiro, uma vez que possibilita a visualização da interação entre as hifas dos antagônicos. Nesse método também pode ser observada a inibição da produção de esporos de um fungo causada pelo antagônico. Enquanto na placa só será possível a visualização de outros tipos de interação, como a sobreposição de micélio, a antibiose caracterizada por halo de inibição e a lise da colônia (ANDREWS, 1992).

Para realização do método de cultura pareada em disco de ágar, coloca-se em placas de petri ou lâmina, contendo o meio de cultura, discos de micélio dos fungos a serem avaliados em lados opostos, sendo um do patógeno e outro do isolado (MARIANO, 1993).

Compostos Termoestáveis

Em contraste com outros grupos de organismos vivos, os microrganismos apresentam grande capacidade adaptativa, colonizando ambientes nos quais outras formas de vida não seriam viáveis, como os ambientes geotérmicos (HAKI; RAKSHIT, 2003). Uma das mais admiráveis propriedades dos microrganismos é sua habilidade em adaptar-se a ambientes extremos, nos quais fatores como pH, temperatura, pressão e concentração de sal ultrapassam os valores considerados como ótimo para a maioria dos organismos (LASA; BERENGUER, 1993).

Dentre esses fatores, a temperatura é o que mais influência no funcionamento de moléculas e manutenção das estruturas biológicas. Em temperaturas ótimas, as reações químicas e enzimáticas na célula ocorrem mais rapidamente e o crescimento microbiano

é por consequência mais rápido e acentuado. No entanto, sob temperaturas mais altas que a temperatura ótima para o crescimento do microrganismo, as proteínas, os ácidos nucléicos e outros componentes celulares podem ser danificados de modo irreversível (MADIGAN et al., 2016).

Os microrganismos apresentam uma temperatura mínima de crescimento, abaixo da qual isso não ocorra, uma temperatura ótima, na qual o crescimento microbiano é máximo e uma temperatura máxima, acima da qual o crescimento não é possível e ocorre a morte celular por colapso da membrana citoplasmática e desnaturação de proteínas e do DNA. Estas temperaturas são em geral características para cada microrganismo, mas não são completamente fixas, uma vez que podem ser modificadas por fatores ambientais, em especial pela composição do meio de crescimento (MADIGAN et al., 2016).

A adequação de um determinado microrganismo à termofilia envolve adaptação da membrana citoplasmática, das proteínas e do DNA às temperaturas acima da faixa mesofílica. Na biotecnologia essa adaptação foi mais significativa, considerando que os mecanismos de termorresistência das biomoléculas desses microrganismos podem constituir modelos interessantes para a bioengenharia ou ainda, considerando o uso direto das mesmas em bioprocessos.

As enzimas termoestáveis já têm sido usadas como ferramenta para a Biologia Molecular (Taq polimerase), como aditivo de detergentes e sabões (proteases e celulases), no processamento industrial do amido (α -amilase, glucose isomerase) e na indústria de polpa e papel (xilanase) e surgem como alternativas de interesse em outros bioprocessos, como o de síntese orgânica (lipases, proteases, oxidorredutases), no setor de diagnóstico, no tratamento de resíduos e na produção de ração animal (HAKI; RAKSHIT, 2003).

Os compostos termoestáveis são aquelas substâncias que se decompõem acima de 295 °C e que apresentam vantagens para a aplicação na indústria, visto que processos biotecnológicos conduzidos em elevadas temperaturas diminuem o risco de contaminação por microrganismos mesófilos, que são a maioria em ambientes industriais (DE PALMA-FERNANDEZ; GOMES; DA SILVA, 2002; REIS et al., 2016).

Bezerra et al. (2019) identificaram e selecionaram espécies de *Trichoderma* spp. endofíticos de bromélias de restingas como agentes de biocontrole da fusariose em frutos de abacaxi, e constataram que um dos isolados (CF/UENF440) se mostrou como

um potencial agente de biocontrole *in vitro* de *F. guttiforme*, no qual demonstrou forte antibiose em co-cultivo em cultura, tanto para compostos não-voláteis quanto para não voláteis termoestáveis.

Ao avaliar métodos de controle biológico de *Alternaria alternata* (Mancha marrom de alternaria), Souza (2018) verificou por meio dos ensaios de produção dos compostos antifúngicos termoestáveis por *Bacillus* spp. que 42 isolados inibiram, significativamente, o crescimento micelial de *A. alternata*.

Metabólitos voláteis e não voláteis

O controle biológico de doenças de plantas requer triagem de um número elevado de candidatos antagonistas para o desenvolvimento de novos produtos, precisando cumprir exigências como controle do fitopatógeno (KÖHL et al., 2011).

Pesquisas têm se centralizado no estudo de metabólitos secundários produzidos por estes, com o intuito de isolar substâncias biotivas para o desenvolvimento de novos produtos para o controle de doenças de plantas. Por exemplo, as estrobilurinas que pertencem ao grupo de compostos químicos produzidos pelo fungo *Strobilurus tenacellus* representa o desenvolvimento mais bem sucedido de fungicidas baseados em compostos derivados de fungos (PARREIRA; NEVES; ZAMBOLIM, 2009).

Os compostos secundários, voláteis, produzidos por fungos decompositores são também considerados de grande relevância no controle biológico de fitopatógenos, visto capacidade que têm de se difundir por todo ambiente e agir em locais distantes do sítio de ação (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Existem vários mecanismos de ação fúngica, que atuando individualmente ou em conjunto, podem induzir efeitos supressivos sobre as doenças vegetais (HARMAN et al., 2004). Por exemplo, a produção de metabólitos secundários capazes de inibir o crescimento e/ou a germinação de esporos do fitopatógeno alvo (antibiose). Tais substâncias, de baixo peso molecular e com atividade antimicrobiana, podem ser voláteis ou não voláteis (CARVALHO et al., 2014). Dentre essas, citam-se: alquilpironas, isonitrilas, sesquiterpenos, policetídeos, peptabólitos, dicetopiperazinas e esteróides.

Muscador albus é fungo endofítico relatado como potente agente de controle de bactérias e fungos em virtude dos compostos voláteis que o mesmo produz (SEARS et al., 2001). Relatou-se que diversas espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* foram inibidas

por voláteis produzidos por *M. albus* (MERCIER; JIMENEZ, 2004).

Bastos (1991) verificou a produção de antibióticos por espécies de *Trichoderma* e sua possibilidade de volatilização. Dentre os antibióticos produzidos incluem-se gliotoxina, viridina e trichodermina, os quais inibem o crescimento de outros fungos. Eziashi et al., (2006) também verificaram que espécies de *Trichoderma* produzem substâncias que afetam o crescimento micelial, em ensaios *in vitro*, contra *Ceratocystis paradoxa*.

Recentemente outras espécies de fungos são relatadas como produtoras de compostos orgânicos voláteis tóxicos. Melo et al. (2012), por exemplo, observaram que *Xanthomonas vesicatoria* submetida a compostos voláteis produzidos por fungos saprófitas teve o seu crescimento inibido. Os compostos orgânicos voláteis dos fungos *Dictyochaeta simplex*, *Gonytrichum chlamydosporium*, *Stachybotrys globosa*, *Curvularia inaequalis* e *Volutella minima* apresentaram inibições do crescimento bacteriano de 53,9, 54,7, 59,5, 60,9 e 77,6% respectivamente.

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) são substâncias de baixa polaridade que possuem, aproximadamente, 20 átomos de carbono e que podem transpor as membranas com facilidade e serem liberados na atmosfera ou no solo, na ausência de barreiras de difusão (PICHERSKY, 2006). Além disso, podem ser espalhados rapidamente pelo movimento de solução aquosa e pelo fluxo em massa de água pelo perfil do solo (WHEATLEY, 2002). Devido às características de fácil penetração pela membrana e distribuição eficiente pela porosidade do solo, os COVs aumentam a sua área de influência e, consequentemente, melhoram sua eficácia no controle de fitopatógenos (DUDAREVA et al., 2006).

Vários são os relatos dos COVs de origem vegetal, fúngica e bacteriana atuando na resistência de plantas a pragas e doenças (ARIMURA et al., 2001; KISHIMOTO et al., 2005; KOST; HEIL, 2006). Essas substâncias podem agir diretamente no patógeno, atrair inimigos naturais e, ainda, atuarem como sinalizadoras para ativação de genes relacionados a resistência (AHARONI et al., 2003; ARIMURA et al., 2001).

O metabolismo secundário das linhagens oriundas de *Aspergillus* também é foco de muitos estudos. Diversas substâncias já foram isoladas, estruturalmente diversas e com potentes atividades biológicas (NIELSEN et al., 2009). A análise do genoma de uma de suas linhagens indicou a presença de família de proteínas transcritas juntamente com o regulador global do metabolismo secundário laeA, indicando uma ligação entre a produção de metabólitos secundários, diferenciação morfológica e a formação de

esporos. Mutantes de *A. nidulans* deficientes na produção de metabólitos secundários são menos tóxicos para insetos predadores do que a cepa selvagem. Alguns genes de *Aspergillus* spp. são transcritos apenas quando estas interagem fisicamente com outros microrganismos, sugerindo que a produção de metabólitos secundários contribui como vantagem competitiva (GIBBONS; ROKAS, 2013).

Wani et al. (2010) relataram pela primeira vez a produção de 2-feniletanol a partir de *A. niger* endofítico. Esse composto é um componente importante do óleo de rosa, constituindo cerca de 4,06%. Além desse composto ser capaz de duplicar a biossíntese de fenilpropanóides pela roseira é aplicado comercialmente, em antissépticos, desinfetantes, antimicrobianos e conservantes em produtos farmacêuticos.

O fungo *A. niger* tem grande importância na indústria química, e é considerado o microrganismo mais versátil para a produção de ácidos, proteínas e enzimas de valor industrial, além de uma variedade de compostos de interesse farmacológico. As cepas endófitas de *A. niger* foram as fontes mais predominantes usadas em estudos químicos, que foram seguidas de perto por cepas associadas a habitats marinhos e outros (LIMA et al., 2019).

Uma característica marcante da espécie de *A. niger* é a formação de esporos de coloração escura, variando entre verde oliva/marrom a preto (BLACKBURN, 2006). A aparência escura dos esporos deve-se à presença de pigmentos variados. Alguns desses pigmentos são característicos de cada espécie, podendo ser utilizados na identificação de linhagens de *Aspergillus* (BLACKBURN, 2006). Mutantes com relação à cor de esporos foram utilizados para caracterizar genes envolvidos na decodificação de proteínas requeridas para a pigmentação dos esporos e correlacioná-los ao metabolismo secundário. Após o cultivo de linhagens mutantes, a análise do perfil metabólico revelou uma conexão entre a formação de esporos pigmentados e a produção de metabólitos secundários, especialmente policetídeos, como as aurasperonas, e compostos nitrogenados, como as piranonigrinas (JORGENSEN et al., 2011).

Antibiose

Apesar dos fungos filamentosos serem produtores de metabólitos secundários, apenas um número restrito de espécies produz metabólitos com propriedades tóxicas, a que se dá vulgarmente o nome de micotoxinas (MAZIERO; BERSOT, 2010). O papel das micotoxinas nos agroecossistemas ainda não é bem conhecido, apesar de existirem

várias teorias sobre as suas funções. Sabe-se que, em ambientes onde várias espécies competem entre si pelo substrato, as micotoxinas podem ser determinantes para estabelecer a comunidade fúngica, e apresentar vantagem competitiva para o fungo que as produz. Por outro lado, algumas micotoxinas têm atividade inseticida, e pensa-se que são um modo de defesa dos fungos contra a predação por insetos (ARORA; ELANDER; MUKERJI, 1993).

O gênero *Aspergillus* é um importante produtor de metabolitos secundários. A vantagem mais provável de um organismo produzir metabólitos secundários é que a de que eles podem permitir a sobrevivência do organismo em seu nicho ecológico. Muitos desses organismos vivem saprofiticamente no solo, onde estão expostos a um ambiente hostil e uma gama diversificada de organismos competidores (FOX; HOWLETT, 2008). A síntese de metabólitos secundários pode garantir ao fungo vantagem em habitats no qual este necessita competir com outros microrganismos. Portanto, muitos desses metabólitos apresentam efeitos tóxicos ou inibitórios em outros organismos (KHALDI et al., 2010).

Dentre os metabolitos secundários tóxicos encontra-se a ocratoxina, sendo uma das micotoxinas mais comum produzida naturalmente (MAZIERO; BERSOT, 2010). Essa toxina recebeu atenção devido aos seus efeitos tóxicos e por sua alta incidência em diversos produtos alimentícios e por ter apresentado efeitos nefrotóxicos, cancerígenos, imunotóxicos, teratogênicos e genotóxicos para todas as espécies de animais testadas (BAU et al., 2005).

Microrganismos podem ser utilizados como fonte de agentes ativos, uma vez que produtos naturais tem um papel importante no desenvolvimento de fármacos para o tratamento de doenças de humanos. Muitos desses produtos são atualmente produzidos por fermentação microbiana ou são derivados de modificação química de um produto microbiano (SILVA et al., 2004). Os fungos, em especial, são significativas novas fontes de metabólitos com atividade antibacteriana, antifúngica e antiviral. A vantagem da prospecção química de metabólitos fúngicos associada às outras fontes é que os microrganismos são capazes de serem cultivados em grande escala em fermentadores, não trazendo danos ao ecossistema, como pode acontecer quando se tira as plantas e algas de áreas naturais, nem problemas éticos como os que podem vir da prospecção de metabólitos bioativos a partir de insetos, anfíbios e outras espécies animais. Dentre os fungos, certos gêneros como *Aspergillus* e *Penicillium* (conhecidos por sua presença e caracterizados normalmente pela grande formação de esporos) tem sido utilizados para

a busca de compostos bioativos, sendo que cerca de 6.500 metabólitos bioativos de fungos, mais de 30% foram obtidos destes dois gêneros (SURYANARAYANAN et al., 2009; TAKAHASHI; LUCAS, 2008).

Na natureza, metabólitos secundários são importantes para os organismos que os produzem, funcionando como hormônios sexuais, ionóforos, armas competitivas contra bactérias, fungos, amebas, insetos e plantas, agentes de simbiose, efetores de diferenciação e atividades desconhecidas (DEMAIN; ADRIO, 2008).

Parasitismo

Os parasitas são seres vivos que retiram de outros organismos os recursos necessários para a sua sobrevivência. Eles são considerados agressores, pois prejudicam o organismo hospedeiro através do parasitismo (MEIRA, 2021). As interações antagônicas consumidor-recurso, onde um indivíduo consome ou parasita outros organismos (i.e. predador-presa, herbívoro-planta e parasita-hospedeiro) figuram entre as interações mais comuns na natureza (MOORE, 2002; POULIN, 2010; RICKLEFS, 2010). As interações parasita-hospedeiro podem, ao longo do tempo evolutivo, selecionar diversas adaptações nos parasitas que maximizam o processo de parasitismo (FRANK; SCHMID-HEMPEL, 2008; MEIRA, 2021) em muitos casos os hospedeiros desenvolvem adaptações ocasionadas pelo processo de parasitismo (BIRON et al., 2006; EBERHARD, 2000; MAURE et al., 2011; POULIN, 1998; THOMAS et al., 2002). A modificação comportamental do hospedeiro, provocada pela ação de um parasita, também conhecida de fenótipo estendido, é um tipo de adaptação entre parasitas e hospedeiros. O termo fenótipo estendido se utiliza devido o genótipo do parasita ser expressado através de uma modificação comportamental ou fenotípica do hospedeiro (COMBES, 2001). Entretanto, a maior parte dos estudos sobre parasitismo tem enfoque nos sintomas que os parasitas causam nos seus hospedeiros e em padrões de concorrência entre parasitas e hospedeiros em larga escala (COMBES, 2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismos

As linhagens de *Aspergillus niger* ATCC 1015 e FS1, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia*

sclerotiorum, *Sclerotium cepivorum* e *Sclerotium rolfsii* foram obtidos da coleção de culturas LAMIF (Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, MG, Brasil).

As culturas foram mantidas em placas contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) a temperaturas ótimas de cada fungo a saber: *A. niger* ATCC 1015, *A. niger* FS1, *F. oxysporum*, *F. solani*, *M. phaseolina*, *R. solani* e *S. rolfsii* a 25 °C e *S. sclerotiorum* e *S. cepivorum* a 20 °C.

Técnica do cultivo pareado

Culturas pareadas de *A. niger* e cada um dos patógenos foram realizadas em placas de Petri de 8,5 cm com meio de cultura batata dextrose ágar (BDA). Discos de micélio (0,5 cm de diâmetro) foram obtidos das culturas puras de cada um dos patógenos radiculares e repicados a 2 cm de distância da borda das placas de Petri. Da mesma forma, no lado contrário das placas, a uma distância de 2 cm da borda, foi colocado um disco de micélio das linhagens de *A. niger* (ATCC 1015 ou FS1) retirado de cultura pura. Como controle, os fitopatógenos foram cultivados de forma isolada em placas de Petri a partir de um disco de micélio colocado a 2 cm da borda das placas. As placas foram colocadas em câmara do tipo BOD com fotoperíodo 12/12 horas de luz/escuro (VIEIRA et al., 2016).

A avaliação do diâmetro do crescimento micelial dos patógenos foi realizada a cada dois dias, até que o patógeno do controle tomasse toda a placa, com o auxílio de um paquímetro digital, sendo após 4 dias de cultivo para *S. rolfsii*, 6 dias para *S. cepivorum*, 8 dias para *R. solani*, 6 dias para *F. oxysporum*, 6 dias para *S. sclerotiorum*, 4 dias para *M. phaseolina*, 6 dias para *F. solani*. Para cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial, foi aplicada a fórmula: % inibição = [(crtest – crtrat) / crtest] x 100, onde: crtest = crescimento radial controle; crtrat = crescimento radial tratamento. Ao final do experimento foi feito a classificação do potencial de inibição de acordo com a escala descrita por Bell et al. (1982), sendo a Classe 1: *A. niger* cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa; Classe 2: *A. niger* ocupa pelo menos 75% da superfície da placa; Classe 3: *A. niger* ocupa pelo menos 50% da superfície da placa; Classe 4: *A. niger* cresce sobre pelo menos 25% da placa e Classe 5: O patógeno cresce sobre o *A. niger* e ocupa toda a superfície da placa.

Produção de metabólitos voláteis

A fim de avaliar se as linhagens de *A. niger* (ATCC 1015 e FS1) produzem metabólitos voláteis e o efeito desses metabólitos no crescimento dos sete patógenos em estudo, foi realizado o método de placas sobrepostas (BAKER; COOK, 1999). Discos de micélio (0,5 cm de diâmetro) de cada um dos fitopatógenos foram repicados no centro de placas de Petri de 8,5 cm contendo meio de cultura BDA. Paralelamente, discos de micélio das linhagens de *A. niger* foram inoculados em placas contendo meio de cultura BDA. Logo após, as placas foram abertas em condições assépticas e as placas contendo os fitopatógenos foram sobrepostas às de *A. niger* e posteriormente unidas e vedadas por filme de PVC para que os metabólitos voláteis não escapassesem. Como controle placas repicadas com os fitopatógenos foram sobrepostas a outras contendo apenas o meio de cultura BDA. As placas foram incubadas em câmara tipo BOD, nas mesmas condições do experimento em cultivo pareado (VIEIRA et al., 2016).

A avaliação do diâmetro do crescimento micelial dos patógenos foi realizada a cada dois dias, até que o patógeno do controle tomasse toda a placa, com o auxílio de um paquímetro digital, sendo após após 6 dias de cultivo para *S. rolfsii*, 6 dias para *S. cepivorum*, 6 dias para *R. solani*, 8 dias para *F. oxysporum*, 6 dias para *S. sclerotiorum*, 4 dias para *M. phaseolina*, 8 dias para *F. solani*. Para cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial, foi aplicada a fórmula: % inibição = [(crtest – crrat) / crtest] x 100, onde: crtest = crescimento radial controle; crrat= crescimento radial tratamento.

Os dados também foram comparados por um teste de identidade de modelos usando o pacote *easyreg* para o programa R (ARNHOLD, 2018).

Produção de metabólitos termoestáveis

A fim de verificar se as linhagens de *A. niger* produzem metabólitos termoestáveis que interferem no crescimento micelial dos fitopatógenos, alíquotas de 100 mL de meio BD (Batata-Dextrose) foram acondicionadas em frascos Erlenmeyers, esterilizadas em autoclave e inoculadas com 1 mL de suspensão de conídios das linhagens de *A. niger* em concentração de 10^7 conídios mL⁻¹. As suspensões de conídios das linhagens de *A. niger* (ATCC 1015 e FS1) foram preparadas utilizando mistura de água destilada estéril com Tween 20 a 0,1%. Após o preparo da mistura, esta foi transferida para uma placa de Petri cultivada com os fungos e, com auxílio de uma alça de Drigalski previamente flambada, desprendeu-se os conídios do meio de cultura, resultando na suspensão. Os frascos foram

incubados a 25 °C, em shaker sob agitação de 180 rpm, durante 15 dias. Ao final do período de incubação, todas as amostras foram filtradas através de papel filtro qualitativo. Em seguida foi adicionado ágar nos Erlenmeyers à concentração de 15 g L⁻¹ e estes foram submetidos a autoclavagem a 121 °C durante 20 minutos (AMIN et al., 2012). O meio de cultura autoclavado foi vertido em placas de Petri de 8,5 cm. Discos de micélio (0,5 de diâmetro) de cada um dos patógenos foram repicados, separadamente, para o centro das placas. Como controle, os patógenos foram cultivados em placas de Petri contendo apenas meio de cultura BDA. As placas foram colocadas em câmera do tipo BOD com fotoperíodo 12/12 horas de luz/escuro (VIEIRA et al., 2016).

A avaliação do diâmetro do crescimento micelial dos patógenos foi realizada a cada dois dias, até que o patógeno do controle tomasse toda a placa, com o auxílio de um paquímetro digital, sendo após 6 dias de cultivo para *S. rolfsii*, 6 dias para *S. cepivorum*, 6 dias para *R. solani*, 8 dias para *F. oxysporum*, 6 dias para *S. sclerotiorum*, 4 dias para *M. phaseolina*, 8 dias para *F. solani*. Para cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial, foi aplicada a fórmula: % inibição = [(crtest – crtrat) / crtest] x 100, onde: crtest = crescimento radial controle; crtrat= crescimento radial tratamento.

Com o objetivo de avaliar o efeito de os metabólitos termoestáveis na viabilidade dos escleródios dos fitopatógenos *S. rolfsii*, *S. cepivorum* e *S. sclerotiorum*, cinco escleródios de cada fungo obtidos de cultura pura foram transferidos com auxílio de uma pinça estéril para placas de petri contendo o meio BDA previamente cultivado com as linhagens de *A. niger*. As placas foram acondicionadas em câmera BOD com fotoperíodo 12/12 horas de luz/escuro. Como controle, os escleródios dos patógenos foram colocados em placas de Petri contendo apenas meio de cultura BDA. A avaliação foi feita após dois dias, onde foi observado se havia crescimento micelial em volta do escleródio, que o caracterizava como viável.

Análises estatísticas

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 5 repetições, onde cada placa de Petri constituiu uma unidade experimental. Os dados foram submetidos a análise de variância ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito antagônico de A. niger em cultivo pareado com fungos patogênicos de solo

As linhagens de *A. niger* (ATCC 1015 e FS1) não diferiram significativamente (Tabela 2), causando redução do crescimento micelial de *F. solani*, *F. oxysporum*, *R. solani* e *S. cepivorum* (Figura 1). Isso evidencia que os prováveis mecanismos de controle no cultivo pareado é característico da espécie. O mesmo foi observado utilizando o fungo *Trichoderma* spp. onde para três isolados também não houve diferença na atividade antagônica (SILVA et al., 2008).

Somente os patógenos *F. solani*, *F. oxysporum* e *R. solani* tiveram inibição do crescimento micelial acima de 45% e foram agrupados na classe 3 de acordo com a Escala de Bell et al. (1982). Trabalho utilizando um isolado de *Bacillus subtilis* teve percentuais de inibição de 13,74%, 7,7% e 50,36% para os respectivos fitopatógenos (VIEIRA et al., 2016), onde pode ser observado melhor desempenho das linhagens de *A. niger* no controle de *F. solani* e *F. oxysporum*. A inibição de crescimento micelial acima de 40% demonstra possível potencial como agente de biocontrole (LANNA; FERRO; PINHO, 2010; VIEIRA et al., 2016). Em relação aos demais patógenos, a inibição de crescimento não foi tão eficiente, pois as porcentagens de inibição ficaram abaixo de 40%.

Nas placas com os patógenos *F. oxysporum* e *F. solani* não houve encontro entre as colônias das linhagens de *A. niger* e os respectivos patógenos (Figuras 2 e 3) e pode ser observado halo de inibição, indicando haver antagonismo. Porém, para *R. solani* o modo de ação provavelmente é por parasitismo e competição, pois o antagonista se desenvolveu sobre o fitopatógeno (Figura 4). Estes diferentes mecanismos de controle entre fitopatógenos é comum e foi verificado também por Gabardo et al. (2020), onde foi observado em cultivo pareado com *Trichoderma asperellum* halo de inibição apenas para *R. solani* porém para os fungos *S. rolfsii*, *S. sclerotiorum* e *C. dematioides* var. *truncata* não houve, confirmando diferentes mecanismos de controle para um mesmo antagonista.

Tabela 2: Inibição de crescimento (%) de fungos de solo patogênicos em cultivo pareado com linhagens de *Aspergillus niger* e classificação do potencial antagônico de acordo com escala de Bell

A. niger

Patógeno	ATCC 1015	FS1
<i>Sclerotium cepivorum</i>	21.70 ^a C4 ^b	20.08 C4
<i>Sclerotium rolfsii</i>	18.91 C5	10.47 C5
<i>Fusarium solani</i>	48.68 C3	51.86 C3
<i>Fusarium oxysporum</i>	52.02 C3	53.72 C3
<i>Rhizoctonia solani</i>	47.45 C3	55.31 C3
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	15.47 C5	14.03 C5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	37.86 C4	23.78 C4

^aOs valores das linhagens de *A. niger* não diferiram pelo teste F ($p > 0,05$). ^b Classificação do potencial de inibição, de acordo com a escala proposta por Bell et al. (1982).

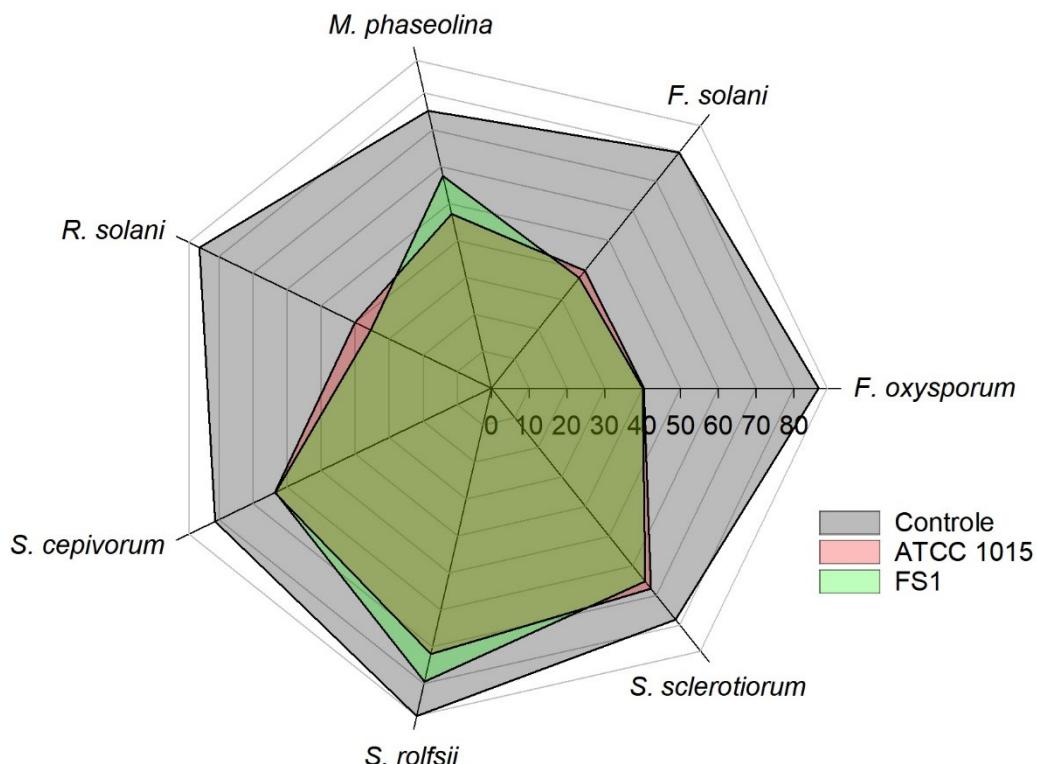


Figura 1: Crescimento micelial dos patógenos de solo na presença de linhagens de *A. niger*.

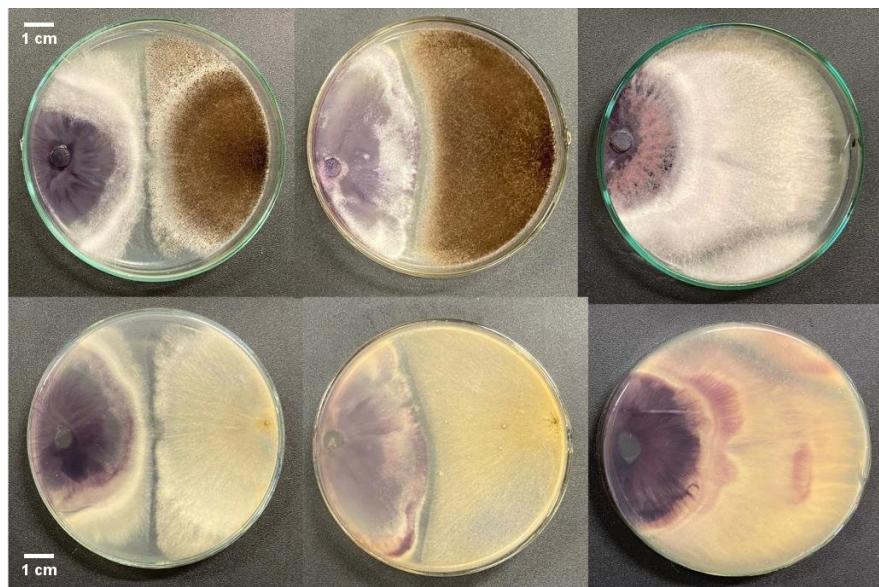


Figura 2: Crescimento em cultivo pareado de *Fusarium oxysporum* com *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

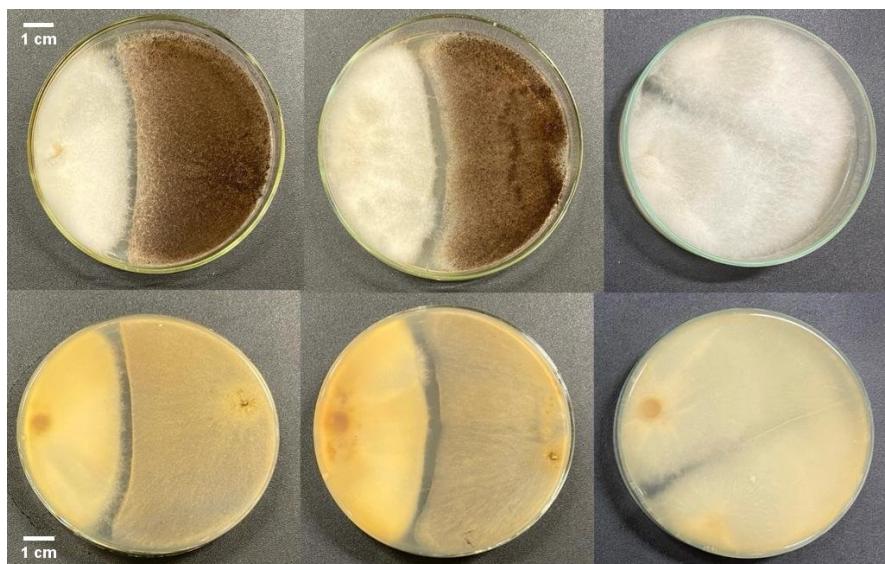


Figura 3: Crescimento em cultivo pareado de *Fusarium solani* com *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

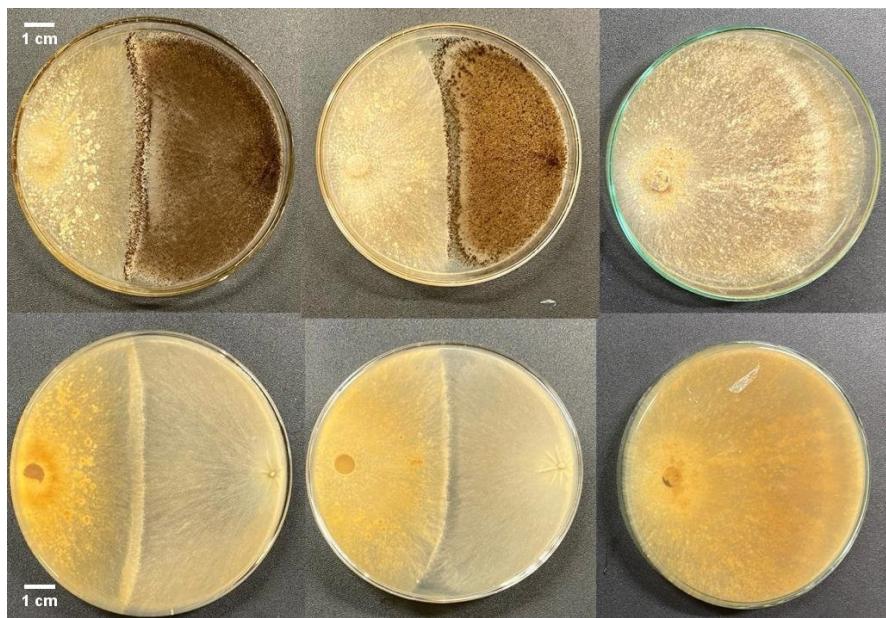


Figura 4: Crescimento em cultivo pareado de *Rhizoctonia solani* com *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

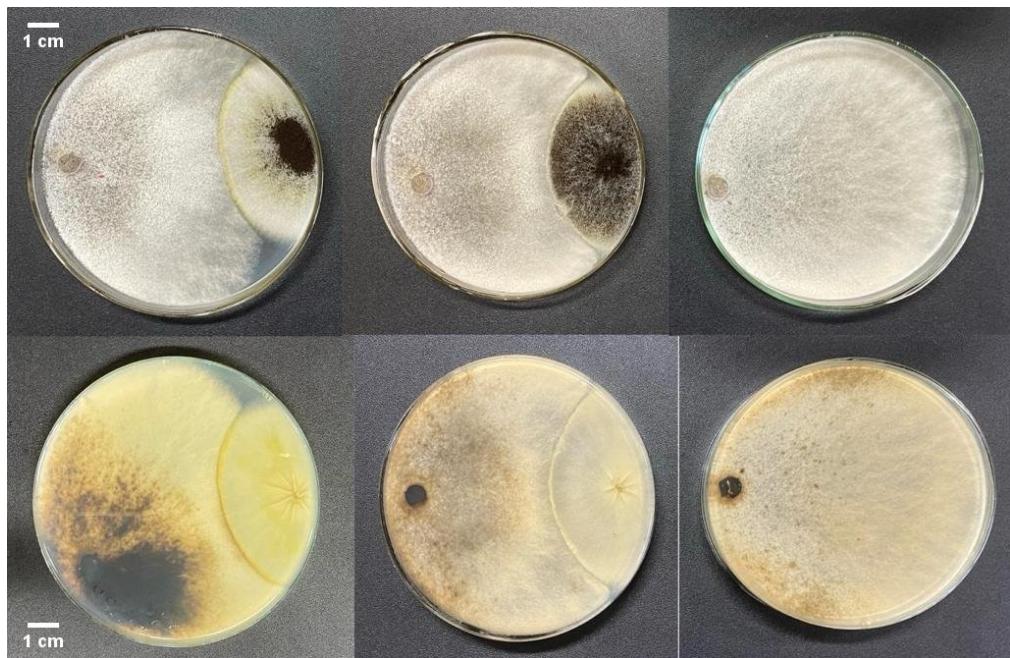


Figura 5: Crescimento em cultivo pareado de *Sclerotium cepivorum* com *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

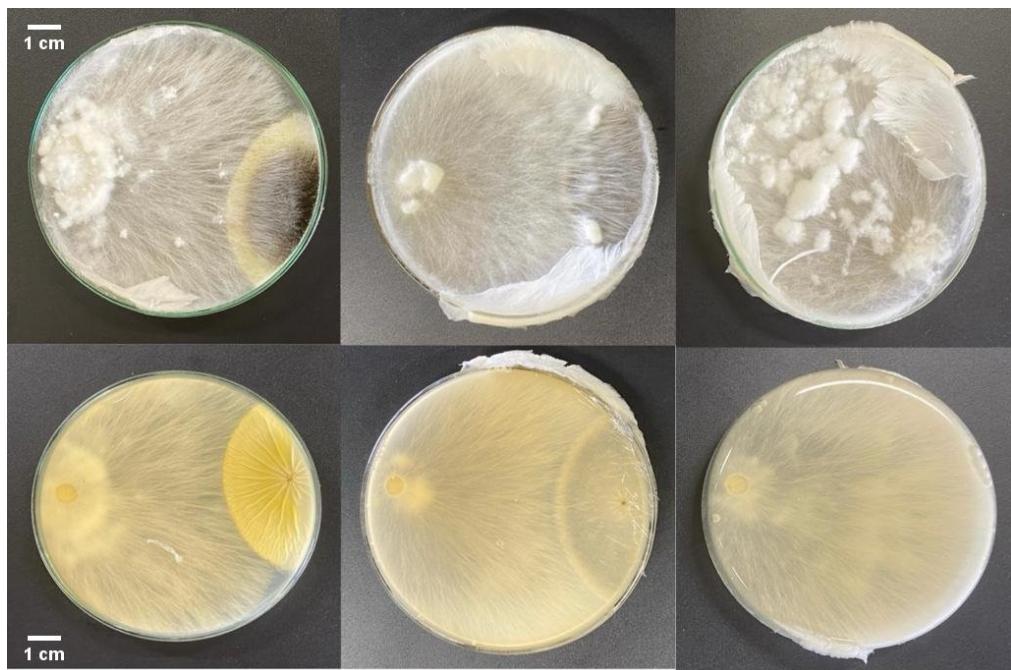


Figura 6: Crescimento em cultivo pareado de *Sclerotium rolfsii* com *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

Inibição de crescimento de fungos patogênicos de solo por metabólitos voláteis de *A. niger*

As linhagens de *A. niger* apresentaram produção de prováveis metabólitos voláteis que reduziram o crescimento micelial das colônias de *F. oxysporum*, *S. cepivorum* e *S. rolfsii* (Tabela 3). Segundo o teste de identidade de modelo (Figura 7) para *S. cepivorum* a linhagem FS1 apresentou melhores resultados na inibição do que a linhagem ATCC 1015, pois o mesmo não diferiu do controle que não possui metabólitos. Já para *S. rolfsii* e *F. oxysporum* ambos as linhagens de *A. niger* reduziram a taxa de crescimento destes patógenos. A média de crescimento destes patógenos na presença das linhagens de *A. niger* foi de 13,5 e 5,4 mm d⁻¹, respectivamente, enquanto na ausência foi de 21,3 e 7,8 mm d⁻¹. A grande parte dos microrganismos agentes de biocontrole agem por antibiose (BETTIOL; MORANDI, 1995), de forma que prováveis metabólitos produzidos por um deles tem um efeito prejudicial ao outro, não necessariamente tendo que haver contato físico entre eles. Em termos práticos, este resultado é muito interessante pensando no controle biológico, pois o controle por metabólitos voláteis dispensa o contato direto entre o antagonista e patógeno, sendo um mecanismo importante no controle no solo.

Para os demais fitopatógenos não houve diferença significativa com a presença das linhagens de *A. niger*. Alguns fungos não são sensíveis a determinados metabólitos produzidos e dessa forma não tem a inibição do crescimento micelial (DENNIS; WEBSTER, 1971).

Tabela 3: Crescimento micelial (mm) de *S. cepivorum*, *S. rolfssii*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. sclerotiorum* e *M. phaseolina* sob exposição a metabólitos voláteis de *Aspergillus niger*.

Patógeno	<i>A. niger</i>		
	ATCC 1015	FS1	Controle
<i>Sclerotium cepivorum</i>	75.92 ^a	75.1 ^a	85 ^b
<i>Sclerotium rolfssii</i>	62 ^b	47.32 ^a	85 ^c
<i>Fusarium solani</i>	77.01 ^{ns}	77.34	78.34
<i>Fusarium oxysporum</i>	56.9 ^a	60.97 ^{ab}	75.48 ^b
<i>Rhizoctonia solani</i>	81.38 ^{ns}	82.89	82.43
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	82.04 ^{ns}	84.27	85
<i>Macrophomina phaseolina</i>	84.52 ^{ns}	83.09	85

^{ns}Médias das linhagens de *A. niger* não diferiram do controle pelo teste F ($p > 0,05$).

Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p > 0,05$).

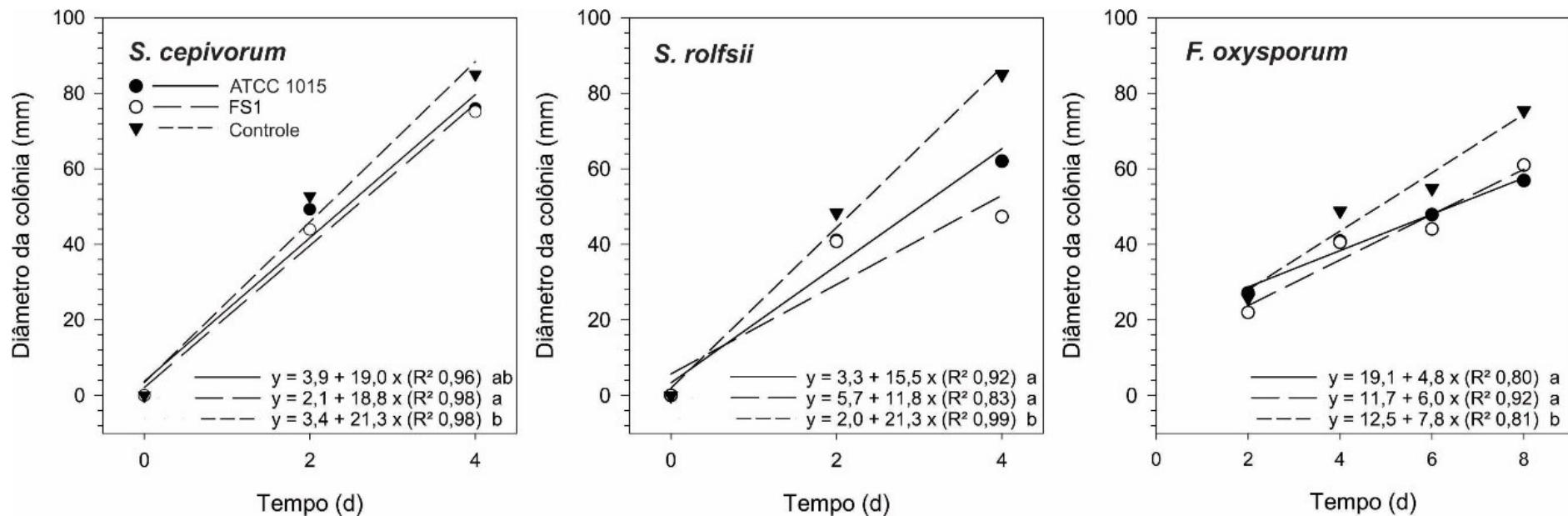


Figura 7: Crescimento micelial (mm) dos fungos *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii* e *Fusarium oxysporum* na presença de possíveis metabólitos voláteis produzidos por diferentes linhagens de *Aspergillus niger*. Para cada patógeno, modelos com letras iguais não diferem significativamente segundo o teste de identidade de modelo ($p < 0,05$).

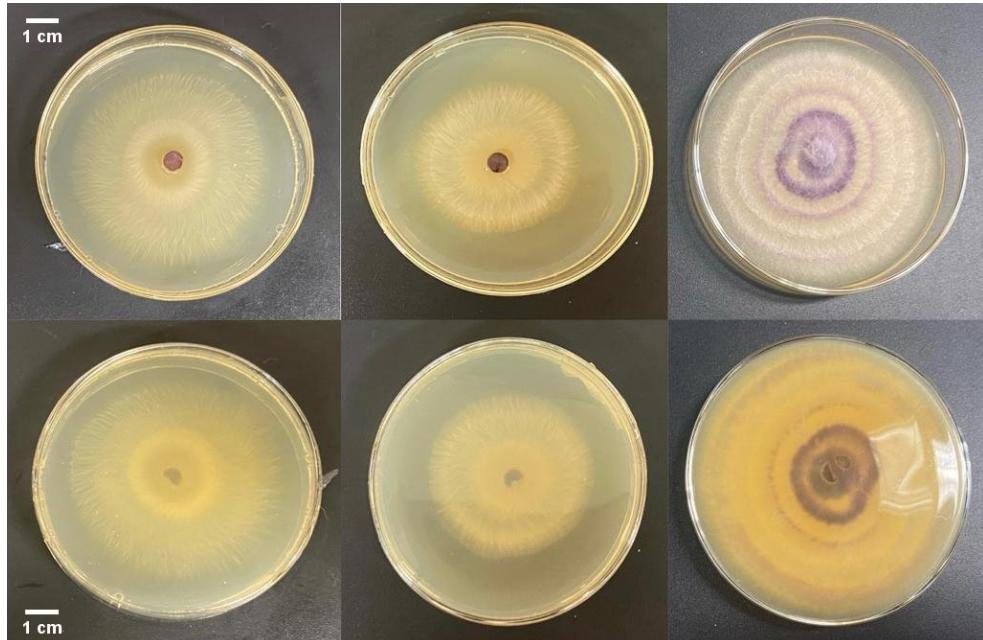


Figura 8: Crescimento de *Fusarium oxysporum* sob efeito inibidor de metabólitos voláteis de *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

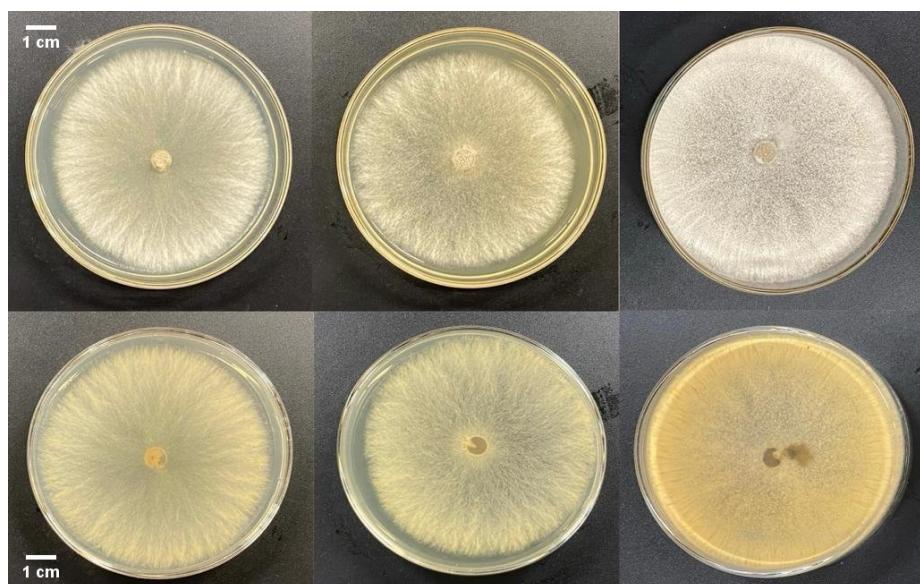


Figura 9: Crescimento de *Sclerotium cepivorum* sob efeito inibidor de metabólitos voláteis de *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita).

As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

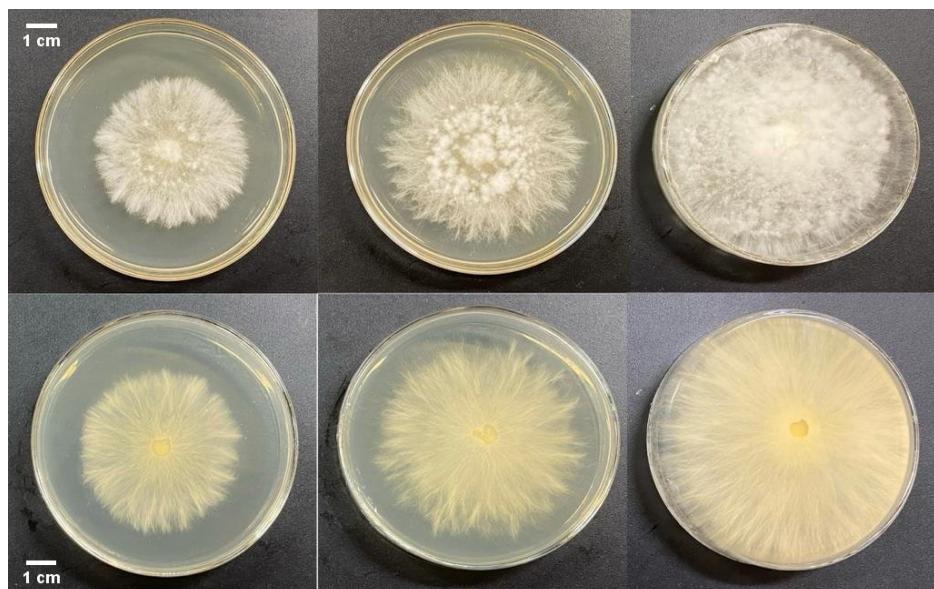


Figura 10: Crescimento de *Sclerotium rolfsii* sob efeito inibidor de metabólitos voláteis de *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

Inibição de crescimento de fungos patogênicos de solo por metabólitos termoestáveis de *A. niger* e seu efeito sob a viabilidade de escleródios de *S. rolfsii*, *S. cepivorum* e *S. sclerotiorum*

O filtrado da linhagem ATCC de *A. niger* contendo possíveis metabólitos termoestáveis foi o único a reduzir o crescimento de *M. phaseolina* (Tabela 4). Na taxa de crescimento (Figura 11) nota-se claramente o crescimento mais lento do patógeno sob esse tratamento quando comparado a controle (Figura 13). Para os demais patógenos, não houve produção de metabólito termoestável capaz de reduzir ou inibir o crescimento destes. Para *F. oxysporum*, mesmo não reduzindo significativamente o crescimento micelial (Figura 12), observa-se menor vigor do micélio das placas contendo o filtrado das linhagens de *A. niger* (Figura 14). Como observado por Martins-Corder e Melo (1998), a produção de metabólitos tóxicos com efeito fungistático ou fungicida é capaz de se alterar entre isolados da mesma espécie no caso do estudo por *Trichoderma* spp. Também foi observado por Carvalho et al. (2011), utilizando *Trichoderma* spp. para controle de *F. oxysporum* onde obteve-se bons resultados de inibição de metabólitos não voláteis, porém melhores respostas para metabólitos voláteis. No presente trabalho a

redução de crescimento micelial por metabólitos voláteis também foi mais positivo do que para metabólitos termoestáveis, onde a redução do crescimento foi para diferentes patógenos.

Os escleródios são estruturas de resistência que conseguem permanecer viáveis por até 12 anos no solo (BRUSTOLIN; REIS; PEDRON, 2016). A redução da população de escleródios é essencial para o controle efetivo de patógenos que produzem esse tipo de estrutura. Entretanto os possíveis metabólitos termoestáveis produzidos não interferiram na viabilidade dos escleródios de *S. rolfsii*, *S. cepivorum* e *S. sclerotiorum* que leva ao entendimento de que o controle dos patógenos acontece após a germinação, não havendo inibição da colonização inicial, mas competição com o patógeno.

Tabela 4: Efeito inibidor de metabólitos termoestáveis de *Aspergillus niger* sobre o crescimento (mm) de *S. cepivorum*, *S. rolfsii*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. sclerotiorum* e *M. phaseolina*.

Patógeno	<i>A. niger</i>		
	ATCC 1015	FS1	Controle
<i>Sclerotium cepivorum</i>	85 ^{ns}	79.9	79.54
<i>Sclerotium rolfsii</i>	77.46 ^{ns}	79.52	75.40
<i>Fusarium solani</i>	68.7 ^{ns}	73.36	73.68
<i>Fusarium oxysporum</i>	70.46 ^{ns}	72.02	79.18
<i>Rhizoctonia solani</i>	79.96 ^{ns}	83.60	83.76
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	85 ^{ns}	81.34	85
<i>Macrophomina phaseolina</i>	50.8a	71.94b	85b

^{ns}Médias das linhagens de *A. niger* não diferiram do controle pelo teste F ($p > 0,05$).

Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p > 0,05$).

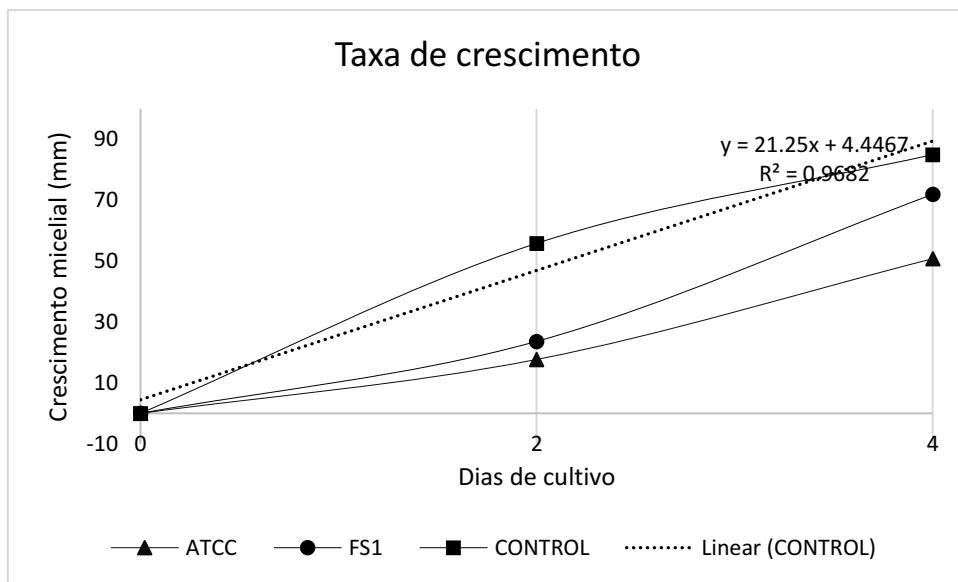


Figura 11: Taxa de crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* sob efeito inibidor de metabólitos termoestáveis de *Aspergillus niger*

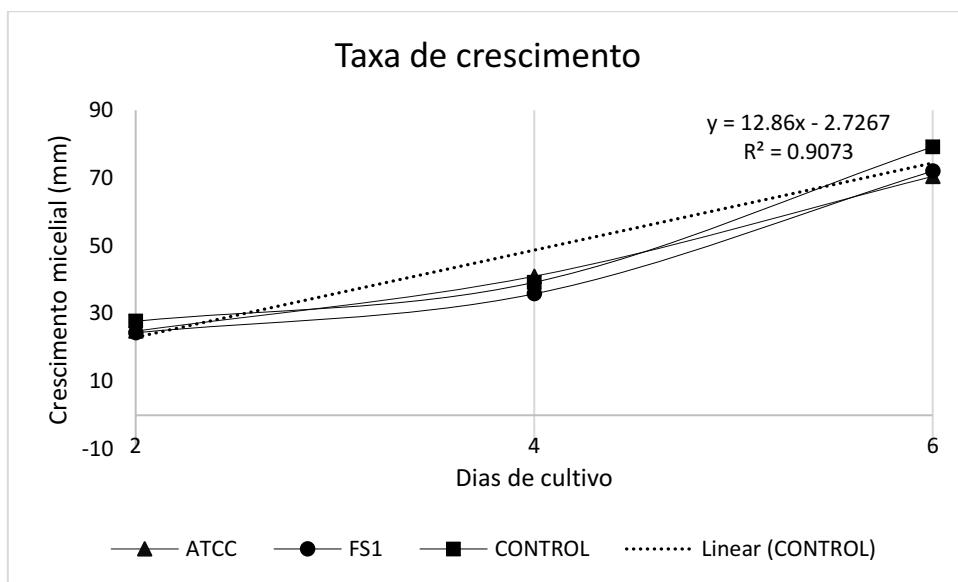


Figura 12: Taxa de crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* sob efeito inibidor de metabólitos termoestáveis de *Aspergillus niger*

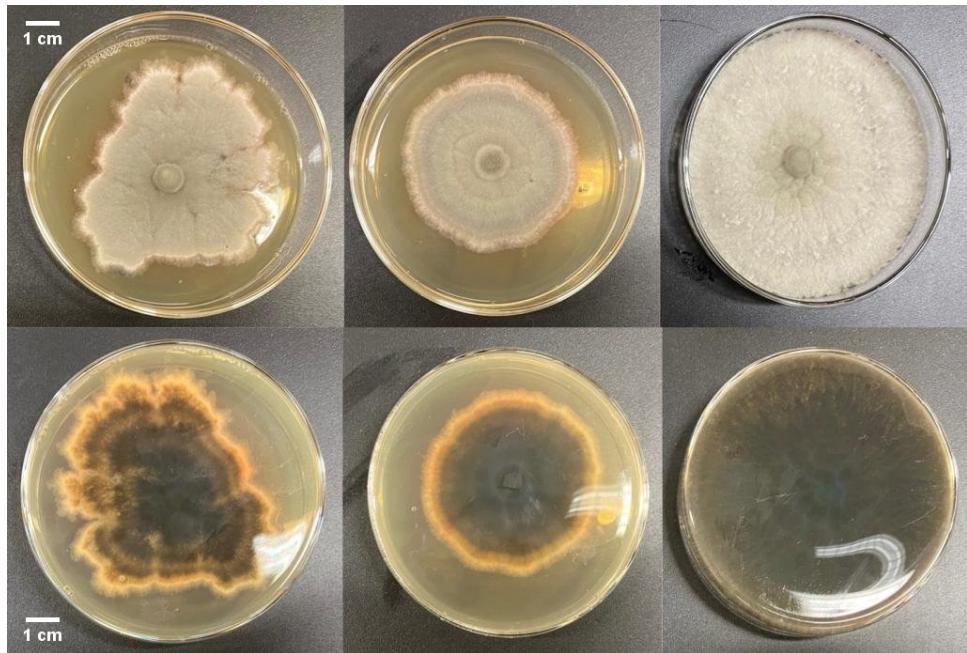


Figura 13: Crescimento de *Macrophomina phaseolina* sob efeito inibidor de metabólitos termoestáveis de *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

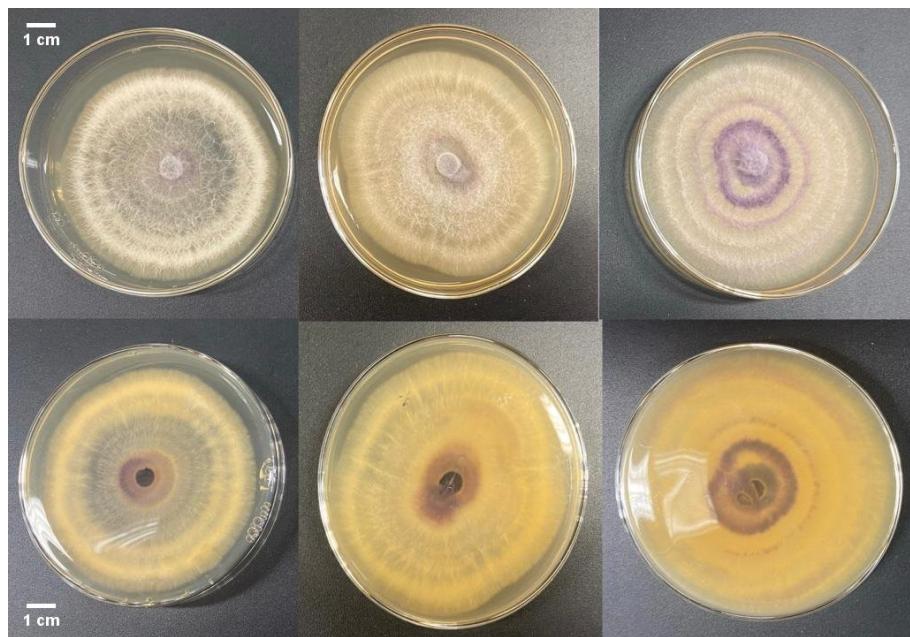


Figura 14: Crescimento de *Fusarium oxysporum* sob efeito inibidor de metabólitos termoestáveis de *Aspergillus niger* ATCC 1015 (esquerda), FS1 (centro) e controle (direita). As imagens superiores mostram a vista frontal das placas e as inferiores o verso das placas.

Para ao menos uma das linhagens de *A. niger* (ATCC 1015 e FS1) foi observado a inibição de crescimento para todos os fitopatógenos em pelo menos um método, exceto para *Sclerotinia sclerotiorum* que não apresentou nenhuma inibição de crescimento em função dos métodos em estudo (Tabela 5).

Tabela 5: Potencial de biocontrole das linhagens de *A. niger* (ATCC 1015 e FS1) em função dos métodos de cultivo pareado, produção de compostos voláteis e de metabólitos termoestáveis, para cada um dos fitopatógenos.

<i>A. niger</i>		
Patógeno	ATCC 1015	FS1
<i>Sclerotium cepivorum</i>	Metabólitos Voláteis	
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Metabólitos Voláteis	Metabólitos Voláteis
<i>Fusarium solani</i>	Cultivo Pareado	Cultivo Pareado
	Cultivo Pareado	Cultivo Pareado
<i>Fusarium oxysporum</i>	Metabólitos Voláteis	Metabólitos Voláteis
<i>Rhizoctonia solani</i>	Cultivo Pareado	Cultivo Pareado
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Cultivo Pareado	

5. CONCLUSÕES

- *Aspergillus niger* inibe o crescimento *in vitro* de *F. oxysporum*, *F. solani*, *M. phaseolina*, *R. solani*, *S. cepivorum* e *S. rolfsii*.
- De forma geral, as linhagens de *A. niger* não diferem entre si no potencial de biocontrole dos patógenos avaliados.
- Para *F. oxysporum*, *F. solani* e *R. solani*, a porcentagem de inibição em cultivo pareado com *A. niger* é superior a 45%.
- Metabólitos voláteis produzidos por *A. niger* reduzem o crescimento de *S. cepivorum*, *S. rolfsii* e *F. oxysporum*.
- Os metabólitos termoestáveis produzidos pela linhagem ATCC 1015 reduzem o crescimento de *M. phaseolina*.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. ed. New York: Academic Press, 2005.
- AHARONI, A. et al. Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic arabidopsis plants. **The Plant Cell**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 2866–2884, 1 dez. 2003. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1105/tpc.016253>
- ALVES, L.; MENDOZA, E. A.; FILHO, G. N. S. Microrganismos solubilizadores de fosfatos e o crescimento de pírus e eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 939–947, 2002. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832002000400011>
- AMIN, A. et al. Production of peptide antibiotics by *Bacillus* sp: GU 057 indigenously isolated. **Brazilian Journal Microbiology**, [s. l.], v. 43, p. 1340–1346, 2012. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400015>
- ANDREWS, J. A. Biological control in the phyllosphere: realistic goal or false hope? **Canadian Journal of Plant Pathology**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 300–307, 1992. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07060669009501004>
- ARAÚJO, E. M. R. et al. Solvent extraction of citric acid with different organic phases. **Advances in Chemical Engineering and Science**, [s. l.], v. 07, n. 03, p. 304–324, 2017. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.4236/aces.2017.73023>
- ARAÚJO, V. C. et al. Enhanced growth in nursery of coffee seedlings inoculated with the rhizosphere fungus *Aspergillus niger* for field transplantation. **Rhizosphere**, [s. l.], v. 15, p. 100236, 2020. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100236>
- ARIMURA, G. ICHIRO et al. Plant-plant interactions mediated by volatiles emitted from plants infested by spider mites. **Biochemical Systematics and Ecology**, [s. l.] v. 29, n. 10, p. 1049–1061, 2001. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(01\)00049-7](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(01)00049-7)
- ARNHOLD, E. R-environment package for regression analysis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s. l.] v. 53, n. 7, p. 870–873, jul. 2018. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2018000700012>
- ARORA, D. K.; ELANDER, R. P.; MUKERJI, K. G. Handbook of applied mycology.

Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, [s. l.] v. 35, n. 4, p. 322–322, ago. 1993. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46651993000400018>

ATLAS, R. M.; BARTHA, R. **Microbial ecology: fundamentals and applications**. 4. ed. [s. l.], Benjamin Cummings, 1997.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. 1. ed. San Francisco: W.H. Freeman and Company, 1974.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Handbook of Biological Control**. San Francisco: Elsevier, 1999.

BAKER, S. E. *Aspergillus niger* genomics: Past, present and into the future. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 44, n. SUPPL. 1, p. 17–21, 2006. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13693780600921037>

BAR-YOSEF, B. et al. *Pseudomonas cepacia* -Mediated rock phosphate solubilization in kaolinite and montmorillonite suspensions. **Soil Science Society of America Journal**, [s. l.], v. 63, n. 6, p. 1703–1708, nov. 1999. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaj1999.6361703x>

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* plant relationships: environmental and physiological advances. **Canadian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 121, p. 103–121, 1997. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1139/m97-015>

BASTOS, C. N. Possibilidade do controle biológico da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cacaueiro. In: BETTIOL, W. (Ed.). **Controle biológico de doenças de plantas**. 1. ed. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p. 388.

BAU, M. et al. Ochratoxigenic species from Spanish wine grapes. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 98, n. 2, p. 125–130, fev. 2005. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.015>

BAUER, U. et al. Reactive extraction of citric acid from an aqueous fermentation broth. **Berichte der Bunsengesellschaft/Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 93, n. 9, p. 980–984, 1989. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bbpc.19890930911>

BEHERA, B. C. et al. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 97–110, abr. 2014. DOI: Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.008>

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, [s. l.], v. 72, n. 4, p. 379, 1982. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>

BELLÉ, R. B.; FONTANA, D. C. Patógenos de solo: principais doenças vasculares e radiculares e formas de controle. **Centro Científico Conhecer**, [s. l.], v. 15, n. 28, p. 779, 2018. DOI: Disponível em: https://doi.org/10.18677/EnciBio_2018B65

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 557–574, 2001. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09583150120076120>

BERNARDES, T. G. et al. Propagação sexuada do pequi (Caryocar brasiliense Camb.) estimulada por ácido giberélico. **Agricultural Research in the Tropics**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 71–77, 2008.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. 1. ed. Jaguariúna, São Paulo: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.). . **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995.

BEZERRA, G.A.; MUSSI-DIAS, V.; SANTOS, P.H.D.; AREDES, F.A.S.; SILVEIRA, S.F. Identificação e seleção de espécies de *Trichoderma* spp. endofíticos de bromélias de restingas como agentes de biocontrole da fusariose em frutos de abacaxi. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 2, p. 172-178, 2019. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/189165>

BIRON, D. G. et al. “Suicide” of crickets harbouring hairworms: A proteomics investigation. **Insect Molecular Biology**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 731–742, 2006. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00671.x>

BLACKBURN, C. DE. **Food spoilage microorganisms**. 1. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2006. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9781439824573>

BLOEMBERG, G. V.; LUGTENBERG, B. J. J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**, [s. l.] v.

4, n. 4, p. 343–350, 2001. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00183-7](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00183-7)

BRANDÃO, J. A. V.; LOPES-ASSAD, M. L. R. C.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Solubilization of diabase and phonolite dust by filamentous fungus. **Revista Ceres**, [s. l.], v. 61, n. 5, p. 740–745, 2014. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201461050018>

BRUSTOLIN, R.; REIS, E. M.; PEDRON, L. Longevity of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia on the soil surface under field conditions. **Summa Phytopathologica**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 172–174, jun. 2016. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2131>

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2016.

CARVALHO, D. D. C. et al. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 28–34, 2011. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762011000100004>

CARVALHO, D. D. C. et al. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. **Tropical Plant Pathology**, [s. l.], v. 39, n. 5, p. 384–391, 2014. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762014000500005>

CEREZINE, P. C.; NAHAS, E.; BANZATTO, D. A. Soluble phosphate accumulation by *Aspergillus niger* from fluorapatite. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 29, p. 501–505, 1988. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00269076>

CHABOT, R.; ANTOUN, H.; CESCAS, M. P. Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. **Canadian Journal of Microbiology**, [s. l.] v. 39, n. 10, p. 941–947, 1 out. 1993. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1139/m93-142>

COMBES, C. **Parasitism: The ecology and evolution of intimate interactions**. 1. ed. Chicago: University of Chicago Press, 2001.

COSTA, M. D. et al. In vitro ectomycorrhiza formation by monokaryotic and dikaryotic

isolates of *Pisolithus microcarpus* in *Eucalyptus grandis*. **Revista Arvore**, [s. l.] v. 34, n. 3, p. 377–387, 2010. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622010000300001>

DA SILVA, C. F. et al. Endophytic radicular and rhizospheric microbiota associated with the endemic cerrado palm, butia archeri. **Pakistan Journal of Botany**, [s. l.], v. 53, n. 4, p. 1487–1500, 2021. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.30848/PJB2021-4\(23\)](https://doi.org/10.30848/PJB2021-4(23))

DE PALMA-FERNANDEZ, E. R.; GOMES, E.; DA SILVA, R. Purification and characterization of two β -glucosidases from the thermophilic fungus *Thermoascus aurantiacus*. **Folia Microbiologica**, [s. l.], v. 47, n. 6, p. 685–690, 2002. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02818672>

DEMAIN, A. L.; ADARIO, J. L. Contributions of microorganisms to industrial biology. **Molecular Biotechnology**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 41–55, 4 jan. 2008. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0035-z>

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. **Transactions of the British Mycological Society**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 25-IN3, 1971. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80077-3)

DUDAREVA, N. et al. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 417–440, out. 2006. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07352680600899973>

EBERHARD, W. G. Spider manipulation by a wasp larva. **Nature**, [s. l.], v. 406, n. 6793, p. 255–256, jul. 2000. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1038/35018636>

EZIASI, E. et al. Effect of metabolites produced by *Trichoderma species* against *Ceratocystis paradoxa* in culture medium. **African Journal of Biotechnology**, [s. l.], v. 5, n. 6, p. 703–706, 2006.

FANTINEL, V. S. et al. Biocontrole in vitro de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Revista Ciência Agrícola**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 43, 2018. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.28998/rca.v16i3.4818>

FARIA, A. Y. K.; CASSETARI NETO, D.; ALBUQUERQUE, M. C. A. Atividade antagônica in vitro de *Trichoderma harzianum* a patógenos de sementes de algodoeiro. **Revista Agricultura Tropical**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 59–68, 2002.

FOX, E. M.; HOWLETT, B. J. Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. **Current Opinion in Microbiology**, [s. l.], v. 11, p. 481–487, 2008. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.10.007>

FRANK, S. A.; SCHMID-HEMPPEL, P. Mechanisms of pathogenesis and the evolution of parasite virulence. **Journal of Evolutionary Biology**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 396–404, mar. 2008. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01480.x>

FUGA, C. A. G. et al. Efficiency and compatibility of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. isolates on the inhibition of *Sclerotium cepivorum*. **Científica**, [s. l.], v. 44, n. 4, p. 526, 2016. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.15361/1984-5529.2016v44n4p526-531>

GABARDO, G. et al. *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. 55870–55885, 2020. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-123>

GADD, G. M. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. In: POOLE, R. K. (Ed.). . **Advances in Microbial Physiology**. 41. ed. Dundee: Academic Press, 1999. p. 47–92. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(08\)60165-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(08)60165-4)

GERRETSEN, F. C. The influence of microrganisms on the phosphate uptake by the plant. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 1, p. 51–81, 1948. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02080606>

GIBBONS, J. G.; ROKAS, A. The function and evolution of the *Aspergillus genome*. **Trends in Microbiology**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 14–22, jan. 2013. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.09.005>

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 169, n. 1, p. 30–39, jan. 2014. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>

GOENADI, D. H.; SISWANTO; SUGIARTO, Y. Bioactivation of poorly soluble phosphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. **Soil Science Society of America Journal**, [s. l.], v. 64, n. 3, p. 927–932, maio 2000. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaj2000.643927x>

GOMES, A. E.; SILVA, C. U.; LANA G. P. U.; MARRIEL, E. I. **Avaliação do potencial de solubilização de fosfato de ferro *in vitro* por bactérias e fungos do solo.** XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. p. 19-24, 2010.

GOPALAKRISHNAN, S. et al. Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 169, p. 40–48, 2014. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.008>

GUIMARÃES, A. M. et al. Utilização da rizobactéria *Bacillus amyloliquefaciens* na promoção de crescimento de alface (*Lactuca sativa* L.), em cultivo agroecológico. **Cadernos de Agroecologia**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 1–6, 2013.

HAKI, G. D.; RAKSHIT, S. K. Developments in industrially important thermostable enzymes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 89, n. 1, p. 17–34, 2003. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00033-6](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00033-6)

HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* species - Opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 43–56, 2004. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>

HERNÁNDEZ-LEÓN, R. et al. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. **Biological Control**, [s. l.], v. 81, p. 83–92, fev. 2015. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.011>

HOFFLAND, E.; FINDENEGG, G. ;; NELEMANS, J. A. Solubilization of rock phosphate by rape. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 113, p. 155–160, 1989. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02280175>

HOUBRAKEN, J. et al. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. **Studies in Mycology**, [s. l.], v. 95, p. 5–169, mar. 2020. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.05.002>

ILLMER, P.; BARBATO, A.; SCHINNER, F. Solubilization of hardly-soluble AlPO₄ with P-solubilizing microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 265–270, mar. 1995. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0038-0704\(95\)90027-3](https://doi.org/10.1016/0038-0704(95)90027-3)

[0717\(94\)00205-F](#)

ILLMER, P.; SCHINNER, F. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, n. 4, p. 389–395, 1992. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(92\)90199-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(92)90199-8)

JANE, A.; SHEILA, A.; JAMES, P. Evaluacion de la eficacia de aislamientos de Trichoderma sobre *Fusarium oxysporum* F. sp. *phaseoli*. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, [s. l.], v. 13, p. 99–107, 2011.

JIA, Y.-J. et al. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) Deaminase Induced by ACC synthesized and accumulated in *Penicillium citrinum* intracellular spaces. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 299–305, 2014. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1271/bbb.64.299>

JORGENSEN, T. R. et al. The molecular and genetic basis of conidial pigmentation in *Aspergillus niger*. **Fungal Genetics and Biology**, [s. l.], v. 48, n. 5, p. 544–553, maio 2011. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2011.01.005>

KAPRI, A.; TEWARI, L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 41, n. 3, 2010. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-8382201000500001>

KEARNS, K. S.; LOUDIS, B. Aspergilosis aviar. **International Veterinary Information Service**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 284–286, 2003.

KENDE, H.; ZEEVAART, J. The five “classical” plant hormones. **The Plant Cell**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 1197–1210, 1 jul. 1997. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1197>

KHALDI, N. et al. Smurf: Genomic mapping of fungal secondary metabolite clusters. **Fungal Genetics and Biology**, [s. l.], v. 47, n. 9, p. 736–741, set. 2010. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.06.003>

KHAMARI, B. et al. Adaptability of Macrophomina phaseolina, the incident of stem and root rot disease of sesame to different regime of temperature, pH and light period. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s. l.], v. 7, n. 12, p. 761–766, 2018. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.712.094>

KIM, Y.; JORDAN, D.; MCDONALD, G. A. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. **Biology and Fertility of Soils**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 79–87, 1997. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s003740050347>

KIRK, P. et al. **Dictionary of the Fungi**. 10. ed. Wallingford: CABI International, 2008.

KISHIMOTO, K. et al. Volatile c6-aldehydes and allo-ocimene activate defense genes and induce resistance against *botrytis cinerea* in *arabidopsis thaliana*. **Plant and Cell Physiology**, [s. l.], v. 46, n. 7, p. 1093–1102, 1 jul. 2005. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1093/pcp/pci122>

KÖHL, J. et al. Stepwise screening of microorganisms for commercial use in biological control of plant-pathogenic fungi and bacterial. **Biological Control**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 1–12, 2011. DOI: Disponível em:

KOST, C.; HEIL, M. Herbivore-induced plant volatiles induce an indirect defence in neighbouring plants. **Journal of Ecology**, [s. l.], v. 94, n. 3, p. 619–628, 16 fev. 2006. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.12.004>

KUSHWAHA, S. K. et al. Effect of different media, pH and temperature on growth and sclerotia formation of *Sclerotium rolfsii* sacc. causing collar rot of lentil. **Chemical Science Review and Letters**, [s. l.], v. 8, n. 29, p. 1–5, 2019.

LACAZ, C. DA S. et al. **Guide of identification: fungi, actinomycetales, algas of physician interest**. São Paulo: [s. l.].

LAKHDARI, W. et al. Inhibitory effect of *Trichoderma harzianum* on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and *Alternaria solani*. **Organic Agriculture**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 225–230, 2018. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13165-017-0186-6>

LANNA, R. F.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. DE. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, [s. l.], v. 4, p. 12–20, 2010.

LAPEYRIE, F.; RANGER, J.; VAIRELLES, D. Phosphate-solubilizing activity of ectomycorrhizal fungi in vitro. **Canadian Journal of Botany**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 342–346, 1 fev. 1991. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1139/b91-046>

LASA, I.; BERENGUER, J. Thermophilic enzymes and their biotechnological potential. **Microbiology Seminary**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 77–89, 1993.

LAVAGNINI, C. G. et al. Fisiologia vegetal - hormônio giberelina. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 48–52, 2014.

LEITE, B.; SANDER, P. C.; SGUI, J. A. O papel de compostos voláteis na germinação de esporos fúngicos e na expressão de doenças em plantas. **Summa Phytopatologica**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 109–116, 1995.

LIMA, M. A. S. et al. *Aspergillus niger*: A Hundred Years of Contribution to the Natural Products Chemistry. **Review, Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 30 n. 10, 2019. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190080>

LIRA, V. L. et al. Hiperparasitismo de *Fusarium* spp. em *Austropuccinia psidii* em Jambo-do-Pará. **Summa Phytopathologica**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 204–206, abr. 2019. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/187593>

LOSS, A. et al. Enraizamento de estacas de *Allamanda cathartica* L. tratadas com ácido indolbutírico (AIB). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 313–316, 2008. DOI: Disponível em:

LUBNA et al. *Aspergillus niger* CSR3 regulates plant endogenous hormones and secondary metabolites by producing gibberellins and indoleacetic acid. **Journal of Plant Interactions**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 100–111, 9 jan. 2018. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.5039/agraria.v3i4a329>

LUCY, M.; REED, E.; GLICK, B. R. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, [s. l.], v. 86, n. 1, p. 1–25, 2004. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6e>

LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 264–268, jun. 2013. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1982-5676201300500007>

LYU, X. et al. The sop1 opsine microbial counterpart is involved in *Sclerotinia sclerotiorum* development and response to environmental stress. **Frente Microbiology**,

[s. l.], v. 6, p. 1504, 2016. DOI: Disponível em:
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01504>

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MAGNUSON, J. K.; LASURE, L. L. Organic Acid Production by Filamentous Fungi. In: **Advances in Fungal Biotechnology for Industry, Agriculture, and Medicine**. Boston, MA: Springer US, 2004. p. 307–340. DOI: Disponível em:
https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8859-1_12

MANJUNATH, P.; SHENOY, B. C.; RACHAVENDRA-RAO, M. R. Fungal glucoamylase review. **Journal Application Biochemistry**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 235–260, 1983.

MANULIS, S. et al. Characterization of the *Erwinia amylovora* Population in Israel. **Phytoparasitica**, [s. l.], v. 26, n. 2268, p. 39–46, 1998. DOI: Disponível em:
<https://doi.org/10.1007/BF02981264>

MARCUZZO, L. L.; SCHMOELLER, J. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium cepivorum* no solo. **Summa Phytopathologica**, [s. l.], v. 43, n. 2, p. 161–163, 2017. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/167306>

MARIANO, R. L. R. Métodos de seleção “in vitro” para controle microbiológico. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, [s. l.], v. 1, p. 369–409, 1993.

MARIANO, R. L. R. et al. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, [s. l.], v. 1, p. 89–111, 2004.

MARSCHENER, H. Role of root growth, arbuscular mycorrhiza, and root exudates for the efficiency in nutrient acquisition. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 56, n. 1–2, p. 203–207, 1998. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00131-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00131-7)

MARTINS-CORDER, M. P.; MELO, I. S. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* Kleb. **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 1–7, 1998. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-90161998000100002>

MAURE, F. et al. The cost of a bodyguard. **Biology Letters**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 843–846, 23 dez. 2011. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2011.0415>

MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 89–99, 2010. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v12n1p89-99>

MEENA, R. L. et al. Effect of different physiological parameters on the growth and sporulation of *Rhizoctonia solani*. **International Journal of Chemical Studies**, [s. l.], v. 3370, n. 4, p. 3370–3373, 2018.

MEIRA, R. R. **Passeando pela interação parasitas - microrganismos e hospedeiro**. Anais do I Congresso Brasileiro de Parasitologia Humana On-line. **Anais Revista Multidisciplinar em Saúde**, 24 mar. 2021. Disponível em: <<https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rems/article/view/686>> DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.51161/rems/686>

MELO, F. E. et al. Inibição de *Xanthomonas vesicatoria* por compostos volatéis produzidos por fungos sapróbios. **Tropical Plant Pathology**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 487, 2012.

MENDES, G. DE O. et al. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, [s. l.], v. 64, n. 1, p. 239–249, 19 mar. 2014. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0656-3>

MENDES, G. DE O. et al. Oxalic acid is more efficient than sulfuric acid for rock phosphate solubilization. **Minerals Engineering**, [s. l.], v. 155, p. 106458, ago. 2020. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2020.106458>

MENDES, G. DE O. et al. Rock phosphate solubilization by abiotic and fungal-produced oxalic acid: reaction parameters and bioleaching potential. **Microbial Biotechnology**, [s. l.], p. 1751- 7915.13792, 12 mar. 2021. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13792>

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant-beneficial, plantpathogenic and human-pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 37, p. 634–663, 2013. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>

MERCIER, J.; JIMENEZ, J. I. Control of fungal decay of apples and peaches by the biofumigant fungi *Muscodorus albus*. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 1–8, 2004. DOI: Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.08.004>

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária, 2005.

MOORE, J. **Parasites and the behavior of animals**. 1. ed. New York: Oxford University Press, 2002.

MOREIRA, A. L. L.; ARAÚJO, F. F. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Árvore**, [s. l.], v. 37, n. 5, p. 933–943, 2013. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000500016>

NARDI, S. et al. Soil organic matter mobilization by root exudates. **Chemosphere**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 653–658, 2000. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00488-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00488-9)

NIELSEN, K. F. et al. Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 395, n. 5, p. 1225–1242, 16 nov. 2009. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3081-5>

NOMILA MERLIN, J. et al. Optimization of growth and bioactive metabolite production: *Fusarium solani*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 98–103, 2013.

NOROUZIAN, D. et al. Fungal glucoamylases. **Research Review Paper**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 80–85, 2006. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.06.003>

OKUBARA, P. A.; DICKMAN, M. B.; BLECHL, A. E. Molecular and genetic aspects of controlling the soilborne necrotrophic pathogens *Rhizoctonia* and *Pythium*. **Plant Science**, [s. l.], v. 228, p. 61–70, 2014. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.02.001>

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAB-2010/28064/1/doc161.pdf>>.

OLIVEIRA, S. M. DE. **Rizobactérias promovem o crescimento de feijoeiro-comum e**

- de milho por diferentes processos.** [s. l.], Universidade Federal de Lavras, 2011.
- PANABIERES, F. et al. Doenças de *Phytophthora nicotianae* no mundo: novos conhecimentos de um patógeno há muito reconhecido. **Phytopathologia Mediterranea**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 20–40, 2016.
- PARREIRA, D. F.; NEVES, W. D. S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Trópica**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 25, 2009.
- PEDRO, E. A. DE S. et al. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, [s. l.], v. 47, n. 11, p. 1589–1595, 2012. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012001100005>
- PICHERSKY, E. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. **Science**, [s. l.], v. 311, n. 5762, p. 808–811, 10 fev. 2006. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1118510>
- POULIN, R. Evolution and phylogeny of behavioural manipulation of insect hosts by parasites. **Parasitology**, [s. l.], v. 116, n. 1, p. 3–11, 16 mar. 1998. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0031182000084894>
- POULIN, R. **Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions**. 1. ed. [s. l.], Elsevier Inc., 2010. v. 41. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(10\)41005-0](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(10)41005-0)
- RAJKUMAR, M. et al. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. **Trends in Biotechnology**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 142–149, 2010. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.12.002>
- RAMAMOORTHY, V. et al. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–11, 2001. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00056-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00056-9)
- REDDY, M. S. et al. Biosolubilization of poorly soluble rock phosphates by *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 84, n. 2, p. 187–189, 2002. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00040-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00040-8)
- REIS, M. R. et al. Impacto de herbicidas em isolados de *Trichoderma* spp. **Planta Daninha**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 419–426, 2013. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582013000200020>

REIS, J. S. et al. Síntese e avaliações fotoprotetora, antioxidante, clareadora e de estabilidade térmica de hidrazonas derivadas de produtos naturais úteis na prevenção do câncer de pele. **Cosmetic Inovation**. [s. l.], 2016.

RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 17, n. 4–5, p. 319–339, out. 1999. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2)

ROUT, G.; SAMANTARAY, S.; DAS, P. Aluminium toxicity in plants : a review. **Agronomie**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 3–21, 2001. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1051/agro:2001105>

SANTOS, G. J. DOS. Levantamento de *Aspergillus fumigatus* e *Strongyloides* sp. em jabutis mantidos em cativeiro no bosque municipal. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, [s. l.], p. 784–804, 2011.

SAUTER, M.; KENDE, H. Gibberellin-induced growth and regulation of the cell division cycle in deepwater rice. **Planta**, [s. l.], v. 188, n. 3, p. 362–368, 1992. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00192803>

SCHNEIDER, K. D. et al. Comparing phosphorus mobilization strategies using *Aspergillus niger* for the mineral dissolution of three phosphate rocks. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 108, n. 1, p. 366–374, 2010. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04489.x>

SCHUSTER, E. et al. On the safety of *Aspergillus niger*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 59, n. 4–5, p. 426–435, 2002. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1032-6>

SEARS, J. et al. Volatile antimicrobials from *Muscodorum albus*, a novel endophytic fungus. **Microbiology**, [s. l.], v. 147, n. 11, p. 2943–2950, 1 nov. 2001. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00221287-147-11-2943>

SILVA, K. S. et al. Atividade antagônica in vitro de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 749, 30 ago. 2008. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2008v29n4p749>

SILVA, M. G. et al. Antibacterial activity from *Penicillium corylophilum* Dierckx.

Microbiological Research, [s. l.], v. 159, n. 4, p. 317–322, dez. 2004. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.06.003>

SOTTERO, A. N. et al. Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s. l.], p. 225–234, 2006. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832006000200004>

SOUCHE, E. L. et al. Solubilização de fosfato in vitro por microrganismos rizosféricos de guandu. **Biosci. Journal**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 53–60, 2007.

SOUZA, A. S. **Controle biológico de *Alternaria alternata*, agente causal da mancha marrom de alternaria, por *Bacillus* spp.** 79 f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de São Carlos, 2018.

SPAEPEN, S. **Principles of Plant-Microbe Interactions**. 1. ed. Suiça: Springer International Publishing, 2015.

SPIER, C. A.; KUMAR, A.; NUNES, A. P. L. Mineralogy and genesis of rare Al-phosphate minerals in weathered itabirite and iron ore from the Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brazil. **Ore Geology Reviews**, [s. l.], v. 118, p. 103359, mar. 2020. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.oregeorev.2020.103359>

STURZ, A. V.; NOWAK, J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**, [s. l.], v. 15, p. 183–190, 2000. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00094-9)

SURYANARAYANAN, T. S. et al. Fungal endophytes and bioprospecting. **Fungal Biology Reviews**, [s. l.], v. 23, n. 1–2, p. 9–19, fev. 2009. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2009.07.001>

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

TAKAHASHI, J. A.; LUCAS, E. M. F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química Nova**, [s. l.], v. 31, n. 7, p. 1807–1813, 2008. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700036>

TAYLOR, G. . The physiology of aluminum phytotoxicity. **Role in Biology**, [s. l.], v. 1, p. 123–163, 1988.

THOMAS, F. et al. Do hairworms (Nematomorpha) manipulate the water seeking behaviour of their terrestrial hosts? **Journal of Evolutionary Biology**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 356–361, 30 abr. 2002. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2002.00410.x>

TORO, M.; AZCON, R.; BAREA, J. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability ((sup32)p) and nutrient cycling. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 63, n. 11, p. 4408–4412, nov. 1997. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.63.11.4408-4412.1997>

TRIVEDI, P. et al. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 72–72, 23 jan. 2021. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00490-8>

VACHERON, J. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 4, 2013. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>

VALIDOV, S. Z.; KAMILOVA, F.; LUGTENBERG, B. J. J. *Pseudomonas putida* strain PCL1760 controls tomato foot and root rot in stonewool under industrial conditions in a certified greenhouse. **Biological Control**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 6–11, jan. 2009. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.09.010>

VAZQUEZ, P. et al. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. **Biology and Fertility of Soils**, [s. l.], v. 30, n. 5–6, p. 460–468, 3 mar. 2000. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s003740050024>

VIDA, J. B. et al. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 355–372, 2004. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582004000400001>

VIEIRA, B. S. et al. Potencial antagonístico de *Bacillus subtilis* (BSV-05) contra os patógenos radiculares do feijoeiro: *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*. **Ciência Agrícola**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 59–66, 2016. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.28998/rca.v14i1.2333>

VIEIRA, E. L. et al. **Manual de Fisiologia Vegetal**. 6. ed. São Luis: EDUFMA, 2010.

VITERBO, A. et al. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. **FEMS Microbiology Letters**, [s. l.], v. 305, n. 1, p. 42–48, 2010. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.01910.x>

WAHID, O. A. A.; MEHANA, T. A. Impact of phosphate-solubilizing fungi on the yield and phosphorus-uptake by wheat and faba bean plants. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 155, n. 3, p. 221–227, 2000. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(00\)80036-1](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(00)80036-1)

WANI, M. A., SANJANA, K., KUMAR, D. M., AND LAL, D. K. GC-MS analysis reveals production of 2-phenylethanol from *Aspergillus niger* endophytic in rose. **J. Basic Microbiol.** [s. l.], v. 50, p. 110–114, 2010. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jobm.200900295>

WHEATLEY, R. E. The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, [s. l.], v. 81, n. 1–4, p. 357–364, 2002. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1020592802234>

WHISSON, S. C. et al. The cell biology of late blight disease. **Current Opinion in Microbiology**, [s. l.], v. 34, p. 127–135, 2016. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.09.002>

WHITELAW, M. A. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. **Advances in Agronomy**, [s. l.], v. 69, p. 99–151, 1999. DOI: Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60948-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60948-7)

ZAMBOLIM, L. **Proteção de plantas: manejo integrado de doenças de plantas**. 1. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2010.