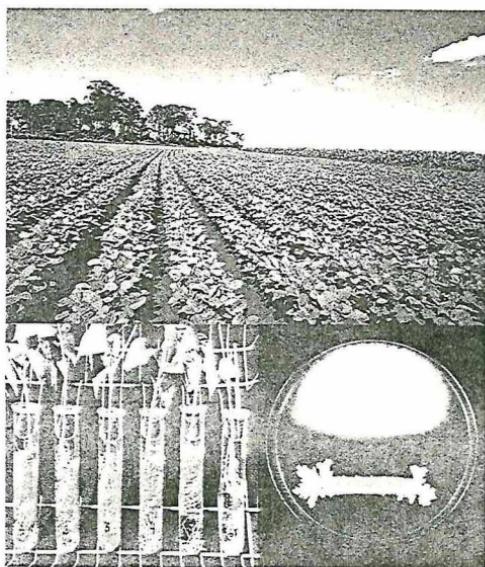


# ECOLOGIA MICROBIANA



Editores

Itamar Soares de Melo

João Lúcio de Azevedo

# RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS: DESCRIÇÃO E POTENCIAL DE USO NA AGRICULTURA

Itamar Soares de Melo

EMBRAPA Meio Ambiente

Caixa Postal 69, CEP 13820-000, Jaguariúna, SP

## INTRODUÇÃO

Os microrganismos do solo podem ser divididos em relação ao efeito que causam às plantas, em benéficos, prejudiciais ou neutros. Os prejudiciais são divididos, ainda, em patógenos menores e maiores, de acordo com os sintomas que causam às plantas (Schippers *et al.*, 1987). Os microrganismos benéficos, simbiotes e não simbiotes podem influenciar o crescimento de plantas através do aumento na disponibilidade de nutrientes minerais (Kavimandan & Gaur, 1971; Lifshitz *et al.*, 1987), da produção de hormônios de crescimento como giberelinas e auxinas (Katznelson & Colem, 1965; Brown, 1972) e da supressão de microrganismos deletérios da rizosfera de plantas (Kloepper & Schroth, 1981).

Dentre os microrganismos benéficos, as rizobactérias, assim denominadas por colonizarem agressivamente o sistema radicular, merecem destaque. Essas bactérias podem ser simbiotes ou saprófitas de vida livre, e vários trabalhos relatam o aumento no crescimento de plantas. Dentre as espécies mais bem estudadas podem-se citar *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Azospirillum brasilense*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Azotobacter* etc.

Recentemente, esses microrganismos têm sido apontados como essenciais ao ecossistema de plantas em relação ao suprimento de elementos de crescimento como nitrogênio, fósforo e, possivelmente, ferro. Deste modo, a liberação de exsudados pelas raízes cria uma zona rizosférica rica em energia, facilitando aos microrganismos presentes a mineralização dos nutrientes dos restos de matéria orgânica, tornando-os, assim, disponíveis para imediata absorção pelas raízes. Os resíduos finais desta degradação também melhoram a formação de agregados e a estrutura do solo (Schippers *et al.*, 1987).

Dentre as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs), as bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. são as mais bem estudadas. Isto se deve, principalmente, à sua grande capacidade de suprimir patógenos de solo, à sua ocorrência de forma natural e em elevadas populações, ao fato de serem nutricionalmente versáteis e possuírem habilidade de crescer numa ampla faixa de condições ambientais, além de produzirem uma grande variedade de antibióticos, sideróforos e hormônios de crescimento vegetal.

As rizobactérias do grupo fluorescente (*P. fluorescens-putida*) possuem um versátil metabolismo, podendo utilizar vários substratos liberados pelas raízes e também moléculas xenobióticas que atingem a rizosfera.

O efeito no crescimento de plantas por RPCP pode ser induzido de forma direta, pela produção de hormônios de crescimento, ou indireta, pela modificação da microbiota da rizosfera, sendo este último considerado um dos principais mecanismos de ação, devido à supressão de microrganismos deletérios da rizosfera (Schippers *et al.*, 1987).

Recentemente, os trabalhos com a utilização de RPCP têm sido intensificados, principalmente por causa do aumento do interesse em alternativas para o controle de fitopatógenos, bem como por causa da substituição de produtos químicos que, além de aumentarem o custo de produção, geram problemas de contaminação ao meio ambiente e podem afetar os seres vivos. Estas bactérias são, também, passíveis de serem empregadas como inoculantes comerciais, facilitando desta forma a sua utilização pelos agricultores.

Como exemplos dos efeitos de RPCP na produção podemos citar os aumentos de até 48% na produção de cenoura com a inoculação de *Bacillus subtilis* (Merriman *et al.*, 1974), aumento de até 37% na produção e nodulação de amendoim com *B. subtilis* (Turner & Backman,

1991), de 33% na produção de ervilha com inoculação de *Pseudomonas fluorescens* (Parke *et al.*, 1991); de até 150% em plantas de rabanete com inoculação de *Pseudomonas* sp. (Kloepper & Schroth, 1981). No entanto, o frágil estabelecimento e sobrevivência de linhagens introduzidas constituem sérios entraves à sua aplicação no solo. Nesse sentido, é necessário o desenvolvimento de estudos relativos à ecologia destes microrganismos na rizosfera, independentemente do propósito da inoculação.

No caso de controle biológico, são necessárias informações como mecanismos de colonização de raízes, especificidade de hospedeiros, eficiência ecológica, influência de fatores ambientais e genética dos sistemas sideróforos e antibióticos.

Este capítulo versará sobre os mecanismos de ação pelos quais as rizobactérias atuam e seus efeitos sobre o desenvolvimento de plantas, tais como emergência e germinação, controle biológico de doenças, aumento na fixação de nitrogênio e possibilidade de uso na biorremediação de solos contaminados com compostos xenobióticos. Efeitos de RPCP sobre o crescimento de plantas e produção de alimentos não serão abordados neste capítulo, dada a existência de vastos artigos versando sobre o assunto (Luz, 1996; De Weger *et al.*, 1995; Weller, 1988; Schroth & Hancock, 1982).

## MODOS DE AÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS

### Antibiose

Dentre os mecanismos de ação de rizobactérias, a produção de compostos antibióticos tem sido considerada, por muitos autores, como um dos mais importantes mecanismos, pois atua na supressão de patógenos da rizosfera.

Os antibióticos são compostos orgânicos de baixo peso molecular que, em baixas concentrações, são deletérios ao crescimento ou a outras atividades metabólicas de outros organismos (Fravel, 1988). O papel destes na fisiologia e ecologia de microrganismos ainda é desconhecido, embora se saiba que "pirrolnitrina" produzido por *Pseudomonas fluorescens* inibe o crescimento de *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola*, *Alternaria* sp. e *Verticillium dahliae* (Howell & Stipanovic, 1979). O composto "pioluterina" inibe *Pythium* sp. (Howell & Stipanovic, 1980).

Os antibióticos em geral são inativados no solo e, portanto, sua ação só pode ser efetiva no tratamento de sementes.

Apesar do grande volume de trabalhos relatados na literatura com bactérias do grupo *Pseudomonas putida-fluorescens*, outros gêneros têm merecido atenção (Tabela 4). É possível que o grande número de relatos com o grupo *putida-fluorescens* exista por causa dos métodos de isolamento e seleção utilizados.

Linhagens efetivas de *P. fluorescens* têm sido bem estudadas como agentes potenciais de controle do mal-do-pé do trigo, causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Thomashow & Weller (1988) caracterizaram o antibiótico ácido 1<sup>o</sup>-carboxílico fenazina, produzido por *P. fluorescens*, capaz de controlar esse patógeno tanto *in vitro* como *in vivo*.

As modernas técnicas de genética têm contribuído para o entendimento dos processos envolvidos de controle biológico. Mutantes negativos para produção de antibióticos têm sido empregados na comparação com as linhagens selvagens, facilitando a interpretação dos dados obtidos (Tomashow & Weller, 1988). Nessa linha de pesquisa, Colyer & Mount (1984) estudaram o comportamento de um mutante antibiótico negativo M74 de *P. putida* com relação ao controle de *Erwinia* spp., comparando-o com a linhagem parental. Observaram que a colonização do rizoplane de plantas de batata foi semelhante para ambas as linhagens, embora a redução da severidade da podridão mole da batata tenha sido intermediária nas plantas tratadas com o mutante. Sugeriram que a antibiose pudesse ter sido responsável pela supressão da doença.

Howie & Suslow (1986) verificaram que um mutante de *P. fluorescens*, negativo para produção de antibiótico, não demonstrou nenhuma atividade *in vitro* contra *Pythium* sp., embora tenha apresentado uma reduzida capacidade de proteção da planta contra o patógeno. Os autores concluíram, nesse caso, que mais de um mecanismo estava envolvido na supressão do patógeno.

Além da produção de antibiótico, que é considerado um mecanismo importante na competição e estabelecimento das RPCPs, estas bactérias devem apresentar outras características que garantam a sua sobrevivência na rizosfera. A colonização de raízes é um pré-requisito para a manutenção e sobrevivência de bactérias, bem como para o eficiente controle de patógenos de solo.

Um importante passo na obtenção de rizobactérias que apresentem atividade antibiótica é a realização de um eficiente esquema de seleção. Naturalmente, essas bactérias devem apresentar uma capacidade seletiva eficiente quanto à sobrevivência na rizosfera. Desse modo, é de se esperar que nos chamados solos supressivos essas bactérias tenham uma vantagem competitiva e, portanto, atuem na inibição dos patógenos causadores de doenças radiculares.

Para propósitos práticos de uso de RPCP na agricultura, deve-se frisar que bactérias do gênero *Bacillus* apresentam certas vantagens em relação às do gênero *Pseudomonas*, principalmente em relação à produção de inoculantes. Dentre estas vantagens, podemos citar a resistência à dessecação, a formação de endosporo de resistência, a maior capacidade de sobrevivência quando formuladas com polímeros e inertes diversos, entre outras.

### **Competição pela Produção de Sideróforos**

Os microrganismos competem por nutrientes e elementos essenciais no solo e na rizosfera. Essa competição entre uma rizobactéria e um patógeno pode resultar em substituição ou exclusão deste último (Weller, 1988).

Kloepper *et al.* (1980b) foram os primeiros a demonstrar a importância da competição por ferro, devido à produção de sideróforos por microrganismos. Sideróforos são substâncias de baixo peso molecular produzidas por alguns microrganismos em condições limitantes de ferro, com grande afinidade por íons de  $Fe^{3+}$  (Leong, 1986). De fato, quase todas as bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas produzem sideróforos, diferindo, contudo, na eficiência de produção. Certas espécies do gênero *Pseudomonas* produzem sideróforos que quelam o ferro férrico na rizosfera, privando e inibindo o crescimento de outros microrganismos, incluindo fitopatógenos, que têm menor capacidade de competição por ferro. Tal competição em um ambiente com baixa concentração de ferro explica os efeitos observados sobre a promoção de crescimento de plantas e sobre a produção em algumas culturas (Kloepper *et al.*, 1980).

O mecanismo para produção de sideróforos é operável somente sob condições de baixa disponibilidade de ferro. Sua concentração na solução do solo está relacionada com os níveis de pH. À medida em que o pH do solo abaixa, a disponibilidade de ferro aumenta e os sideróforos

se tornam menos efetivos. O nível crítico de ferro, necessário para a supressão do crescimento de um patógeno fúngico por uma linhagem de *P. putida*, é menor que  $10^{-6}$  mol m<sup>-3</sup> (Simeoni *et al.*, 1987). A supressão ótima aconteceu com níveis entre  $10^{-19}$  e  $10^{-24}$  mol m<sup>-3</sup> de Fe<sup>3+</sup>.

Estudos para comprovar se a supressão de doenças era causada pela produção de sideróforos e/ou antibióticos já foram bem documentados. Kloepper *et al.* (1980b) demonstraram, em experimentos controlados, que a adição de ferro, na forma de etilenodiamina tetracetato de ferro III (Fe EDTA), aboliu a ação antagonística *in vitro*. Observaram, também, que o sideróforo pseudobactina purificado de *P. fluorescens* B-10 exibiu a atividade bacteriostática contra *Erwinia carotovora*, fato que não ocorreu com o pseudobactina férrica, um sideróforo complexado com ferro. Em outro experimento, os mesmos pesquisadores observaram que o sideróforo pseudobactina induziu um aumento significativo no crescimento de plantas de batata, enquanto que o sideróforo complexado com Fe EDTA não foi capaz. Evidencia-se aqui um mecanismo de ação através da produção de sideróforos, demonstrando a sua capacidade de sequestrar o Fe<sup>3+</sup> da rizosfera, tornando-o indisponível a microrganismos deletérios prejudiciais às plantas (Kloepper *et al.*, 1980; Xu & Gross, 1986).

Mutações induzidas por irradiação com luz ultravioleta ou com agentes químicos (Kloepper & Schroth, 1981) ou transposons (Marugg *et al.*, 1985) produziram linhagens deficientes para a produção de sideróforos que foram inefetivas como antagonistas.

Em geral, os patógenos de plantas são sensíveis à ação de sideróforos produzidos pelos antagonistas, em virtude de não os produzirem ou produzirem-nos com menor afinidade pelo ferro. Ademais, podem haver casos onde os patógenos sejam incapazes de usar os sideróforos dos antagonistas ou de outros microrganismos, e ainda o fato de produzirem sideróforos que possam ser utilizados pelos antagonistas (Buyer & Leong, 1986; Leong, 1986)

## **Produção de Reguladores de Crescimento de Plantas**

Reguladores de crescimento de plantas (RCPs) são substâncias orgânicas que influenciam os processos fisiológicos de plantas em baixas concentrações. Muitos RCPs ou seus derivados podem ser produzidos por microrganismos do solo e da rizosfera. A produção de RCPs como metabólitos microbianos no solo está diretamente ligada à disponibili-

dade de substratos, incluindo exsudados de plantas e resíduos de animais. Os microrganismos produtores exercem um importante papel no controle de seu próprio ambiente, afetando o metabolismo da planta. Os microrganismos, por sua vez, afetam a composição química de exsudados liberados e, assim, seu suprimento nutricional.

A utilização de RPCP visando o aumento no crescimento de plantas e conseqüentemente da produção, teve início na Rússia na década de 50 (Kloepper *et al.*, 1989). Contudo, somente na década de 60 respostas positivas no aumento de crescimento de plantas foram obtidas com a inoculação de *Azotobacter* sp. em trigo, tomate e milho (Brown *et al.*, 1962; Rovira, 1963; Brown *et al.*, 1964). O motivo do aumento no crescimento não ficou claro na época. Mais tarde, Brown & Burlington (1968) observaram a existência dos ácidos giberélico e indole-acético em culturas de *Azotobacter* sp. e sugeriram o possível efeito dessas substâncias no crescimento de plantas.

Inúmeras rizobactérias estão envolvidas ativamente na síntese de giberelinas e substâncias análogas (Tabela 1), auxinas e substâncias análogas (Tabela 2) e citocininas (Tabela 3).

TABELA 1. Rizobactérias produtoras de Giberelinas.

ORGANISMO	GIBERELINAS	REFERÊNCIAS
<i>Arthrobacter</i> sp.	Giberelina	Strzelczyk & Pokojaska-Burdziej, 1984
<i>A. globiformis</i>	Giberelina	Katznelson <i>et al.</i> , 1962
<i>Azospirillum brasilense</i>	Giberelina	Tien <i>et al.</i> , 1979
<i>A. lipoferum</i>	GA <sub>1</sub> , GA <sub>3</sub>	Bottini <i>et al.</i> , 1989
<i>Azotobacter</i> sp.	Giberelina, GA <sub>3</sub>	El-Bahrawy, 1983
<i>A. beijerinckii</i>	Giberelina	Azcon & Barea, 1975
<i>A. paspali</i>	Giberelina, GA <sub>3</sub>	Barea & Brown, 1974
<i>Bacillus</i> sp.	Giberelina	Katznelson & Cole, 1965
<i>B. megaterium</i>	Giberelina	Hussain & Vancura, 1970
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Giberelina	Hussain & Vancura, 1970
<i>Rhizobium phaseoli</i>	GA <sub>1</sub> , GA <sub>3</sub> , GA <sub>4</sub> , GA <sub>9</sub>	Atzorn <i>et al.</i> , 1988

TABELA 2. Rizobactérias produtoras de auxinas.

ORGANISMO	AUXINAS <sup>1</sup>	REFERÊNCIAS
<i>Arthobacter</i> spp.	AIA	Strzelcgg & Pokojska-Burdziieg, 1984
<i>A. lipoferum</i>	AIA, AIM	Hartmann <i>et al.</i> , 1983
<i>Azotobacter</i> sp.	AIA	Mahmoud <i>et al.</i> , 1984; El Bahrawy, 1983
<i>A. beijernickii</i>	AIA	Azcon & Barea, 1975
<i>A. chroococcum</i>	heteroauxina, AIA	Brown & Burlingham, 1968; Brown & Walker, 1970
<i>A. paspali</i>	AIA	Barea & Brown, 1974
<i>Bacillus</i> spp.	heteroauxina, auxina	Kampert <i>et al.</i> , 1975
<i>Pseudomonas</i> sp.	AIA	Brown, 1972
<i>P. fluorescens</i>	AIA, heteroauxina	Hussain & Vancura, 1970
<i>P. putida</i>	AIA, heteroauxina	Hussain & Vancura, 1970
<i>Rhizobium</i> sp.	AIA	Burlard <i>et al.</i> , 1963
<i>R. leguminosarum</i>	AIL	Badenoch-Jones <i>et al.</i> , 1982
<i>R. leguminosarum</i>	AIP	Clark, 1974
<i>R. meliloti</i>	AIA	Clark, 1974
<i>R. phaseoli</i>	AIS	Atzorn <i>et al.</i> , 1988

<sup>1</sup>AIA – ácido indole acético; AIC – ácido indole carboxílico; AIM – ácido indole acetamida; AIP – ácido indole piruvico; AIL – ácido indole láctico.

Alguns trabalhos, então, demonstraram a síntese desses hormônios em fermentadores.

Brown (1972) estudou bactérias do rizoplano e rizosfera quanto à habilidade de produzirem substâncias reguladoras de crescimento em trigo. Observou, através de cromatogramas, que muitas bactérias produziram reguladores de crescimento do tipo giberelinas e auxinas quando crescidas em meio de cultura líquido. Loper & Schroth (1986) observa-

**TABELA 3.** Rizobactérias produtoras de citocininas.

ORGANISMO	CITOCININAS <sup>1</sup>	REFERÊNCIAS
<i>Arthrobacter</i> sp.	citocinina	Kampert & Stozelczyk, 1984
<i>Azospirillum brasilense</i>	citocinina, i <sup>6</sup> Ade, io <sup>6</sup> Ade, i Ado	Tien <i>et al.</i> , 1979 Horemans <i>et al.</i> , 1986
<i>A. lipoferum</i>	citocinina	Tien <i>et al.</i> , 1979
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	citocinina	Azcon & Barea, 1975
<i>A. paspali</i>	citocinina	Barea & Brown, 1974
<i>A. vinelandii</i>	citocinina	Azcon & Barea, 1975
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	citocinina	Nieto & Frankenberger, 1989a
<i>P. putida</i>	citocinina	Nieto & Frankenberger, 1989
<i>Rhizobium japonicum</i>	io <sup>6</sup> Ade, io <sup>6</sup> Ado, i <sup>6</sup> Ade, i <sup>6</sup> Ado	Phillips & Toorey, 1972
<i>R. leguminosarum</i>	i <sup>6</sup> Ade, i <sup>6</sup> Ado	Giannattasio & Coppola, 1969 Wang <i>et al.</i> , 1982
<i>R. phaseoli</i>	citocinina	Puppo & Rigand, 1978

<sup>1</sup>i<sup>6</sup>Ade, N<sup>6</sup>(Δ<sup>2</sup>-isopentenil)adenina; i<sup>6</sup>Ado, N<sup>6</sup>(Δ-isopentenil)adenosina; io<sup>6</sup>Ade, cis-zeatina; io<sup>6</sup>Ado, cis-zeatina ribosídeo.

ram, em filtrados de culturas de rizobactérias, um acúmulo de ácido índole-acético. Estas bactérias, quando inoculadas em sementes de beterraba açucareira, proporcionaram um aumento na produção de brotos da planta.

Lifshitz *et al.* (1987) observaram que isolados de RPCPs foram capazes de promover o crescimento de plantas de colza em solo esterilizado e Broadbent *et al.* (1977) observaram aumentos significativos no peso de plantas de várias espécies, quando as sementes foram inoculadas com *Bacillus* spp. e cultivadas em solos tratados com vapor (100°C-60°C), por 30 minutos.

De modo geral, é sugerido, mas não aceito por muitos pesquisadores, que hormônios de crescimento estejam envolvidos diretamente na ação das rizobactérias, já que em alguns trabalhos foi observada uma redução de efeitos no crescimento de plantas, quando estas foram desenvolvidas em solo autoclavado ou quando foram cultivadas sob condições gnotobióticas (Suslow & Schroth, 1982).

A maioria dos trabalhos da literatura sobre aumento no crescimento de plantas atribui este fenômeno a um efeito indireto associado ao controle biológico de patógenos menores, os quais interferem negativamente no crescimento de plantas (Kloepper *et al.*, 1980b; Kloepper & Schroth, 1981c). A falta de evidências para quaisquer efeitos estimulatórios no crescimento de plantas pela aplicação de hormônios de crescimento, exogenamente às raízes, faz acreditar que RPCPs estimulem o crescimento de plantas por meio de outros mecanismos que serão mencionados a seguir. Tem sido bem documentada a inoculação com RPCPs que produzem RCPs, particularmente quando estes metabólitos são liberados como resultado de interação inóculo-precursor. Entre as rizobactérias que têm apresentado esses efeitos estão as fixadoras de  $N_2$  que penetram o córtex radicular. É possível, portanto, que o uso destes inoculantes, juntamente com precursores de RCPs, possa melhorar o crescimento de plantas e a produção.

## **Aumento na Absorção de Fósforo**

Íons de nutrientes se movem no solo em direção às raízes por fluxo de massa com a água presente no solo e por difusão. Esses nutrientes nem sempre estão prontamente disponíveis às plantas: o fósforo, por exemplo, encontra-se no solo combinado em compostos de ferro, alumínio, cálcio e na matéria orgânica, sendo de baixa solubilidade.

Adubações com fosfatos naturais, com o objetivo de elevar o teor de fósforo na solução do solo, apresentam sérias restrições devido à baixa solubilidade.

Uma alternativa para maior eficiência na utilização de fosfatos naturais é a solubilização biológica, onde as bactérias, dentre elas algumas rizobactérias, exercem papel importante.

O efeito da solubilização é geralmente devido à produção de ácidos orgânicos no meio em que o microrganismo se desenvolve, cuja ação tem sido atribuída às suas propriedades quelantes, que possibilitam a formação de complexos estáveis com os íons  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Fe^{+++}$  e  $Al^{+++}$ .

Vários estudos têm sido realizados com diferentes fontes de fosfatos a fim de quantificar o fósforo disponível às plantas por intermédio de microrganismos solubilizadores. Tais estudos têm sido feitos em solos naturais e em solos esterilizados com e sem microrganismos. Em um dos estudos, hidroxiapatita foi usada para avaliar o efeito da inoculação de sementes com *Pseudomonas* sp. (Kavimandan & Gaur, 1971). Verificou-se que a quantidade de hidroxiapatita dissolvida pela bactéria não diferiu significativamente do controle não inoculado. Por outro trabalho, Lifshitz *et al.* (1987) demonstraram que uma linhagem de *P. putida* aumentou a absorção de fosfato radiomarcado por plântulas de canola, bem como os níveis de  $^{32}\text{P}$  em raízes e folhas.

*Bacillus megaterium* e *P. fluorescens* têm sido empregadas como inoculantes para aumentar a disponibilidade de P às plantas através da solubilização de fosfatos orgânicos via ação das fosfatases ou através da solubilização de fosfatos inorgânicos via ácidos orgânicos (Katznelson & Bose, 1959; Duff *et al.*, 1963; Martin, 1973). Em estudos conduzidos em câmaras de crescimento, inoculantes à base de *B. circulans* e *B. megaterium* var. *phosphatium* aumentaram o peso de plantas e a absorção de P em milheto e ervilha, respectivamente (Saber *et al.*, 1977; Raj *et al.*, 1981). Do mesmo modo, Gaing & Gaur (1991) relataram que uma linhagem de *B. subtilis* aumentou a biomassa, produção de grãos e absorção de P e N de feijão desenvolvido em um solo de campo deficiente em P, suplementado com fosfato de rocha. Em condições naturais de campo, Datta *et al.* (1982) também constataram que uma linhagem de *B. firmus*, solubilizadora de fosfato e produtora de ácido índole-acético e acético, aumentou a produção de grãos e absorção de P de arroz em um solo deficiente de P e suplementado com fosfato de rocha.

Diferentes espécies de *Bacillus*, como *B. thuringiensis*, *B. sphaericus*, *B. megaterium*, *B. polymixa* e *B. brevis* e uma linhagem de *Xanthomas maltophilia*, todas isoladas da rizosfera e com potencial de solubilizar fosfato de rocha, aumentaram a produção de vagens de *Brassica napus* L., mas não aumentaram, entretanto, a absorção de P pelas plantas (Freitas *et al.*, 1997). Embora o crescimento de plantas e produção de grãos varie em resposta à inoculação com bactérias solubilizadoras de P em estudos conduzidos em laboratórios e em campo, é aparente que o aumento da produção possa ser explicado por um ou vários mecanismos. Nesse sentido, Laheurte & Berthelin (1988) inocularam sementes de milho com uma linhagem de *Enterobacter agglomerans* solubilizadora

de fosfato, e avaliaram exsudados de raízes para verificar sua capacidade de solubilizar P. Os autores não observaram nenhuma correlação entre exsudados e solubilizados de P provenientes de fosfato de rocha, e a bactéria não causou nenhum efeito na absorção de P por plantas de milho. Sugeriram que *E. agglomerans* metaboliza os exsudados a substâncias de crescimento de plantas responsáveis pelo incremento na biomassa.

As RPCPs, especificamente linhagens de *Azospirillum*, também podem melhorar a eficiência na absorção de água pelas plantas em condições naturais de campo. Essas linhagens podem apresentar um coeficiente de extração da umidade do solo da ordem de 15% quando comparadas com plantas não inoculadas. Sobre esse assunto aconselha-se a leitura de Kapulnik *et al.* (1985).

Alguns autores observaram que *A. brasilense*, quando inoculada em trigo, sorgo e milho, tem resultado num aumento significativo na absorção de nitrato, potássio e fósforo (Lin *et al.*, 1983; Kapulnik *et al.*, 1983). Segundo os mesmos autores, estes incrementos na absorção devem ter sido consequência de um aumento geral causado na superfície radicular e não de uma aceleração específica do processo de absorção.

Embora os exatos mecanismos pelos quais as rizobactérias solubilizadoras de fosfatos estimulem o crescimento de plantas não estejam bem claros, pode-se, no entanto, verificar o grande potencial de uso dessas bactérias como biofertilizantes de culturas agrícolas desenvolvidas em solos pobres em fósforo.

## **Promoção da Simbiose entre RPCP e Bactérias Fixadoras de Nitrogênio**

Certas linhagens de RPCP estimulam a nodulação de plantas leguminosas por *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Uma linhagem de *P. putida*, selecionada como agente de biocontrole, estimulou a nodulação por *Rhizobium* em feijoeiro (Grimes & Mount, 1984). Uma linhagem de *P. syringae* pv. *tabaci*, produtora de uma toxina identificada como *talotoxinina-β-lactam*, quando inoculada em alfalfa aumentou o crescimento das plantas, estimulou a atividade da nitrogenase, o número de nódulos, o aumento no peso total de nódulos e a produção de nitrogênio sob condições controladas (Knight & Langston-Unkefer, 1988).

Linhagens de *Azotobacter vinelandii* promoveram um aumento no número de nódulos em soja, vigna e trigo. Em experimentos para se

comprovar os mecanismos responsáveis por tais efeitos, Burns *et al.* (1981) obtiveram mutantes negativos para fixação de  $N_2$  ( $fix^-$ ). Demonstraram que a fixação de  $N_2$  por *Azotobacter* não foi responsável pelo aumento na nodulação. Os autores comprovaram que extratos livres de células de *Azotobacter* da linhagem selvagem tiveram efeito sobre a nodulação. Sugere-se que substâncias reguladoras de crescimento de plantas sejam responsáveis pelo seu estímulo.

Uma bactéria que coloniza a rizosfera de soja e controla *Phytophthora* em plântulas, *Bacillus cereus* UW85, quando aplicada às sementes tem aumentado a nodulação de soja em condições de campo e em experimentos de laboratório (Halverson e Handelsman, 1991). A capacidade desta linhagem em aumentar a nodulação em um solo esterilizado sugere que UW85 tenha um efeito direto sobre a planta ou sobre *Bradyrhizobium*. A atividade de redução do acetileno foi aumentada de 25% a 73% quando sementes de soja foram tratadas com *B. cereus*, em comparação com o controle não tratado. Os autores concluíram que *B. cereus* provavelmente afeta o processo de nodulação logo após o plantio, por estimular infecções por *Bradyrhizobium*.

Estudos de co-inoculação com RPCR e *B. japonicum* têm demonstrado que aumentos na produção de grãos, vigor da planta, nodulação e fixação de nitrogênio têm sido resultado da presença de RPCR (Yahalon *et al.*, 1987; Lie & Alexander, 1988). Polonenko *et al.* (1987), trabalhando com soja, obtiveram um incremento na nodulação por *B. japonicum* e na promoção do crescimento de plantas. Similarmente, Dashti *et al.* (1997), numa tentativa de vencer os efeitos das baixas produções de soja cultivada sob baixa temperatura, co-inocularam sementes de soja com *B. japonicum* e *Serratia liquefaciens* ou *S. proteamaeulans*. Os autores observaram aumentos significativos na produção de grãos e produção de proteína em uma área com temperaturas baixas. Verificaram também que as interações existentes entre RPCP e cultivares de soja sugerem que as RPCPs aplicadas às cultivares mais produtivas foram mais efêvas.

Aumentos na produção de grãos, matéria seca de nódulos e atividade da nitrogenase também foram obtidos em grão-de-bico inoculado com uma mistura de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium* (Rai, 1983).

Verifica-se que, tanto em inoculação individual quanto conjunta com bactérias fixadoras de  $N_2$ , as RPCPs têm aumentado o crescimento de plantas e a nodulação.

## CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS

Um grande desafio na exploração de rizobactérias para o controle biológico recai na capacidade de transferir os sucessos alcançados em escala de laboratório para as condições naturais de campo. Embora muitos gêneros de rizobactérias sejam mencionados como agentes de biocontrole, as *Pseudomonas* do grupo *putida-fluorescens* têm sido usadas como inoculantes de sementes com bastante sucesso. Neste particular aconselha-se a leitura da revisão de Weller (1988).

A inoculação de antagonistas em sementes ou outras partes da planta envolve o estabelecimento destes no local da possível infecção, inibindo o microrganismo patogênico, proporcionando, desta forma, a proteção biológica do hospedeiro (Cook & Baker, 1983). Esta aplicação direta oferece uma vantagem competitiva sobre os patógenos, que deverão competir pelos mesmos sítios ecológicos antes de ocorrer a infecção (Schroth & Hancock, 1982).

Rizobactérias benéficas, fortes competidoras para um ou mais nutrientes na superfície da raiz, bem como boas colonizadoras e inibidoras de patógenos pela produção de antibióticos ou outros metabólitos, podem proporcionar uma melhor e mais consistente proteção de raízes e, conseqüentemente, um maior crescimento de plantas (Cook & Baker, 1983).

A Tabela 4 mostra alguns exemplos do controle biológico de fitopatógenos utilizando-se rizobactérias.

Os mecanismos pelos quais as RPCPs podem sobreviver na rizosfera e suprimir o ataque de patógenos são vários, podendo ocorrer mais de um ao mesmo tempo. Os antibióticos, quando produzidos na rizosfera, exercem função primordial na supressão da microflora deletéria; os sideróforos do tipo pioverdina, produzidos por rizobactérias em condições limitantes de ferro e proteínas receptoras de membrana, funcionam como mecanismos de biocontrole nestas condições ambientais, e a competição por nutrientes exsudados, pelas sementes e raízes de plantas. O estabelecimento de grandes populações bacterianas pode esgotar a disponibilidade de nutrientes na rizosfera, reduzindo a quantidade de carbono, nitrogênio e micronutrientes disponíveis utilizados pelos fungos patogênicos no seu crescimento.

**TABELA 4.** Relação de fitopatógenos onde rizobactérias têm sido utilizadas como agentes de controle.

CULTURA	RIZOBACTÉRIA	PATÓGENO	REFERÊNCIAS
Milho	<i>Pseudomonas cepacea</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	Hebbat <i>et al.</i> , 1992
Milho	<i>Bacillus</i> sp.	<i>F. roseum</i> f.sp. <i>cerealis</i>	Chang & Kommedahl, 1968
Trigo	<i>P. fluorescens</i>	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i>	Cook & Weller, 1987
Pepino	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>F. solani</i>	Melo & Valarini, 1995
Batata	<i>P. putida</i>	<i>Erwinia carotovora</i>	Mantovanelo & Melo, 1994
Maçã	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Phytophthora cactorum</i>	Lévesque <i>et al.</i> , 1993
Tulipa	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pythium ultimum</i>	Westersteijn, 1990
Algodão	<i>Enterobacter cloaceae</i> , <i>Erwinia herbicola</i>	<i>Pythium</i> sp.	Nelson, 1988
Algodão	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. ultimum</i>	Howell & Stipanovic, 1980
Beterraba e algodão	<i>P. fluorescens</i>	<i>Pythium</i> sp.	Walter & Gindrat, 1988
Trigo	<i>P. fluorescens</i>	<i>Pythium</i> sp.	Weller & Cook, 1986
Cenoura	<i>B. subtilis</i> , <i>Agrobacterium radiobacter</i>	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>A. tumefaciens</i>	Merriman <i>et al.</i> , 1974
Tomate	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Peixoto <i>et al.</i> , 1995

## Indução de Resistência Sistêmica

Estudos sobre os mecanismos de controle biológico por RPCPs têm verificado que estas protegem as plantas do ataque de patógenos atra-

vés de vários mecanismos, dentre os quais está a **indução de resistência sistêmica** (IRS). Esta é considerada um efeito indireto das RPCPs sobre os fitopatógenos. Um sistema de defesa localizado provocado pelo patógeno, chamado "hipersensibilidade", envolve a acumulação de fitoalexinas e requer síntese acelerada de enzimas associadas com a biossíntese fenólica. Estas enzimas incluem fenilalanina, amônia-liase, calcione sintase, peroxidase e proteínas relacionadas com o processo de patogênese, localizadas freqüentemente em espaços intercelulares e solúveis em ácido. É possível que RPCPs ativem também o sistema de defesa da planta.

Van Peer & Shippers (1992) relataram que plantas de cravo foram protegidas do ataque de *Fusarium* spp. através da IRS por *Pseudomonas* sp. Da mesma forma, Wei *et al.* (1991a) relataram IRS em folhas de pepino contra *Colletotrichum orbiculare* após a inoculação de sementes com linhagens selecionadas de RPCPs. *P. putida* e *Serratia marcescens*, que previamente haviam induzido resistência sistêmica à antracnose em pepino, também induziram resistência à mancha foliar causada por *P. syringae* pv. *lachrymans* (Liu *et al.*, 1995).

Efeitos sistêmicos após a inoculação com *P. putida*, *P. tolaasii* (P9A) e *P. aureofaciens* REW1-I-1 foram observados em folhas de feijão. Os níveis de proteínas solúveis em ácido aumentaram nas folhas de plantas inoculadas. Fitoalexinas e compostos fenólicos se acumularam nos cotilédones inoculados com o isolado REW1-I-1 (Zdor & Anderson, 1992). Segundo os autores, o isolado REW1-I-1 produziu HCN, um fator relacionado aos mecanismos de defesa da planta.

Essas RPCPs podem ser aplicadas tanto no solo como em sementes ou hipocótilos. O fenômeno de resistência induzida reside no fato de que a ação do indutor se faz sentir no metabolismo da planta hospedeira. De modo geral, a indução de resistência depende, em grande parte, do intervalo de tempo entre a aplicação do indutor e a inoculação com o patógeno; isso porque a planta precisa ativar seu mecanismo de defesa.

Trabalhos recentes mostram que a indução de resistência sistêmica mediada por RPCP apresenta-se bastante parecida com os trabalhos clássicos. Neste caso, a IRS requer indução via pré-inoculação com patógenos fracos, o que, em última análise, dificultaria o desenvolvimento de formulações comerciais. Já a IRS mediada por RPCP poderá ser utilizada via produção de inoculantes para o controle efetivo de doenças de plantas.

## COLONIZAÇÃO DE RAÍZES

A capacidade das RPCPs de colonizarem o sistema radicular é de fundamental importância para o seu efetivo uso como agentes de controle biológico. No entanto, tem sido sugerido que uma colonização variável seja, provavelmente, uma razão para que o controle seja inconsistente (Weller, 1988). A colonização compreende uma série de passos: migração em direção às raízes, ataque, distribuição ao longo das raízes, crescimento e estabelecimento da população. Após o contato inicial, vem a fase crucial que é a manutenção ou persistência, onde a bactéria utiliza exsudados das raízes para se multiplicar e sobreviver.

Quimiotactismo tem sido demonstrado em muitas bactérias associadas, particularmente, linhagens de *Pseudomonas* migram ativamente em direção a sementes no solo. Scher *et al.* (1985) hipotetizaram que este evento poderia ser o primeiro passo no estabelecimento da colonização de sementes e de raízes.

Para explicar o fenômeno de colonização de raízes por rizobactérias, alguns pesquisadores (Anderson *et al.*, 1988; Tari & Anderson, 1988) mostraram que uma linhagem de *P. putida* se aglutinou às raízes de feijão e pepino através de seu complexo de glicoproteínas. Essas evidências foram comprovadas com a obtenção de mutantes negativos ( $\text{Agg}^-$ ) para aglutinação. Comparados à linhagem selvagem, os mutantes  $\text{Agg}^-$  aderiram-se às raízes em menor extensão, colonizando-as moderadamente e levando a uma menor proteção de plantas de pepino contra *Fusarium oxysporum*.

Com relação à motilidade, Howie *et al.* (1987) e Scher *et al.* (1988) constataram que mutantes imóveis colonizaram as raízes de forma semelhante às linhagens selvagens; de onde se concluiu que a motilidade não é requerida nesse processo. Já De Weger *et al.* (1987) observaram que um mutante não-móvel de *Pseudomonas* spp. foi incapaz de colonizar as regiões inferiores das raízes de batata quando comparado com a linhagem parental.

Moléculas de polissacarídeos da superfície celular de *Agrobacterium* e *Rhizobium* mediam seu ataque e subsequente interação com células de plantas (Halverson & Stacey, 1986). As linhagens de *Pseudomonas* WCS 358 e WCS 374 têm polissacarídeos com longas cadeias laterais de O-antigênico. Destas linhagens, De Weger *et al.* (1987b) construíram

mutantes que não produziam as cadeias laterais de O-antigênico e que não diferiram das linhagens selvagens com relação ao ataque a partículas de sefadex ou raízes esterilizadas de batata. Estes achados conflitantes sobre o papel dos flagelos podem ser atribuídos a possíveis diferenças nos isolados bacterianos, na espécie de planta e nas condições físicas do solo, particularmente a umidade. Outros fatores não inerentes à bactéria podem facilitar ou não a colonização de raízes; dentre estes, podemos citar o potencial matricial, embora a bactéria introduzida possa se difundir a partir do material semeado para as raízes em uma ampla faixa de potencial osmótico (Weller, 1988).

Ainda com relação às bactérias associadas à planta hospedeira, os genes responsáveis pela nodulação em *Rhizobium* são induzidos por flavonas e compostos relacionados (Djordjevic *et al.*, 1987), e alguns genes em *Agrobacterium* são induzidos por acetosiringone e compostos relacionados (Stachel *et al.*, 1985). Esses compostos são liberados na rizosfera pela planta hospedeira e a indução dos genes é crítica para infecções subseqüentes. No caso das *Pseudomonas* não-patogênicas, essas interações não têm sido demonstradas, ou seja, a presença da planta não cria um ambiente que favoreça uma maior colonização.

De acordo com alguns estudos, as maiores populações de bactérias ocorrem em pressões na faixa de  $-0,3$  a  $0,7$  bar, na qual Howie *et al.* (1987) observaram que a disponibilidade de oxigênio e o potencial de turgor das células e/ou a disponibilidade de nutriente seriam adequados para o desenvolvimento de células bacterianas. A área de percolação pode servir também para estender a população bacteriana introduzida na direção das extremidades das raízes.

O pH e a temperatura são também fatores importantes na colonização. Para o crescimento *in vitro* de linhagens de *P. fluorescens* e *P. putida*, a temperatura seria de  $25-30^{\circ}\text{C}$ , e o pH de neutro a alcalino. No solo, porém, a colonização é favorecida nas temperaturas de  $12$  a  $18^{\circ}\text{C}$  e em pH de  $6,0$  a  $6,5$ . Isso ocorre porque temperatura e pH abaixo do ideal refletem na menor competição com a microbiota indígena.

A colonização de raízes, portanto, diz respeito ao crescimento da bactéria ao longo das raízes. Essa característica é pré-requisito primário na rizosfera, onde a colonização de novas superfícies radiculares formadas é realizada pela migração da microflora existente ou pelo inóculo do solo.

## RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS

Tem-se descoberto que algumas rizobactérias podem aumentar a emergência de plântulas. Experimentos em condições controladas e em condições de campo mostraram aumento da emergência de plântulas em até 100% (Kloepper *et al.*, 1986). Estas bactérias, chamadas “rizobactérias promotoras de emergência” – RPE, têm aumentado a emergência de plântulas, principalmente em condições de baixa temperatura do solo. Espécies de bactérias já conhecidas como promotoras do crescimento de plantas têm sido identificadas como RPEs, quais sejam: *Pseudomonas fluorescens* e *P. putida*. Todavia, um novo grupo de bactérias, não previamente relatadas como RPCP, foi descoberto: *Enterobacter aerogenes*, *Serratia liquefaciens* e *Beijerinckia* spp. (Kloepper *et al.*, 1986).

Uma linhagem de *P. aeruginosa* 7NSk2 e uma de *P. fluorescens* ANPI5 promotoras do crescimento de plantas (Höfte *et al.*, 1991b) induziram um aumento na germinação de sementes que haviam sido submetidas por 10 dias em condições de baixa temperatura. Plantas originadas de sementes tratadas com *Pseudomonas* que haviam sido submetidas a um período de frio tiveram um conteúdo de matéria seca superior ao das plantas-controle.

Os autores relataram que a produção de antibiótico por essas bactérias parece não estar envolvida na promoção da emergência de plântulas.

Rizobactérias isoladas do rizoplano de milho de inverno, cv. piranão de inverno – ESALQ, ou seja, variedade com antocianina nas folhas, plantada sob condições de baixa temperatura (16°C), foram selecionadas visando obter bactérias que aumentassem a germinação de sementes, por ocasião do plantio de inverno. Cerca de 72% dos isolados bacterianos, principalmente do gênero *Pseudomonas* spp., aumentaram a germinação de sementes em 31% (Melo & Lucon, 1995).

As constatações de rizobactérias promotoras da emergência que operam em condições de baixa temperatura têm fundamental importância na indústria de inoculantes microbianos. Estas bactérias podem atuar como antagonistas de microrganismos deletérios nas sementes em condições de baixa temperatura, como também podem produzir fatores de crescimento estimulados pelos exsudados das sementes durante a germinação.

## RIZOBACTÉRIAS DELETÉRIAS

A rizosfera é geralmente ocupada também por rizobactérias deletérias (RD) que inibem o crescimento de plantas e têm sido envolvidas em declínios na produção, associados com monocultivo contínuo. Inicialmente as RDs não eram consideradas colonizadoras de endorrizosfera e foram descritas como patógenos não-parasíticos (Woltz, 1978). Atualmente, sabe-se que as RDs freqüentemente penetram no córtex intercelularmente (Campbell *et al.*, 1987; van Peer *et al.*, 1990; Aström *et al.*, 1993).

Inúmeros relatos têm sido feitos sobre a presença de RD em várias culturas, gramíneas forrageiras e ervas-daninhas (Nehl *et al.*, 1996), e muitas delas incluem *Enterobacter taylore*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *Bacillus* sp., *B. polymixa*, *B. cereus*.

As dificuldades em se isolar RD devem-se ao fato de não se identificar os sintomas causados por esse tipo de rizobactéria. Os sintomas podem incluir inibição do crescimento da parte aérea e de raízes e não causar, no entanto, nenhum sintoma visual. Os sintomas foliares são freqüentemente similares àqueles de deficiência de nutrientes (Gerhardson *et al.*, 1985). As RDs também causam escurecimento e descoloração de raízes, necroses e inibição do desenvolvimento de pêlos radiculares (Suslow & Schroth, 1982; Schippers *et al.*, 1987).

Rizobactérias deletérias inibem primariamente o crescimento de plantas através da produção de fitotoxinas. Bakker & Schippers (1987) propuseram que a produção de cianida por rizobactérias era a responsável pela inibição do crescimento de batata em solo cultivado continuamente com batata. Sua hipótese foi baseada no fato de que 50% das pseudomonas da rizosfera produziram cianida *in vitro*, enquanto isolados que promoveram o crescimento de plantas não produziram cianida. As RDs também podem produzir metabólitos fitotóxicos não-voláteis. Aström *et al.* (1993) verificaram que um filtrado de cultura de *Pseudomonas* A313 inibiu a alongação de raízes de trigo. Contudo, Kirkegaard *et al.* (1995) notaram que os metabólitos examinados por Aström *et al.* (1993) poderiam reduzir o crescimento de raízes, mas os sintomas sobre a parte aérea eram produzidos somente na presença da bactéria.

Um outro mecanismo que deve afetar o crescimento de plantas pelas RDs é a produção de fitohormônios. Ácido Indol Acético (AIA) produzido por RD inibiu o crescimento radicular de beterraba (Loper & Schroth, 1986), enquanto linhagens de *Pseudomonas* não produtoras de AIA

não reduziram o crescimento radicular. Sarwar & Kremer (1995) verificaram que a inibição do crescimento radicular de algumas plantas cultivadas e ervas daninhas por uma linhagem de *Enterobacter taylore* que produz grandes quantidades de AIA foi aumentada sinergisticamente por triptofano, um precursor do AIA.

As rizobactérias deletérias também afetam o crescimento das plantas por competição de nutrientes. Competição da rizosfera de *Plantago major* L. causado por RD reduziu a absorção de P e, conseqüentemente, o crescimento da planta (Bass, 1990).

Verifica-se que as rizobactérias têm o potencial de agir tanto como RD como RPCP. As RDs representam um grupo importante de patógenos de plantas, cujo diagnóstico em condições de campo e controle torna-se bastante difícil devido à ausência de sintomas visuais e de mortalidade de plantas. Está claro que grande parte dos efeitos deletérios dessas rizobactérias estão associados com a prática da monocultura. Nesse sentido, a rotação de culturas deveria ser considerada uma prática de controle efetiva (Schippers *et al.*, 1987).

## **RIZOBACTÉRIAS QUE METABOLIZAM MOLÉCULAS XENOBIÓTICAS**

A biodegradação de alguns compostos xenobióticos sintetizados pelo homem e estranhos ao meio-ambiente tem sido favorecida na presença de raízes e exsudados de raízes de plantas (Hsu & Bartha, 1979; Walton & Anderson, 1990, 1992; Ferro *et al.*, 1994). Isso porque na rizosfera há uma grande biomassa microbiana e uma maior atividade, como resultado de substratos de carbono fornecidos pela rizodeposição. As plantas são expostas a compostos tóxicos de ocorrência natural, incluindo fenóis, diterpenos e alcalóides, e também a compostos antropogênicos potencialmente tóxicos. Por outro lado, a microbiota na rizosfera é capaz de degradar muitos dos compostos alelopáticos de ocorrência natural e substâncias xenobióticas sintéticas. As pseudomonas, muito comuns em solos rizosféricos, parecem ser bem adaptadas aos exsudados de raízes e utilizam prontamente substâncias orgânicas liberadas pelas plantas. Já espécies de *Arthobacter* são abundantes a baixos níveis de exsudados.

Em alguns casos, análogos estruturais de vários xenobióticos que fazem parte dos exsudados de raízes, componentes das paredes de

células e lisados, assim como produtos secundários de decomposição desses materiais, podem selecionar microrganismos que metabolizam ou cometabolizam xenobióticos.

Por outro lado, plantas podem ser úteis na estabilização e biorremediação de solos poluídos, atuando diretamente através de seu próprio metabolismo (Scheel *et al.*, 1984) ou através da estimulação de rizobactérias indígenas que podem metabolizar esses poluentes (Walton & Anderson, 1990; Boyle & Shann, 1995). No entanto, muitos poluentes na superfície do solo são fitotóxicos e, nesses casos, seria vantajoso combinar o tratamento de solos contaminados com a utilização de plantas e rizobactérias, de modo que a detoxicação por bactérias melhoraria o crescimento das plantas e evitaria a absorção e bioconcentração no tecido vegetal. Tem sido proposto que a atividade microbiana de rizobactérias pode proteger certas espécies de plantas que se desenvolvem em solos contaminados com herbicidas (Anderson *et al.*, 1994) e Pentaclorofenol (Pfender, 1996). Rizobactérias com potencial catabólico para diferentes tipos de poluentes poderiam servir como base de um sistema planta-bactéria para purificação do solo (Barkovskii *et al.*, 1995). Bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Azospirillum* e *Azotobacter* são organismos ideais para esse propósito, pois colonizam o rizoplane e rizosfera de muitas espécies de plantas. Elas são bem estudadas como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e fixadoras de  $N_2$  e, portanto, apresentam inúmeras vantagens quanto à produção de inoculantes. Nesse sentido, Venkateswarlu & Sethunatan (1984) isolaram uma linhagem de *Azospirillum lipoferum* com potencial de metabolizar o inseticida-nematicida carbofuran. Na mesma linha de pesquisa, Barkovskii *et al.* (1995) estudaram a capacidade de 31 linhagens de *A. brasilense* e *A. lipoferum*, isoladas da rizosfera e do rizoplane de diferentes plantas para degradar fenol e benzoato. Os autores observaram que nove das 31 linhagens possuíam a capacidade de degradar benzoato e 3 linhagens possuíam a capacidade de degradar fenol, e que o metabolismo desses compostos pelas bactérias foi dependente da presença de extrato de levedura.

A capacidade de linhagens de *Azospirillum* degradarem fenol e benzoato indica a presença das enzimas monoxigenases, dioxigenases e isomerases, cujas funções são a clivagem dos anéis aromáticos e a conversão dos produtos resultantes para metabolismo energético.

Hoagland *et al.* (1995) encontraram duas linhagens de *Pseudomonas* isoladas da rizosfera de arroz que hidrolisaram o herbicida propanil.

Essas linhagens apresentam alta atividade aril acilamidase (completa dissipação de propanil [N-(3,4-dichlorofenil) propanamida] a dicloroanilina – DCA). Embora DCA e outras cloroanilinas sejam resistentes à biodegradação no solo, algumas rizobactérias podem metabolizar tais compostos (You & Bartha, 1982; Zeyer & Kearney, 1982; Roque *et al.*, 1997). Aril acilamidases específicas responsáveis pela hidrólise de acetanilidas, tais como propanil, fenilureias e carbamatos, têm sido descritas para várias linhagens bacterianas, incluindo *Pseudomonas* (Kearney, 1965; Hirase & Matsunaka, 1989), *Alcaligines* (Hirase & Matsunaka, 1989), *Bacillus* (Wallnöfer & Bader, 1969) e *Corynebacterium* (Nakamura *et al.*, 1992).

Hsu & Bartka (1979) verificaram que a presença de plantas ou irrigação do solo com exsudados de raízes aumentou a taxa de degradação de parathion. A degradação do herbicida Mecoprop por uma comunidade microbiana isolada da rizosfera de trigo também tem sido documentada por Lappin *et al.* (1985).

A possibilidade de que raízes de plantas aumentam a degradação microbiana de moléculas xenobióticas pode abrir novos horizontes para resolver problemas relacionados com contaminação ambiental, através do uso de vegetação para remediação de solos. Também rizobactérias benéficas podem proteger plantas cultivadas dos efeitos tóxicos de pesticidas.

## CONCLUSÕES

Os resultados dos experimentos com a utilização de RPCPs na agricultura têm despertado o interesse de muitos pesquisadores, dado o seu potencial de controlar pragas, fixar  $N_2$ , detoxificar xenobióticos, entre outros atributos. No entanto, há inúmeros relatos indicando que inoculação com RPCPs nem sempre conduz a aumentos significativos da produção. Várias são as razões para essas inconsistências, incluindo, principalmente, caracteres intrínsecos das bactérias com competência ecológica (capacidade de competir e sobreviver na rizosfera) e perda de características importantes quando a bactéria é cultivada *in vitro*. Além disso, a natureza da microflora do solo pode afetar o comportamento das RPCPs. Essas devem competir com microrganismos indígenas por nutrientes e água.

A produção de metabólitos tóxicos pelas RPCPs que reduzem o crescimento da microflora competitiva pode, de certo modo, favorecer uma

maior competência na rizosfera. Ademais, uma eficiente colonização de raízes é um requisito fundamental para proteção de plantas contra fitopatógenos. Vários caracteres têm sido identificados como relevantes para colonização. Entre eles estão a presença de flagelo, a capacidade de sintetizar aminoácidos e a presença da cadeia lateral O-antigenic de polissacarídeo.

Todos esses caracteres mencionados não são fáceis de serem identificados e selecionados *in vivo*, e os testes envolvendo plantas são laboriosos, principalmente quando se trabalha com centenas de linhagens e/ou mutantes. No entanto, apesar desse inconveniente, os testes *in vivo* são os preferidos para se selecionar RPCPs.

## AGRADECIMENTO

O autor agradece a valiosa colaboração da Dra. Cleusa Maria Mantovanelo-Lucon pelas sugestões e revisão do manuscrito.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M. **Biodegradation and bioremediation**. San Diego: Academic Press, 1994. 302p.
- ANDERSON, A.J.; TARI, P.H.; TEPPER, C.S. Molecular studies on the role of the root surface agglutinin in adherence and colonization by *Pseudomonas putida*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.375-380, 1988.
- ANDERSON, T.A.; KRUGER, E.L.; COATS, J.R. Biological degradation of pesticide wastes in the root zone of soil collected at an agrochemical dealership. In: **Bioremediation through rhizosphere technology**. Washington: American Chemistry Society, 1994. p.199-209 (ACS Symposium Series, 0097-6156).
- ASSAF, N.A.; TURCO, R.F. Accelerated biodegradation of atrazine by a microbial consortium is possible in culture and soil. **Biodegradation**, v.5, p.29-35, 1994.
- ÄSTRÖM, B.; GUSTAFSSON, A.; GERHATDSON, B. Characteristics of a plant deleterious rhizosphere pseudomonad and its inhibitory metabolites. **Journal of Applied Bacteriology**, v.74, p.20-28, 1993.
- ATZORN, R.; CROZIER, A.; WHEELER, C.T.; SANDBERG, G. Production of gibberellins and indole-3-acetic acid by *Rhizobium phaseoli* in relation to nodulation of *Phaseolus vulgaris* roots. **Planta**, v.175, p.532-538. 1988.
- AZCON, R.; BAREA, J.M. Synthesis of auxins, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter beijerinckii* related to effects produced on tomato plants. **Plant Soil**, v.43, p.609-619, 1975.
- BADENOCH-JONES, J.; SUMMONS, R.E.; DJORDJENIC, M.A.; SHINE, J.; LETHAM, D.S.; ROLFE, B.G. Mass spectrometric quantification of indole-3-acetic acid in *Rhizobium* culture supernatants: relation to root hair curling and nodule initiation. **Applied Environmental Microbiology**, v.44, p.275-280, 1982.
- BAKKER, A.W.; SCHIPPERS, B. Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp.-mediated plant growth-stimulation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.451-457, 1987.
- BARDELEAV, M.E.; BARTHA, R. Rapid technique for enumeration and isolation of peroxidase-producing microorganisms. **Applied Microbiology**, v.18, p.274-275, 1969.
- BAREA, J.M.; BROWNM, E. Effects on plant growth produced by *Azotobacter paspali* related to synthesis of plant growth regulating substances. **Journal Applied Bacteriology**, v.37, p.583-593, 1974.

- BARKOVSKII, A.L.; KORSHUNOVA, V.E.; POZDNYACOVA, L.I. Catabolism of phenol and benzoate by *Azospirillum* strains. **Applied Soil Ecology**, v.2, p.17-24, 1995.
- BARTHA, R. Isolation of microorganisms that metabolize xenobiotic compounds. In: LABEDA, D., ed. **Isolation of biotechnological organisms from nature**. New York: MacGraw-Hill, 1990. p.283-307.
- BASS, R. Effects of *Glomus fasciculatum* and isolated rhizosphere microorganisms on growth and phosphate uptake of *Plantago major* ssp. *pleioperma*. **Plant and Soil**, v.124, p.187-193, 1990.
- BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R.P. Identification of gibberellins A<sub>1</sub>, A<sub>3</sub> and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, v.90, p.45-47, 1989.
- BOYLE, J.; SHANN, J. Biodegradation of phenol, 2,4-DCP, and 2,4,5-T in the field-collected rhizosphere and nonrhizosphere soils. **Journal of Environmental Quality**, v.24, p.782-785, 1995.
- BROADBENT, P.; BAKER, K.F.; FRANKS, N.; HOLLAND, J. Effect of *Bacillus* spp. on increased growth of seedling in steamed and in nontreated soil. **Phytopathology**, v.67, p.1027-1034, 1977.
- BROWN, M.E. Plant growth substances produced by microorganisms of soil and rhizosphere. **Journal Applied Bacteriology**, v.35, p.443-451, 1972.
- BROWN, M.E.; BURLINGHAM, S.K. Production of plant growth substances by *Azotobacter chroococcum*. **Journal General Microbiology**, v.53, p.135-144, 1968.
- BROWN, M.E.; BURLINGHAM, S.K. Production of plant substances by *Azotobacter chroococcum*. **Journal of General Microbiology**, v.53, p.135-144, 1968.
- BROWN, M.E.; BURLINGHAM, S.K.; JACKSON, R.M. Studies on *Azotobacter* species in soil. III. Effects of artificial inoculation on crop yield. **Plant and Soil**, v.20, p.194-214, 1964.
- BROWN, M.E.; BURLINGHAM, S.K.; JACKSON, R.M. Studies on *Azotobacter* species in soil. II. Populations of *Azobacter* in the rhizosphere and effects of artificial inoculation. **Plant and Soil**, v.17, p.320-332, 1962.
- BROWN, M.E.; WALKER, N. Indolyl-3-acetic acid formation by *Azotobacter chroococcum*. **Plant Soil**, v.32, p.250-253, 1970.
- BULARD, C.; GUICHARDON, B.; RIGAUD, J. Mise en évidence de substances de nature auxinique synthetisees par *Rhizobium* cultive en presence de thyptophane. **Ann. Inst. Pasteur**, v.105, p.150-157, 1963.
- BUYER, J.S.; LEONG, J. Iron transport-mediated antagonism between plant growth-promoting and plant-deleterious *Pseudomonas* strains. **Journal of Biological Chemistry**, v.261, p.791-794, 1986.
- CAIN, R.B.; MITCHELL, J.A. Enhanced degradation of the fungicide vinclozolin: isolation and characterization of a responsible organism. **Pesticide Science**, v.48, p.13-23, 1996.
- CAMPBELL, J.N.; CASS, D.D.; PETEYA, D.J. Colonization and penetration of intact canola seedling roots by an opportunistic fluorescent *Pseudomonas* sp. and the response of host tissue. **Phytopathology**, v.77, p.1166-1173, 1987.
- CLARK, A.G. Indole acetic acid production by *Agrobacterium* and *Rhizobium* species. **Microbios**, v.11A, v.29-35, 1974.
- COLYER, P.D.; MOUNT, M.S. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases. **Plant Disease**, v.68, p.703-706, 1984.
- COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: Amercian Phytopathology Society, 1983. 539 p.
- COTTERILL, E.G.; OWEN, P.G. Enhanced degradation in soil of triallate and other carbamate pesticide following application of triallate. **Weed Research**, v.29, p.65-68, 1989.
- DASHTI, N.; ZHANG, F.; HYNES, R.; SMITH, D.L. Application of plant growth-promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max*) increases protein and dry matter yield under short-season conditions. **Plant and Soil**, v.188, p.33-41, 1997.
- DATTA, M.; BANIK, S.; GUPTA, R.K. Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in angmenting paddy yield in acid soils of Nagaland. **Plant and Soil**, v.69, p.365-373, 1982.
- DE WEGER, L.A.; VAN DER BIJ, A.J.; DEKKERS, L.C.; SIMONS, M.; WIJFFELMAN, C.A.; LUGTENBERG, B.J.J. Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant-beneficial pseudomonas. **FEMS Microbiology Ecology**, v.17, p.221-228, 1995.

- DE WEGER, L.A.; van der VLUGT, C.I.M.; WIJFJES, A.H.M.; BAKKER, P.A.H.M.; SCHIPPES, B.; LUGTENBERG, B. Flagella of a plant-growth stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots. **Journal of Bacteriology**, v.169, p.2769-2773, 1987.
- DJORDJEVIC, M.A.; GABRIEL, D.W.; ROLFE, B.G. Rhizobium - the refined parasite of legumes. **Annual Review of Phytopathology**, v.25, p.145-168, 1997.
- DUFF, R.B.; WEBLEY, D.M.; SCOTT, R.O. Solubilization of minerals and related materials by 2-ketogluconic acid-producing bacteria. **Soil Science**, v.95, p.105-114, 1963.
- EL-BAHRAWY, S.A. Associative effect of mixed cultures of *Azotobacter* and different rhizosphere fungi with *Rhizobium japonicum* on nodulation and symbiotic nitrogen fixation of soybean. **Zentrbl. Mikrobiol.**, v.138, p.443-449, 1983.
- FERRO, A.M.; SIMS, R.C.; BUGBEE, B. Hycrest crested wheatgrass accelerated the degradation of pentachlorophenol in soil. **Journal of Environmental Quality**, v.23, p.272-279, 1994.
- FORREST, M.; LORD, K.A.; WALJER, N.; WOODVILLE, H.C. The influence of soil treatments on the bacterial degradation of diazinon and other organophosphorus insecticides. **Environmental Pollution**. Series A, v.24, p.93-104, 1981.
- FRAVEL, D.R. Role of antibiotics in the biocontrol of plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, v.26, p.75-91, 1988.
- FREITAS, J.R.; BANERJEE, M.R.; GERMIDA, J.J. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v.24, p.358-364, 1997.
- GAING, S.; GAUR, A.C. Thermotolerant phosphate solubilizing microorganisms and their interaction with mung bean. **Plant and Soil**, v.133, p.141-149, 1991.
- GERHARDSON, B.; ALSTRÖM, S.; RÄMERT, B. Plant reactions to inoculation of root with fungi and bacteria. **Phytopathologische Zeitschrift**, v.114, p.108-117, 1985.
- GIANNATTASIO, M.; COPPOLA, S. Isolamento di citochinine dal *Rhizobium leguminosarum* Frank. **G. Bot. Ital.**, v.103, p.11-17, 1969.
- GRIMES, H.D.; MOUNT, M.S. Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*. **Soil Biology and Biochemistry**, v.16, p.27-30, 1984.
- HALVERSON, J.L.; STACEY, G. Signal exchange in plant microbial interactions. **Microbiological Review**, v.50, p.193-225, 1986.
- HALVERSON, L.J.; HANDELSMAN, J. Enhancement of soybean nodulation by *Bacillus cereus* UW 85 in the field and in a growth chamber. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, n.9, p.2767-2770, 1991.
- HARTMANN, A.; SINGH, M.; KLINGMULLER, W. Isolation and characterization of *Azospirillum* mutants excreting high amounts of indoleacetic acid. **Canadian Journal Microbiology**, v.29, p.916-923, 1983.
- HIRASE, K.; MATSUNAKA, S. Properties of propanil hydrolase in soil bacteria. **Proceedings Brighton Crop Protection Conference Weeds**, v.2, p.419, 1989.
- HOAGLAND, R.; ZABLOTOWICZ, R. Rhizobacteria with exceptionally high aryl acylamidase activity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.52, p.190-200, 1995.
- HÖFTE, M.; BOELEN, J.; VERSTRAETE, W. Seed protection and promotion of seedling emergence by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strains 7NSK2 and ANPIS. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23, n.5, p.407-410, 1991b.
- HÖFTE, M.; SEONG, K.Y.; JURKEVITCH, E.; VERSTRAETE, W. Pyoverdinin production by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain 7NSK2 - ecological significance in soil. In: CHENT, Y.; HADAR, Y., ed **Iron nutrition and interactions in plants**. Dordrecht: Kluwer, 1991. p.289-297.
- HOREMANS, S.; KONINCK, K.D.; NEURAY, J.; HERMANS, R.; VLASSAK, K. Production of plant growth substances by *Azospirillum* sp. and other rhizobacteria. **Symbiosis**, v.2, p.341-346, 1986.
- HOWELL, C.R.; STIPANOVIC, R.D. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. **Phytopathology**, v.69, p.480-482, 1979.
- HOWELL, C.R.; STIPANOVIC, R.D. Suppression of *Pythium ultimum* - induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. **Phytopathology**, v.70, p.712-715, 1980.

- HOWIE, C.R.; SUSLOW, T.V. The effect of antifungal compound biosynthesis on cotton root colonization and *Pythium* suppression by a strain of *Pseudomonas fluorescens* and its antifungal minus isogenic mutant. **Phytopathology**, v.76, p.1069 (abstract), 1986.
- HOWIE, W.J.; COOK, R.J.; WELLER, D.M. Effects of soil matric potential and cell motility on wheat root colonization by fluorescent pseudomonadas suppressive to take-all. **Phytopathology**, v.77, p.286-292, 1987.
- HSU, T.S.; BARTHA, R. Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. **Applied Environmental Microbiology**, v.37, p.36-41, 1979.
- HUSSAIN, A.; VANCURA, V. Formation of biologically active substances by rhizosphere bacteria and their effect on plant growth. **Folia Microbiol.**, v.15, p.468-478, 1970.
- KAMPERT, M.; STRZELCZYK, E.; POKOJSKA, A. Production of auxins by bacteria isolated from roots of pine seedlings (*Pinus silvestris* L.). **Acta Microbiol. Pol.**, v.7, p.135-143, 1975.
- KAMPERT, M.; STRZELCZYK, E. Effect of pH on production of cytokinin-like substances by bacteria isolated from soil, rhizosphere and mycorrhizosphere of pine (*Pinus sylvestris* L.). **Acta Microbiol. Pol.**, v.33, p.77-85, 1984.
- KAPULNIK, Y.; GAFNY, R.; OKON, Y. Effect of *Azospirillum* spp. inoculation on root development and NO<sup>3</sup> uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv. miriam) in hydroponic systems. **Canadian Journal of Biology**, v.63, p.627-631, 1983.
- KAPULNIK, Y.; OKON, Y.; HENIS, Y. Changes in root morphology of wheat caused by *Azospirillum* inoculation. **Canadian Journal of Microbiology**, v.31, p.881-887, 1985.
- KATZNELSON, H.; BOSE, B. Metabolic activity and phosphate dissolving capability of bacterial isolates from wheat roots, rhizosphere and non-rhizosphere soil. **Canadian Journal of Microbiology**, v.5, p.79-85, 1959.
- KATZNELSON, H.; COLE, S.E. Production of gibberellin-like substances by bacteria and actinomycetes. **Canadian Journal Microbiol.**, v.11, p.733-741, 1965.
- KATZNELSON, H.; SIROIS, J.C.; COLE, S.E. Production of a gibberellin-like substance by *Arthrobacter globiformis*. **Nature**, v.196, p.1012-1012, 1962.
- KAVIMANDAN, S.K.; GAUR, A.C. Effect of seed inoculation with *Pseudomonas* sp. on phosphate uptake and yield of maize. **Current Science**, v.40, p.439-440, 1971.
- KEARNEY, P.C. Purification and properties of an enzyme responsible for hydrolysing phenylcarbamates. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.13, p.561, 1965.
- KIRKEGAARD, J.A.; MUNS, R.; JAMES, R.A.; GARDNER, P.A.; ANGUS, J.F. Reduced growth and yield of wheat with conservation cropping. Soil biological factors limit growth under direct drilling, 2. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.46, p.75-88, 1995.
- KLOEPPER, J.W.; LEONG, J.; TEINTZE, M.; SCHROTH, M.N. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. **Nature**, v.286, p.885-886, 1980b.
- KLOEPPER, J.W.; LEONG, J.; TEINTZE, M.; SCHROTH, M.N. Pseudomonas siderophores: a mechanism explaining disease-suppressive soils. **Current Microbiology**, v.4, p.317, 1980a.
- KLOEPPER, J.W.; SCHER, F.M.; LALIBERTE, M.; TIPPING, B. Emergence-promoting rhizobacteria: description and implication for agriculture. In: SWINBURNE, T.R., ed. **Iron, Siderophores and plant diseases**. New York: Plinun Press, 1986. p.155-181.
- KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**, v.71, p.642-644, 1981.
- KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N.; MILLER, T.D. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. **Phytopathology**, v.70, p.1078-1082, 1980.
- KLOEPPER, J.W.; TUZUN, S.; KUÉ, J. Proposed definitions related to induce disease resistance. **Biocontrol Science and Technology**, v.2, p.349-351, 1992.
- KNIGHT, T.J.; LANGSTON-UNKEFER, P.J. Enhancement of symbiotic dinitrogen fixation by a toxin-releasing plant pathogens. **Science**, v.241, p.951-954, 1988.
- LAHEURTE, F.; BERTHELIN, J. Effect of a phosphate-solubilizing bacteria on maize growth and root exudation over four levels of labile phosphorus. **Plant and Soil**, v.105, p.11-17, 1988.
- LAPPIN, H.M.; GREAVES, M.P.; SLATER, J.H. Degradation of the herbicide Mecoprop [2-(2-methyl-4-chlorophenoxy) propionic acid] by a synergistic microbial community. **Applied and Environmental Microbiology**, v.49, p.429-433, 1985.

- LEONG, J. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v.24, p.187-209, 1986.
- LIE, D.M.; ALEXANDER, A. Co-inoculation with antibiotic producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. **Plant and Soil**, v.108, p.211-219, 1988.
- LIFSHITZ, R.; KLOPPER, J.W.; KOZLOWSKIM M.; SIMONSON, C.; CARLSON, J.; TIPPING, E.M.; ZALESKA, I. Growth promotion of canola (rapeseed) seedling by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, v.33, p.390-395, 1987.
- LIM, W.; OKON, Y.; HARDY, R.W.F. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.45, p.1775-1779, 1983.
- LIU, L.; KLOPPER, J.W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, v.85, p.843-847, 1995.
- LOPER, J.E.; SCHROTH, M.N. Influence of bacterial sources of indol-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. **Phytopathology**, v.76, p.386-389, 1986.
- LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v.4, p.1-50, 1996.
- MAHMOUD, S.A.Z.; RAMADAN, E.M.; THABET, F.M.; KHATER, T. Production of plant growth promoting substances by rhizosphere microorganism. **Zentrbl. Mikrobiol.**, v.139, p.227-232, 1984.
- MANTOVANELO, C.M.; MELO, I.S. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathologica**, v.20, p.123-126, 1994.
- MARTIN, J.K. The influence of rhizosphere microflora on the availability of <sup>32</sup>P-myooinositol hexophosphate phosphorus to wheat. **Soil Biology and Biochemistry**, v.5, p.473-483, 1973.
- MELO, I.S.; LUCON, C.M.M. Efeito de rizobactérias na germinação de sementes e no crescimento de plantas de milho, em baixa temperatura. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.350 (suplemento), 1995.
- MELO, I.S.; VALARINI, P.J. Potencial de rizobactérias no controle de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. em pepino (*Cucumis sativum* L.). **Scientia Agrícola**, v.52, p.326-330, 1995.
- MERRIMAN, P.R.; PRICE, R.D.; KOLLMORGEN, J.F.; PIGGOTT, T.; RIDGE, E.H. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. **Journal of Agriculture Research**, series A, v.25, p.219-226, 1974.
- NAKAMURA, T.; MOCHIDA, K.; LI, W.X.; OZOE, Y. Isolation of aryl acylamidase - producing bacteria and some properties of the extracellular enzyme. **Journal of Pesticide Science**, v.17, p.99, 1992.
- NEHL, D.B.; ALLEN, S.J.; BROWN, J.F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. **Applied Soil Ecology**, v.5, p.1-20, 1996.
- NIETO, K.F.; FRANKENBERGER JR., W.T. Biosynthesis of cytokininins by *Azotobacter chroococcum*. **Soil Biology Biochemistry**, v.21, p.967-972, 1989a.
- OBRIGAWITCH, T.; MARTIN A.R.; ROETH, F.W. Degradation of thiocarbamate herbicides in soils exhibiting rapid EPTC breakdown. **Weed Science**, v.31, p.187-192, 1983.
- OBRIGAWITCH, T.; WILSON, R.G.; MARTIN, A.R.; ROETH, F.W. The influence of temperature, moisture and prior EPTC application on the degradation de EPTC in soils. **Weed Science**, v.30, p.175-181, 1982.
- PARKE, J.L.; RAND, R.E.; JOY, A.E.; KING, E.B. Biological control of *Pythium* damping-off and *Aphanomyces* root rot of peas by application of *Pseudomonas cepacia* or *P. fluorescens* to seed. **Plant Disease**, v.75, p.987-992, 1991.
- PEIXOTO, A.R.; MARIANO, R.L.R.; MICHEREFF, S.J.; OLIVEIRA, S.M.A. Colonização, sobrevivência e mecanismos de ação de isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, agente potencial para o biocontrole de *Pseudomonas solanacearum*, em tomate. **Summa Phytopathologica**, v.21, p.213-218, 1995.
- PFENDER, W.F. Bioremediation bacteria to protect plants in pentachlorophenol-contaminated soil. **Journal of Environmental Quality**, v.25, p.1256-1260, 1996.
- PHILLIPS, D.A.; TORREY, J.G. Studies on cytokinin production by *Rhizobium*. **Plant Physiol.**, v.49, p.11-15, 1972.
- POLONENKO, D.R.; SCHER, F.M.; KLOPPER, J.W.; SINGLETON, C.A.; LALIBERTE, M.; ZALESKA, I. Effects of root colonization bacteria on nodulation of soybean roots by *Bradyrhizobium japonicum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.33, p.498-503, 1987.

- PRIKRYL, Z.; VANCURA, V.; WURST, M. Auxin formation by rhizosphere bacteria as a factor of root growth. **Biol. Plant.**, v.27, p.159-163, 1985.
- PUPPO, A.; RIGAUD, J. Cytokinins and morphological aspects of French-bean roots in the presence of *Rhizobium*. **Physiol. Plant.**, v.42, p.202-206, 1978.
- RACKE, K.D.; COATS, J.R. Enhanced degradation of isofenphos by soil micro-organisms. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.35, p.94-99, 1987.
- RAI, R. Efficacy of associative N<sub>2</sub>-fixation by streptomycin resistant mutants of *Azospirillum brasilense* with genotypes of chick pea *Rhizobium* strains. **Journal of Agricultural Science**, v.100, p.75-80, 1983.
- RAJ, J.; BAGYARAJ, D.J.; MANJUNATH, A. Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate dissolving bacterium on plant growth and <sup>32</sup>P-uptake. **Soil Biology and Biochemistry**, v.13, p.105-108, 1981.
- READ, D.C. Enhanced microbial degradation of carbofuran and fensulfothion after repeated applications to acid mineral soil. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v.10, p.37-46, 1983.
- ROQUE, M.R. A.; FERRACINI, V.L.; COELHO, K.C.; MELO, I.S. Biodegradação do herbicida diuron por rizobactérias. XIX Congresso Brasileiro de Microbiologia, 11-15 de novembro, Rio de Janeiro, p.193, 1997.
- SABER, M.S.M.; YOURSY, M.; KABESH, M.O. Effect of manganese application on the activity of phosphate dissolving bacteria in a calcareous soil cultivated with pea plants. **Plant and Soil**, v.47, p.335-339, 1977.
- SARWAR, M.; KREMER, R.J. Enhanced suppression of plant growth through production of L-tryptophan derived compounds by deleterious rhizobacteria. **Plant and Soil**, v.172, p.261-269, 1995.
- SHELL, D.; SCHAFFER, W.; SANDERMAN JR.; H. Metabolism of pentachlorophenol in cell suspension cultures of soybean (*Glycine max* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L. general results and isolation of lignin metabolism. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.32, p.1237-1241, 1984.
- SCHER, F.M.; KLOPPER, J.W.; SINGLETON, C.; ZALESKA, I.; LALIBERTE, M. Colonization of soybean root by *Pseudomonas* and *Serratia* species: relationship to bacterial motility, chemotaxis and generation time. **Phytopathology**, v.78, p.1055-1059, 1988.
- SCHER, F.M.; KLOPPER, J.W.; SINGLETON, C.A. Chemotaxis of fluorescent *Pseudomonas* spp. to soybean seed exudates *in vitro* and in soil. **Canadian Journal of Microbiology**, v.31, p.570-570, 1985.
- SCHIPPERS, A.B.; BAKKER, A.W.; BAKKER, P.A.H.M.A Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. **Annual Review of Phytopathology**, v.25, p.339-358, 1987.
- SCHROTH, M.N.; HANCOCK, J.C. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. **Science**, v.216, p.1376, 1381, 1982.
- SIMEONI, L.A.; LINDSAY, W.L.; BAKER, R. Critical iron level associated with control of Fusarium wilt. **Phytopathology**, v.77, p.1957-2061, 1987.
- SLADE, E.A.; FULLERTON, R.A. Degradation of the dicarboxide fungicides iprodione, vinclozolin and procymidone in patumahoe clay loam soil, New Zealand. **Pesticide Science**, v.35, p.95-100, 1992.
- STACHEL, S.E.; MESSENS, E.; VAN MONTAGU, M.; ZAMBRYSKI, J. Identification of the signal molecules produced by wounded plant cells that activate T-DNA transfer in *Agrobacterium tumefaciens*. **Nature**, v.318, p.624-629, 1985.
- STRZELCZYK, E.; POKOJSKA-BURDZIEJ, A. Production of auxins and gibberellin-like substances by mycorrhizal fungi, bacteria and actinomycetes isolates from soil and mycorrhizosphere of pine (*Pinus silvestris* L.) **Plant Soil**, v.81, p.185-194, 1984.
- SUSLOW, T.V.; SCHROTH, M.N. Role of deleterious rhizosphere as minor pathogens in reducing crop growth. **Phytopathology**, v.72, p.111-115, 1982.
- TARI, P.H.; ANDERSON, A.J. Fusarium wilt suppression and agglutinability of *Pseudomonas putida*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.2037-2041, 1988.
- THOMASHOW, L.S.; WELLER, D.M. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. tritici. **Journal Bacteriology**, v.170, p.3499-3508, 1988.
- TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied Environmental Microbiology**, v.37, p.1016-1024, 1979.

- TURNER, J.T.; BACKMAN, P.A. Factors relating to peanut yield increases following *Bacillus subtilis* seed treatment. **Plant Disease**, v.75, p.347-353, 1991.
- VAN PEER, R.; PUNTE, H.L.M.; WEGEG, L.A.; SCHIPPERS, B. Characterization of root surface and endorhizosphere pseudomonads in relation to their colonization of roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, p.2462-2470, 1990.
- VAN PEER, R.; SCHIPPERS, B. Lipopolysaccharides of plant growth promoting *Pseudomonas* sp. strain wes417r induce resistance in carnation to *Fusarium* wilt. **Netherland Journal of Plant Pathology**, v.98, p.129-139, 1992.
- VENKATESWARLU, K.; SETHUNATAN, N. Degradation of carbofuran by *Azospirillum lipoferum* and *Streptomyces* spp. isolated from floted aluvial soil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.33, p.556-560, 1984.
- WALKER, A. Further observations on the enhanced degradation of iprodione and vinclozolin in soil. **Pesticide Science**, v.21, p.219-231, 1987.
- WALLNÖFFER, P.R.; BADER. The decomposition of urea herbicide by *Bacillus sphaericus*, isolated from soil. **Weed Research**, v.9, p.333, 1969.
- WALTON, B.T.; ANDERSON, T.A. Microbial degradation of trichloroethylene in the rhizosphere: potencial application to biological remediation of waste sides. **Applied Environmental Microbiology**, p.1012-1016, 1990.
- WANG, T.L.; WOOD, E.A.; BREWING, N.J. Growth regulators, *Rhizobium* and nodulation in peas: the cytokinin content of a wild tyope and a ti-plasmid-containing strain of *R. leguminosarum*. **Planta**, v.155, p.350-355. 1982.
- WEI, G.; KLOPPER, J.W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by selected strains of plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, v.81, p.1508-1512, 1991a.
- WEI, G.; KLOPPER, J.W.; TUZUN, S. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. **Phytopathology**, v.86, p.221-224, 1996.
- WELLER, D.M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, v.26, p.379-407, 1988.
- WELLER, D.M.; COOK, R.J. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. **Phytopathology**, v.73, p.463-469, 1983.
- WOLTZ, S.S. Nonparasitic plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v.16, p.403-430, 1978.
- XU, G.W.; GROSS, D.C. Selection of fluorescent pseudomonads antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. **Phytopathology**, v.76, p.414-422, 1986.
- YAHALON, E.; OKON, Y.; DOVRAT, A. *Azospirillum* effects on susceptibility to *Rhizobium* nodulation and on nitrogen fixation of several forage legumes. **Canadian Journal of Microbiology**, v.33, p.510-514, 1987.
- YARDEN, O.; KATAN, J.; AHARONSON, N.; BEN-YEPHET, Y. Delayed and enhanced degradation of benomyl and carbendazim in desinfested and fungicide treated soil. **Phytopathology**, v.75, p.763-767, 1985.
- YOU, I.S.; BARTHA, R. Metabolism of 3,4-dicloroaniline by *Pseudomonas putida*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.30, p.330, 1991.
- ZDOR, R.E.; ANDERSON, A.J. Influence of root colonizing bacteria on the defense responses of bean. **Plant and Soil**, v.140, p.99-107, 1992.
- ZEYER, J.; BARTHA, R. Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides diazinon, parathion in the rhizosphere of the bush bean plant. **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.36-41, 1979.