

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
RAFAELA CRISTINA DA SILVA GOULART**

PRODUÇÃO DE FITORMÔNIOS POR CEPAS DO FUNGO

Aspergillus niger

**Monte Carmelo
2024**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
RAFAELA CRISTINA DA SILVA GOULART

PRODUÇÃO DE FITORMÔNIOS POR CEPAS DO FUNGO

Aspergillus niger

Trabalho de Conclusão apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, como requisito necessário para a obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Gilberto de Oliveira Mendes

Monte Carmelo
2024

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

| | |
|--------------|--|
| G694 2024 | <p>Goulart, Rafaela Cristina da Silva, 1999- PRODUÇÃO DE FITORMÔNIOS POR CEPAS DO FUNGO <i>Aspergillus niger</i> [recurso eletrônico] / Rafaela Cristina da Silva Goulart. - 2024.</p> <p>Orientador: Gilberto de Oliveira Mendes. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Agronomia. Modo de acesso: Internet. Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Agronomia. I. Mendes, Gilberto de Oliveira, 1983-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Agronomia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 631</p> |
|--------------|--|

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

RAFAELA CRISTINA DA SILVA GOULART

PRODUÇÃO DE FITORMÔNIOS POR CEPAS DO FUNGO

Aspergillus niger

Trabalho de Conclusão apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, como requisito necessário para a obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.

Monte Carmelo, 25 de abril de 2024

Banca Examinadora

Gilberto de Oliveira Mendes
Orientador

Ana Laura Campos Airão
Membro da Banca

André Luiz Firmino
Membro da Banca

**Monte Carmelo
2024**

RESUMO

Microrganismos Promotores de Crescimento de plantas (MPCPs) desempenham papel crucial na agricultura sustentável, estimulando o desenvolvimento das plantas por meios como, produção de fitormônios e disponibilização de nutrientes. O fungo *Aspergillus niger* se destaca pela disponibilização de fósforo, e algumas cepas são capazes de produzir fitormônios como o ácido giberélico (GA) e indol-acético (AIA). Esses fitormônios influenciam a germinação, crescimento e enraizamento das plantas. O uso de MPCPs, como o *A. niger*, emerge como estratégia promissora para elevar a produtividade agrícola de forma sustentável, reduzindo a dependência de químicos e promovendo sistemas de cultivo equilibrados. O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de produção de fitormônios pelas cepas FS1 e ATCC 1015 de *A. niger*. A produção dos fitormônios ácido giberélico e ácido indol-acético foi avaliada em meio de cultura Czapek, com adição de triptofano para a análise do AIA. Os meios foram inoculados com as cepas de *A. niger* e incubados a 30 °C sob agitação a 120 rpm por 7 dias. Ao final do cultivo, as amostras dos filtrado fúngicos foram analisadas por espectrofotometria para determinação da concentração de GA e AIA. Nenhuma das cepas produziu o GA. Para o AIA obteve-se resultados positivos com a cepa FS1, que produziu 6,54 µg AIA mL⁻¹. Conclui-se que as cepas FS1 e ATCC 1015 não sintetizam o fitormônio GA. Em relação ao AIA, somente a cepa FS1 demonstrou capacidade de produção.

Palavras-Chave: Agricultura Sustentável; Hormônios Vegetais; Promoção de Crescimento.

SUMÁRIO

Sumário

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 6 |
| 2. OBJETIVO | 7 |
| 3. REFERENCIAL TEÓRICO | 7 |
| 4.MATERIAL E MÉTODOS | 10 |
| 5.RESULTADO E DISCUSSÃO | 14 |
| 6.CONCLUSÕES | 15 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 16 |

1. INTRODUÇÃO

A agricultura moderna tem a necessidade de aumentar a produtividade das culturas agrícolas de forma sustentável. Uma das estratégias para superar esse desafio é a utilização de Microrganismos Promotores do Crescimento Vegetal (MPCPs), que são encontrados colonizando de forma interna e externa os órgãos das plantas (LUZ; LANE; SILVA, 2006; MARIANO et al. 2004). Os MPCPs têm a capacidade de promover o crescimento de plantas por inúmeros mecanismos, podendo ser de forma direta ou indireta. Os principais mecanismos envolvidos são o controle biológico através da competição de nutrientes com o patógeno, resistência induzida a doenças, produção de sideróforos e antibióticos, promoção de crescimento pela produção de fitormônios e aumento da disponibilidade de nutrientes pela fixação de nitrogênio ou solubilização de fósforo (SOTTERO et al., 2006).

A produção de fitormônios influencia em vários processos fisiológicos como germinação de sementes, crescimento de parte aérea e sistema radicular, iniciação floral, crescimento de frutos, entre outros (DAVIES, 2010; KING; EVANS, 2003; LUBNA et al., 2018). A especificidade da interação da planta com o MPCP depende das características genéticas das espécies envolvidas. Para se obter eficiência no uso desses microrganismos como inoculantes, deve-se levar em consideração alguns fatores como concentração, viabilidade e método de inoculação, fatores pertinentes à cultura, como sanidade e, nutrição e o estágio de desenvolvimento no qual será feita a inoculação, além de fatores edafoclimáticos (CORDEIRO, 2017; MATSUMURA et al., 2015).

Um grande número de MPCPs já foi avaliado a fim de selecionar aqueles que conferem maior eficiência em promover o desenvolvimento e vigor de plantas (AGUIAR, 2012; HAMILTON et al., 2012; HAMILTON; BAUERLE, 2012). Os microrganismos multifuncionais apresentam diferentes mecanismos de promoção de crescimento e, por isso, são capazes de auxiliar a planta sob distintas condições de estresse. A promoção de crescimento de plantas com presença de fungos endofíticos que auxiliam no crescimento vegetal, pode acontecer através da síntese de fitormônios e/ou pela tolerância a estresses abióticos (KHAN et al., 2015).

Fungos endofíticos ocupam o interior do seu hospedeiro, conseguindo deles nutrição e proteção. Em compensação, os fungos beneficiam o seu hospedeiro produzindo diversos metabólitos funcionais. Plantas colonizadas com endofíticos crescem mais rápido do que aquelas que não são (TAN, ZOU, 2001). Esse efeito deve-se à produção de fitormônios semelhantes ao

ácido indolacético (AIA), citocininas e outros agentes promotores do crescimento da planta (TAN, ZOU, 2001). Outro fato que reforça a tese de que os fungos endofíticos ajudam a promover o crescimento do seu hospedeiro, é o fato de que esses fungos ajudam a planta a absorver nutrientes como nitrogênio e fósforo (TAN, ZOU, 2001).

O fungo *Aspergillus niger* é uma alternativa a ser estudada, por se tratar de um microrganismo multifuncional com capacidade de solubilizar minerais fosfatados (MENDES et al., 2017; VASSILEV et al., 2015), além de sua possível habilidade de produzir fitormônios como ácido indolacético e giberélico (LUBNA et al., 2018).

2. OBJETIVO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a capacidade de produção de fitormônios pelas cepas FS1 e ATCC 1015 de *Aspergillus niger*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

A agroecologia é uma ciência com potencial de transformar a produção agrícola (ALTIERI et al., 1987) e, principalmente, redesenhar agroecossistemas mais sustentáveis (GLIESSMAN, 2000). Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (MPCPs), como fungos e bactérias, produzem uma tecnologia capaz de gerar benfeitorias à produção agrícola, com a redução de custo de produção e dos impactos negativos ao ambiente, resultando em um produto “eco-friendly” (GLICK, 2013).

Os MPCPs representam um grupo caracterizado por potencializar o desempenho vegetal, seja pela produção de fitormônios, fixação de nitrogênio, produção de sideróforos ou solubilização de nutrientes (P, K, Zn etc.) (PANDEY et al., 2019). Por potencializarem o desempenho vegetal, os MPCPs têm ganhado destaque por serem importantes integrantes de novas biotecnologias na agricultura (ARAÚJO et al., 2020). Associações simbióticas com microrganismos rizosféricos, tem se tornado alternativa eficaz de tolerância a estresses ambientais bióticos e abióticos pelas plantas, interferindo positivamente nas suas funções fisiológicas e metabólicas, como fotossíntese e disponibilidade de nutrientes essenciais (PRIYA et al., 2022; TOJU et al., 2018).

Variedades de fungos endofíticos estão sendo isolados de plantas com interesse econômico, e estudos que envolvem a relação com o crescimento vegetal têm conseguido atingir bons resultados (SOUZA, SANTOS, 2017). De forma geral, todo microrganismo endofítico capaz de promover o crescimento vegetal vai atuar de maneira distinta, que pode ser de forma direta e indireta (SILVA et al., 2006). A forma direta ocorre por meio da produção dos fitormônios ou de substâncias análogas dos reguladores de crescimento. Já na forma indireta, a planta consegue ter um melhor desempenho em termos de crescimento devido à redução da microbiota patogênica ou deletéria ao vegetal (SILVA et al., 2006). Fungos endofíticos ocupam o interior do seu hospedeiro, conseguindo deles nutrição e proteção. Em compensação, os fungos endofíticos beneficiam o seu hospedeiro produzindo diversos metabólitos funcionais.

Os microrganismos podem produzir hormônios que auxiliam no desenvolvimento vegetal, dentre eles auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno (SANTNER; ESTELLE, 2009). Essas moléculas podem atuar diretamente na promoção do crescimento das plantas, alongamento celular, tolerância a estresses abióticos, estímulo da reprodução e a colonização de microrganismos benéficos, podendo indiretamente, ajudar no desenvolvimento vegetal por meio da regulação da resposta imune da planta contra patógenos e insetos herbívoros (PIETERSE et al., 2012).

Dentre os compostos existentes, abrange-se os grupos das auxinas que são produzidas por MPCPs, sendo mais frequente o ácido indolacético (AIA). A via de biossíntese de auxina é bastante complexa e ainda não está totalmente esclarecida (ZHAO et al., 2010). Sabe-se que rizobactérias sintetizam AIA a partir de triptofano que é obtido em diferentes concentrações nos exsudatos radiculares, variando de acordo com o genótipo da planta (WOODWARD; BARTEL, 2005).

O AIA tem acentuado efeito no crescimento e desenvolvimento vegetal, podendo atuar na divisão celular, iniciação e diferenciação das raízes, diferenciação dos tecidos vasculares em floema e xilema, florescimento e contribuição na formação e crescimento dos frutos (KORASICK et al., 2013). Portanto, a produção de auxina conduz a uma maior proliferação de raízes laterais e crescimento da formação de pêlos radiculares, resultando em maior superfície total da raiz e consequentemente maior absorção de água e nutrientes pela planta.

Os fungos do gênero *Aspergillus* têm grande impacto tanto no nível econômico quanto social e se encontram distribuídos pelo mundo. O fungo *Aspergillus niger* é capaz de se propagar de forma eficaz em diferentes ambientes, pois a sua localização não se limita a uma zona do globo,

sendo um dos fungos mais comuns do gênero (MEIJER et al., 2011). Esta espécie consegue crescer em locais secos e quentes, pois a temperatura ótima de crescimento é 35-37 °C. Consegue ainda multiplicar-se dentro de uma gama de temperaturas entre os 6 e 47 °C. O pH ótimo de crescimento é 6, mas pode encontrar-se entre valores de pH compreendidos entre 1,5 e 9,8 (KRIJGSHELD et al., 2013; SCHUSTER et al., 2002). A atividade ótima da água é de 0,97 e a percentagem de umidade relativa ótima para que se observe o crescimento desta espécie está compreendida entre os 96 – 98 (KRIJGSHELD et al., 2013).

Os fungos filamentosos são amplamente utilizados como produtores de ácidos orgânicos, e em especial o *A. niger* e algumas espécies de *Penicillium*. (MATTY, 1992). Entre os fungos filamentosos, o *A. niger* tem sido bastante estudado devido à produção de ácido cítrico em escala industrial (PAPAGIANNI; MATTEY, 2004) e por apresentar grande potencial na solubilização de rocha fosfática (MENDES et al., 2014). Ainda assim, tem vantagens que estão relacionadas à facilidade de manipulação, e sua aptidão de fermentar uma grande variedade de matérias primas de baixo custo e produzir rendimentos elevados de ácido cítrico (YOKOYA, 1992).

Aspergillus niger também produz outros ácidos orgânicos, sendo que estes continuam a ser produzidos por processos microbiológicos (SCHUSTER et al., 2002). Para além dos ácidos, esse fungo também é fonte de produção de enzimas que são usadas na indústria, sendo que cada enzima produzida tem de ser considerada como segura antes de ser utilizada, possuindo o estado de GRAS (Geralmente Reconhecido Como Seguro) (ABARCA et al., 2004; SCHUSTER et al., 2002).

Os hormônios AIA e GA são produzidos por fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Paecilomyces* e *Pochonia*. Esses fungos possuem potencial para serem empregados como inoculantes em culturas agrícolas visando à sustentabilidade dos agroecossistemas.

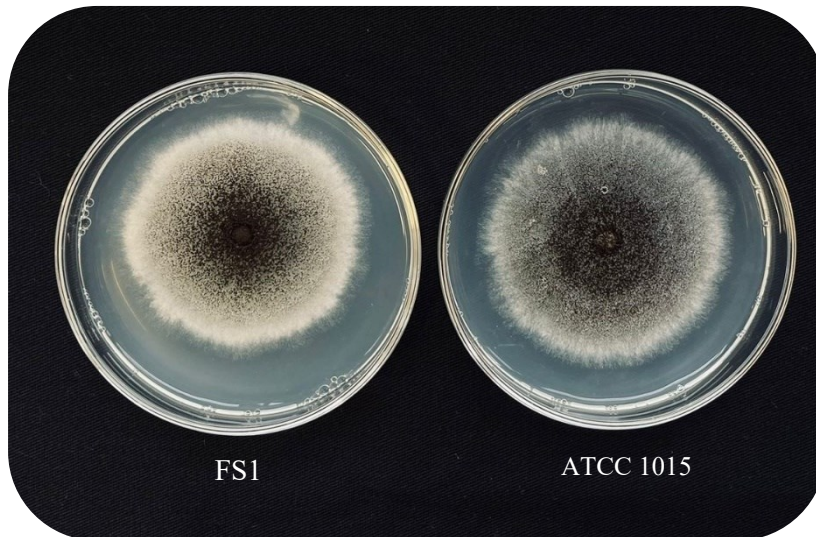
Assim o isolado de *A. niger* é caracterizado como microrganismo multifuncional podendo auxiliar na produção de formulações sustentáveis, uma vez que o seu potencial de solubilização de fosfato (COSTA et al., 2013; MENDES et al., 2014; MENDES et al. 2015; MENDES et al. 2017) e a promoção de crescimento de plantas (ARAÚJO et al., 2020) já foi comprovado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia (LAMIF) da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo.

4.1 Obtenção das cepas

Os isolados de *Aspergillus niger* FS1 e ATCC 1015 foram obtidos da coleção de culturas do (LAMIF). Os fungos foram mantidos em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) incubadas a 28 °C por 7 dias.



Fonte: Rafaela Goulart (2023).

A suspensão de conídios foi preparada em 50 mL de Tween 80 0,01% por meio da raspagem das placas com auxílio da alça de Drigalski esterilizada em lamparina de vidro. A contagem de conídios foi realizada em câmara de Neubauer para se obter concentração de 1×10^6 conídios mL⁻¹.

4.2 Produção de Fitormônios

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com dois tratamentos (*A. niger* FS1 e *A. niger* ATCC 1015) e o controle, em cinco repetições, sendo

eles conduzidos em Erlenmeyer que constituiu uma unidade experimental, totalizando 15 unidades para cada fitormônio.

Nos experimentos da produção de fitormônios GA e AIA, foram geradas equações de regressão linear através dos valores de concentração e absorbância da curva padrão utilizando o Microsoft Excel, como nas Figuras 1 e 2.

O meio de cultura para ambos os fitormônios foi o Czapek, com condições específicas para cada. O meio para determinação de GA foi preparado conforme descrito por Hamayun et al. (2017), sendo constituído por 10 g de glicose, 10 g de peptona, 3 g de NaNO_3 , 1 g de K_2HPO_4 , 0,5 g de MgSO_4 , 0,5 g de KCl , e 0,01 g de FeSO_4 . Já para AIA, seguiu-se a metodologia descrita por Priyadharsini e Muthukumar (2017), sendo 10 g de glicose, 1 g de triptofano, 3 g de NaNO_3 , 1 g de K_2HPO_4 , 0,5 g de MgSO_4 , 0,5 g de KCl , e 0,01 g de FeSO_4 . Para ambos os tratamentos, ajustou-se o pH a 7.

Para este ensaio, foram utilizados frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 30 mL de meio de cultura líquido e esterilizado em autoclave (121 °C por 20 min) e, inoculou-se 1 mL da suspensão de conídios com concentração de 10^6 por frasco. Os Erlenmeyers foram incubados em shaker a 30 °C, com velocidade de 120 rpm, durante 7 dias.

Após 7 dias, a cultura foi filtrada através de papel de filtro quantitativo com porosidade de 7,5 micras e analisadas por espectrofotometria para determinação da produção de GA e AIA.

Para determinação de GA, foi utilizado o método segundo Berrios, Illanes, Aroca (2004), onde adicionou-se: 0,5 mL de amostra, 0,5 mL de etanol absoluto e 4 mL de HCl 3,75 M em tubo de ensaio, sendo agitado em vórtex para homogeneização. Após o preparo e homogeneização fez-se a leitura no espectrofotômetro a 254 nm em cubetas de Quartzo com intervalos de 20 segundos, em seis tempos. Foi necessária a produção de curva padrão, sendo preparadas 7 amostras (Tabela 1), e a solução estoque a uma concentração de 1 g GA mL^{-1} .

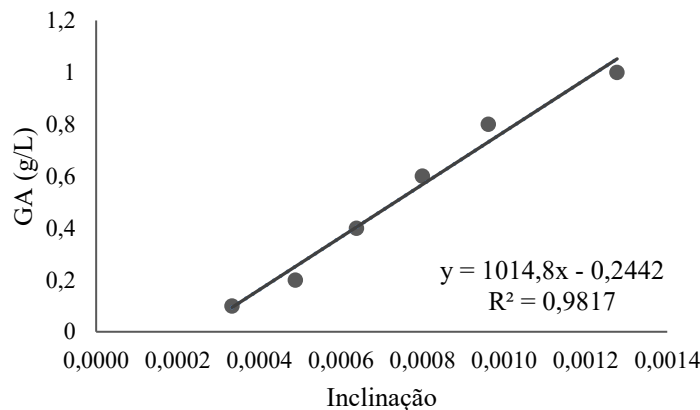
Tabela 1: Preparo das amostras da curva padrão do fitormônio GA.

| Concentração GA (g L ⁻¹) | V _{estoque} (mL) ^a | V _{H₂O} (mL) |
|--------------------------------------|--|----------------------------------|
| 0 | 0 | 0,5 |
| 0,1 | 0,05 | 0,45 |
| 0,2 | 0,1 | 0,4 |
| 0,4 | 0,2 | 0,3 |
| 0,6 | 0,3 | 0,2 |
| 0,8 | 0,4 | 0,1 |
| 1 | 0,5 | 0 |

^a Solução estoque de GA: 1 g GA L⁻¹

Fonte: Rafaela Goulart (2023).

No teste quantitativo, foi avaliado a produção do fitormônio GA pelas cepas FS1 e ATCC 1015 em meio líquido através do método de espectrofotometria de Holbrook et al. (1961), adaptada por Berríos, Illanes, Aroca (2004). A Figura 1 mostra o gráfico gerado de curva padrão para GA.

**Figura 1:** Gráfico da curva padrão para fitormônio GA de *A. niger*.

A análise quantitativa da produção de fitormônio foi realizada pelo o método de reagente de Salkowski segundo o método Pilet & Chollet (1970). Para determinação de AIA, foi utilizado técnica colorimétrica (denominada PC) utilizando o reagente R1, que consistia em 12 g de FeCl₃ por litro em H₂SO₄ 7,9 M. Um mililitro do reagente R1 foi adicionado a 1 ml da solução amostra, homogeneizado em tubo de ensaio e a mistura foi deixada no escuro durante 30 minutos à temperatura ambiente. A leitura foi realizada a 530 nm em cubetas de vidro em espectrofotômetro. Também foi necessário a produção de curva padrão para AIA (Tabela 2), apresentando a solução

estoque com concentração de 100 $\mu\text{L AIA mL}^{-1}$ pesando-se 3,9 mg de AIA e adicionado 3,9 mL de NaOH 1 M, obtendo assim concentração de 1 mg mL^{-1} . A Figura 2 mostra a curva padrão para AIA e nas tabelas 1 e 2 encontram-se detalhes sobre o preparo das amostras.

Tabela 2: Preparo da solução da curva padrão do fitormônio AIA

| Concentração AIA | $V_{\text{estoque}} (\mu\text{L})^a$ | $V_{\text{H}_2\text{O}} (\mu\text{L})$ | Reagente R1 (mL) |
|------------------|--------------------------------------|--|------------------|
| 0 | 0 | 1000 | 1 |
| 2,5 | 25 | 975 | 1 |
| 5 | 50 | 950 | 1 |
| 10 | 100 | 900 | 1 |
| 15 | 150 | 850 | 1 |
| 25 | 250 | 750 | 1 |
| 35 | 350 | 650 | 1 |

^a Solução estoque de AIA: 100 $\mu\text{L AIA mL}^{-1}$

Fonte: Rafaela Goulart (2023).

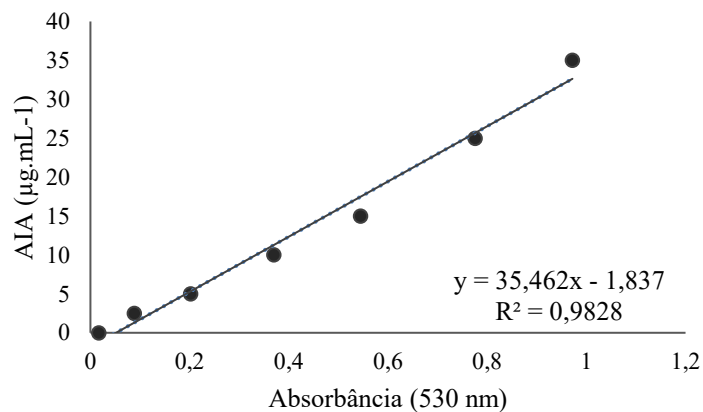


Figura 2: Gráfico da curva padrão para fitormônio AIA de *A. niger*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fitormônio AIA foi identificado no ensaio com a cepa FS1 após a reação positiva do teste qualitativo utilizando o reagente de Salkowski (Tabela 3). A reação da solução com o reagente de Salkowski resulta em coloração amarelada para o teste negativo e rosa avermelhado para o teste positivo (Figura 3). Já para a cepa de ATCC 1015, não foi detectada a produção de fitormônio AIA.

Tabela 3: Produção de AIA por *A. niger*.

| | Produção de fitormônio | <i>A. niger</i> FS1 | <i>A. niger</i> ATCC 1015 |
|--------------------------------|------------------------|---------------------|---------------------------|
| Teste de reagente de Salkowski | AIA | + | - |

+: reação positiva; -: reação negativa. Fonte: Rafaela Goulart (2023).



Foto 1: Rafaela Goulart (2023).

Figura 3: Teste qualitativo de reagente de Salkowski realizado nas amostras de *A. niger* FS1 (esquerda) positivo, *A. niger* ATCC 1015 (centro) negativo, e o controle (direita) indicador de mudanças de produção de AIA.

O isolado FS1 apresentou concentração $6,54 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 4) no ensaio com *A. niger*. Resultado semelhante foi encontrado por Lubna et al. (2018) onde quantificou-se a produção dos

fitormônios em meio, sendo encontradas diferentes giberelinas, e o ácido indol-acético, que teve maior quantidade em adição ao precursor triptofano.

Tabela 4: Concentração do teste quantitativo para produção de fitormônio AIA por *A. niger*.

| CEPA | Concentração média ($\mu\text{g. mL}^{-1}$) |
|-----------------|---|
| FS1 | 6,54 |
| ATCC 1015 | 0 |
| Controle | 4,21 |

Fonte: Rafaela Goulart (2023).

Em teste quantitativo, foi avaliado a produção de fitormônio GA pelas cepas FS1 e ATCC 1015 em meio líquido, porém elas não foram capazes de o produzir, evidenciando a incapacidade da produção, contrariando resultados na literatura. Em ensaio semelhante, Hamayun et al. (2009), utilizando a espécie *Aspergillus fumigatus*, isolado HK-5-2, obteve a produção de seis tipos de giberelinas em filtrado de cultura.

O fato da não produção pode ser explicado na própria capacidade da espécie, e em específico da cepa de não produzir o fitormônio e/ou nas condições experimentais. Foi desenvolvido e relatado por Bilkay; Karakoç; Aksoz (2010) a interação entre os fitormônios AIA e GA onde este aumentou na presença da auxina e as condições ótimas de temperatura, pH, tempo de incubação, recomendando-se 6 dias de incubação a 25 °C e pH 6,0 para AIA, e 12 dias de incubação a 30 °C e pH 5,0, ambos sob agitação, sendo estas diferentes das utilizadas no presente experimento.

6. CONCLUSÕES

Apenas a cepa FS1 de *A. niger* produziu ácido indolacético (AIA). As cepas FS1 e ATCC 1015 não produzem o fitormônio ácido giberélico (GA) nas condições experimentais do ensaio. Portanto,

a cepa FS1 tem aplicabilidade de mais estudos para a obtenção de produtos inoculantes benéficos para as plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARCA, M. L., ACCENSI, F., CANO, J. E CABAÑES, F. J. (2004). Taxonomy and significance of black aspergilli. *Antonie van Leeuwenhoek*, **International Journal of General and Molecular Microbiology**, 86(1), 33–49. doi: 10.1023/B:ANTO.0000024907.85688.05

AGUIAR, K. P. **Prospecção de bactérias promotoras do crescimento vegetal associadas a vermicompostos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2012.

ALTIERI, M. A. et al. Peasant agri-culture and the conservation of crop and wild plant resources. **Conservation Biology**, v. 1, p. 49–58, 1987.

ARAÚJO, V. C.; ROSSATI, K. F.; XAVIER, L. V.; OLIVEIRA, V. A. DE; CARMO, G. J. DOS S.; ASSIS, G. A. DE; MENDES, G. DE O. Enhanced growth in nursery of coffee seedlings inoculated with the rhizosphere fungus *Aspergillus niger* for field transplantation. 16 **Rhizosphere**, v. 15, n. June, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100236>.

BERRÍOS, Julio; ILLANES, Andres; AROCA, German. Spectrophotometric method for determining gibberellic acid in fermentation broths. **Biotechnology letters**, v. 26, p. 67-70, 2004.

BİLKAY, I. S., Karakoç, Ş., & Aksöz, N. (2010). Indole-3-acetic acid and gibberellic acid production in *Aspergillus niger*. *Turkish Journal of Biology*, 34(3), 313-318.

CORDEIRO, J. E. B. **Desempenho agrônômico do milho em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, 2017.

COSTA, M. D.; MENDES, G. DE O.; VASSILEV, N. B.; BONDUKI, V. H. A.; SILVA, I. R. DA; RIBEIRO, J. I. Inhibition of *aspergillus niger* phosphate solubilization by fluoride released from rock phosphate. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 79, n. 16, p. 4906–4913, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01487-13>.

DAVIES, P. J. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In: *Plant Hormones*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2010. p. 1–15.

GLIESSMAN, S. R. **Processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 637 p.

Hamayun, M., Khan, S. A., Khan, M. A., Khan, A. L., Kang, S. M., Kim, S. K., ... & Lee, I. J. (2009). Gibberellin production by pure cultures of a new strain of *Aspergillus fumigatus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 1785-1792.

HAMILTON, C. E. et al. Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: a review. **Fungal Diversity**, v. 54, n. 1, p. 1–10, 23 maio 2012.

HAMILTON, C. E.; BAUERLE, T. L. A new currency for mutualism? Fungal endophytes alter antioxidant activity in hosts responding to drought. **Fungal Diversity**, v. 54, n. 1, p. 39–49, 29 maio 2012.

HAMAYUN, M. et al. Gibberellins producing endophytic fungus *Porostereum spadiceum* AGH786 rescues growth of salt affected soybean. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. APR, p. 1–13, 2017.

HOLBROOK, Allan A.; EDGE, WJW; BAILEY, Fred. Método espectrofotométrico para determinação de ácido giberélico.

KHAN, A.R.; ULLAH, I.; WAQAS, M.; SHAHZAD, R.; HONG, S.-J.; PARK, G.-S.; JUNG, B.K.; LEE, I.-J.; SHIN, J.-H. Plant growth-promoting potential of endophytic fungi isolated from *Solanum nigrum* leaves. *World Journal of 50 Microbiology and Biotechnology*, v. 31, n. 9, p. 1461–1466, 2015. doi: 10.1007/s11274-015-1888-0.

Krijgheld, P., Bleichrodt, R., Veluw, G. J. van, Wang, F., Müller, W. H., Dijksterhuis, J. e Wösten, H. A. B. (2013). Development in *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 74(1), 1–29. doi: 10.3114/sim0006

KORASICK, David A.; ENDERS, Tara A.; STRADER, Lucia C. Biossíntese e formas de armazenamento de auxinas. **Revista de botânica experimental**, v. 64, n. 9, pág. 2541-2555, 2013.

LUBNA; ASAF, S.; HAMAYUN, M.; GUL, H.; LEE, I. J.; HUSSAIN, A. *Aspergillus Niger* CSR3 regulates plant endogenous hormones and secondary metabolites by producing gibberellins and indoleacetic acid. **Journal of Plant Interactions**, v. 13, n. 1, p. 100–111, 2018.

LUZ, J. S.; LANE, R.; SILVA, D. O. Atividade enzimática de fungos endofíticos e efeito na promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Caatinga**, p. 128–134, 2006.

MARCHIORO, Luiz Eduardo Tedesco. Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio. **Curitiba: Universidade Federal do Paraná**, 2005.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A.R.; DONATO, V. M. T. S. 2004b. **Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica 1: 89-111. 2004.

MATSUMURA, E. E. et al. **Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense***. *Annals of Microbiology*, v. 65, n. 4, p. 2187–2200, 1 dez. 2015.

MATTY, M. The production of organic acids. *Rev. Biotechnol.* 12, 87-132, 1992.

Meijer, M., Houbraken, J. A. M. P., Dalhuijsen, S., Samson, R. A. e Vries, R. P. (2011). Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black aspergilli. ***Studies in Mycology***, 69(1), 19–30. doi: 10.3114/sim.2011.69.02

MENDES, G. DE O.; GALVEZ, A.; VASSILEVA, M.; VASSILEV, N. Fermentation liquid containing microbially solubilized P significantly improved plant growth and P uptake in both soil and soilless experiments. ***Applied Soil Ecology***, v. 117–118, n. April, p. 208–211, 2017.

Mendes, G. O., Freitas, A. L. M., Pereira, O. L., Silva, I. R., Vassilev, N. B., & Costa, M. D. (2014). Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. *Annals of Microbiology*, 64(1), 239–249. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0656-3>

MENDES, G. DE O.; SILVA, N. M. R. M. DA; ANASTÁCIO, T. C.; VASSILEV, N. B.; RIBEIRO, J. I.; SILVA, I. R. DA; COSTA, M. D. Optimization of *Aspergillus niger* rock phosphate solubilization in solid-state fermentation and use of the resulting product as a P fertilizer. *Microbial Biotechnology*, v. 8, n. 6, p. 930–939, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1751-7915.12289>

PANDEY, A.; TRIPATHI, A.; SRIVASTAVA, P.; CHOUDHARY, K. K.; DIKSHIT, A. Plant growth-promoting microorganisms in sustainable agriculture. In: *Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology*. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. p. 1–19. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-817004-5.00001-4>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128170045000014>.

PAPAGIANNI, M.; MATTEY, M. Physiological aspects of free and immobilized *Aspergillus niger* cultures producing citric acid under various glucose concentrations. *Process Biochem.*, v.39, p.1963 -1970, 2004.

PIETERSE, C. M. J.; VAN DER DOES, D.; ZAMIOUDIS, C.; LEONREYES, A.; VAN WEES, S. C. M. Hormonal modulation of plant immunity. ***Annual Review of Cell and Developmental Biology***, Palo Alto, v. 28, p. 489-521, 2012.

Pilet, P. E., and R. Chollet. 1970. Sur le dosage colorimétrique de l'acide indolylacétique. *C. R. Acad. Sci. Ser. D* 271:1675–1678.

PRIYA, P. et al. Comparative proteomic analysis of saline tolerant, phosphate solubilizing endophytic *Pantoea* sp., and *Pseudomonas* sp. isolated from *Eichhornia* rhizosphere. ***Microbiological Research***, v. 265, p. 1–13, 1 dez. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127217>.

PRIYADARSHINI, P.; MUTHUKUMAR, T. The root endophytic fungus *Curvularia geniculata* from *Parthenium hysterophorus* roots improves plant growth through phosphate solubilization and phytohormone production. ***Fungal Ecology***, v. 27, p. 69–77, 2017.

SANTNER, A.; ESTELLE, M. Recent advances and emerging trends in plant hormone signaling. **Nature**, London, v. 459, p. 1071-1078, 2009.

SCHUSTER, E., DUNN-COLEMAN, N., FRISVAD, J. C. E DIJCK, P. W. M. van. (2002). On the safety of *Aspergillus niger* - a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 59(4-5), 426–35. doi: 10.1007/s00253-002-1032-6

SILVA, R. L. O.; LUZ, J. S.; SILVEIRA, E. B.; CAVALCANTE, U. M. T. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). *Acta Botânica Brasileira*, v. 20, n. 3, p. 649-655, 2006.

SOTTERO, A. N. et al. Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, p. 225–234, 2006.

SOUZA, B. S.; SANTOS, T. T. UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ, et al. “Endophytic fungi in economically important plants: ecological aspects, diversity and potential biotechnological applications”. **Journal of bioenergy and food science**, vol. 4, nº 2, p. 113 26. 2017. doi:10.18067/jbfs.v4i2.121.

TAN R. X.; ZOU, W. X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **Natural Product Reports**, v. 18, p. 448-459, 2001.

WOODWARD, A. W.; BARTEL, B. Auxin: regulation, action, and interaction. **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 707-735 **Journal of Experimental Botany**, London, v. 64, p. 2541-2555, 2013.

YOKOYA, F. Fermentação cítrica. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 79 p., 1992.

ZHAO, L.; DENG, Z.; YANG, W.; CAO, Y.; WANG, E.; WEI, G. Diverse rhizobia associated with *Sophora alopecuroides* grown in different regions of Loess Plateau in China. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 33, p. 468-477, 2010.