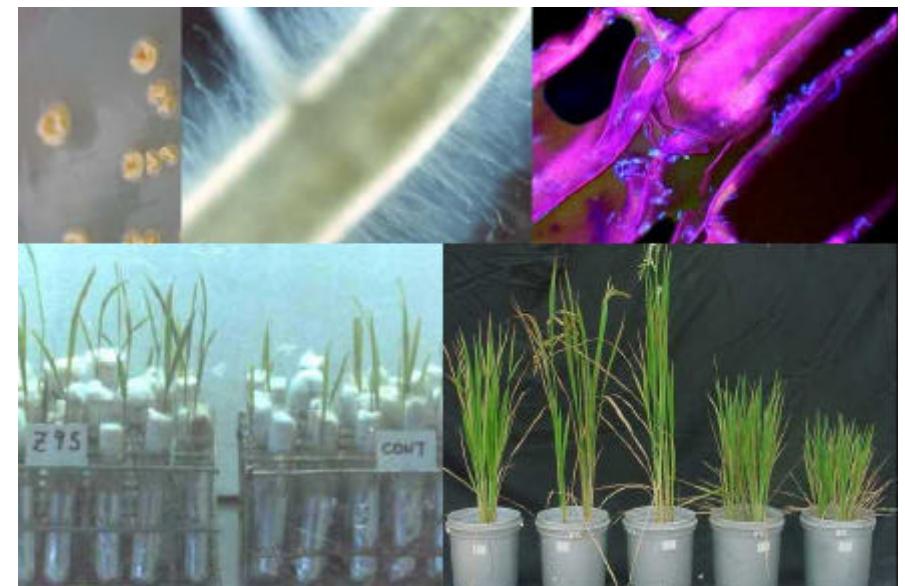


Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal



República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura e do Abastecimento

Roberto Rodrigues
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio
Presidente

Clayton Campanhola
Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires
Dietrich Gerhard Quast
Sérgio Fausto
Urbano Campos Ribeiral
Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola
Diretor Presidente

Gustavo Kauark Chianca
Herbert Cavalcante de Lima
Mariza Marilena T. Luz Barbosa
Diretores Executivos

Embrapa Agrobiologia

José Ivo Baldani
Chefe Geral

Eduardo Francia Carneiro Campello
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Rosângela Straliotto
Chefe Adjunto Administrativo

VAN PEER, R.; PUNTE, H. L. M.; DE WEGER, L. A.; SCHIPPERS, B. Characterisation of root surface and eendorhizosphere pseudomonads in relation to their colonization of roots. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 56, p. 2462-2470, 1990.

VANDE BROEK, A.; LAMBRECHT, M.; EGGERMONT, K.; VANDERLEYDEN, J. Auxins upregulate expression of the indole-3-pyruvate decarboxylase gene in *Azospirillum brasiliense*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 181, n. 4, p. 1338-1342, 1999.

VAZQUEZ, M. M.; CÉSAR, S.; AZCÓN, R.; BAREA, J. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, p. 261-272, 2000.

WEI, G.; KLOEPFER, J. W.; TUZUN, S. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, p. 221-224, 1996.

WIEHE, W.; HECHT-BUCHHOLZ, C.; HÖFLICH, G. Electron microscopy investigations on root colonization of *Lupinus albus* and *Pisum sativum* with two associative plant growth promoting rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii*. **Symbiosis**, Rehovot, v. 17, p. 15-31, 1994.

WILSON, D. Endophyte - The evolution of a term, and classification of its use and definition. **Oikos**, Copenhagen, v. 73, p. 274-276, 1995.

WINANS, S. C. Command, control and communication in bacterial pathogenesis. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 6, n. 10, p. 382-383, 1998.

WHITEHEAD, N. A.; BARNARD, A. M. L.; SLATER, H.; SIMPSON, N. J. L.; SALMOND, G. P. C. Quorum sensing in Gram-Negative bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, Haren, v. 25, n. 4, p 365-404, 2001.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia
Ministério da Agricultura e do Abastecimento

ISSN 1517-8498
Agosto/2003

Documentos 161

Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal

André Luiz Martinez de Oliveira

Segundo Urquiaga

José Ivo Baldani

Seropédica – RJ

2003

Exemplares desta publicação podem ser adquiridas na:

Embrapa Agrobiologia

BR465 – km 7

Caixa Postal 74505

23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil

Telefone: (0xx21) 2682-1500

Fax: (0xx21) 2682-1230

Home page: www.cnpab.embrapa.br

e-mail: sac@cnpab.embrapa.br

Comitê Local de Publicações: José Ivo Baldani (Presidente)

José Antônio Ramos Pereira

Marcelo Grandi Teixeira

Robert Michael Boddey

Segundo Sacramento Urquiaga Caballero

Verônica Massena Reis

Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

Expediente:

Revisor e/ou ad hoc: Verônica Massena Reis

Normalização Bibliográfica: Dorimar dos Santos Félix

Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia

1ª impressão (2003): 50 exemplares

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, ago. 2003. 40 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161).

ISSN 1517-8498

1. Microrganismo. 2. Microbiologia do solo, 3. Crescimento. 4. Interação planta-bactéria. I. URQUIAGA, S., colab. II. BALDANI, J. I., Colab. III. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Seropédica, RJ). IV. Título. V. Série.

CDD 579

© Embrapa 2003

SEVILLA, M.; DE OLIVEIRA, A.; BALDANI, I.; KENNEDY, C. Contributions of the bacterial endophyte *Acetobacter diazotrophicus* to sugarcane nutrition: a preliminary study. **Symbiosis**, Rehovot, v. 25, p. 181-191, 1998.

SINGH, C. S.; SUBBA RAO, N. S. Associative effect of *Azospirillum brasilense* with *Rhizobium japonicum* on nodulation and yield of soybean (*Glycine max*). **Plant and Soil**, The Hague, v. 53, p. 387-392, 1979.

SRINIVASAN, M.; PETERSEN, D. J.; HOLL, F. B. Nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* is enhanced by the presence of *Bacillus*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 1-8, 1997.

STEENHOUT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology Reviews**, Haren, v. 24, p. 487-506, 2000.

STEPHENS, P. M.; CROWLEY, J. J.; OCONNELL, C. Selection of pseudomonad strains inhibiting *Pythium ultimum* on sugarbeet seeds in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 1283-1288, 1993.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

STURZ, A. V.; NOWAK, J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, p. 183-190, 2000.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; EGGENBERG, P.; BIRO, B.; KÖVES-PECHY, K.; VÖRÖS, I.; STRASSER, R. J. Synergistic and antagonistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers on the photosynthetic activity of alfalfa, probed by the polyphasic chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, p. 169-182, 2000.

PICKUP, R. W. Development of molecular methods for the detection of specific bacteria in the environment. **Journal of General Microbiology**, London, v. 137, p 1009-1019, 1991.

PRINSEN, E.; COSTACURTA, A.; MICHELS, K.; VANDERLEYDEN, J.; VAN ONCKELEN, H. *Azospirillum brasiliense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 6, p. 609-615, 1993.

RAGHOTHAMA, K. G. Phosphate aquisition. **Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 665-693, 1999.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T. Life in grasses: diazotrophic endophytes. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 6, p. 139-144, 1998.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 17, p. 319-339, 1999.

ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência a patógenos**. Disponível em: <<http://www.ufv.br/fp/bac/indures.pdf>>. Acesso em: fev. 2003.

RUPPEL, S.; HECHT-BUCHHOLZ, C.; REMUS, R.; ORTMANN, U.; SCHMELZER, R. Settlement of the diazotrophic, phytoeffective bacterial strain *Pantoea agglomerans* on and within winter wheat: an investigation using ELISA and transmission electron microscopy. **Plant and Soil**, The Hague, v. 145, p. 261-273, 1992.

SCHLITTER, M.; KIRCHHOH, G.; HEINZMANN, J.; DÖBEREINER, J.; HARTMANN, A.. Immunological studies of the wheat-root-colonization by the *Azospirillum brasiliense* strain Sp7 and Sp245 using strain-specific monoclonal antibodies. In: HEGAZI, N. A.; FAYEZ, M.; MONIB, M., (Ed.). **Nitrogen fixation with non-legumes**; The Sixth International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-Legumes, Ismailia, Egypt, 6-10 September 1993. Cairo: The American University, 1994. p. 2911-297.

Autores

André Luiz Martinez de Oliveira

Estudante de Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo, UFRRJ, RJ, Bolsista da CAPES

Segundo Urquiaga

Pesquisador da Embrapa Agrobiologia.
BR 465, km 7 – Caixa Postal 74505
23851-970 – Seropédica/RJ

José Ivo Baldani

Pesquisador da Embrapa Agrobiologia.
BR 465, km 7 – Caixa Postal 74505
23851-970 – Seropédica/RJ

MARIN, V. A.; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. R. dos S.;
BALDANI, J. I. **Fixação biológica de nitrogênio:** bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 34 p. (Embrapa-CNPB. Documentos, 91).

MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B. R. Effect of wild-type and mutant plant growth-promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. **Journal of Plant Growth Regulation**, Berlin, v. 18, p. 49-53, 1999.

MCCULLY, M. E. Niches for bacterial endophytes in crop plants: a biologist view. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 28, n. 9, p. 983-990, 2001.

MELO, I. S. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I.S. de; AZEVEDO, J. L. de, (Ed.). **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1997. p. 87-116. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 11).

MICHELS, K. W.; CROES, C. L.; VANDERLEYDEN, J. Two different modes of attachment of *Azospirillum brasiliense* Sp7 to wheat roots. **Journal of General Microbiology**, London, v. 137, p. 2241-2246, 1991.

NEILANDS, J. B.; LEONG, S. A.. Siderophores in relation to plant growth and disease. **Annual Reviews in Plant Physiology**, Palo Alto, v. 37, p.187-208, 1986.

NEJAD, P.; JOHNSON, P. A. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. **Biological Control**, San Diego, v. 18, n. 3, p. 208-215, 2000.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 42, p. 207-220, 1996.

KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S.; ZEHNDER, G. W.; WEI, G. Multiple disease protection by rhizobacteria that induce systemic resistance - historical precedence. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, p. 136-137, 1997b.

KUNDU, B. S.; GAUR, A. C. Rice response to inoculation with N₂-fixing and P-solubilizing microorganisms. **Plant and Soil**, The Hague, v. 79, p. 227-234, 1984.

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Indole-3-acetic-acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 8, n. 7, p. 298-300, 2000.

LIU, L.; KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria: duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. **Phytopathology**, St. Paul, v. 85, p. 1064-1068, 1995.

LONG, S. R. *Rhizobium* symbiosis: Nod factors in perspective. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 1885-1898, 1996.

LOPER, J. E.; SCHROTH, M. N. Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. **Phytopatology**, St. Paul, v. 76, p. 386-389, 1986.

MAHAFFEE, W. F.; BAUSKE, E. M.; VAN VUURDE, J. W. L.; VAN DER WOLF, J. M.; VAN DEN BRINK, M.; KLOEPPER, J. W. Comparative analysis of antibiotic resistance, immunofluorescent colony staining and a transgenic marker (bioluminescence) for monitoring the environmental fate of a rhizobacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, p. 1617-1622, 1997.

MANULIS, S.; HAVIV-CHESNER, A.; BRANDI, M. T.; LINDOW, S. E.; BARASH, I. Differential involvement of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in pathogenicity and epiphytic fitness of *Erwinia herbicola* pv. *gypsophilae*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 11, n. 7, p. 634-642, 1998.

Apresentação

A preocupação crescente da sociedade com a preservação e a conservação ambiental tem resultado na busca pelo setor produtivo de tecnologias para a implantação de sistemas de produção agrícola com enfoque ecológicos, rentáveis e socialmente justos. O enfoque agroecológico do empreendimento agrícola se orienta para o uso responsável dos recursos naturais (solo, água, fauna, flora, energia e minerais).

Dentro desse cenário, a Embrapa Agrobiologia orienta sua programação de P&D para o avanço de conhecimento e desenvolvimento de soluções tecnológicas para uma agricultura sustentável.

A agricultura sustentável, produtiva e ambientalmente equilibrada apoia-se em práticas conservacionistas de preparo do solo, rotações de culturas e consórcios, no uso de adubação verde e de controle biológico de pragas, bem como no emprego eficiente dos recursos naturais. Infere-se daí que os processos biológicos que ocorrem no sistema solo/planta, efetivados por microrganismos e pequenos invertebrados, constituem a base sobre a qual a agricultura agroecológica se sustenta.

O documento 161/2003 aborda o papel que as bactérias as denominadas endofíticas – que colonizam o interior dos tecidos das plantas e as de rizosfera exercem sobre o crescimento vegetal. Os diferentes mecanismos desenvolvidos por estas bactérias e que influenciam o crescimento vegetal são apresentados e discutidos. Dentre eles, destacam-se o processo de fixação biológica de nitrogênio, produção de fito- hormônios, produção de sideróforos e antibióticos, antagonismo a fitopatógenos, etc. O documento sugere que os efeitos sobre o desenvolvimento das plantas são aditivos visto as diferentes possibilidades de atuação dessas bactérias, também conhecidas como bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). A exploração do potencial de BPCV na agricultura abre novas perspectivas para a redução no uso dos insumos químicos dentro do enfoque de uma agricultura orientada para o uso racional dos recursos naturais que visa a preservação do meio ambiente.

S U M Á R I O

1. Introdução	07
2. Patogênica ou promotora de crescimento?	09
3. Estabelecimento da associação	12
4. Bactérias endofíticas e efeitos promotores de crescimento	15
5. Promoção do crescimento vegetal	18
5.1. Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)	18
5.2. Produção de Fitormônios	20
6. Outros efeitos promotores de crescimento	24
6.1. Solubilização de fósforo	24
6.2. Biocontrole de fitopatógenos	26
6.3. Produção de sideróforos	26
6.4. Antibiose	27
6.5. Compostos antifúngicos	28
6.6. Produção de enzimas	28
6.7. Competição	28
6.8. Níveis vegetais de etileno	29
6.9. Biorremediação	30
7. Conclusões	30
8. Referências Bibliográficas	31

JACOBSEN, C. S. Plant protection and rhizosphere colonization of barley by seed inoculated herbicide degrading *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* DB01 (pRO101) in 2,4-D contaminated soil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 189, p. 139-144, 1997.

JAMES, E. K. Nitrogen fixation in endophyticand associative symbiosis. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 38, p. 1-13, 2000.

JAMES, E. K.; OLIVARES, F. L.; OLIVEIRA, A. L. M.; REIS JR., F. B.; SILVA, L. G.; REIS, V. M.; DÖBEREINER, J. Further observations on the interaction between sugar cane and *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 52, n. 357, p. 747-760, 1999.

KEEN, N. T. Plants and microorganisms - listening in on the conversation. **Nature Biotechnology**, New York, v. 17, p. 958-959, 1999.

KLEE, H. J.; HAYFORD, M. B.; KRETZMER, K. A.; BARRY, G. F.; KISHORE, G. M. Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. **Plant Cell**, Rockville, v. 3, p.1187-1193, 1991.

KLEEREBEZEM, M.; QUADRI, L. E. Peptide pheromone-dependent regulation of antimicrobial peptide production in Gram-positive bacteria: a case of multicellular behavior. **Peptides**, Elmsford, v. 22, n. 10, p. 1579-1596, 2001.

KLOEPFER, J. W.. Host specificity in microbe-microbe interactions. **BioScience**, Washington, v. 46, p. 406-409, 1996.

KLOEPFER, J. W.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFE, W. F.; HALLMANN, J. Recent studies on the microbial ecology of bacterial endophytes in plants. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., 1997, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997a. CD ROM.

GRAY, K. M. Intercellular communication and group behavior in bacteria. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 5, n. 5, p. 184-188, 1997.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPFER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 895-914, 1997.

HE, S. Y. Elicitation of plant hypersensitive response by bacteria. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 112, p. 865-869, 1996.

HENTSCHEL, U.; STEINERT, M.; HACKER, J. Common molecular mechanisms of symbiosis and pathogenesis. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 8, n. 5, p. 226-231, 2000.

HOLDEN, M.; SWIFT, S.; WILLIAMS, P. New signal molecules on the quorum-sensing block. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 101-104, 2000.

HOLLAND, M. A. Occam's razor applied to hormonology. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 115, p. 865-868, 1997.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; CAMPO, R. J.; CHUEIRE, L. M. O.; ANDRADE, D. The brazilian experience with the soybean (*Glycine max*) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) symbioses. In: PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M.; YATES, G.; NEWTON, W. E., (Ed). **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity;** proceedings of the 12th International Congress on Nitrogen Fixation, Foz do Iguaçú, Paraná, sep. 1999. Dordrecht: Kluwer, 2000. p. 515-518. (Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, 38).

HUREK, T.; REINHOLD-HUREK, B.; VAN MONTAGU, M.; KELLENBERGER, E. Root colonization and systemic spreading of *Azoarcus* sp. strain BH72 in grasses. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 176, p. 1913-1923, 1994.

Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal

André Luiz Martinez de Oliveira
Segundo Urquiaga
José Ivo Baldani

1. Introdução

Atualmente, o conceito de sanidade vegetal não suporta mais a idéia de que uma planta saudável possui em seus tecidos apenas células de origem embrionária, devido à enorme biodiversidade de organismos endofíticos continuamente identificados. Apesar dos avanços nas metodologias de cultivo e isolamento de microrganismos, principalmente em relação aos meios de cultivo artificiais utilizados, a identificação de novos organismos endofíticos ainda vem sendo baseada em técnicas clássicas. Entretanto para a maioria dos ecossistemas, sabe-se hoje que grande parte da diversidade microbiana (pode-se chegar a mais de 90% das espécies) ainda não é cultivável (Pickup, 1991).

Bactérias endofíticas são organismos que caracterizam-se pela associação íntima com a planta hospedeira, despertando grande interesse agronômico. Estes organismos oferecem a vantagem de estarem completamente compatibilizados com o hospedeiro, e permitem a utilização de plântulas já colonizadas por estirpes selecionadas antes das etapas de cultivo comercial, evitando a necessidade do estabelecimento dos potenciais inoculantes. Também possuem características muito variáveis de especificidade, bem como de sobrevivência fora do ambiente endofítico, e encontram-se na maioria das famílias vegetais (Döbereiner et al., 1995). Podemos acreditar que milhares de anos de convivência comum tenham levado à co-evolução dos organismos chamados

endofíticos com as respectivas espécies hospedeiras, ou à um aprimoramento de relações patogênicas ancestrais. Além disso, o habitat endofítico possui características mais favoráveis à expressão de genes promotores do crescimento vegetal que a rizosfera, como alta disponibilidade energética e baixa competitividade com outras espécies. Isto possibilita a expressão de genes associados à promoção do crescimento vegetal ao longo do ciclo da cultura da planta hospedeira sob menor influência de fatores ambientais.

Por outro lado, diversos outros gêneros de bactérias (*Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Hydrogenophaga*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, e outras) são conhecidas por promoverem o crescimento vegetal, mesmo sendo consideradas como organismos de vida livre ou de rizosfera (Benizri et al., 2001; Steenhoudt & Vanderleyden, 2000). A capacidade de colonização de tecidos endofíticos por estes organismos apresenta-se relacionado à diversos fatores, sendo o principal a interação entre os genótipos do vegetal e do microrganismo (Schlotter et al., 1994; Dong et al., 1995; Ruppel et al., 1992; Wiehe et al., 1994; Mahaffee et al., 1997). Desta forma, microrganismos considerados benéficos ou associativos, podem ser encontrados no ambiente rizosférico em conjunto com microrganismos deletérios ou de atividade neutra, por ser a rizosfera uma região de intensa atividade microbiana promovida pelos exudatos radiculares. A rizosfera é aqui considerada como a zona de intersecção solo-planta, aonde as interações entre os microrganismos, as plantas e o solo ocorrem. Organismos que promovem o crescimento vegetal sem atuar endofiticamente são classificados como rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV).

O conceito de organismo endofítico por sua vez possui algumas interpretações divergentes. Segundo Baldani et al. (1997), as bactérias endofíticas fixadoras de nitrogênio podem ser agrupadas em três categorias: organismos fixadores de vida livre ou de rizosfera, endófitos facultativos e endófitos obrigatórios. Esta classificação porém impossibilitaria que uma espécie endofítica obrigatória fosse isolada do solo ou da rizosfera, ou apresentasse atividade saprofítica, o que não é verdadeiro. Reinhold-Hurek &

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M. Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-leguminous crops. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; ZAMAROCZY, M. de, (Ed.). **Azospirillum VI and related microrganisms: genetics, physiology, ecology**. Berlin: Springer, 1995. p. 3-14. (NATO ASI Series. Series G, Ecological Sciences, 37).

DONG, Z.; HEYDRICH, M.; BERNARD, K.; MCCULLY, M. E. Further evidence that the N₂-fixing endophytic bacterium from the intercellular spaces of sugarcane stems is *Acetobacter diazotrophicus*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, p. 1843-1846, 1995.

EL-MOKADEM, M. T.; HELEMISH, F. A.; ABOUD-BAKR, Z. Y. M.; SHETEAWI, S. A. Associative effect of *Azospirillum lipoferum* and *Azotobacter chroococcum* with *Rhizobium* spp. on mineral composition and growth of Chickpea (*Cicer arietinum*) on sandy soil. **Zentralblatt fur Mikrobiologie**, Jena, v. 144, p. 255-265, 1989.

ENYEDI, A. J.; YALPANI, N.; SILVERMAN, P.; RASKIN, I. Signal molecules in systemic plant resistance to pathogens and pests. **The Cell**, Cambridge, v. 70, p. 879-886, 1992.

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5/6, p. 897-903, 1997.

GAUDIN, V.; VRAIN, T.; JOUANIN, L. Bacterial genes modifying hormonal balances in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 32, p. 11-29, 1994.

GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 41, p. 109-117, 1995.

GLICK, B. R.; BASHAN, Y. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. **Biotechnology Advances**, Elmsford, v. 15, n. 2, p. 353-378, 1997.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 11, p. 557-574. 2001.

BROOKS, D. S.; GONZALEZ, C. F.; APPEL, D. N.; FILER, T. H. Evaluation of endophytic bacteria as potential biological-control agents for oak wilt. **Biological Control**, San Diego, v. 4, n. 4, p. 373, 1994.

BUELL, C. R.; ANDERSON, J. A. Expression of the *aggA* locus of *Pseudomonas putida* *in vitro* and *in planta* as detected by the reporter gene *xylE*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 6, p. 331-340, 1993.

BURD, G. I.; DIXON, G.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 46, p. 237-245, 2000.

CASSÁN, F. D.; LUCANGELI, C. D.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. *Azospirillum* spp. metabolize [17,17-2H₂]gibberellin A20 to [17,17-2H₂] gibberellin A1 *in vivo* in dry rice mutant seedlings. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 42, n. 7, p. 763-775, 2001.

CHEN, C.; BAUSKE, E. M.; MUSSON, G.; RODRIGUEZKABANA, R.; KLOEPFER, J. W. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of Endophytic bacteria. **Biological Control**, San Diego, v. 5, n. 1, p. 83-91, 1995.

CHET, I.; INBAR, J. Biological control of fungal pathogens. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Totowa, v. 48, p. 37-43, 1994.

COSTACURTA, A.; VANDERLEYDEN, J. Synthesis of phytormones by plant-associated bacteria. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v. 21, n. 1, p. 1-18, 1995.

DASHTI, N.; ZHANG, F.; HYNES, R.; SMITH, D. L. Plant growth promotion rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] under short season conditions. **Plant and Soil**, The Hague, v. 200, p. 205-213, 1998.

Hurek (1998) propõem o uso do termo endofítico restrito às espécies que possuam associação estreita com a planta hospedeira, aonde atravessa todo ou a maior parte do ciclo colonizando-a. As espécies que possuem amplo espectro de hospedeiros, e colonizam o solo, rizosfera e o habitat endofítico, são classificadas como endofíticos oportunistas. Esta definição por sua vez implica na classificação de espécies como *Rhizobium* spp. como endofítico oportunista, o que também não é verdadeiro. Hallmann et al. (1997) consideram espécies endofíticas como sendo aquelas isoladas de tecidos vegetais superficialmente esterilizados, o que inclui em sua definição bactérias fitopatogênicas. Kloepfer et al., (1997a) definem como bactérias endofíticas, aquelas espécies isoladas de tecidos esterilizados superficialmente, ou extraída de tecidos vegetais internos, e que não causam danos nem produzem sintomas de patogenicidade, incluindo tanto colonizadores de comportamento neutro, bem como simbiontes. Wilson (1995) define como endófito, bactérias ou fungos que invadem completamente os tecidos vegetais durante todo ou parte do seu ciclo vital, causando infecções não aparentes e assintomáticas, sem apresentar patogenicidade. Esta última definição parece ser a que melhor define esta classe de microrganismos. Como o acesso ao habitat endofítico pode requerer penetração ativa, através da ação de enzimas hidrolíticas, como celulases e pectinases, que também são produzidas nos processos patogênicos de infecção, um maior entendimento dos processos de expressão e regulação destes genes se faz necessária no entendimento das relações endofíticas e patogênicas.

2. Patogênica ou promotora de crescimento?

Apesar do aparente antagonismo entre as interações patogênicas e simbióticas, aonde as primeiras resultam em danos ou mesmo na morte da planta hospedeira, e as associações simbióticas serem caracterizadas por benefícios mútuos entre os organismos envolvidos na associação, existem mecanismos comuns entre estes grupos de bactérias que facilitam a colonização de um nicho endofítico. Os mecanismos comuns mais intrigantes incluem o

"quorum sensing" e o mecanismo regulatório de dois componentes, que permitem uma adaptação à condições instáveis encontradas no novo nicho. *Quorum sensing* é o modo como as bactérias comunicam-se entre si, utilizando-se de sinais químicos por pequenas moléculas difusíveis. Esta compreensão de sinais permite que células bacterianas individuais percebam a si e a outros indivíduos, adaptando-se ao ambiente de crescimento de acordo com a densidade populacional através da regulação de seus genes, principalmente por um mecanismo de dois componentes. Esta regulação por dois componentes pode ser resumida na existência da expressão constitutiva de dois genes, sendo um codificador de uma proteína ativadora, e o outro codificador para uma proteína de membrana, sensora específica da primeira. O conjunto ativador-sensor aumenta os níveis próprios de expressão (tipo *feedback*), o que amplifica o sinal decodificado, e atua na expressão de outros genes, úteis apenas em situações específicas (Bassler, 1999). Em bactérias Gram-negativas, moléculas do tipo N-acil-homoserina lactonas (AHL) predominam como moléculas sinalizadoras de *quorum sensing*, enquanto que nas bactérias Gram-positivas, predominam os peptídeos (Kleerebezem & Quadri, 2001; Whitehead et al., 2001). Atualmente acredita-se que um organismo utilize várias moléculas sinalizadoras de *quorum sensing* pertencentes a uma ou a diferentes classes químicas para regular a expressão gênica (Holden et al., 2000). Além disso, bactérias fitopatogênicas e possivelmente também as simbiontes, conseguem modular o ambiente hospedeiro pela excreção de moléculas efetoras do tipo III, que interferem diretamente nas funções celulares do hospedeiro. Estas proteínas possuem ação diversa em interações patogênicas entre bactéria-célula hospedeira (atividades enzimáticas de fosfatase, inibição de fagocitose, danos diretos ao tecido hospedeiro, fatores de virulência, etc.), tanto em animais como em vegetais, mas também foi identificado um sistema do tipo III funcional no simbionte *Mesorhizobium loti*, porém seu papel na simbiose ainda é desconhecido (Hentschel et al., 2000).

Quorum sensing é um sistema bastante útil, especialmente para fitopatógenos, porque permite a colonização inicial de tecidos da

organismos patogênicos. Além disso, a manipulação genética de plantas e microrganismos é atualmente uma realidade, e permite a construção de associações para buscar resistências ou imunidades ao ataque de insetos, viroses, fungos, bactérias e estresses ambientais. Esta não é uma busca simples, mas pode vir a ter sucesso no desenvolvimento de uma nova forma de utilização das ferramentas naturais para o desenvolvimento de cultivos agrícolas mais equilibrados.

8. Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum/Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1633-1643, 1999.
- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 911-922, 1997.
- BAR-NESS, E.; HADAR, Y.; SHANZER, A.; LIBMAN, J. Iron uptake by plants from microbial siderophores. A study with 7-nitrobenz-2-Oxa-1,3-diazole-des-ferroxamine as fluorescent ferroxamine B analog. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 99, p. 1329-1335, 1992.
- BASHAN, Y.; HOLGUIM, G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 103-121, 1997.
- BASSLER, B. L. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 2, n. 6, p. 582-587, 1999.
- BELIMOV, A. A.; KOJEMIAKOV, A. P.; CHUVARLIYEVA, C. V. Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing bacteria. **Plant and Soil**, The Hague, v. 173, p. 29-37, 1995.

diminuição dos níveis de etileno (ACC é uma molécula precursora) pode estimular o crescimento radicular e a germinação de sementes em plantas sensíveis ao etileno, além de limitar possíveis danos devidos à infecções fitopatogênicas.

6.9. Biorremediação

Moléculas contaminantes de solo como pesticidas e metais pesados causam, além de problemas ambientais, efeitos deletérios ao desenvolvimento das plantas. Por outro lado, a recuperação destas áreas pode ocorrer através da utilização de plantas que tenham a capacidade de remover, destruir ou sequestrar substâncias perigosas do ambiente (Burd et al., 2000). A associação de plantas com BPCV que possuam a capacidade de sequestrar, ou degradar moléculas danosas ao desenvolvimento das plantas pode ampliar a capacidade de recuperação de áreas contaminadas, e mesmo permitir o desenvolvimento de certas culturas nestes ambientes. Algumas BPCV podem proteger plantas que se desenvolvem em solos contaminados por compostos fitotóxicos (herbicidas e pesticidas) por mecanismos de degradação enzimática (Melo, 1997; Jacobsen, 1997). Outros mecanismos de proteção ou promoção do crescimento é através da complexação e indisponibilização de metais pesados pela produção de sideróforos (já discutida) ou pela redução dos níveis de etileno relacionados ao estresse (já discutido). A biorremediação pode ter lugar de destaque na solução de problemas de contaminação ambiental, aonde a associação de plantas e microrganismos tipo BPCV atuem em conjunto no sequestro e na degradação de moléculas ou íons tóxicos.

7. Conclusões

Os mecanismos utilizados por BPCV são numerosos, diferem de um organismo para outro e provavelmente mais de um modo de promoção do crescimento deva estar ativo nas associações entre vegetais e BPCV. Desta forma, podemos supor que os efeitos de BPCV sobre o desenvolvimento das plantas seja aditivo, e de difícil avaliação quantitativa para cada efeito isoladamente. Uma planta saudável e bem desenvolvida deve ser menos suscetível ao ataque de

planta hospedeira, crescendo benignamente na superfície do vegetal, e alcançar populações elevadas sem expressar os fatores de virulência requeridos para a colonização de tecidos internos. Deste modo, os mecanismos de defesa do vegetal são confundidos e sua expressão não é ativada, pois são na maioria iniciados a partir da percepção de fatores de virulência. Assim, apenas depois de alcançar altos níveis populacionais, os fatores bacterianos de virulência são ativados através do *quorum sensing*, e uma colonização efetiva dos tecidos internos do vegetal é atingida antes que os mecanismos de defesa sejam mobilizados de forma eficiente. Existe também uma economia energética pela bactéria, pois os genes envolvidos na interação com o hospedeiro possuem pouca ou nenhuma relevância fora deste contexto (Keen, 1999). Como diferentes espécies de bactérias produzem autoindutores idênticos, ou quase idênticos, estes sinais potencialmente podem ser percebidos não apenas pela espécie produtora, mas também por outras espécies presentes no mesmo ambiente, e portanto tornarem-se ativos, inclusive pelo organismo hospedeiro. Se o fenótipo de células individuais frequentemente refletem a regulação ao nível populacional (multicelular), então o entendimento das bactérias e sua função em determinado nicho, requer a consideração destes organismos não apenas como células independentes, mas como membros de um grupo maior e organizado (Gray, 1997).

As moléculas sinalizadoras de *quorum sensing* são por vezes denominadas de feromônios, ou autoindutores. Estes sistemas de sinalização fazem parte de um mecanismo regulatório de dois componentes, e possuem como modelo o sistema regulatório de fluorescência de *Vibrio fischeri*, o primeiro e o mais estudado. Neste sistema, o autoindutor é transcrito pelo primeiro componente do sistema (um gene homólogo ao gene *luxI*), que liga-se à uma proteína chamada receptora e transcrita pelo segundo componente deste sistema regulatório (um gene homólogo ao *luxR*). O complexo autoindutor-receptor, quando presente em alta quantidade na célula bacteriana (o que significa elevada densidade populacional no meio), liga-se a promotores específicos e ativam a

transcrição de outros genes (Winans, 1998). Apenas quando um ou mais moléculas sinalizadoras acumulam-se no ambiente externo, através da elevada densidade populacional bacteriana, ou quando a célula está confinada à um ambiente que permita o acúmulo do sinal a um nível de concentração basal, é que o sistema regulatório torna-se ativo. Algumas funções já foram identificadas com base neste sistema de *quorum sensing* regulação gênica, como luminescência, conjugação, produção de antibióticos e virulência. Entretanto, a enorme quantidade de reguladores que atuam no *quorum sensing* sugere que o acúmulo de autoindutores é apenas um dos critérios envolvidos na ativação de funções de resposta relacionadas à densidade populacional, e fatores nutricionais certamente estão envolvidos. Assim, bactérias devem possuir mecanismos de iniciar diferentes conjuntos de genes relacionados à atividade do grupo, dependendo de condições ambientais específicas, quando altas densidades populacionais são atingidas (Gray, 1997). O entendimento do funcionamento destes mecanismos de patogenicidade, bem como os mecanismos análogos de simbiose, podem levar à alteração da microflora associada aos vegetais, e consequentemente ao aumento da produtividade de agroecossistemas (Keen, 1999).

3. Estabelecimento da associação

Para que uma associação natural (endofítica ou patogênica) seja estabelecida com sucesso, primeiro deve ocorrer a colonização do nicho da associação, seja ele a rizosfera ou os tecidos internos de uma planta. Este processo de colonização é um fenômeno complexo e se encontra sob a influência de vários parâmetros. A determinação destes parâmetros mais importantes é feita principalmente, através do estudo comparativo de estirpes mutantes e selvagens em determinada característica que se acredita importante no processo de colonização. Desta forma foram identificados genes de motilidade, de produção de lipopolissacarídeos, síntese de moléculas de superfície celular, prototrofia de aminoácidos e vitaminas, produção de NADH desidrogenase, enzimas envolvidas no rearranjo das moléculas de DNA, manutenção do pH interno.

ser a capacidade de metabolizar compostos específicos produzidos pelas plantas (como os exudatos da raiz), transformando-os em compostos inibitórios aos patógenos. Isto porque não existe necessariamente correlação entre a capacidade inibitória observada em condições de laboratório, onde a produção destes compostos é favorecida, e a atividade de biocontrole exercida *in vivo* (Stephens et al., 1993). Como existem um número limitado de sítios de infecção por onde fitopatógenos conseguem invadir os tecidos vegetais, bactérias saprofíticas que competem por estes mesmos sítios podem diminuir a incidência de doenças. Da mesma forma, o uso de estirpes não patogênicas, variantes das patogênicas, podem competir pelo mesmo nicho de infecção (Glick & Bashan, 1997). Uma característica importante da competitividade no controle de patógenos é a capacidade dos organismos introduzidos permanecerem e proliferarem no ambiente de controle. Porém, como anteriormente discutido, vários fatores bióticos e abióticos influenciam a capacidade de colonização e sobrevivência de um microrganismo na superfície ou no interior dos vegetais.

6.8. Níveis vegetais de etileno

A resposta das plantas a diferentes formas de estresse, inclusive infecções fitopatogênicas, envolve a produção endógena de etileno. A percepção destas moléculas pelas células vegetais promove o desencadeamento de diversos e diferentes processos de resposta a estresse, que levam à senescência das células próximas ao sítio de produção de etileno. O etileno é aceito como uma molécula mensageira secundária, e estimula a senescência, abscisão de frutos ou de folhas, desenvolvimento de doenças, inibição do crescimento, síntese de enzimas (quitinase) e antibióticos. Uma grande parte dos danos produzidos por interações fitopatogênicas ocorre como resposta da planta à níveis elevados de etileno endógeno. Algumas BPCV como *Pseudomonas putida* possuem a capacidade de síntese da enzima ACC desaminase (1-aminociclopropano-1-carboxilato, sem função conhecida nas células bacterianas), e que podem atuar na modulação dos níveis de etileno vegetal endógeno (Glick & Bashan, 1997; Mayak et al., 1999). A

6.5. Compostos antifúngicos

Diversos compostos metabólicos de baixo peso molecular, produzidos por bactérias do tipo BPCV, possuem atividade anti-fúngica. O cianeto de hidrogênio é um destes compostos, produzido por *Pseudomonas*, e ativo contra fungos de solo. Além da capacidade de produção de compostos antifúngicos, bactérias como *Cladosporium werneckii*, *Pseudomonas (Burkholderia) cepacia* e *P. solanacearum* possuem a capacidade de hidrolisar o ácido fusárico, produzido durante a infecção de tecidos vegetais susceptíveis à fungos do gênero *Fusarium*. Esta inativação ou degradação do ácido fusárico, previne danos causados aos vegetais e permite assim a ativação dos mecanismos de defesa (Glick & Bashan, 1997).

6.6. Produção de enzimas

Algumas BPCV produzem enzimas que atuam na lise de células fúngicas, como quitinases, α -1,3-glucanase, proteases e lipases. Algumas espécies produtoras de enzimas de lise fúngica são *Pseudomonas stutzeri* (quitinase e laminarase), *Pseudomonas (Burkholderia) cepacia* (α -1,3-glucanase), *Enterobacter agglomerans* (complexo enzimático quitinolítico), e *Serratia marcescens* (quitinase). A atividade destas BPCV foram identificadas contra doenças provocadas por fungos de solo, como *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ultimum*, entre outros. Geralmente, quando ocorre este tipo de controle por BPCV, mais de uma enzima (gene) é ativa (Chet & Inbar, 1994).

6.7. Competição

A competição por nutrientes e nichos ecológicos, na superfície ou em tecidos internos vegetais, pode ocorrer concomitantemente aos mecanismos anteriormente citados de antibiose, produção de sideróforos, metabólitos antifúngicos e enzimas, amplificando o potencial de proteção contra fitopatógenos. O principal fator de influência na capacidade de BPCV atuarem como agentes efetivos de biocontrole por mecanismos de competição, pode ser a

Estes genes atuam por exemplo nos processos de quimiotaxia, adesão das células na superfície radicular, comunicação bioquímica com a planta hospedeira, modificações nas funções celulares, adaptação ao ambiente endofítico, entre outras funções não descritas. Muitos dos genes identificados possuem similaridade (em relação à sequência de aminoácidos) entre diversos gêneros de bactérias, incluindo algumas patogênicas, sugerindo que os passos iniciais da interação com a planta sejam conservados. Desta forma, percebe-se que vários genes estão envolvidos na colonização vegetal, sob interações epistáticas complexas de diferentes grupos de genes. Assim, destaca-se que um estabelecimento efetivo de uma espécie utilizada como inoculante, será dependente da competência no ambiente de rizosfera e da sua estabilidade no local de atividade, ao longo do tempo (Steenhoudt & Vanderleyden, 2000).

Em ambientes naturais, o primeiro passo à colonização é o encontro físico entre a bactéria e a planta hospedeira. Este passo pode ocorrer ativamente, através dos mecanismos de motilidade do microrganismo ou pelo crescimento das raízes, ou de forma passiva quando o microrganismo é "transportado" pela solução do solo. A movimentação dos microrganismos em direção às raízes da planta ocorre quando existe um reconhecimento químico, denominado quimiotaxia, e se acredita que os microrganismos sejam atraídos pelo gradiente de fonte de carbono (exudatos radiculares) existente entre o solo e a rizosfera. A função quimioatrativa exercida pelos exudatos da raiz possuem certo grau de especificidade (Benizri et al., 2001). A partir deste reconhecimento, a colonização da superfície radicular ocorre por duas etapas independentes, onde primeiro ocorre uma fraca adsorção inicial dita reversível, e um ancoramento irreversível dirigido por proteínas extracelulares de origem bacteriana (Michiels et al., 1991). Esta última etapa pode estar sob o comando de sinais moleculares emitidos pelas raízes da planta hospedeira (Buell & Anderson, 1993). Após esta colonização, a sobrevivência do microrganismo ao longo do tempo ainda está sob influência direta de fatores bióticos e abióticos existentes no ambiente. Estudos de inoculação demonstram que a sobrevivência

de espécies bacterianas na rizosfera possui correlação positiva com parâmetros físicos do solo, como o teor de argila, de matéria orgânica e de nitrogênio, e uma correlação negativa com o teor de areia e carbonato de cálcio. Nenhuma influência de parâmetros como o pH e conteúdos de P e K foi observada. A temperatura do solo também tem influência na sobrevivência de microrganismos, sendo que temperaturas baixas aumentam a colonização das raízes, mesmo não sendo adequadas ao rápido desenvolvimento radicular. A densidade do solo é outro parâmetro estudado com influência positiva sobre a colonização bacteriana (Benizri et al., 2001). Fatores bióticos também influenciam a colonização da rizosfera, como a existência de predação por protozoários, a qualidade dos exudatos radiculares (que podem atingir 40 a 90% do carbono translocado para as raízes). Os exudatos radiculares são classificados em cinco tipos: difusatos, secreções, lisatos, gases e mucilagem. As plantas são capazes de liberar estes compostos no solo, e também de reabsorverem estes rizodepósitos, balanceando o fluxo de carbono na rizosfera. Este tipo de recaptura permite aos vegetais um certo controle sobre o tamanho das comunidades microbianas associadas à rizosfera. Deve-se ter em mente que a disponibilidade de outros nutrientes minerais também pode limitar o crescimento microbiano, e não apenas o carbono. Além dos fatores bióticos relacionados à interação com os vegetais, existe também a competição entre os organismos do solo, que também objetivam uma permanência no ambiente de modo eficiente. Fenômenos de antibiose, densidade populacional, capacidade de degradar moléculas energeticamente estáveis e/ou quimicamente repelentes são ativos na capacidade de colonização da rizosfera (Benizri et al., 2001).

A partir de uma colonização efetiva da rizosfera, o alcance de tecidos vegetais internos, aqui convencionado como habitat endofítico, torna-se praticamente uma consequência. Ressalta-se que este habitat referido como endofítico, pode compreender alguns tecidos vegetais mortos no interior da epiderme radicular, e as células do córtex, aonde as bactérias penetram pela via apoplástica. Desta maneira, vemos que a existência de colônias microbianas na

1992). Vários fatores estão envolvidos na eficiência da supressão de organismos patogênicos do ambiente de rizosfera, como a espécie vegetal, a composição do solo, o patógeno a ser suprimido, a espécie bacteriana produtora do sideróforo e a afinidade do sideróforo pelo íon ferro, entre outros. Este mecanismo de controle é eficaz somente quando a disponibilidade de Fe^{+3} é muito baixa, sendo esta disponibilidade relacionada ao pH do solo (menores valores de pH, maior disponibilidade de Fe^{+3}).

6.4. Antibiose

A produção de antibióticos é um dos mecanismos mais eficientes utilizados por BPCV para o controle de fitopatógenos, pois atuam em baixas concentrações diretamente sobre o metabolismo das células. Entretanto, a ação efetiva de um antibiótico contra uma estirpe de fitopatógeno (ou patovar) pode não ter a mesma eficiência sobre outra estirpe da mesma espécie, pela existência de mecanismos genéticos de resistência, ou ainda perder a eficiência devido a condições variáveis do ambiente. As espécies microbianas mais estudadas e consideradas as mais eficientes no controle de patógenos através da produção de antibióticos pertencem ao gênero *Pseudomonas* (*P. putida* e *P. fluorescens*), e atuam sobre fungos e bactérias patogênicas. Existe um produto comercial na Austrália desenvolvido para o controle de *Agrobacterium tumefaciens* em cultivos de frutíferas, baseado na antibiose promovida por outra espécie de *Agrobacterium* (*A. radiobacter*, estirpe K84). Como pode ocorrer o desenvolvimento de resistência ao antibiótico (agrocina 84) por *A. tumefaciens* pela transferência de plasmídeos, ou pela incorporação de genes de resistência, a utilização deste tipo de controle deve ser bastante criteriosa e baseada em estratégias que evitem, ou minimizem, este tipo de ocorrência (Glick & Bashan, 1997).

6.2. Biocontrole de fitopatógenos

As perdas de produtividade devido à ocorrência de fitopatógenos são estimadas entre 25 a 100%, dependendo da cultura e da doença em questão. Além disso, na maioria das ocorrências fitopatogênicas, a ausência de sintomas visíveis pode se prolongar muito, sendo que apenas ligeiras alterações ambientais podem ocasionar a disseminação generalizada de uma certa doença (Glick & Bashan, 1997). Além disso, muitos dos produtos utilizados para o controle de doenças e bactérias fúngicas produzem péssimas consequências ao ambiente, aos organismos que não são o objetivo do controle e ao homem. Várias substâncias produzidas por BPCV possuem efeito de controle sobre os danos causados por fitopatógenos. Entre eles, destacam-se os sideróforos, os antibióticos, enzimas e outras moléculas. Deve-se contudo ressaltar que a maioria dos casos de controle eficiente foram realizados em condições controladas de laboratório ou de casa de vegetação.

6.3. Produção de sideróforos

Sideróforos são moléculas sequestradoras de ferro de baixo peso molecular (400 a 1000 Dalton) e elevada afinidade pelo substrato (K_d 10^{-20} a 10^{-50}), secretadas por microrganismos em resposta a baixa disponibilidade de Fe^{+3} em solução. Estes compostos atuam do lado externo da membrana celular, capturando moléculas de ferro em solução e ligando-se especificamente a receptores do complexo localizados na membrana, por onde são absorvidos, tornando assim o ferro absorvido disponível para o crescimento dos vegetais (Neilands & Leong, 1986). Estes compostos atuam como promotores de crescimento pela capacidade de prevenir a proliferação de fitopatógenos no ambiente rizosférico, sequestrando a maioria do Fe^{+3} disponível e desta forma facilitando o crescimento vegetal. Alguns fungos fitopatogênicos também possuem a capacidade de síntese de sideróforos, porém com uma afinidade menor pelo substrato e ainda podem ser utilizados por bactérias. Os vegetais dificilmente sofrem limitações de crescimento por deficiências de ferro, e possuem inclusive moléculas de membrana receptoras do complexo ferro-sideróforo bacteriano (Bar-Ness et al.,

superfície das raízes acaba por inserir células destes organismos em nichos mais protegidos, causando ou não a morte de células vegetais. A separação entre microrganismos exo ou endorradiculares (exo ou endofíticos) se torna uma questão controversa (van Peer et al., 1990). McCully (2001) destaca como o verdadeiro habitat endofítico apenas os espaços intercelulares parenquimatosos dos vegetais, não considerando como endofíticos os microrganismos que estejam eventualmente presentes colonizando os tecidos mortos das raízes. Uma avaliação mais detalhada sobre a estrutura de comunidades microbianas associadas as plantas, bem como a sua função e localização, ainda precisa ser determinada para um melhor entendimento das relações ecológicas existentes. Interações positivas entre organismos endofíticos e a planta hospedeira podem resultar em uma variedade de efeitos benéficos, similares ou mesmo complementares aos produzidos por organismos de rizosfera (Sturz & Nowak, 2000).

4. Bactérias endofíticas e efeitos promotores de crescimento

Bactérias de vida livre associadas à rizosfera, bem como bactérias endofíticas, serão aqui referidas como bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), que podem afetar o crescimento das plantas de vários modos. Tanto mecanismos diretos, como mecanismos indiretos de promoção do crescimento vegetal podem ocorrer nos sistemas naturais. Os mecanismos de ação direta das BPCV incluem por exemplo a fixação biológica de nitrogênio, síntese de sideróforos, produção de fitormônios, solubilização de fósforo e aceleração dos processos de mineralização. Os mecanismos de ação indireta incluem a indução de resistência sistêmica nos vegetais, produção de sideróforos, diminuição de fatores de estresse como o etileno endógeno, produção de antibióticos e antagonismo a fitopatógenos, entre outros fatores. Como muitas BPCV possuem a capacidade de atuar em diversos destes mecanismos, uma espécie em particular deve utilizar diferentes modos de ação durante o ciclo do vegetal, e o impacto desta espécie de BPCV no crescimento da planta, irá depender das

propriedades fisico-químico-biológicas do solo aonde esta desenvolve-se.

Várias famílias vegetais apresentam comunidades endofíticas que produzem algum efeito promotor de crescimento. Em batata, por exemplo, cerca de 10% do total de bactérias endofíticas isoladas apresentou algum efeito promotor de crescimento, incluindo efeitos significativos no número de raízes, peso seco de raízes, comprimento do colmo, formação de pêlos foliares, emergência de raízes secundárias e conteúdo total de lignina (Hallmann et al., 1997). Nestes casos, incrementos na absorção de minerais e melhoria na eficiência de utilização da água podem ser alguns dos fatores ativos na promoção do crescimento vegetal, além das possíveis contribuições via fixação biológica de nitrogênio (FBN). Existem inclusive estudos realizados com bactérias diazotróficas, impedidas de fixar o nitrogênio atmosférico através de mutação específica, aonde se observam efeitos promotores de crescimento (Hurek et al., 1994; Sevilla et al., 1998).

A promoção do crescimento vegetal mediada por bactérias endofíticas também pode ocorrer através de mecanismos indiretos, como a supressão de microrganismos deletérios do ambiente endofítico através de mecanismos de competição ou antibiose, por exemplo (Nejad & Johnson, 2000; Chen et al., 1995; Brooks et al., 1994). Como as bactérias endofíticas colonizam nichos ecológicos muitas vezes idênticos aos nichos ocupados por espécies fitopatogênicas, em especial os patógenos de tecidos vasculares, esta função de biocontrole pode ser uma importante arma de proteção de plantas oriundas de microcultivos, e na formação de mudas sadias para utilização comercial. Além das espécies endofíticas, as espécies colonizadoras de rizosfera, que podem desenvolver processos de colonização endofítica em algumas plantas hospedeiras, são outros importantes agentes de biocontrole. Especial atenção deve ser dada ao uso de bactérias endofíticas para o controle de fungos fitopatogênicos, pois elas devem ser totalmente compatíveis com a presença de fungos micorrízicos, componentes importantes e de ocorrência generalizada nos sistemas agrícolas (Tsimili-Michael et al., 2000; Vazquez et al.,

como o uso conjunto de fungos micorrízicos arbusculares pode prover uma nutrição vegetal mais equilibrada e apresentar efeitos sinérgicos na promoção do crescimento (Belimov et al., 1995; Kundu & Gaur, 1984).

O principal mecanismo de ação na solubilização de P mineral é através dos ácidos orgânicos sintetizados por microrganismos, o que também promove a acidificação da célula microbiana e o ambiente ao seu redor. Entre estes ácidos, o ácido glucônico aparece como o agente mais frequente de solubilização. Outros ácidos envolvidos na solubilização de fosfatos são os ácidos 2-cetoglucônico, lático, isovalérico, isobutírico, e acético (Rodríguez & Fraga, 1999). Além dos ácidos orgânicos, a liberação de prótons H⁺ para a superfície celular externa nos processos de absorção de cátions ou através do auxílio das ATPases, a produção de substâncias quelantes ou a produção de ácidos inorgânicos (sulfídrico, nítrico e carbônico), podem constituir mecanismos alternativos na solubilização de fosfatos inorgânicos.

A solubilização de fosfatos orgânicos, também chamada mineralização, ocorre a partir de restos vegetais e animais contendo elevados teores de compostos fosfatados. Numerosas espécies saprofíticas realizam a decomposição da matéria orgânica do solo, que liberam o radical ortofosfato da estrutura de carbono da molécula, por processos de respiração e sob forte influência de fatores ambientais. As principais moléculas fornecedoras de P através da mineralização são os ácidos nucléicos, fosfolipídeos e açúcares fosfatados, facilmente degradados, e o ácido fítico, polifosfatos e fosfonatos que são mineralizados mais lentamente. Esta mineralização é promovida por enzimas chamadas fosfatases, ou fosfohidrolases, classificadas em ácidas ou alcalinas de acordo com o pH ótimo de atividade. Estas enzimas podem ser secretadas fora da membrana plasmática, ou permanecerem retidas na membrana como proteínas solúveis (Rodríguez & Fraga, 1999).

ocorrência natural na atuação, função e efeitos oriundos da associação na fisiologia vegetal.

6. Outros efeitos promotores de crescimento

6.1. Solubilização de fósforo

Apesar dos teores de fósforo (P) no solo serem relativamente elevados (400 a 1200 mg/kg de solo), a concentração de P solúvel, disponível para assimilação pelas raízes vegetais é muito baixa, normalmente 1 mg/kg de solo ou menos (Raghothama, 1999). Seu ciclo não possui intercâmbio com a atmosfera, sendo regido principalmente por microrganismos. A principal fonte de P para o solo são minerais primários, como as apatitas. Em segundo lugar vem a matéria orgânica do solo, que pode constituir 30 a 50 % do P do solo; este P orgânico está principalmente na forma de fosfato-inositol (fitato), sintetizado por microrganismos e plantas. Diferentes espécies de bactérias foram identificadas como capazes de solubilizar compostos fosfatados inorgânicos, como os fosfatos de etrícálcico, hidroxiapatitas e rochas fosfatadas. Incluem-se os gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* como principais, e outras como *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Flavobacterium* e *Erwinia*. Existem populações consideráveis deste grupo de bactérias no solo e na rizosfera vegetal (Rodríguez & Fraga, 1999). A solubilização de P também está relacionada a fatores ambientais como níveis nutricionais e interação com outros organismos do ambiente, assim como outras formas já discutidas de promoção do crescimento de plantas.

Mesmo a diversidade de bactérias solubilizadoras de P presentes no solo sendo grande, os níveis populacionais observados geralmente são baixos para que ocorra uma competição com outras bactérias comumente associadas à rizosfera. Para que a quantidade de P liberado por estes organismos seja suficiente para promover o crescimento vegetal, deve-se promover a inoculação destes organismos em concentrações elevadas. A co-inoculação de espécies solubilizadoras de P com espécies diazotróficas, bem

2000). Além da atuação direta do metabolismo de bactérias endofíticas sobre a atividade de organismos patogênicos, a ocorrência de colonização endofítica por BPCV pode induzir respostas sistêmicas de resistência nas plantas, chamadas SAR (Systemic Acquired Resistance). Este fenômeno ocorre após a exposição da planta a um agente indutor, ativando os seus mecanismos de defesa não apenas no sítio de indução, como também em tecidos distantes, de forma mais ou menos generalizada (Sticher et al., 1997). O agente indutor pode ser um ativador químico, extratos de células de microrganismos ou microrganismos vivos. Nesse último caso, quase sempre os agentes são classificados como (rizo)bactérias promotoras do crescimento (Kloepper, 1996; Kloepper et al., 1997b).

A esse respeito, existem casos comprovados em que a inoculação com BPCV à rizosfera torna a parte aérea mais resistente a patógenos (Kloepper, 1996; Liu et al., 1995; Wei et al., 1996). Pesquisas têm mostrado, embora ainda não consigam explicar com clareza, que certas BPCV parecem atuar como agentes indutores de resistência sistêmica, no sentido em que a planta fica protegida contra mais de um patógeno, ao contrário do controle biológico clássico que implementa o controle de forma mais específica (Wei et al., 1996). Os mecanismos evolvidos no desencadeamento da resposta já possuem alguma clareza, embora ainda não se saiba como BPCV permanecem associadas aos vegetais após terem elicitado uma resposta sistêmica de defesa da planta. A resposta hipersensível desencadeada por bactérias inicia-se pela percepção dos elicidores bacterianos (moléculas de proteína de baixo peso molecular), na superfície ou no interior da célula vegetal. A célula vegetal possui receptores na membrana da plasmalema, que interagem com as moléculas elicitoras, desencadeando a resposta hipersensível, que por sua vez inicia a resistência sistêmica (He, 1996). As moléculas elicitoras podem ser o ácido salicílico, peptídeos (sisteminas), ácido jasmônico e metil-jasmonatos e o etileno (Enyedi et al., 1992).

Romeiro (2003) destaca a experiência chinesa, aonde desde a década de 60 até os dias atuais, existe o uso rotineiro de rizobactérias como ativadoras de defesas e como promotoras de crescimento de plantas. A microbiolização de sementes antes do plantio, com propágulos de rizobactérias, tem sido prática agronômica rotineira na China Continental, aonde ocorre a distribuição de 3.000 toneladas de inoculante de BPCV aos agricultores todos os anos, para serem utilizadas em 35.000.000 de hectares (Chen et al., 1995). Como a maioria dos agentes químicos de controle de fitopatógenos são deletérios para o homem e os animais, além de persistirem e acumularem nos ecossistemas naturais, é altamente desejável que substitua-se estes pesticidas por agentes de controle biológicos.

5. Promoção do crescimento vegetal

5.1. Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)

A promoção do crescimento vegetal por BPCV ocorre tanto pela transferência de moléculas sintetizadas pela bactéria para a planta, ou pelo incremento na absorção ou aumento da disponibilidade de certos elementos nutricionais. O mecanismo mais estudado de promoção do crescimento vegetal por bactérias endofíticas compreende a fixação biológica de nitrogênio (FBN) por organismos procariotos, e a transferência e/ou disponibilização deste nitrogênio assimilado para o metabolismo vegetal. A contribuição de bactérias endofíticas para a nutrição de plantas leguminosas através da FBN é bastante conhecida. Nestas associações, bactérias Gram-negativas conhecidas com rizóbios (*Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*), colonizam tecidos vegetais internos (raízes e por vezes o colmo) como simbiontes, causando o desenvolvimento de estruturas de simbiose altamente especializadas denominadas de nódulos. Estas estruturas são formadas por interferência de sinais moleculares trocados entre a planta hospedeira e a bactéria. Existe especificidade na interação entre a planta e a bactéria na formação eficiente dos nódulos, onde espécies individuais ou estirpes de

isolamento de mutantes naturais impossibilitados na capacidade de produzir auxinas, reforçam a existência de várias vias biossintéticas de produção de AIA, além de ser potencialmente um gene de relevância nas funções celulares. Sua capacidade de sintetizá-lo pode ser inclusive por uma via independente de triptofano, muito comum aos vegetais e não em microrganismos (Prinsen et al., 1993). Em *Azospirillum*, a expressão do gene *ipdC*, que codifica a enzima descarboxilase indol-3-piruvato ativa na biossíntese de AIA, é regulada por níveis exógenos de auxinas sintéticas ou naturais, e não por precursores de auxina (triptofano, ácido acético ou ácido propiônico). Também existem claras evidências de que a síntese de AIA em *Azospirillum* seja regida por mecanismos de *quorum-sensing* (Vande Broek et al., 1999).

Existe também uma hipótese de que citocininas são produzidas exclusivamente por microrganismos associados aos vegetais (Holland, 1997). Neste modelo de simbiose, as plantas fornecem nutrientes e um habitat físico, enquanto os microrganismos são responsáveis pela eliminação de catabólitos tóxicos gerados durante o crescimento vegetal. A hipótese apresenta o fato da elevada ocorrência de bactérias metilotróficas facultativas no reino vegetal, inclusive em cultivos de célula aparentemente isentos de contaminação, e a incapacidade de identificar genes para a biossíntese de citocininas nas plantas, aonde identificam-se apenas genes de resposta à citocinina. É postulado que o crescimento normal da célula vegetal produz uma diversidade de subprodutos tóxicos à célula (como o metano); a percepção pela planta do hormônio citocinina, diretamente relacionado ao crescimento e divisão celular, indicaria a existência destas bactérias encarregadas da limpeza destes metabólitos secundários, desta forma liberando o crescimento. A incapacidade de provar experimentalmente esta hipótese deixa-a aceita apenas como especulativa. Mesmo que nunca venha a ser provada como verdadeira, a importância por ela resgatada, com referência aos microrganismos endofíticos simbiontes no controle do desenvolvimento vegetal deve ser considerada, pois cada vez mais evidenciam-se novas formas de

síntese de auxinas para a planta, como a interação patogênica da formação de galhas por *Agrobacterium tumefaciens* (Gaudin et al., 1994; Costacurta & Vanderleyden, 1995). Efeitos promovidos por substâncias ativas como fitormônios produzidas por bactérias, também podem ocorrer através da liberação de auxinas no interior da planta por bactérias endofíticas, por exemplo (Glick, 1995), ou produção de auxinas na filosfera ou na rizosfera por *Pseudomonas*, por exemplo (Loper & Schroth, 1996). Entre os efeitos de estímulo de crescimento vegetal, ocorrem estímulos ao desenvolvimento de raízes laterais e elongamento das raízes primárias. De certa forma a promoção do crescimento vegetal está associada ao nível populacional da espécie microbiana associada, que irá refletir na quantidade de fitormônio disponível à planta, o que irá afetar quando a promoção ou a inibição do crescimento das raízes ocorrerá, e este nível está sujeito a várias etapas de regulação (Patten & Glick, 1996).

Os mecanismos genéticos de regulação da biossíntese de auxinas por bactérias como *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, estão correlacionados funções que influenciam a fisiologia e o desenvolvimento da planta hospedeira. Em bactérias patogênicas como *Pseudomonas* e *Agrobacterium*, a produção de auxinas pode ser por vias genéticas presentes em plasmídeos ou no cromossoma, além de possuírem genes com a capacidade de conjugar auxinas livres (exógenas) ou hidrolisar formas conjugadas de auxinas e citocininas, mantendo o controle do nível hormonal dentro das células da planta hospedeira. Além disso, *Agrobacterium* possui genes que fazem parte do operon (conjunto de genes de uma via biossintética) de auxinas e citocininas envolvidos na sensibilidade dos níveis destes fitormônios nos tecidos vegetais transformados, levando a mais um controle dos níveis hormonais produzidos. Em bactérias simbiontes do grupo rizóbio, a síntese de auxinas e a alteração da proporção entre auxinas e citocininas está relacionada à capacidade de iniciação da formação dos nódulos (Costacurta & Vanderleyden, 1995). Em *Azospirillum*, o principal fitormônio produzido é uma auxina (AIA). Assim como em outras espécies capazes da síntese de auxinas, o

bactéria promovem a formação destas estruturas em um conjunto de espécies vegetais quase sempre filogeneticamente relacionadas (Long, 1996). Alguns actinomicetos (gênero *Frankia*) são capazes de produzirem nódulos simbióticos em plantas pertencentes a 24 gêneros de oito famílias, onde os modos de infecção e formação de nódulos são análogos aos observados nas interações entre rizóbio e leguminosas (Marin et al., 1999). Uma vez que ocorre a formação de nódulos funcionais, os rizóbios assumem uma morfologia característica de associações simbióticas (bacteróides), e fixamativamente o nitrogênio atmosférico que é transferido para a planta hospedeira em troca de fotoassimilatos. Este processo simbótico é extremamente importante em cultivos comerciais de alguns legumes (soja e caupi, por exemplo), e na recuperação de áreas degradadas (Franco & Faria, 1997; Hungria et al., 2000).

Outras espécies de bactérias tipo BPCV podem atuar nas relações entre rizóbios e leguminosas, promovendo incrementos no crescimento vegetal e no rendimento de grãos, no N total biologicamente fixado, além de melhorias no aproveitamento do N obtido pela planta através da simbiose com rizóbios. Estes efeitos podem ser devidos à diversos mecanismos, entre eles uma antecipação na FBN dos nódulos, incrementos na massa seca de nódulos (Dashti et al., 1998; Singh & Subba Rao, 1979), promoção da ocorrência de nodulação heteróloga através do aumento da formação de pêlos radiculares e raízes secundárias - aumento nos sítios de infecção (Srinivasan et al., 1997), inibição de fitopatógenos e produção de fitormônios (Araújo & Hungria, 1999), influências na partição de matéria seca entre as raízes e a parte aérea (El-Mokadem et al., 1989). Entre as espécies de BPCV envolvidas estão algumas pertencentes aos gêneros *Serratia*, (*S. liquefaciens* e *S. proteamaculans*), *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. subtilis*), *Azospirillum* (*A. brasiliense*, *A. lipoferum*) e *Azotobacter* (*A. chroococcum*). Estes efeitos promovidos pela co-inoculação de BPCV e rizóbios parece estar sobre a influência de sinais específicos, ou semi-específicos, entre os genótipos bacterianos envolvidos e o genótipo da planta hospedeira.

Entre espécies não leguminosas, a ocorrência da FBN ainda é motivo de muita discussão. Estudos sobre o balanço de N, incorporação de ¹⁵N por diluição isotópica ou abundância natural, fornecem evidências da ocorrência de fixação biológica de N em plantas não leguminosas, especialmente em gramíneas, tanto sob condições controladas como em condições de campo. Porém, devido à falha na identificação de uma ou mais espécies bacterianas responsáveis pelas contribuições atribuídas à FBN, não se obtém uma avaliação conclusiva sobre a existência de simbiose ou apenas o aproveitamento de N incorporado no sistema solo-planta por bactérias de vida livre. Mesmo estudos sobre a identificação de expressão de genes (análises de RNA) *in situ*, ou a detecção de proteínas relacionadas à FBN (complexos I e II da nitrogenase) e sua atividade, não foi ainda observada a transferência de N biologicamente fixado para a planta hospedeira, semelhante ao modo observado na associação de rizóbios com leguminosas. Além disso, ainda não foi observada a presença de colonização endofítica dentro de células vivas e funcionais (James et al., 1999). A mineralização de compostos nitrogenados presentes nas células diazotróficas ainda não pode ser descartada como fonte de N atmosférico incorporado aos vegetais. Enquanto as evidências sobre a ocorrência de transferência de N biologicamente fixado para plantas não leguminosas se acumulam, informações sobre os mecanismos e os modos de transferência de N, e sobre as bases fisiológicas das associações entre bactérias diazotróficas e plantas não leguminosas continuam escassos. As contribuições observadas são bastante variáveis, e dependentes de interações específicas entre os genótipos bacteriano e vegetal (James, 2000). Esta interações possuem um grande potencial de utilização, pelas características já definidas de colonização, interação específica e benefício produzido (Baldani et al., 1997).

5.2. Produção de fitormônios

A produção de reguladores de crescimento ativos como fitormônios faz parte do metabolismo de diversas espécies de bactérias

associadas aos vegetais e podem ser considerados agentes causais da alteração do crescimento e desenvolvimento vegetal (Bashan & Holguim, 1997). Entre as substâncias ativas como fitormônios, foram identificadas a presença de auxinas, citocininas, giberelinas e etileno em condições de cultivo na ausência de uma planta hospedeira (Klee et al., 1991; Patten & Glick, 1996; Holland 1997; Cassán et al., 2001). Estes fitormônios causam modificações na morfologia das raízes, o que pode influenciar a absorção de nutrientes e de água. A capacidade dos microrganismos produzirem auxinas está relacionada a fatores de patogenicidade e de estímulos ao crescimento vegetal. Diversas auxinas vegetais possuem sua estrutura química identificada, porém dentre elas a mais importante é o ácido 3-indolacético (AIA). Dentre as vias de biossíntese conhecidas, estão as vias dependentes de triptofano e as vias independentes deste aminoácido, mas que ocorrem a partir de seus precursores, a partir de 3-indolacetamida, ácido 3-indolpirúvico e 3-indolacetonitrilo (Patten & Glick, 1996). *Azospirillum* possui pelo menos três vias de biossíntese de AIA, duas das quais dependentes de triptofano (Prinsen et al., 1993; Lambrecht et al., 2000). Acredita-se que cerca de 80% das espécies de bactérias isoladas da rizosfera possuem a capacidade de produzir AIA (Loper & Schroth, 1986).

Através da produção de fitormônios, os microrganismos podem promover um estímulo ao crescimento vegetal, e aumentar a produção de metabólitos pelas plantas que podem ser utilizados para o seu próprio crescimento. Ainda, podem exercer a função de detoxificação celular causada por elevados teores de triptofano (Manulis et al., 1998). Em relações patogênicas, as auxinas podem inibir a produção de enzimas de defesa pela planta (como quitinases e β -1-3-glucanases), estando a via de biossíntese utilizada para a síntese de auxina, relacionada ao comportamento epífítico ou patogênico em *Erwinia herbicola* (Manulis et al., 1998). O resultado da interação entre a planta e a bactéria irá depender da concentração de fitormônio disponível às células vegetais. A interação entre fitormônios microbianos e as plantas pode ser através da transferência de genes bacterianos responsáveis pela