



Revista Brasileira de Ciência do Solo

ISSN: 0100-0683

revista@sbccs.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo

Brasil

Fontes Coelho, Luciana; Santos Freitas, Sueli dos; Tavares de Melo, Arlete Marchi; Bovi Ambrosano,
Gláucia Maria

**INTERAÇÃO DE BACTÉRIAS FLUORESCENTES DO GÊNERO Pseudomonas E DE Bacillus spp.
COM A RIZOSFERA DE DIFERENTES PLANTAS**

Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol. 31, núm. 6, 2007, pp. 1413-1420

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo

Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180214061018>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

INTERAÇÃO DE BACTÉRIAS FLUORESCENTES DO GÊNERO *Pseudomonas* E DE *Bacillus* spp. COM A RIZOSFERA DE DIFERENTES PLANTAS⁽¹⁾

**Luciana Fontes Coelho⁽²⁾, Sueli dos Santos Freitas⁽³⁾, Arlete Marchi
Tavares de Melo⁽³⁾ & Gláucia Maria Bovi Ambrosano⁽⁴⁾**

RESUMO

Embora haja muitos trabalhos na literatura com rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs), existem poucos que expliquem seu mecanismo de ação. É possível que algumas rizosferas favoreçam a colonização radicular por RPCPs, facilitando o estabelecimento da interação planta-bactéria, como se houvesse certa especificidade entre ambas. O objetivo deste trabalho foi verificar se a rizosfera de alface, em comparação com a de outras espécies vegetais, favorece o estabelecimento de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas*, em comparação com as do gênero *Bacillus*. Coletaram-se amostras do sistema radicular de alface, rúcula, chicória, salsa e tiririca em oito propriedades de produtores comerciais de hortaliças, na região de Campinas, SP. Foi feita a contagem de *Pseudomonas* spp. fluorescentes e de *Bacillus* spp. por diluição em série e plaqueamento. De maneira geral, observou-se maior crescimento de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera de alface-crespa em relação à de outras plantas, mas isso não ocorreu com *Bacillus* spp.

Termos de indexação: especificidade, rizobactérias, alface, RPCPs.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Mestrado da primeira autora apresentada ao Instituto Agronômico – IAC. Recebido para publicação em 2006 e aprovado em agosto de 2007.

⁽²⁾ Mestranda de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical do Instituto Agronômico – IAC. Caixa Postal 28

SUMMARY: INTERACTION OF FLUORESCENT PSEUDOMONADS AND *Bacillus spp.* WITH DISTINCT PLANT RHIZOSPHERES

*Despite numerous reports on plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), there are few of them explaining their mode of action. It is possible that some plants promote bacterial colonization in the rhizosphere to facilitate plant-bacterium interaction, as if there were a certain mutual specificity. The objective of this study was to verify if lettuce plants promote root colonization by fluorescent pseudomonads, in comparison with other plants and with *Bacillus spp.* Roots of lettuce and some other vegetables were sampled in different properties of small commercial producers in Campinas-SP, Brazil. Colony forming units (cfu) of fluorescent pseudomonads and *Bacillus spp.* were counted by serial dilution and plating. The numbers of fluorescent pseudomonads were significantly higher in lettuce rhizosphere than in other plants, unlike the numbers of *Bacillus spp.**

Index terms: specificity; rhizobacteria; lettuce; PGPR.

INTRODUÇÃO

A produção de inoculantes de baixo custo com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) é uma alternativa para diminuir os riscos ambientais causados pela utilização inadequada – e às vezes excessiva – de insumos e agrotóxicos, aumentar a produção agrícola, tornar o produto mais competitivo e diferenciado e, ainda, diminuir os custos para o produtor.

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) habitam a rizosfera – a região do solo sob influência das raízes. Entre os diversos mecanismos de ação já relatados para promover o crescimento de plantas estão a produção de hormônios de crescimento, como auxinas (Asghar et al., 2002), e a solubilização de fosfatos minerais (Freitas et al., 1997). Além disso, RPCPs são importantes agentes de controle biológico, pois podem suprimir microrganismos patogênicos da rizosfera, pela produção de β -1,3-glucanase (Fridlander et al., 1993), antibióticos (Raaijmakers et al., 1997), ácido cianídrico (Owen & Zdor, 2001) e sideróforos (Pidello, 2003). Sideróforos são compostos de baixo peso molecular, quelantes de ferro, produzidos pelas bactérias sob condições limitantes desse elemento (Neilands et al., 1984). A promoção de crescimento de plantas pela diminuição da incidência de doenças pode se dar pela inibição direta do crescimento do patógeno (Freitas & Pizzinatto, 1997; Raaijmakers et al., 1997; Owen & Zdor, 2001) e pela indução de resistência sistêmica (Fridlander et al., 1993; Nandakumar et al., 2001), entre outras maneiras.

Existem relatos da promoção de crescimento por rizobactérias em várias culturas, como trigo (Luz, 2001), plantas ornamentais (Yuen & Schroth, 1986), alface (Freitas et al., 2003), citros (Freitas & Aguiar-Vildoso, 2004), árvores florestais (Garcia et al., 2004).

diminuição na incidência de patógenos ou na da doença, antecipação da ida de mudas para além de outros. O efeito no crescimento pode ser expresso tanto pela massa da parte aérea ou raízes, como pela altura.

No entanto, embora haja inúmeros relatos sobre as RPCPs quanto ao aumento na produtividade, crescimento de plantas e supressão de doenças, a utilização desses microrganismos sempre tem fornecido bons resultados: um de sua utilização comercial é que os introduzidos podem ter dificuldade de se estabelecerem e sobreviverem em condições de campo (Atkinson & Watson, 2000). Portanto, é necessário, primeiramente, estudar a ecologia desses microrganismos na rizosfera e obter informações sobre mecanismos de colonização de raízes, especificidade de hospedeiros, infecção, fatores ambientais e interações com outros microrganismos.

Pela avaliação do número de bactérias na rizosfera de plantas é possível conhecer alguns dos fatores que exercem influência sobre seu estabelecimento no ambiente e avaliar sua capacidade de se estabelecer na rizosfera. Como exemplo, Chanway et al. (1997) detectaram, pela enumeração periódica de rizobactérias promotoras do crescimento previamente isoladas com resistência a antibióticos e inoculadas em sementes de abeto, que tanto isolados de *Bacillus spp.* quanto de *Pseudomonasspp.* do grupo fluorescente permaneceram na rizosfera por até 71 meses após a infecção. Concluíram que havia interação entre a infecção local, mas não avaliaram quais dos fatores ambientais poderiam interferir nessa interação. Já Freitas et al. (2003) sugeriram que aspectos nutricionais do substrato em que se desenvolviam plantas poderiam influenciar a capacidade de promover o crescimento por bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas*, justamente pela variação da concentração de nutrientes.

INTERAÇÃO DE BACTÉRIAS FLUORESCENTES DO GÊNERO *Pseudomonas* E DE *Bacillus* spp. ...

desse grupo bacteriano na rizosfera de plantas cítricas: os autores concluíram que *Pseudomonas* fluorescentes têm seu desenvolvimento influenciado pelo substrato e pelo ambiente em que se desenvolvem, particularmente pela rizosfera.

A alface foi utilizada porque, além de ser a hortaliça folhosa mais consumida pelos brasileiros, é sensível às condições adversas de temperatura, umidade e chuva, exigindo atenção especial quanto ao controle de pragas e doenças. A adoção da prática de inoculação de uma RPCP na cultura da alface seria uma forma de diminuir a dependência de produtos químicos sintéticos. Os produtos agrícolas conhecidos como orgânicos – isto é, aqueles em cuja produção a utilização de insumos é bastante limitada – vêm tendo demanda crescente, o que justifica estudos que possam facilitar o atendimento dessa demanda.

O objetivo deste trabalho foi verificar se a rizosfera de alface, em comparação com a de outras espécies vegetais, favorece o estabelecimento de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas*, em comparação com as do gênero *Bacillus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram amostradas plantas adultas de propriedades agrícolas, em variadas condições cultivo, no município de Campinas, Estado de São Paulo. Em todas as propriedades buscou-se alface (*Lactuca sativa*) e mais duas espécies cultivadas ou não. Nas propriedades Amara, Santa Genebra, São Gonçalo e São José, o horto de cultivo contínuo com hortaliças folhosas. Nas propriedades Boa Esperança e Guará, os proprietários relataram rotação de culturas com milho e feijão, respectivamente. Na propriedade São Marcos, o cultivo com alface havia sido cultivada há mais de 10 anos. No quadro 1 observam-se as espécies e quantidades de plantas coletadas e as características químicas das amostras, quantificadas em cada propriedade. No quadro 2 apresentadas as características químicas das amostradas, determinadas de acordo com o IAC de análise de solo (Raij et al., 2001). Na propriedade, retirou-se uma amostra composta de acordo com Ghini et al. (2006).

Quadro 1. Locais de amostragem, espécies e quantidades de plantas amostradas e grupos bacterianos quantificados

Propriedade	Espécie coletada ⁽¹⁾	Nº de plantas	Bactérias quantificadas	
			<i>Pseudomonas</i>	<i>Bacillus</i>
Amarais	Alface-crespa 'Vera'	10	Sim	Sim
	Rúcula 'Royal'	10		
	Chicória	10		
Boa Esperança	Alface-crespa 'Vera'	10	Sim	Não
	Rúcula	10		
	Salsa	10		
Guará	Alface-crespa 'Vera'	3	Sim	Sim
	Alface americana 'Lucy Brown'	3		
	Chicória	3		
Matão	Alface-crespa 'Vera'	10	Sim	Não
	Rúcula	10		
	Salsa	10		
Santa Genebra	Alface-crespa 'Vera'	10	Sim	Sim
	Rúcula	10		
	Salsa	10		
São Gonçalo	Alface-crespa 'Vera'	10	Sim	Sim
	Rúcula	10		
	Salsa	10		
São José	Alface-crespa 'Vera'	10	Sim	Sim
	Chicória 'Eros'	10		
	Salsa	10		
São Marcos	Alface-crespa 'Vera'	3	Sim	Sim
	Alface americana 'Lucy Brown'	3		

Quadro 2. Características químicas dos solos amostrados⁽¹⁾

Propriedade	MO	pH CaCl ₂	V	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H + Al	SB	CTC	P	Zn	B	Cu	Fe
		g dm ⁻³	%		mmolc dm ⁻³						mg dm ⁻³			
Matão	39	6,4	86	4,9	89	29	20	122,9	143,1	479	13,9	0,58	9,2	77
Boa Esperança	46	6,0	76	5,0	70	13	28	88,0	115,8	511	24,1	0,42	23,0	121
São José	50	6,1	86	5,8	145	21	28	171,8	199,6	878	16,0	0,70	15,0	161
Amarais	53	6,3	86	9,3	117	25	25	151,3	176,3	647	12,7	0,65	14,1	73
São Gonçalo	74	5,7	85	11,8	185	20	38	216,8	254,9	924	24,9	0,81	12,3	152
Santa Genebra	40	5,4	59	4,7	37	3	34	49,7	84,0	159	6,4	0,37	8,4	54

⁽¹⁾ Análise pelo Sistema IAC de análise de solo (Raij et al., 2001).

As plantas foram retiradas com um pouco de solo aderido às raízes, colocadas em sacos plásticos identificados e levadas ao laboratório para se proceder às contagens de dois grupos bacterianos específicos. Contaram-se, por diluição em série, as bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas* e as bactérias do gênero *Bacillus*, em placas com meio B de King et al. (1954) e BDA (batata, 200 g; dextrose, 20 g; ágar, 20 g e água qsp, 1 L), respectivamente.

Cada amostra coletada constituiu-se de uma raiz inteira, que foi separada da planta, agitada vigorosamente para desprender o solo que estava mais frouxamente aderido e colocada em frasco de erlenmeyer com solução salina esterilizada (solução de MgSO₄.7H₂O 0,01 M). O conjunto raiz + solo que permaneceu aderido foi considerado ambiente rizosférico. Esse conjunto, dentro do frasco de erlenmeyer, foi submetido a 30 minutos de agitação, em agitador mecânico. Em seguida, prepararam-se diluições em série de fator 10 a partir da suspensão do interior do frasco. As raízes foram secas até massa constante em estufa a 62 °C, para permitir a quantificação das bactérias presentes nas raízes secas (ufcs g⁻¹).

Para contagem de bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas*, aliquotas de 0,1 mL de cada diluição foram transferidas para placas de Petri com meio de cultura B de King et al. (1954) e espalhadas com o auxílio da alça de Drigalski, em duplicata. As placas foram mantidas a 28–30 °C por 24 h. Contaram-se como bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas* as colônias que fluoresceram sob luz com comprimento de onda próximo do ultravioleta (King et al., 1954).

O procedimento utilizado para quantificação de

contagem de *Pseudomonas* fluorescentes – feito em banho-maria a 80 °C por 20 min, após as prepararem novas diluições em série. A contagem das colônias que cresceram em meio de cultura foi feita após incubação a 28 °C por 48 h (Bettarini et al., 1998).

As bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* spp. foram quantificadas nas raízes das plantas em todas as oito propriedades. Já as do gênero *Bacillus* spp. foram quantificadas em seis propriedades (Quadro 3).

Para análise estatística, os dados foram transformados em log x e log (x + 1) e utilizados o teste de Tukey a 5 % para comparação das médias. Com os dados obtidos em quatro propriedades realizou-se a análise conjunta dos dados de contagem de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, porque nestas propriedades foram coletaram as mesmas espécies de plantas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas propriedades cujos dados foram analisados conjuntamente – Boa Esperança, Matão, Santa Genebra e São Gonçalo – observou-se maior número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera da alface-crespa, em comparação com as rizosferas da rúcula e salsa. Dentre essas três, a rizosfera da rúcula foi a que apresentou menor número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, como mostrado no Quadro 3.

Nas propriedades Guará e São Marcos conseguiram-se os números de *Pseudomonas* spp. fluorescentes nas rizosferas de duas variedades da mesma espécie, a rúcula e salsa, e a rizosfera da alface-americana, que não diferiram estatisticamente (Quadro 3). Todavia, quando se compararam as

INTERAÇÃO DE BACTÉRIAS FLUORESCENTES DO GÊNERO *Pseudomonas* E DE *Bacillus* spp. ...

diferentes de *Pseudomonas* spp. fluorescentes (Quadro 3). Embora essas plantas pertençam à mesma família, devem ter liberado exsudatos qualitativa e quantitativamente diferentes, influenciando os números dessas bactérias. A diferença entre as exsudações radiculares pode explicar também os números de *Pseudomonas* spp. fluorescentes significativamente diferentes entre alface, principalmente a americana, e salsa e tiririca,

coletadas nas propriedades São Marcos e (Quadro 3). De fato, as plantas podem exsudar componentes, principalmente na forma de aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares (Whipps, 1990), que são os maiores responsáveis pelo crescimento e pela atividade dos microrganismos na rizosfera. Sabe-se que a exsudação é uma intermediação, por sinal moleculares, o reconhecimento entre plantas e microrganismos, com efeitos sobre a microbiota benéfica quanto sobre a patogênica (Bais et al., 2006). Considerando a especificidade do reconhecimento por sinal moleculares, é claro que espécies vegetais devem ter padrões diferentes de exsudação (Geddes et al., 2002; Sandnes et al., 2005).

Com relação a *Bacillus* spp., as diferenças no número de UFCs entre as rizosferas foram marcantes (Quadro 4). Nas propriedades Guará e São Marcos não houve diferenças significativas entre os números dessas bactérias entre as rizosferas avaliadas; na primeira propriedade, as plantas coletadas foram alface lisa, alface-americana e, na segunda, alface lisa, alface-americana e salsa. Embora a tiririca seja de uma família distinta das outras plantas com as quais se fez a comparação, a rizosfera de nenhuma das espécies respondeu com diferenças entre os números de *Bacillus*. Nas outras propriedades, de maneira geral, o número de bactérias do gênero *Bacillus* foi significativamente maior em alface, às vezes igualando-se ao número de chicória ou em rúcula (Quadro 4).

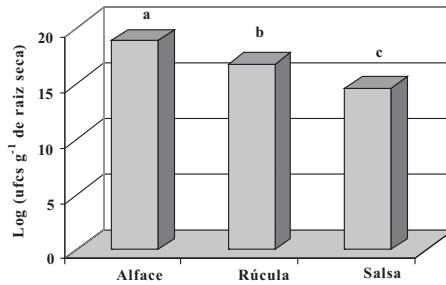


Figura 1. Número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera de alface, rúcula e salsa, em quatro locais: Matão, Boa Esperança, São Gonçalo e Santa Genebra. Média de 10 repetições; coeficiente de variação = 9,63 %. Colunas seguidas de letras diferentes diferem entre si a 5 % pelo teste de Tukey. UFCs: unidades formadoras de colônias.

Quadro 3. Número de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* nas rizosferas de diferentes espécies vegetais em quatro locais

Propriedade	Especie vegetal	<i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes	CV
Amarais ⁽¹⁾	Alface-crespa	17,8 a	3,5
	Chicória	4,0 b	
	Rúcula	4,8 b	
Guará ⁽²⁾	Alface-americana	26,3 a	3,9
	Alface-crespa	8,0 ab	
	Chicória	3,0 b	
São José ⁽¹⁾	Alface-crespa	6,0 a	5,0
	Chicória	5,0 a	
	Salsa	1,7 b	
São Marcos ⁽²⁾	Alface-americana	4,0 a	8,7
	Alface-crespa	0,9 ab	

Quadro 4. Número de *Bacillus* spp. provenientes das rizosferas de diferentes plantas, em seis locais

Local	Cultura	<i>Bacillus</i> spp.
ufcs x 10 ⁶ .g ⁻¹ de raízes secas		
Amarais ⁽¹⁾	Alface	370 a
	Chicória	192 ab
	Rúcula	170 b
Guará ⁽²⁾	Alface	1222 a
	Alface-americana	1530 a
	Chicória	160 a
Santa Genebra ⁽¹⁾	Alface	76 a
	Rúcula	46 a
	Salsa	11 b
São Gonçalo ⁽¹⁾	Alface	96 a
	Rúcula	22 b
	Salsa	3 c
São José ⁽¹⁾	Alface	25 a
	Chicória	31 a
	Salsa	4 b
São Marcos ⁽²⁾	Alface	3a
	Alface-americana	5a
	Tiririca	3a

⁽¹⁾ Média de 10 repetições. ⁽²⁾ Média de três repetições. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si a 5% de Tukey. Dados originais, transformados em log (x + 1) para a análise de variância.

De maneira geral, o que de mais marcante se nota nos dados apresentados no quadro 3 e na figura 1 é o fato de que o número de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* foi maior na rizosfera de alface – crespa ou americana – do que na das outras plantas. Em outras palavras, observou-se favorecimento de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera de alface em relação à rizosfera das outras plantas estudadas. Esse efeito da rizosfera foi observado independentemente das características do solo ou das condições de cultivo, diferentes em cada propriedade. Uma das hipóteses é de que a rizosfera de alface, independentemente do ambiente, produza alguma substância benéfica a essas bactérias, composto esse ausente ou produzido em quantidade muito menor na rizosfera das outras plantas. Muitos autores consideram a influência da exsudação radicular sobre os números de rizobactérias na rizosfera (Miller et al., 1989; Clays-Josserand et al., 1995; Lemanceau et al., 1995; Latour et al., 1996; Kravchenko et al., 2003; Freitas & Aguiar-Vildoso, 2004; Bais et al., 2004). Pelas variações na exsudação radicular, diferentes espécies de

Para *Bacillus* spp. também houve favorecimento da rizosfera de alface em relação a outras plantas, ainda que não tão acentuado quanto se observou em *Pseudomonas*. Esse favorecimento poderia levantar a hipótese de especificidade de *Pseudomonas* fluorescentes e alface, de forma semelhante ao trabalho de Glandorf et al. (1995). Assim como no artigo citado, neste também não há subsídios para afirmar que haja especificidade entre *Pseudomonas* e alface, mas, em duas propriedades – Guará e São Marcos – os números de *Pseudomonas* spp. foram diferentes entre as rizosferas, enquanto os de *Bacillus* spp. não o foram. Em Amarais, os de *Pseudomonas* spp. em alface foram superiores às das outras rizosferas; já os de *Bacillus* spp. eram apenas entre alface e rúcula, mas não entre alface ou entre chicória e rúcula. Só nessa propriedade São José os números de ambos os grupos bacterianos comportaram-se semelhantemente em relação às suas respectivas rizosferas. É possível que a planta de alface produza exsudatos que estimulem o crescimento bacteriano de um todo, o que não exclui, ainda assim, a possibilidade de existirem espécies de *Bacillus* spp. que sejam mais favorecidas por determinadas plantas.

INTERAÇÃO DE BACTÉRIAS FLUORESCENTES DO GÊNERO *Pseudomonas* E DE *Bacillus* spp. ...

espécies propriamente ditas ou, simplesmente, não haver especificidade quanto à colonização de raízes (Miller et al., 1989; Fromin et al., 2001).

A análise química dos solos revelou diferenças entre eles, mas não foi feita tentativa de verificar se essas diferenças, especificamente, foram as responsáveis pelos variados resultados. Embora a influência do solo não tenha sido avaliada neste estudo – pelo menos diretamente, porque não era esse o objetivo –, sabe-se que esse fator, juntamente com a planta, é um dos principais responsáveis pela diversidade da comunidade de bactérias rizosféricas (Chiarini et al., 1998). Mais estudos são necessários para determinar como as características dos solos interferem na seleção de bactérias pela planta hospedeira.

Independentemente disso, o favorecimento de um gênero de bactéria em uma determinada rizosfera é uma importante característica, que pode determinar o sucesso de um eventual inoculante bacteriano (Atkinson & Watson, 2000). Os resultados relatados aqui permitem concluir que a rizosfera de alface favorece o desenvolvimento de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas*. Essa característica pode ser decisiva na produção de inoculantes comerciais.

CONCLUSÕES

1. Houve favorecimento ao crescimento de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera de alface, em relação às outras plantas estudadas.

2. O desenvolvimento de *Pseudomonas* spp. fluorescentes foi influenciado pelo tipo de planta.

3. Com relação a *Bacillus* spp., não se observou o mesmo favorecimento verificado para *Pseudomonas* spp. fluorescentes; em alguns casos, o número dessas bactérias na rizosfera de alface igualou-se ao de chicória ou rúcula.

LITERATURA CITADA

- ASGHAR, H.N.; ZAHIR, Z.A.; ARSHAD, M & KHALIQ, A. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. Biol. Fert. Soils, 35:231-237, 2002.
- ATKINSON, D.C. & WATSON, A. The beneficial rhizosphere: A dynamic entity. Appl. Soil Ecol., 15:99-104, 2000.
- BAIS, H.P.; PARK, S.W.; WEIR, T.L.; CALLAWAY, R.M. & VIVANCO, J.M. How plants communicate using the underground information superhighway. Trends Plant Sci., 9:26-32, 2004.

BETTIOL, W. Isolamento seletivo de *Bacillus*. In: & SANHUEZA, R.M.V., coords. Métodos de microrganismos antagonistas a fitopatógenos. Embrapa-CNPMA, 1995. p.35-36. (Manual Técnico)

CHANWAY, C.P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JONES, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G. & HOLL, F.G. Colonization and field responses of hybrid spruce after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. For. Ecol. Manag., 133:81-88, 1999.

CHIARINI, L.; BEVIVINO, A.; DALMASTRI, C.; NASTRINI, C. & TABACCHIONI, S. Influence of plant diversity, cultivar and soil type on microbial colonization of roots. Appl. Soil Ecol., 8:11-18, 1998.

CLAYS-JOSSERAND, A.; LEMANCEAU, P.; PHILIPPE, R. & LENSI, R. Influence of two plant species (potato and tomato) on the distribution of nitrogen diffusion abilities within fluorescent *Pseudomonas* spp. Environ. Microbiol., 61:1745-1749, 1995.

FREITAS, J.R.; BANERJEE, M.R. & GERMAN, J. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance plant growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Sinapis alba* L.). Biol. Fert. Soils, 24:358-364, 1997.

FREITAS, S.S. & AGUILAR-VILDOSO, C.I. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. Rev. Bras. Solo, 28:987-994, 2004.

FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T. & DONZELLI, V.P. Rizobactérias e crescimento de alface por rizobactérias. Rev. Bras. Solo, 27:61-70, 2003.

FRIDLENDER, M.; INBAR, J. & CHET, I. Biological control of soilborne plant pathogens by a B-1,3-glucanase from *Pseudomonas cepacia*. Soil Biol. Biochem., 25:1211-1221, 1993.

FROMIN, N.; ACHOUAK, W.; THIÉRY, J.M. & HEDDERSON, J. The genotypic diversity of *Pseudomonas brasilensis* populations isolated from roots of *Arabidopsis thaliana*. Influence of plant genotype. FEMS Microbiol. Ecol., 29, 2001.

GARCIA, J.A.L.; DOMENECH, J.; SANTAMARIA, J.; CAMACHO, M.; DAZA, A. & MAÑERO, F.J. Rhizobacteria associated with the rhizosphere of forest plants (pine and holm-oak) inoculated with *Pseudomonas* spp. Relationship with microbial structure and biological activity of its rhizosphere. Environ. Exper. Bot., 52:239-251, 2004.

GEORGE, T.S.; GREGORY, P.J.; WOOD, M.; REED, J. BURESH, R.J. Phosphatase activity and organic matter in the rhizosphere of potential agroforestry systems in maize. Soil Biol. Biochem., 34:1487-1494, 2002.

GHINI, R.; FREITAS, S.S. & OLIVEIRA, A.R. Amostragem de solo para análises biológicas. In: FILIZOLA, H.; M.A.F. & SOUZA, M.D., orgs. Manual de procedimentos de coleta de amostras em áreas agrícolas para avaliação da qualidade ambiental: Solo, água e solo. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2006.

- KING, E.O.; WARD, M.K. & RANEY, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. Clinical Med.*, 44:301-307, 1954.
- KOWALCHUK, G.A.; BUMA, D.S.; DE BOER, W.; KLINKHAMER, P.G.L. & van VEEN, J.A. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soilborne microorganisms. *Antonie Leeuwenhoek*, 81:509-521, 2002.
- KRAVCHENKO, L.V.; AZAROVA, T.S.; LEONOVA-ERKO, E.I.; SHAPOSHNIKOV, A.I.; MAKAROVA, N.M. & TIKHONOVICH, I.A. Root exudates of tomato plants and their effect on the growth and antifungal activity of *Pseudomonas* Strains. *Microbiol.*, 72:37-41, 2003.
- LATOUR, X.; CORBERAND, T.; LAGUERRE, G.; ALLARD, F. & LEMANCEAU, P. The composition of fluorescent pseudomonad populations associated with roots is influenced by plant and soil type. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62:2449-2456, 1996.
- LEMANCEAU, P.; CORBERAND, T.; GARDAN, L.; LATOUR, X.; LAGUERRE, G.; BOEUFGRAS, J.M. & ALABOUVETTE, C. Effect of two plant species, flax (*Linum usitatissimum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonads. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61:1004-1012, 1995.
- LUZ, W.C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. *Fitopatol. Bras.*, 26:3, 2001.
- LYNCH, J.M. & WHIPPS, J.M. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant Soil*, 129:1-10, 1990.
- MILLER, H.J.; HENKEN, G. & van VEEN, J.A. Variation and composition of bacterial population in the rhizosphere of maize, wheat, and grass cultivars. *Can. J. Microbiol.*, 35:656-660, 1989.
- NANDAKUMAR, R.; BABU, S.; VISWANATH, R.; RAGUCHANDER, T. & SAMIYAPPAN, R. Systemic resistance in rice against sheath blight induced by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol. Biochem.*, 61:2, 2001.
- NEILANDS, J.B. Siderophores of bacteria and fungi. *Sci.*, 1:9-14, 1984.
- OWEN, A. & ZDOR, R. Effect of cyanogenic rhizofluids on the growth of velvetleaf (*Abutilon theophrasti* (Zea mays) in autoclaved soil and the influence of supplemental glycine. *Soil Biol. Biochem.*, 33:801-806, 2001.
- PIDELLO, A. The effect of *Pseudomonas fluorescens* on varying in pyoverdine production on the soil rhizosphere. *Plant Soil*, 253:373-379, 2003.
- RAAIJMAKERS, J.M.; WELLER, D.M. & THOMAS, B. Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* in natural environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63:887, 1997.
- RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, J.; QUAGGIO, J.A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. *Campinas*, 22(1):1-10, 2001. 285p.
- SANDNES, A.; ELDHUSSET, T.D. & WOLLEBÆK, H. Pyoverdine and other organic acids in root exudates and soil solution of Norway spruce and silver birch. *Soil Biol. Biochem.*, 37:259-264, 2005.
- WIELAND, G.; NEUMANN, R. & BACKHAUS, H. Diversity of microbial communities in soil, rhizosphere and rhizoplane in response to crop species, soil type and development. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67:5849-5856, 2001.
- YUEN, G.Y. & SCHROTH, M.N. Interactions of *Pseudomonas fluorescens* strain E6 with ornamental plants and its effect on the composition of root-colonizing bacteria. *Phytopathology*, 76:176-180, 1986.