

ISSN 1516-8840

Dezembro, 2010

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 303

**Fixação Biológica de Nitrogênio na
Cultura do Arroz Irrigado por Inun-
dação**

**Parte I: Bactérias Endofíticas
Diazotróficas Isoladas das Cultiva-
res BRS 7 "Taim" e BRS Pelota**

Maria Laura Turino Mattos

Embrapa Clima Temperado
Pelotas, RS
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: BR 392 Km 78
Caixa Postal 403, CEP 96001-970 - Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8199
Fax: (53) 3275-8219 - 3275-8221
Home page: www.cpact.embrapa.br
E-mail: sac@cpact.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Ariano Martins de Magalhães Júnior
Secretária- Executiva: Joseane Mary Lopes Garcia
Membros: Márcia Vizzotto, Ana Paula Schneid Afonso, Giovani Theisen, Luis Antônio Suinta de Castro, Flávio Luiz Carpena Carvalho, Christiane Rodrigues Congro Bertoldi e Regina das Graças Vasconcelos dos Santos

Suplentes: Beatriz Marti Emygdio e Isabel Helena Verneti Azambuja

Supervisão editorial: Antônio Luiz Oliveira Heberlê
Revisão de texto: Ana Luiza Barragana Viegas
Normalização bibliográfica: Graciela Olivella Oliveira
Editoração eletrônica e Arte da capa: Bárbara Neves de Britto
Foto da capa: Maria Laura Turino Mattos e Paulo Lanzetta

1ª edição

1ª impressão (2010): 50 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Clima Temperado

Fixação biológica de nitrogênio na cultura do arroz irrigado por inundação: parte I: bactérias endofíticas diazotróficas isoladas das cultivares BRS 7 "Taim" e BRS Pelota / Maria Laura Turino Mattos ... [et al.]. — Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.
22 p. — (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 303).

ISSN 1516-8840

Arroz irrigado – Manejo – Nitrogênio – Microorganismo. 2. Agricultura de baixo carbono. I. Mattos, Maria Laura. Turino. II. Série.

CDD 633.18

© Embrapa 2010

Autores

Maria Laura Turino Mattos
Engenheira Agrônoma, Dra. em Ciência do Solo,
pesquisadora da
Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS,
maria.laura@cpact.embrapa.br

Paulo Ricardo Reis Fagundes
Engenheiro Agrônomo, Dr. em Melhoramento de
Plantas, pesquisador da
Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS,
paulo.fagundes@cpact.embrapa.br

Ieda Baade dos Santos
Engenheira Agrônoma, MSc. Tecnologia
Agroindustrial, Assistente da
Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI,
ieda@cpamn.embrapa.br

Bruna Macedo Almeida
Graduanda em Farmácia, bolsista do CNPq, Universi-
dade Católica de Pelotas, Pelotas, RS,
bruninhahmacedo@hotmail.com

Apresentação

No Estado do Rio Grande do Sul cultiva-se arroz irrigado por inundação em aproximadamente um milhão de hectares, alcançando-se uma produtividade superior a sete toneladas por hectare, fruto da tecnificação da lavoura, das condições ambientais e da experiência dos orizicultores. A aplicação de fertilizantes químicos nitrogenados tem um importante papel no aumento da produtividade da cultura.

Por outro lado, o aumento do custo dos fertilizantes químicos nitrogenados e a lacuna entre o fornecimento e a demanda de nitrogênio, considerando-se a possibilidade de lixiviação, escorrimento e perdas gasosas desse nutriente, contribuindo para redução da camada de ozônio atmosférico pela sua reação química com o N₂O, estão gerando preocupações quanto às questões ambientais e questionamentos quanto à rentabilidade da orizicultura.

Neste contexto, a Embrapa Clima Temperado tem buscado soluções tecnológicas para a redução das emissões de gases de efeito estufa, promovendo pesquisas para Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) na cultura do arroz irrigado por inundação. FBN insere-se no Programa de Agricultura de Baixa Emissão de Carbono (ABC), criado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para mitigação do efeito estufa e adaptação às mudanças climáticas visando à consolidação de uma economia de ABC no Brasil.

Este documento apresenta resultados iniciais da pesquisa com FBN na cultura do arroz irrigado por inundação da Embrapa Clima Temperado em parceria com a Embrapa Agrobiologia, integrante do projeto “Soluções tecnológicas para otimizar o aporte de N nos sistemas agrícolas via Fixação Biológica de Nitrogênio” (PAC – EMBRAPA - Macroprograma 2).

Waldyr Stumpf Junior
Chefe-Geral
Embrapa Clima Temperado

Sumário

1.Introdução.....	09
2.Isolamento e caracterização de bactérias endofíticas diazotróficas da folha, colmo e raiz da cultivar BRS 7 “Taim”	12
2.1 Procedimentos analíticos.....	12
2.2 Resultados.....	13
3.Isolamento e caracterização de bactérias endofíticas do colmo da cultivar de arroz irrigado BRS Pelota.....	15
3.1 Procedimentos analíticos.....	15
3.2 Resultados.....	17
4.Considerações finais.....	19
5.Referências.....	21

Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura do Arroz Irrigado por Inundação

Parte I: Bactérias Endofíticas Diazotróficas Isoladas das Cultivares BRS 7 “Taim” e BRS Pelota

Maria Laura Turino Mattos

Paulo Ricardo Reis Fagundes

Ieda Baade dos Santos

Bruna Macedo Almeida

Introdução

Microrganismos endofíticos são principalmente fungos e bactérias que vivem no interior das plantas, habitando, de modo geral, suas partes aéreas, como folhas e caules, sem causar aparentemente nenhum dano a seus hospedeiros (AZEVEDO, 1998). Também podem ser encontrados nas raízes, que são uma das principais vias de acesso à planta. Diferem dos microrganismos epifíticos, cuja característica é viver na superfície dos órgãos e tecidos vegetais. Bactérias endofíticas exercem vários efeitos benéficos para as plantas, como por exemplo: a estimulação do crescimento, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a indução de resistência a patógenos (CHEN et al., 1995; LIU et al., 1995; STURZ; MATHESON, 1996 citados por ELBELTAGY et al., 2000). No entanto, há desconhecimento sobre o papel que exercem muitas dessas bactérias nas plantas hospedeiras, como tarefas fisiológicas, ecológicas e evolucionais em interações planta-microrganismo e a exploração de seu uso potencial (ex: como veículo de propriedades desejáveis para a produção de alimentos e em processos de fitorremediação) (ELBELTAGY et al., 2000).

A fixação do nitrogênio por diazotróficos endofíticos tem sido raramente comprovada, porém alega-se que esses microrganismos têm uma vantagem sobre os diazotróficos associativos de raízes, uma vez que ocupam espaços mais intimamente ligados ao hospedeiro e, portanto, com maior acesso às fontes de carbono. Além disso, colonizam nichos protegidos do oxigênio, o qual é necessário à expressão e atividade da nitrogenase (DOBBELAERE et al., 2003).

O conhecimento da identidade e das características da população de diazotróficos, responsáveis pela fixação de nitrogênio (N), é essencial à compreensão e aproveitamento deste importante processo biológico. Assim, este trabalho teve por objetivo isolar, caracterizar e identificar bactérias diazotróficas associativas ao arroz e ampliar a possibilidade de exploração biotecnológica desses organismos.

Estudos realizados com a cultura de arroz inundado sugerem que alguns genótipos podem ser beneficiados por significativas quantidades de N derivadas da FBN. Os genótipos IR 42 e CNA 6807 mostram-se promissoras para a FBN, chegando a acumular por meio deste processo entre 20% e 30% do N existente na parte aérea da planta (CAMPOS et al., 2003).

Nas várzeas subtropicais, no Rio Grande do Sul (RS), duas cultivares de arroz irrigado por inundação já foram avaliadas quanto à sua capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN), BRS 7 "Taim" e BRS Pelota. Dezessete colônias de bactérias endofíticas diazotróficas aeróbias, com potencial para FBN e uso em processos de fitorremediação, já foram isoladas de folhas, colmos e raízes da cultivar BRS 7 "Taim" (MATTOS et al., 2006). Dezenove isolados obtidos da cultivar BRS Pelota apresentaram capacidade para crescer em meio NFb (Novo Fábio Pedrosa), sendo, portanto, considerados diazotróficos endofíticos aeróbios. Um dos isolados, porém, apresentou pigmentação fluorescente característica de *Pseudomonas fluorescens*, bactéria promotora de crescimento de plantas (MATTOS et al., 2008).

O suprimento adicional de nitrogênio para as plantas pelos endofíticos diazotróficos seria uma forma direta que esses microrganismos utilizariam para promover o crescimento de diferentes culturas. Como alternativa para essa situação, a pesquisa está buscando o desenvolvimento de bioprocessos e formulação de inoculantes para aplicação na cultura do arroz irrigado por inundação. Ao mesmo tempo, há investigação de nova matéria-prima renovável para produção de inoculantes, em substituição ao uso da turfa, como biopolímeros [polihidroxibutirato (PHB)]. Foi comprovado o acúmulo de PHB em cinco cepas degradadoras de carbofurano, isoladas de solo de várzea subtropical do RS, conservadas na Coleção de Culturas de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Clima Temperado (CCMMECT). Os acessos (STC1, STC2, STC3, STC4 e STC5) foram identificados como *Pseudomonas* sp., sendo que STC1 e STC2 apresentam similaridade de 98% com *P. putida* e *P. jessenii* e STC3, STC4 e STC5 filogeneticamente podem representar um biovar de *P. putida* (CROCHEMORE et al., 2008).

Com o aumento do custo dos fertilizantes químicos e com a crescente preocupação com os possíveis danos ambientais decorrentes de seu uso, o papel da FBN, em outras plantas que não as leguminosas, como na cultura do arroz irrigado por inundação é de extrema importância para a sustentabilidade da orizicultura e, conseqüentemente, para a inserção de produtores no Programa de Agricultura de Baixo Carbono (ABC).

2. Isolamento e caracterização de bactérias endofíticas diazotróficas da folha, colmo e raiz da cultivar BRS 7 "Taim"

2.1 Procedimentos analíticos

Desenvolveu-se o trabalho no laboratório de microbiologia agrícola e ambiental da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, realizando-se o isolamento de bactérias endofíticas diazotróficas aeróbias de plantas de arroz irrigado, em meio seletivo NFb (Novo Fábio Pedrosa) (DÖBEREINER et al., 1995). Coletaram-se amostras em experimento de arroz irrigado no sistema de cultivo convencional, na safra agrícola de 2005/06, instalado na Estação Experimental Terras Baixas (ETB), sendo constituídas de oito plantas de arroz cultivar BRS 7 "Taim".

Para o isolamento de bactérias diazotróficas totais (superficiais + endofíticas), folhas, colmos e raízes das plantas foram lavados com água destilada para a remoção do solo. O excesso de umidade foi retirado com papel absorvente. Posteriormente, foram cortados em fragmentos de 1,0 cm a 2,0 cm com tesoura esterilizada. Amostras de 10 g de folhas, de colmos e de raízes foram desinfetadas superficialmente, por meio da imersão dessas partes separadamente, utilizando-se os seguintes produtos químicos em ordem de descrição: (1) álcool 70%, por dois minutos; (2) hipoclorito de sódio 2%, por cinco minutos e, (3) água ultra-pura estéril, por dez minutos. Logo após, foram maceradas manualmente com um almofariz e um pistilo previamente autoclavados juntamente com 90 mL de uma solução tampão de fosfato 0,05 M (pH 7,0), por dois minutos. Alíquotas dos macerados foram inoculadas em tubos contendo meio NFb semissólido os quais foram incubados a 35 °C por sete dias (DÖBEREINER et al., 1995), para observação da formação de película característica do gênero *Azospirillum*.

Os tubos que formaram uma película fina ou difusa, na superfície ou a alguns milímetros abaixo da superfície do meio de cultura semi-sólido, foram positivos. Quantidades da película foram repicadas com alça de

platina para placas com meio NFb sólido (15,0 g L⁻¹ de ágar) suplementado com 20 mg L⁻¹ de extrato de levedura, sendo as mesmas incubadas a 35 °C por sete dias. As colônias recuperadas foram purificadas nestas mesmas condições.

Os isolados foram novamente repicados para o meio NFb semi-sólido para a confirmação da atividade diazotrófica das bactérias. Após a formação do véu, os diferentes isolados foram repicados para placas com meio de cultura Batata Dextrose (BDA), sendo estas incubadas a 35 °C por sete dias, para a verificação da formação de colônias róseas, indicativo da presença de bactéria da espécie *Azospirillum lipoferum* (DÖBEREINER et al., 1995). Estes mesmos isolados foram repicados para placas com meio King B para a verificação da presença de pigmento fluorescente e, em meio Ágar Nutritivo (AN), para a avaliação da morfologia colonial.

2.2 Resultados

O isolamento permitiu a recuperação de 17 colônias bacterianas endofíticas aeróbias as quais apresentaram crescimento em meio NFb sólido, sendo seis isolados das folhas, seis dos colmos e cinco das raízes (Tabela 1). Todos apresentaram coloração branca. Aos sete dias de incubação, não apresentaram o centro azulado, indicando ausência de *Herbaspirillum* spp (DÖBEREINER et al., 1995). Dois isolados das raízes e dois dos colmos apresentaram colônias transparentes, convexas, margem regular e com tamanho de 1,0 mm, após quatro dias de incubação a 33 °C, indicando a presença de um provável *Azospirillum* spp. Dados de literatura relatam que a espécie de *A. irakense* foi inicialmente isolada de plantas de arroz crescidas no Iraque (KHAMMAS et al., 1989 citado por DÖBEREINER et al., 1995).

A comprovação da presença de *A. lipoferum* foi averiguada por meio da repicagem das colônias em meio BDA a 35 °C por sete dias de incubação. No entanto, apesar do crescimento positivo (colônias creme), não ocorreu a formação, inicialmente, de colônias branco-amareladas, e após uma semana de incubação, róseas, indicativo de presença de *A. lipoferum* (DÖBEREINER et al., 1995).

Os isolados que cresceram em meio King B não produziram pigmento fluorescente, característica de *Pseudomonas fluorescens* (STARR et al., 1981) (Tabela 1). O crescimento em meio AN possibilitou a caracterização morfológica das bactérias. As colônias apresentaram-se com as seguintes características: (cor) amarelo, creme e laranja; (tamanho) pequena, média e grande; (textura) rugosa e lisa; (forma) circular e irregular; (margens) inteiras e onduladas; (elevação) baixa, elevada e convexa. Bactérias endofíticas filogeneticamente diversas, incluindo bactérias Gram-negativo e Gram-positivo foram isoladas de diferentes variedades de arroz cultivadas e nativas. As Gram-negativas foram de coloração rosa *pink*, amarela e branca, translúcidas, circulares e convexas. As Gram-positivas apresentaram coloração amarela e branca (ELBELTAGY et al., 2000).

Tabela 1. Crescimento dos isolados bacterianos endofíticos diazotróficos aeróbios das folhas, colmos e raízes de plantas de arroz irrigado da cultivar BRS 7 "Taim", nos meios de cultura NFb, BDA, King B e AN. Safra agrícola 2005/06. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. 2010.

Isolados	NFb	BDA	King B	AN
TF* - 01	+	+	+ ¹	+
TF - 02	+	+	+	+
TF - 03	+	+	+	+
TF - 04	+	+	+	+
TF - 05	+	+	+	+
TF - 06	+	+	+	+
TC** - 01	+	+	+	+
TC - 02	+	+	+	+
TC - 03	+	+	+	+
TC - 04	+	+	+	+
TC - 05	+	+	+	+
TC - 06	+	+	+	+
TR*** - 01	+	+	+	+
TR - 02	+	+	+	+
TR - 03	+	+	+	+
TR - 04	+	+	+	+
TR - 05	+	+	+	+

* TF = BRS 7 Taim folha ** TC = BRS 7 Taim colmo *** TR = BRS 7 Taim raiz

¹ Ausência de produção de pigmento fluorescente

3. Isolamento e caracterização de bactérias endofíticas do colmo da cultivar de arroz irrigado BRS Pelota

3.1 Procedimentos analíticos

Desenvolveu-se o trabalho no laboratório de microbiologia agrícola e ambiental da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, realizando-se o isolamento de bactérias endofíticas aeróbias de plantas de arroz irrigado, em meio ágar nutritivo (AN). Coletaram-se amostras de um experimento de arroz irrigado sob um solo submetido ao cultivo de uma sucessão de milho e soja com forrageiras de estação fria, em semeadura direta, na safra agrícola de 2002/03. Instalado na Estação Experimental Terras Baixas (ETB), Embrapa Clima Temperado, o experimento foi constituído de oito plantas de arroz cultivar BRS Pelota.

Colmos de três plantas foram lavados com água destilada para a remoção do solo, visando o isolamento de bactérias diazotróficas endofíticas. O excesso de umidade foi retirado com papel absorvente. Posteriormente, foram cortadas em fragmentos de 0,3 cm a 0,5 cm, com tesoura esterilizada. Dois gramas de colmos foram desinfectados superficialmente, de modo a permitir que as bactérias isoladas dessas amostras fossem consideradas endofíticas.

Os procedimentos de desinfecção utilizados incluíram a imersão dos pedaços de colmo em solução de etanol (75%) durante um minuto, seguida de imersão em hipoclorito (2% p/v) com 0,1% de *Tween* 80 por cinco minutos, lavando-se em seguida em água deionizada estéril por dez minutos, sendo transferidos com uma pinça estéril para placas de Petri contendo ágar nutritivo (AN). As placas foram incubadas a 28 °C durante 48h. As colônias recuperadas foram repicadas consecutivamente até a obtenção de colônias puras.

Os testes taxonômicos foram realizados em AN com crescimento bacteriano a 28 °C em 24h (Tabela 2). Os testes bioquímicos utilizados

foram: reação Gram, motilidade, aerobiose, reação catalase, endósporo, utilização de citrato, crescimento no meio de cultura AN pH 4,5 a 28 °C por 24h, caldo nutritivo pH 3,6 por seis dias a 28 °C, meios King A e King B a 28 °C incubados por seis dias, meio seletivo Nfb (Novo Fábio Pedrosa) (DÖBEREINER et al., 1995) semissólido incubado a 35 °C por sete dias, meios LGI e BDA incubados por 7 dias a 30 °C (Tabela 2).

Tabela 2. Características bioquímicas de bactérias endofíticas do colmo da cultura do arroz irrigado da cultivar BRS Pelota. Safra agrícola 2002/03. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. 2010.

Isolado	Gram	Motilidade	Catalase	Endosporo	Citrato	Aerobiose	AN pH4,5	CN pH3,6	King B	NFB	LGI	BDA
ECAZ 1	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	
ECAZ 2	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+ **
ECAZ 4	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	
ECAZ 6	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+ **
ECAZ 7	-	-	-	-	+	-	+	-	+ ^o	+	+	
ECAZ 9	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	
ECAZ 10	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	
ECAZ 12	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	
ECAZ 13	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	
ECAZ 14	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+ **
ECAZ 15	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
ECAZ 18	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	
ECAZ 20	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+ **
ECAZ 21	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	
ECAZ 22	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	
ECAZ 23	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	
ECAZ 24	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	
ECAZ 25	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	
ECAZ 26	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	

*Presença de produção de pigmento fluorescente.

** Ausência de coloração chocolate após sete dias de incubação a 30 °C.

3.2 Resultados

Recuperaram-se 19 colônias bacterianas endofíticas aeróbias. O crescimento em meio AN possibilitou a caracterização taxonômica das bactérias. As colônias apresentaram-se com coloração amarela, creme e laranja; com tamanho pequeno, médio e grande; com textura brilhante, lisa e rugosa; com forma irregular e circular; com margens inteira e ondulada e elevação convexa e plana.

Todos os isolados apresentaram crescimento em meio King B, porém apenas o isolado ECAZ 7 apresentou pigmentação fluorescente característica de *Pseudomonas fluorescens* (STARR et al., 1981). *P. fluorescens* apresenta capacidade para a promoção do crescimento de plantas, podendo ser utilizada em processos biotecnológicos. No meio Nfb todos os isolados cresceram, porém nenhum dos isolados apresentou o centro azulado, característica de *Herbaspirillum* ssp. (Tabela 2) (DÖBEREINER et al., 1995).

Os isolados que apresentaram uma coloração branca em meio Nfb foram repicados para o meio LGI e incubados por sete dias a 30 °C. As colônias que apresentaram a coloração laranja no meio LGI (ECAZ 2, ECAZ 6, ECAZ 14, ECAZ 20) foram repicadas para o meio BDA para purificação, onde as colônias formadas são inicialmente claras e úmidas, tornando-se de coloração chocolate após sete a dez dias de incubação, a 30 °C. Porém, após incubação, as colônias crescidas não apresentaram coloração chocolate, característica de *Acetobacter diazotrophicus* (DÖBEREINER et al., 1995).

A busca crescente por insumos alternativos aos fertilizantes nitrogenados, diante da crise econômica mundial que duplicou o valor comercial desse tipo de insumo e das mudanças climáticas, impõe à pesquisa a busca de soluções para garantir a rentabilidade das lavouras orizícolas com segurança ambiental. Os isolados bacterianos diazotróficos endofíticos constituem-se em produto pré-tecnológico desejável para a lavoura de arroz irrigado por inundação.

4. Considerações finais

Todos os 36 acessos bacterianos obtidos [(TF01, TF02, TF03, TF04, TF05, TF06, TC01, TC02, TC03, TC04, TC05, TC06, TR01, TR02, TR03, TR04, TR05); (ECAZ 1, ECAZ 2, ECAZ 4, ECAZ 6, ECAZ 7, ECAZ 9, ECAZ 10, ECAZ 12, ECAZ 13, ECAZ 14, ECAZ 15, ECAZ 18, ECAZ 20, ECAZ 21, ECAZ 22, ECAZ 23, ECAZ 24, ECAZ 25, ECAZ 26)] possuem capacidade de crescer em meio NFb, característica de diazotróficos endofíticos aeróbios.

A pigmentação fluorescente característica de *Pseudomonas fluorescens*, de um dos isolados bacterianos obtidos (ECAZ 7), é compatível com a capacidade de promover o crescimento de plantas.

A capacidade de bactérias realizarem o processo de FBN pode ser facilmente comprovada pela habilidade de crescerem em meio de cultura livre de N, como o NFb. Em continuidade, serão realizados estudos para caracterização dos acessos em nível molecular e avaliação do potencial de FBN de genótipos de arroz irrigado inoculados com esses acessos, em ensaios de casa de vegetação e campo.

Os acessos estão depositados e preservados na Coleção de Culturas de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Clima Temperado, permitindo o conhecimento da diversidade microbiana endofítica das cultivares BRS 7 “Taim” e Pelota, a aplicação em processos agrícolas e biotecnológicos, e o intercâmbio interinstitucional.

5. Referências

- AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de, ed. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. 488 p.
- CAMPOS, D. V. B. de; RESENDE, A. S. de; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio para a cultura de arroz sob inundação. **Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 2, p. 41-46, 2003.
- CROCHEMORE, A. G.; MATTOS, M. L. T.; VENDRUSCULO, C. T.; CASTRO, L. A. S. Bactérias degradadoras do inseticida carbofurano acumuladoras de biopolímero. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2008, Brasília, DF. **Anais...Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2008. p. 563.
- DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 22, p.107-149, 2003.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas** – Brasília: EMBRAPA –SPI: Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPAB, 1995. 60 p.
- ELBELTAGY, A.; NISHIOKA, K.; SUZUKI, H.; SATO, T.; SATO, Y.; MORISAKI, H.; MITSUI, H.; MINAMISAWA, K. Isolation and characterization of endophytic bacteria from wild and traditionally cultivated rice varieties. **Soil Science Plant Nutrition**, Tokyo, v.46, n.3, p.617-629, 2000.

MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R.; SANTOS, I. M. B. Ocorrência de bactérias endofíticas diazotróficas na folha, colmo e raiz da cultivar BRS Taim de arroz irrigado. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 11.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6., 2006, Bonito, MS. FertBio 2006 **A busca das raízes: anais**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 82). 1 CD-ROM.

MATTOS, M. L. T.; GOMES, A.; SANTOS, I. M. B. Isolamento e caracterização de bactérias endofíticas do colmo da cultivar de arroz irrigado BRS Pelota. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 28.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 12.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 10.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 7., 2008, Londrina. FertBio 2008: **desafios para o uso do solo com eficiência e qualidade ambiental: anais**. Londrina: Embrapa Soja: SBCS: IAPAR, UEL, 2008. 1 CD-ROM.

STARR, M. P.; STOLP, H.; TRÜFER, H. G.; BALOWS, A; SCHLEGEL, H. G. **The prokaryotes**. Berlin: Springer-Verlag, 1981. v .1, 1258 p.

