

Matheus Vieira Machado Rodrigues



POTENCIAIS APLICAÇÕES DE MICRO-ORGANISMOS ENDOFÍTICOS NA  
PROMOÇÃO DO DESENVOLVIMENTO VEGETAL

Belo Horizonte  
2014

Matheus Vieira Machado Rodrigues

POTENCIAIS APLICAÇÕES DE MICRO-ORGANISMOS ENDOFÍTICOS NA  
PROMOÇÃO DO DESENVOLVIMENTO VEGETAL

Trabalho apresentado ao Curso  
de Pós-Graduação em  
Microbiologia da Universidade  
Federal de Minas Gerais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vera  
Lúcia dos Santos

Belo Horizonte  
Instituto de Ciências Biológicas  
UFMG  
2014

“Se quiserdes respostas sérias, sede sérios vós mesmos, em toda a extensão do termo, e mantende-vos nas condições necessárias: somente então obtereis grandes coisas. Sede, além disso, laboriosos e perseverantes em vossos estudos, para que os Espíritos superiores não vos abandonem como faz um professor com os alunos negligentes.”

Allan Kardec – Introdução ao Livro dos Espíritos

## **AGRADECIMENTOS**

- A Deus, por ter ajudado a superar todas as dificuldades que surgiram no decorrer deste trabalho;
- A minha família que me deu todo o apoio para que eu desenvolvesse esse trabalho e que entenderam a minha ausência em determinadas situações durante a execução deste.
- À professora Vera Lúcia dos Santos, que foi de extrema importância, tanto ao compartilhar seu amplo conhecimento quanto me encorajando a nunca desistir.

## RESUMO

Endófito é o nome dado a qualquer micro-organismo que infecta os tecidos internos da planta hospedeira sem causar qualquer dano ao vegetal nem ao desenvolvimento de estruturas anormais. Tais associações podem ocorrer em partes aéreas (folhas, caules, flores e frutos) bem como em partes subterrâneas (raízes). Os principais representantes da comunidade endofítica são os fungos e as bactérias, tais organismos podem ser transmitidos de um vegetal a outro por meio de sementes, vetores ou podem ser adquiridos através do solo. A distribuição destes ao longo da planta hospedeira é facilitada pelos vasos condutores de seiva. Dentre os principais benefícios causados pelos endófitos na planta hospedeira, destaca-se a promoção do crescimento, inicialmente pelo controle biológico, processo em que bactérias e fungos endofíticos diminuem ou impedem os efeitos deletérios causados por pragas e micro-organismos patogênicos, diminuindo o uso de agrotóxicos; A produção de fito-hormônios (auxinas, ácido abscísico, giberelina, citocinina e etileno) provocando um melhor desenvolvimento vegetal, desde o seu crescimento até à formação de fruto, atuando também em momentos de estresse ambiental. Na produção de sideróforos que auxiliam no transporte de ferro pela membrana. Por fim, os micro-organismos endofíticos também atuam na fixação de nitrogênio (importante elemento na formação de ácidos nucleicos e proteínas), e na solubilização de fosfato inorgânico e mineralização de fosfato orgânico. Os levantamentos bibliográficos indicam que os micro-organismos endofíticos possuem uma importante função no desenvolvimento das plantas, de maneira que as pesquisas desenvolvidas levam a um futuro promissor para a agricultura e no cultivo de vegetais.

**Palavras-chave:** Endófitos; vegetais; agricultura; promoção de crescimento

## ABSTRACT

Many microorganisms associated with plants can be found. Endophyte is the name given to any microorganism infecting the inner tissues of the host plant without causing any damage to the plant or the development of abnormal structures. Such associations may occur in the aerial parts (leaves, stems, flowers and fruits) as well as in underground parts (roots). The main representatives of the community are endophytic fungi and bacteria, these organisms can be transmitted from one plant to another by seeds, vectors or can be purchased through the soil, the distribution of these throughout the host plant is facilitated by conducting vessels of sap carrying bacteria and fungi throughout the plant. Among the main benefits caused by endophytes in the host plant, there is the promotion of growth, initially by biological control, process in which bacteria and fungi endophytic diminish or prevent the deleterious effects caused by pests and pathogenic microorganisms, reducing the use of pesticides; The production of plant hormones (auxin, abscisic acid, gibberellin, cytokinin and ethylene) leading to better plant development, from its formation to the growth of fruit, also acting in times of environmental stress. In the production of siderophores that assist in the transport of iron across the membrane. Finally, the endophytic microorganisms also act in nitrogen fixation (important element in the formation of nucleic acids and proteins), and phosphate solubilization in insoluble form. The bibliographic raised, indicate that endophytic microorganisms have an important role in plant development, so that these researches lead to a promising future for agriculture and vegetable cultivation.

**Key – words:** Endophytes; vegetables; agriculture; growth promotion

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: Rizosfera. ....	16
FIGURA 2: Micro-organismos endofíticos envolvidos por tecidos vegetais .....	19
FIGURA 3: Infecção de leveduras endofíticas pelos estomas localizados nas folhas do vegetal .....	20
FIGURA 4: Infecção e colonização por <i>Pseudomonas fluorescens</i> na rizosfera.....	21
FIGURA 5: Propagação de bactérias no interior de vasos xilema.....	22
FIGURA 6: Presença de bactérias no interior de bagas de videira. ....	23
FIGURA 7: Representação da biossíntese de AIA a IPA .....	30
FIGURA 8: Estruturas do esqueleto tetracíclico ent-giberelano e alguns GAs importantes .....	33
FIGURA 9: Via de biossíntese de giberelina produzidas pelo fungo <i>F.Fujikuroi</i> .....	35
FIGURA 10: Representação esquemática da modulação da biossíntese de etileno pela planta modulada por bactéria .....	37
FIGURA 11: Hidroxamato que se liga ao ferro .....	39

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS .....	4
1. INTRODUÇÃO .....	9
2. OBJETIVO.....	11
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	12
3.1 – Interações entre micro-organismos e plantas.....	12
3.1.1 – Os habitats filosfera e rizosfera .....	14
3.1.2 – Micro-organismos endofíticos e epifíticos.....	19
3.2 – Importância dos micro-organismos na promoção do crescimento vegetal	24
3.2.1 – Controle Biológico .....	25
3.2.2 – Produção de fito-hormônios .....	28
3.3.3 – Produção de sideróforos .....	38
3.3.4 – Fixação de Nitrogênio.....	41
3.3.5 – Solubilização de Fosfato .....	44
CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS .....	49

## 1. INTRODUÇÃO

Os micro-organismos podem ser encontrados associados às plantas terrestres, interagindo não apenas com os vários órgãos vegetais que habitam, mas também entre si e com indivíduos de outros grupos biológicos residentes no mesmo local.

Em sua associação com a planta, os micro-organismos podem colonizar os tecidos internos (endofíticos) ou apenas a superfície dos órgãos vegetais (epifíticos), estabelecendo relações que podem ser positivas (comensalismo, protocooperação e mutualismo), neutras ou negativas (competição, amensalismo, parasitismo e predação), dependendo do modo de interação entre os organismos. Nos últimos anos, o termo endófito tem sido utilizado para descrever micro-organismos que se desenvolvem nos tecidos internos da planta, de forma assintomática e sem produção de alterações anormais, em pelo menos uma fase da vida do organismo, diferenciando-os dos fitopatógenos.

O microbioma, definido como a totalidade de micro-organismos e seu conjunto de genes de um ambiente particular, pode exercer funções importantes. Destacam-se o fornecimento de nutrientes essenciais para a planta hospedeira, a proteção da planta contra organismos patogênicos, produção de hormônios vegetais funcionais e produção de enzimas, que podem auxiliar tanto no processo de fixação e colonização dos micro-organismos nos órgãos vegetais, quanto na disponibilização de nutrientes e aumento de tolerância aos estresses abiótico e biótico. Em contrapartida, a planta pode disponibilizar nutrientes e proteção para a microbiota associada.

Especula-se que as plantas podem ativamente selecionar micro-organismos benéficos para estabelecerem relações; com a possibilidade de que durante o processo de colonização, as interações prejudiciais sejam repelidas. As plantas também modulam a população de micro-organismos da rizosfera. Durante o crescimento, as plantas sintetizam um vasto número de compostos fotoassimilados, muitos destes compostos são exsudados através dos tecidos das raízes, os quais exercem influência direta nos processos microbiológicos que acontecem na rizosfera e ao redor das raízes. Estas interações são complexas, podendo ser mediadas até mesmo

por micro-organismos endofíticos. Diversos estudos têm mostrado que alguns micro-organismos originalmente endofíticos podem ser liberados para o ambiente ao redor das raízes e alterarem a comunidade microbiana local, com implicações positivas ou negativas para o desenvolvimento posterior das plantas hospedeiras.

A biodiversidade dos micro-organismos associados a plantas abriga um grande potencial biotecnológico, incluindo enzimas (fosfatases, lipases, amilases e proteases) e metabólitos secundários (sideróforos, fito hormônios, substâncias bioativas) que justificam sua pesquisa e prospecção tecnológica na geração de insumos agrícolas, como inoculantes promotores de crescimento e inoculantes para produção de biofertilizantes a base de compostagem. Tais inoculantes incluem suspensão de esporos de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) e bactérias diazotróficas, tais como a *Acetobacter diazotrophicus* ou inóculo misto de *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Klebsiella*.

A utilização dos micro-organismos promotores de crescimento é interessante num cenário de agricultura sustentável, constituindo-se como alternativa aos agroquímicos e possibilidade de redução de custo de produção. A partir do conhecimento dos mecanismos que resultam na promoção do crescimento de plantas pelos micro-organismos, pode-se desenvolver tecnologias para aumentar a produtividade agrícola tendo como base as estratégias predominantes na interação planta-micro-organismo. Todavia, investigar os mecanismos de promoção de crescimento vegetal ainda é um grande desafio, uma vez que a promoção de crescimento, geralmente, é resultado de um conjunto de fatores, sendo difícil associá-la a um mecanismo específico.

Devido à grande importância dos endófitos no desenvolvimento vegetal, a presente revisão traz um levantamento bibliográfico das principais características deste grupo de micro-organismos, bem como seus modos de atuação no desenvolvimento e controle biológico vegetal, que resultem em maior crescimento e desenvolvimento da planta.

## **2. OBJETIVO**

Realizar levantamento bibliográfico a partir das principais fontes da literatura sobre os micro-organismos endofíticos, levando em consideração suas principais características, modo de colonização e infecção e benefícios para a planta colonizada.

### 3 – Revisão de Literatura

#### 3.1 – Interações entre micro-organismos e plantas

Os micro-organismos podem ser encontrados associados às partes aéreas das plantas (filoplano), como folhas, caules, flores e frutos ou em associação com as partes subterrâneas, as raízes (LINDOW e BRANDL, 2003). Estes micro-organismos interagem não apenas com os vários órgãos vegetais em que habitam, mas também entre si e com indivíduos de outros grupos biológicos residentes no mesmo local (BONFANTE e ANCA, 2009). Essas interações podem ser classificadas como positivas, neutras ou negativas, dependendo do modo de interação entre os organismos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). O neutralismo é considerado a ausência de interação, o que é raro nos ambientes naturais. Nas interações positivas (comensalismo, protocooperação e mutualismo) podem ser observadas vantagens seletivas para um dos envolvidos ou para ambos. Já nas interações negativas (competição, amensalismo, parasitismo e predação), pelo menos um dos organismos envolvidos é prejudicado (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Em sua associação com a planta, micro-organismos podem colonizar os tecidos internos (endofíticos) ou apenas a superfície dos órgãos vegetais (epifíticos) (SAIKONNEN *et al.*, 2004). Nos últimos anos, o termo endófito tem sido utilizado para descrever micro-organismo que se desenvolvem nos tecidos internos da planta, de forma assintomática e sem produção de alterações anormais, em pelo menos uma fase da vida do organismo (SAIKONNEN *et al.*, 2004), diferenciando-os dos fitopatógenos. Contudo, os tipos de interação que estes micro-organismos estabelecem entre si e com a planta hospedeira podem variar, durante sua história de vida, de positivas a negativas e vice versa, dependendo da disposição e do estágio de desenvolvimento dos organismos envolvidos, bem como dos fatores ambientais (SAIKONNEN *et al.*, 2004; SCHULZ e BOYLE, 2005).

As relações entre os micro-organismos e os vegetais podem ser obrigatórias ou facultativas, de maneira que os micro-organismos da relação obrigatória são estritamente dependentes da planta hospedeira para o seu crescimento e desenvolvimento. Nas relações ditas facultativas, os micro-

organismos possuem um estágio de vida em que podem desenvolver-se fora do vegetal hospedeiro (HARDOIM, *et al.*, 2008). Um exemplo de relação obrigatória entre micro-organismos e plantas, é o caso de Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) filo Glomeromycota, abundantes e diversos em solos e ocorrem na maioria dos ecossistemas terrestres. Estes fungos estabelecem relações simbióticas mutualísticas de natureza evolutiva com a maioria das espécies vegetais, agindo como uma extensão do sistema radicular das plantas. (STÜRMER e SIQUEIRA, 2008). Overbeck e colaboradores (2007), ao estudarem o ciclo de vida de *Ralstonia solanacearum* biovar 2, classificaram a interação como simbiose facultativa, uma vez que essa bactéria pode sobreviver em ambientes aquáticos, na forma livre, ou ser encontrada no interior dos tecidos do tomate, como uma cepa avirulenta.

Com a relação de benefício entre os endofíticos e seus hospedeiros, pode-se destacar a produção de diversos produtos, os quais podem ser aproveitados na indústria, medicina e agricultura, bem como na remoção de produtos tóxicos do solo através da fitorremediação, e melhoria do estado nutricional da planta, por meio da solubilização de fosfatos e fixação de nitrogênio (RYAN, *et al.* 2008). Estudos demonstram que bactérias e fungos endofíticos podem melhorar o crescimento vegetal e reduzir sintomas causados por micro-organismos patogênicos que infectam as plantas (HALLMAN, *et al.* 1997).

Para Kiers e Denison (2002), bactérias do gênero *Rhizobium* são um grande exemplo de mutualismo na interação micro-organismo – vegetal, de maneira que a bactéria se beneficia com a absorção de nutrientes fornecidos pelos vegetais e o hospedeiro se beneficia através da produção de fatores de crescimento bem como pela redução de estresse ambiental promovida pelos micro-organismos.

Neste contexto, os micro-organismos desempenham um importante papel na agricultura, por favorecerem o crescimento e a manutenção da saúde das plantas, bem como o equilíbrio do ecossistema do solo no qual a planta está inserida (WEINERT, *et al.* 2009).

### 3.1.1 – Os habitats filosfera e rizosfera

#### 3.1.1.1 – Filosfera

As partes aéreas das plantas, incluindo folhas, caules, botões florais, flores e frutos fornecem um habitat para micro-organismos denominado filosfera. Tais micro-organismos podem ser endofíticos e epifíticos, sendo os últimos predominantes (LINDOW e BRANDL, 2003). Também grande parte das atividades microbianas relacionadas à filosfera está concentrada nas folhas das plantas, pelo fato de a taxa de colonização nesta região ser maior, resultando em densidades microbianas na faixa de  $10^6$  a  $10^7$  células/mm<sup>2</sup> (BEATTIE e LINDOW, 1999). As bactérias são consideradas os habitantes microbianos dominantes da filosfera, embora arqueobactérias, fungos filamentosos e leveduras podem também colonizar esta região (MORRIS e KINKEL, 2002).

Fungos filamentosos são considerados habitantes transitórios da superfície das folhas, havendo uma presença maior dos esporos destes micro-organismos, as leveduras porém, habitam as folhas mais efetivamente (ANDREWS e HARRIS, 2000). Redford e colaboradores (2010), em seu estudo para determinar a comunidade de bactérias residentes na filosfera de gimnospermas (*Pinus ponderosa*), encontraram representantes de diversos filos, incluindo Proteobacteria (agrupados nos subfilos: Alfa, Beta e Gama proteobacterias), Bacteroidetes e Actinobacterias. Yang e colaboradores (2000) identificaram espécies de bactérias em folhas de plantas da espécie *Citrus valencia*, podendo ser identificadas *Pseudomonas oleovorans*, *Erwinia amilovora*, *E. rhapontici*, *Acinetobacter haemolyticus* e *Enterobacter asburiae*.

As bactérias localizadas na filosfera podem promover o crescimento da planta por diferentes mecanismos, dentre eles a supressão da colonização e infecção dos tecidos vegetais por fitopatógenos (RASCHÉ *et al.*, 2006). Da mesma forma, fungos endofíticos de folhas podem inibir o ataque de herbívoros e proteger contra fitopatógenos (ARNOLD *et al.*, 2003).

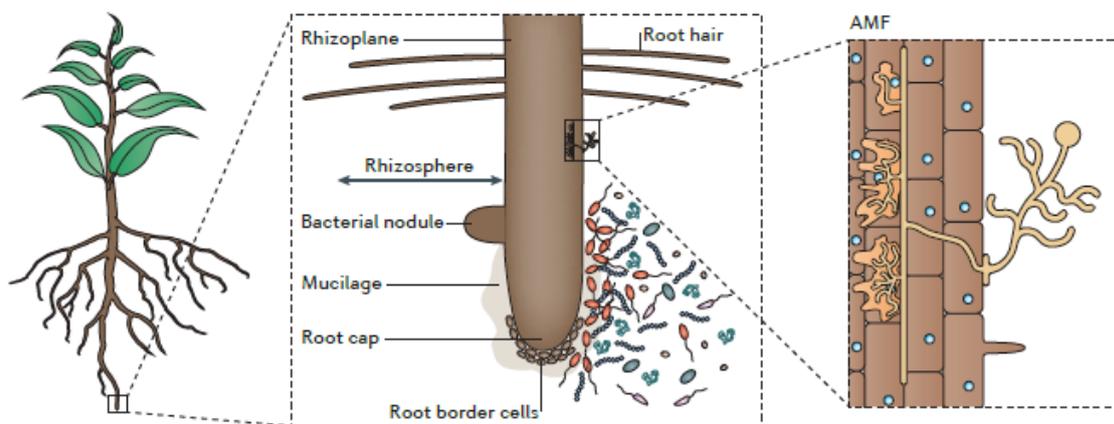
A filosfera é um habitat dinâmico, com variações temporais e espaciais de temperatura, radiação UV, umidade e disponibilidade de

nutrientes (LINDOW e BRANDL, 2003). No caso de gramíneas, considera-se que as regiões expostas da planta, tais como os nós, entre nós e os brotos, estão sujeitas a períodos de umidade e seca, porém as partes não expostas tais como a bainha das folhas e o caule apresentam teores de umidade maiores e constantes (MECHABER, *et al.*, 1996). Com relação à superfície das folhas, as oscilações de temperatura e umidade relativa do ar são fatores que tornam este local um ambiente hostil para o desenvolvimento de comunidades microbianas. A superfície das folhas fornece diferentes micro-habitats para a colonização dos micro-organismos, devido à presença de pregas e protuberâncias produzidas pelas células epidermais dos tecidos, garantindo assim o desenvolvimento de diferentes espécies microbianas (MECHABER, *et al.*, 1996).

A colonização destes ambientes diversos é garantida por uma série de fatores e processos específicos do habitat e da microbiota ali presente (BEATTIE e LINDOW, 1999). Alguns micro-organismos epifíticos são capazes de alterar a superfície dos órgãos vegetais aéreos, com o objetivo de torná-lo menos adverso ao seu desenvolvimento. A produção de agentes tensoativos por alguns micro-organismos reduzem os efeitos negativos da cutícula hidrofóbica das plantas no espalhamento da água e na difusão de substratos (FOKKEMA *et al.*, 1983). Outros micro-organismos são produtores de substâncias que afetam o transporte de íons nas membranas celulares vegetais (FOKKEMA *et al.*, 1983).

### **3.1.1.2 – Rizosfera**

A rizosfera é uma zona estreita do solo diretamente influenciada pelas raízes das plantas, podendo variar de 1 a 3 mm de distância da raiz. Esta região apresenta uma alta densidade de micro-organismos e invertebrados; sendo considerada uma das interfaces mais dinâmicas do planeta (Figura 1). Os organismos que compõem a microbiota da rizosfera podem ter efeitos profundos sobre o crescimento, nutrição e a saúde das plantas (BERENDSEN, *et al.* 2012).



**FIGURA 1:** Esquema da rizosfera, indicando a presença de seus principais componentes, tais como os pelos absorventes de nutrientes, a camada de mucilagem, nódulos resultantes da colonização de bactérias do gênero *Rhizobium*. É possível perceber, de maneira ampliada, o processo de colonização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

**Fonte:** Macmillan, 2008.

A comunidade microbiana na rizosfera é mantida por fatores abióticos e bióticos relacionados às plantas e ao solo. Tem sido sugerido que a microbiota é atraída e estimulada pelos exsudatos radiculares ricos em compostos orgânicos como aminoácidos e proteínas, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, açúcares simples e polissacarídeos complexos, entre outros. Também estão presentes polímeros como celulose, hemicelulose e lignina, provenientes de células vegetais mortas (PHILLIPOT, *et al.*, 2013). Estes compostos são utilizados como nutrientes pela microbiota residente no local, incluindo também os micro-organismos endofíticos e epifíticos de raiz, que por sua vez, disponibilizam elementos como nitrogênio e fósforo nas suas formas inorgânicas, capazes de serem absorvidos pela planta e por outros organismos (INCEOGLU *et al.*, 2012).

Muitos estudos têm demonstrado que o solo tem profunda influência sobre o desenvolvimento microbiano direta ou indiretamente (INCEOGLU *et al.*, 2012). As complexas características físico-químicas dos solos afetam a fisiologia das plantas e a composição dos exsudatos orgânicos liberados

pelas raízes, que, por sua vez, influenciam na composição da microbiota da rizosfera (BEATTIE e LINDOW, 1999).

As análises metagenômicas do microbioma bacteriano da rizosfera de diferentes ecotipos de *Arabidopsis thaliana* mostraram que o tipo de solo teve uma forte influência sobre a composição da microbiota (BULGARELLI *et al.*, 2012). Segundo os autores, a microbiota da rizosfera é determinada por uma série de eventos inter-relacionados. Primeiramente, o solo pode ser considerado como um ecossistema rico em micro-organismos e plantas, e as propriedades físico-químicas do solo, juntamente com os processos biogeoquímicos, estruturam esta comunidade (FIERER e JACKSON, 2006). Segundo, o local onde as plantas são cultivadas determina quais micro-organismos farão parte da microbiota indígena das raízes das plantas. Além disso, as espécies de plantas e o genótipo determinam quais membros deste reservatório de micro-organismos podem apresentar sucesso ecológico na rizosfera. As espécies de plantas podem influenciar fortemente a composição e a atividade da microbiota da rizosfera, uma vez que diferenças na morfologia da raiz, assim como a quantidade e tipo de materiais orgânicos liberados por ela na rizosfera contribuem ativamente para o desenvolvimento de um determinado tipo de espécie microbiana (INCEOGLU *et al.*, 2012). Metabólitos específicos liberados na rizosfera podem desencadear múltiplas respostas em diferentes micro-organismos presentes no solo, um exemplo é a liberação de certos flavonóides pela soja, que podem atrair não somente espécies mutualísticas, como *Bradyrhizobium japonicum*, mas também patógenos, tais como *Phytophthora sojae* (HASSAN e MATHESIUS, 2012). Os flavonóides também estimulam a germinação de esporos e ramificação de hifas de fungos micorrízicos, influenciando a sinalização *quorum sensing* entre os micro-organismos e o ambiente rizosférico. Outro exemplo é a liberação dos flavonoides naringenina por leguminosas e catequina pela árvore medicinal *Combretum albiflorum* (HASSAN e MATHESIUS, 2012). Da mesma forma, metabólitos secundários relacionados a defesa contra patógenos, tais como determinados tipos de alcalóides, podem afetar a microbiota da rizosfera, favorecendo micro-organismos resistentes ou tolerantes ou, em alguns

casos, micro-organismos que metabolizam tais compostos (KOWALCHUK *et al.*, 2006).

Diferentes grupos de micro-organismos associados à rizosfera tem sido identificados. De Angelis e colaboradores (2009) detectaram a presença de grande densidade de bactérias pertencentes ao filo Firmicutes e Actinobacteria, bem como à classe das *Alphaproteobactérias* associadas a rizosfera de gramíneas da espécie *Fatua avena*. Já Garrido e colaboradores (2012) observaram que as bactérias da rizosfera de três espécies de cactos em regiões semiáridas se mostraram semelhantes em diferentes estações do ano, podendo ser encontradas principalmente  $\alpha$ -Proteobacterias, Actinobacterias e Firmicutes. De acordo com Philippot e colaboradores (2013), diversos estudos independentes tem identificado *proteobactérias* como micro-organismos dominantes da rizosfera, dentre eles as pertencentes à família Pseudomoniaceae ou da família Burkholderiaceae, tais micro-organismos possuem um rápido crescimento, provavelmente por serem capazes de utilizarem uma ampla variedade de derivados orgânicos provenientes das raízes.

A rizosfera pode ser dividida em endorizosfera e ectorizosfera (SORENSEN, 1997). A endorizosfera compreende uma camada de muco polissacarídico derivado tanto da planta quanto dos micro-organismos que compõem esta região, podendo estar localizados na zona pilífera da raiz e na camada cortical deste vegetal. A ectorizosfera compreende o solo próximo da rizosfera, que se estende a poucos milímetros da superfície da raiz (SORENSEN, 1997). Esta região da rizosfera é de extrema importância uma vez que produz substâncias polissacarídicas que compõem a camada denominada mucilagem que atua na lubrificação das raízes no momento em que a planta está em processo de crescimento (SORENSEN, 1997). A camada de mucilagem sobre a epiderme é extremamente desenvolvida em raízes jovens e se torna mais fina com o seu envelhecimento. Neste último estágio é composta por carboidratos (galactose e frutose), com menor quantidade de xilose, arabinose e ácido galacturônico (LOUSIER e PARKINSON, 1976).

Para Lynch e Whipps (1990), a maior fonte de substratos presentes na ectorizosfera resulta na atividade de micro-organismos presentes

principalmente na superfície das raízes, compostos de exsudatos orgânicos, secreções, resíduos celulares, incluindo, dentre eles, gases respiratórios (CO<sub>2</sub>).

### 3.1.2 – Micro-organismos endofíticos e epifíticos

#### 3.1.2.1 – Micro-organismos Endofíticos e modos de colonização

A comunidade endofítica é constituída principalmente por fungos e bactérias e, ao contrário dos micro-organismos patogênicos, não causam prejuízos ao hospedeiro, sem estimular a diferenciação de nenhuma estrutura anômala na planta, tais como nódulos de rizóbios nas raízes de leguminosas, diferindo-se assim dos micro-organismos que formam associações mutualistas (NETO *et al.*, 2002).

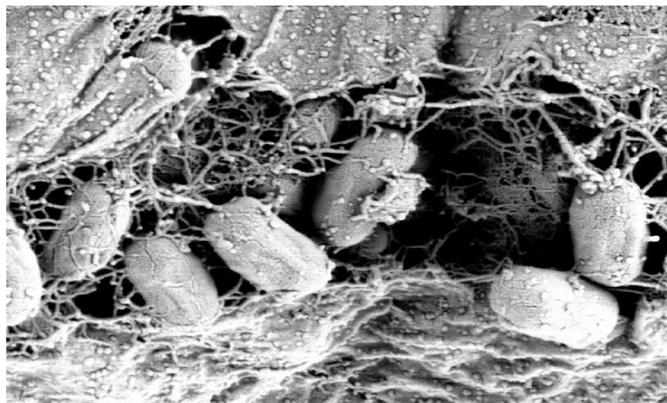


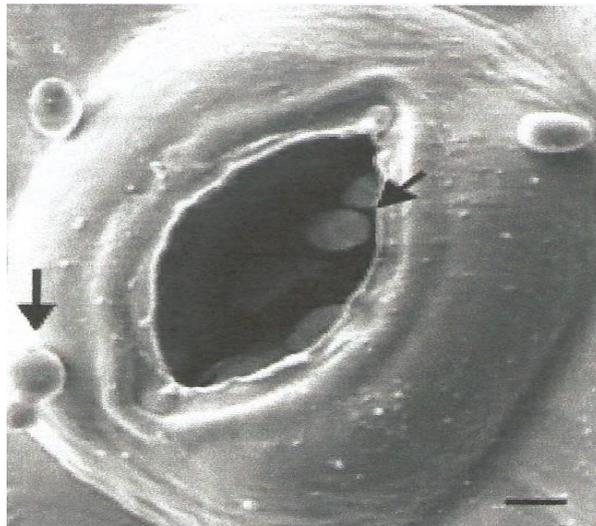
FIGURA 2: Micro-organismos endofíticos envolvidos por tecidos vegetais.

Fonte: Itamar Soares de Melo, 2002.

Muitos estudos levantam hipóteses de que os micro-organismos endofíticos geralmente originam do solo em que a planta hospedeira se encontra, da rizosfera ou até mesmo da filosfera (VAN OVERBEEK e VAN ELSAS, 2008). Endofíticos podem ser transmitidos entre uma planta e outra por transmissão vertical (através de sementes) ou por vetores. Muitas vezes podem ser obtidos pelos vegetais através do solo (transmissão horizontal) e requerem um estágio de colonização na superfície da raiz (REINHOLD-HUREK e HUREK, 2011). Os micro-organismos endofíticos podem iniciar sua colonização como epifíticos e posteriormente penetrar nos tecidos (BEATTIE e LINDOW, 1999), ou penetrar nos tecidos da raiz e atingir o

filoplano por meio do sistema vascular da planta (VAN OVERBEEK e VAN ELSAS, 2008).

Um dos meios para que ocorra esta infecção inicial é através das fendas formadas nas junções laterais das raízes, se espalhando em seguida, para os tecidos internos da planta (HARDOIM *et al.* 2008). Outro modo de colonização dos endofíticos se dá por aberturas naturais existentes em estruturas das plantas podendo ser estômatos (figura 3), ferimentos causados por materiais agrícolas, lesões nas raízes causadas pelo atrito com o solo no momento de crescimento. Uma vez infectada, a planta passará pelo processo de colonização dos micro-organismos (HALLMANN, *et al.* 1997). Nas raízes, as células epidérmicas e os pelos radiculares se tornam densamente colonizados por micro-organismos (figura 4), em especial bactérias, que dependem de exsudatos orgânicos fornecidos pelo vegetal (SORENSEN, 1997).

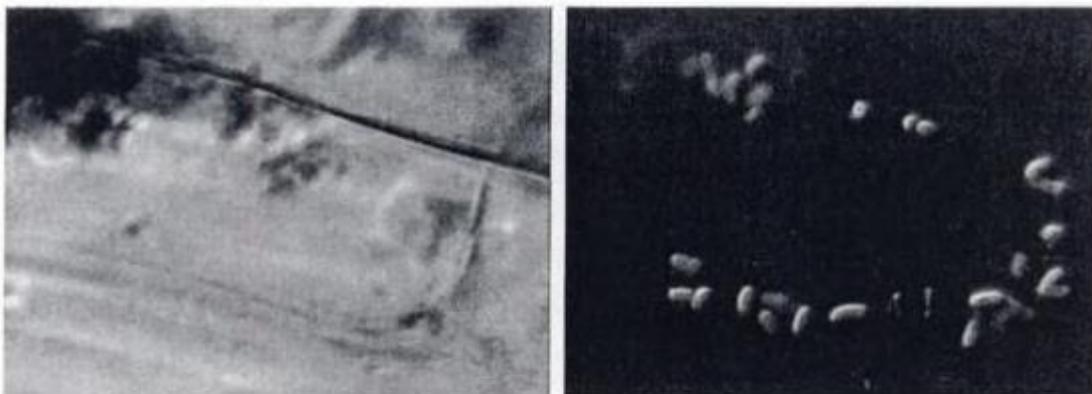


**FIGURA 3:** Infecção dos estômatos por leveduras.

**Fonte:** C.S. Gai, 2000.

Tem-se levantado que a probabilidade para a colonização dos tecidos vegetais depende da inicial abundância de nutrientes para o desenvolvimento microbiano. Fatores como o genótipo da planta, fase de crescimento e estado fisiológico, tipo de tecido vegetal, condições

ambientais e as práticas agrícolas também determinam colonização endofítica (VAN OVERBEEK e VAN ELSAS, 2008).



**FIGURA 4:** Micrografia de *Pseudomonas fluorescens* em superfície de raiz da cevada detectadas por anticorpos fluorescentes e visualizada por microscopia a *laser*. Na imagem da direita, pode-se perceber a colonização por estes micro-organismos e à esquerda, a borda da raiz com a presença das células bacterianas em processo de colonização.

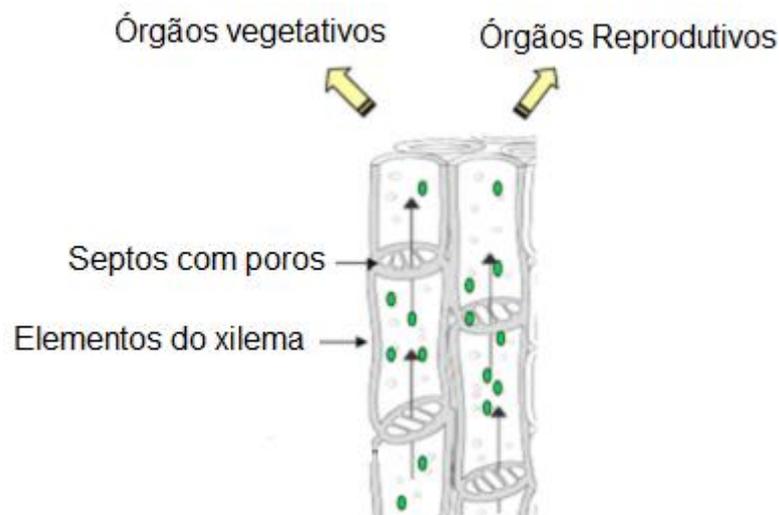
**Fonte:** Sorensen, 1997.

Características intrínsecas dos micro-organismos desempenham papéis importantes na determinação da diversidade e densidade da microbiota endofítica. Um fator importante é a presença de flagelo. Estudo conduzido por Czaban e colaboradores (2007) demonstrou que maior proporção de bactérias isoladas a partir do interior de raízes de trigo era de bactérias flageladas quando comparadas àquelas que foram isoladas do solo envolta da raiz (rizosfera) (CZABAN *et al.*, 2007). A capacidade das bactérias do solo de se aproximarem das raízes por quimiotaxia e efetivamente colonizar os tecidos vegetais é, provavelmente, um dos fatores determinantes do sucesso destes micro-organismos em se tornarem endofíticos (BACILIO-JIMENEZ *et al.*, 2003).

A colonização radicular muitas vezes começa com o reconhecimento pelas bactérias de compostos específicos na raiz, tais como os exsudatos orgânicos (DE WEERT *et al.*, 2002). Tem sido sugerido que as plantas comunicam-se simultaneamente tanto com micro-organismos patogênicos quanto com mutualistas simbióticos através de compostos exsudados por

suas raízes (BAIS *et al.*, 2006). No entanto, vários estudos mostram que as plantas podem promover um processo de comunicação para atrair especificamente micro-organismos importantes para o seu sucesso ecológico e evolutivo (COMPANT *et al.*, 2005).

Alguns endófitos colonizam espaços intercelulares de plantas hospedeiras ricas em nutrientes, algumas bactérias colonizadoras também podem usar o lúmen dos vasos do xilema para espalhar sistemicamente em todo o vegetal (COMPANT *et al.*, 2005). A colonização dos vasos do xilema foi, contudo, mais frequentemente relatada como via de disseminação de bactérias endofíticas permitindo alcançar partes vegetativas, provavelmente porque tais vasos são condutos abertos, disseminando mais facilmente do que pelas vias intercelulares (MCCULLY, 2001). Um esquema ilustrativo da disseminação de micro-organismos endofíticos por meio de vasos xilema, no interior dos vegetais, pode ser visualizado na figura 5.



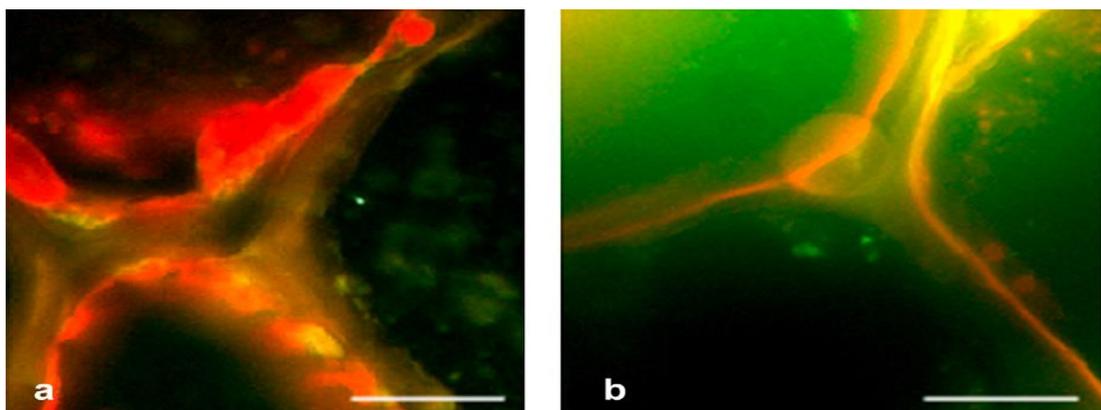
**FIGURA 5:** Propagação de bactérias (círculos verdes) dentro dos vasos do xilema em parte aérea. As setas mostram o processo de colonização.

**Fonte:** The American Heritage - Student Science Dictionary (2002).

Alguns estudos relataram que algumas bactérias endofíticas colonizam flores, frutos e sementes (HALLMANN, 2001). No entanto, sob condições naturais, a maioria das flores e das frutas possuem uma baixa densidade populacional de micro-organismos endofíticos (HALLMANN, 2001), atingindo valores de  $10^2 - 10^3$  UFC  $g^{-1}$  de peso fresco (COMPANT *et*

*al.*, 2005). Embora tenha sido detectados em baixa densidade nestes órgãos, Compant e colaboradores (2005) demonstraram que as cepas que colonizam os órgãos reprodutores dos vegetais podem ter origem da rizosfera, ocorrendo uma migração pelos tecidos condutores internos até o órgão alvo a ser colonizado. Além disso, estudos de campo mostraram que algumas cepas isoladas de órgãos reprodutores são as mesmas que colonizavam a rizosfera, especialmente em espécies de videira (COMPANT, *et al.*, 2005).

Compant e colaboradores (2010), descreveram a colonização do interior de flores, frutos e sementes de videira por linhagens dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, sendo considerados os gêneros mais frequentes. Tais micro-organismos foram identificados por meio da técnica de hibridização fluorescente in situ (FISH) (Figura 6).



**FIGURA 6:** Presença de bactérias no interior de tecidos das bagas de plantas de videira visualizadas por hibridização fluorescente in situ (FISH) (A e B), mostrando células bacterianas fluorescentes verdes. Barras de escala: (a) 20 mm, e (b) 15 mm.

**Fonte:** S. Compant, (2010).

Linhagens de *Pseudomonas* e *Rahnella* foram isoladas a partir de Abetos da Noruega (CANKAR *et al.*, 2005), bem como a partir de sementes de *Lupinus luteus*. O mesmo foi encontrado a partir de plantas da espécie *Oryza sativa*, no entanto, a ecologia e a origem destes micro-organismos tem sido pouco investigada (OKUNISHI *et al.*, 2005).

### 3.1.2.2 – Micro-organismos Epifíticos

O termo “epífita” é utilizado para designar os micro-organismos localizados na superfície dos vegetais. Muitos destes micro-organismos não exercem influência alguma sobre a planta hospedeira, se alimentando de substâncias que não são utilizadas pelos hospedeiros, numa interação de comensalismo (LEBEN,1965),

Bactérias epifíticas que colonizam as regiões superficiais das plantas, principalmente das folhas, também são designadas como filobactérias (BEATTIE e LINDOW, 1999). Muitas espécies de bactérias, incluindo espécies fitopatogênicas, são encontradas na superfície das plantas de forma transitória, enquanto outros são considerados residentes capazes de colonizarem a superfície das plantas (caules, folhas, flores e frutos) de forma prolongada (HIRANO e UPPER, 1983).

O tamanho de uma população epifítica pode estimar o grau ao qual uma dada espécie é ecologicamente adequada para nichos específicos e tem sido utilizado para descrever as interações de várias bactérias e plantas hospedeiras (ROUSE *et al.*, 1985). Populações bacterianas epifíticas também podem constituir importantes fontes de inóculos para a disseminação, aumentando a chance de colonização bem sucedida de plantas adjacentes (O'BRIEN e LINDOW, 1986).

### 3.2 – Importância dos micro-organismos na promoção do crescimento vegetal

Os micro-organismos promotores do crescimento vegetal possuem vários mecanismos responsáveis pela promoção do crescimento de plantas, dentre eles: o controle biológico, produção de fito hormônios (auxina, giberelina, ácido abscísico, etileno e citocinina), produção de sideróforos, fixação de nitrogênio e solubilização de fosfato (VESSEY, 2003). Podem também exercer efeito indireto na promoção do crescimento de plantas via indução da defesa das plantas contra o ataque de patógenos (BENEDUZI *et al.*, 2013).

A compreensão de tais mecanismos é de grande importância quando se busca melhorar o desempenho das culturas. A utilização dos micro-

organismos promotores de crescimento é interessante num cenário de agricultura sustentável, constituindo-se como alternativa aos agroquímicos e possibilidade de redução de custo de produção (LUGTENBERG *et al.*, 1999). A partir do conhecimento dos mecanismos que resultam na promoção do crescimento de plantas pelos micro-organismos, pode-se desenvolver tecnologias para aumentar a produtividade agrícola usando as estratégias importantes no sistema planta-micro-organismo (LUGTENBERG *et al.*, 1999).

### 3.2.1 – Controle Biológico

Patógenos de vegetais são uma grande ameaça para plantações, podendo levar a prejuízos na produção de alimentos. Tradicionalmente, o aumento da produção de culturas agrônômicas está atrelado à utilização de fertilizantes e pesticidas químicos, que podem causar danos ao meio ambiente e risco à saúde humana (WHITE e BROWN, 2010), devido à possibilidade de seu uso resultar na contaminação de frutos, folhas e grãos de consumo humano. Na busca por métodos alternativos de se alcançar maiores índices de produtividade agrícola, uma das possibilidades que tem ganhado destaque é a manipulação da microbiota associada às plantas, contexto na qual os micro-organismos endofíticos apresentam perspectivas promissoras (HAGGAG, 2010). Este interesse está relacionado com os resultados de diversos trabalhos observando o potencial de micro-organismos que crescem associados às plantas de promoverem o seu crescimento, por exemplo, pelo antagonismo contra fitopatógenos e pragas (YOUNG *et al.*, 2013).

Bactérias endofíticas são capazes de diminuir ou impedir os efeitos deletérios de certos organismos patogênicos. Doenças fúngicas, bacterianas, virais e em alguns casos, até mesmo danos causados por insetos e nematóides podem ser reduzidos com a inoculação prévia das bactérias endofíticas nas plantações (BERG e HALLMANN, 2006). Um exemplo é o tratamento de sementes, em que muitas vezes se utiliza cepas de *Enterobacter coclae*, suprimindo as fases de infecção por diversos fungos, dentre eles o *Pythium ultimum* (ROBERTS *et al.* 1994).

Vários micro-organismos endofíticos são conhecidos por produzirem substâncias com propriedades anti-insetos, como por exemplo, o ácido nodulisporico, um novo tipo de diterpeno indólico que apresenta propriedades inseticidas contra as larvas da mosca varejeira. Os primeiros compostos nodulisporicos foram isolados a partir de uma bactéria endofítica, *Nodulisporium* sp. associada a planta *Daphnoides bontia*. A partir desta descoberta, deu-se início a uma intensa busca por outros micro-organismos produtores de substâncias análogas ao ácido nodulisporico. (DEMAIN, 2000), dentre elas as avermectinas bem como outros compostos considerados bioinseticidas, tais como os benzofuranos e azadiractinas (VAN LOON *et al.*, 1998).

Acredita-se que certas bactérias endofíticas desencadeiam um fenômeno conhecido como resistência sistêmica induzida (ISR), que é fenotipicamente semelhante à resistência sistêmica adquirida (SAR). A SAR desenvolve quando as plantas ativam com sucesso o seu mecanismo de defesa em resposta à infecção primária pelo agente patogênico, em particular quando este induz uma reação de hipersensibilidade, através da qual o sítio de infecção torna-se limitado em pequenos locais dos tecidos. ISR é eficaz contra diferentes tipos de agentes patogênicos, mas difere da SAR, em que a bactéria indutora não causa sintomas visíveis na planta hospedeira (VAN LOON *et al.*, 1998).

Para Chernin e Chet (2002), outro exemplo de controle biológico é habilidade de produzir substâncias antagonistas contra fitopatógenos. Dentre estas substâncias, destacam-se moléculas com atividade bioativa (antibióticos), biossurfactantes e produção de enzimas extracelulares que degradam a parede celular de determinados micro-organismos patogênicos.

Em diversos estudos, pode-se constatar a alta eficiência do uso de micro-organismos endofíticos no controle biológico. Araújo e colaboradores (2000) descreveram o controle de *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans* através do uso de linhagens de *actinomicetos* isolados de raízes de milho. Johnston-Monje e Raizada (2011) observaram atividade antagonista contra as bactéria *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ , *Bacillus subtilis* spp. *Subtilis* e a levedura AH109 por endofíticos isolados de oito variedades de milho, com destaque para espécies de *Luteibacter*,

*Microbacterium*, *Arthrobacter*, *Cellulomonas* e *Burkholderia*. Já Krechel e colaboradores (2002) investigaram a atividade antagonista de bactérias endofíticas e epifíticas associadas a batata (*Solanum tuberosum*) contra os fungos patogênicos do solo, *Verticillium dahliae* e *Rhizoctonia solani*. Os autores observaram os seguintes percentuais de isolados com atividade antagonista, 10% na rizosfera, seguida da 9% na endorriza, 6% na filosfera e 5% na endosfera (5%), sendo considerados agentes eficazes no controle biológico. Sessitsch e colaboradores (2002) testaram os mesmos isolados de bactérias contra os fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Phytophthora cactorum* e as bactérias *Erwinia carotovora*, *Streptomyces scabies* e *Xanthomonas campestris*. Ao todo, sete endófitos apresentaram antagonismo contra estes patógenos.

Castillo e colaboradores (2002) descreveram um novo antibiótico denominado munumbicina, produzido pela bactéria endofítica *Streptomyces* NRRL 30562 isolada da espécie vegetal *Kennedia nigriscans*. O extrato endofítico foi eficaz contra os fitopatógenos *Pythium ultimum*, *P. infestans*, *S. sclerotiorum*, *E. carotovora*, *Cochliobolus carbonum* e *Penicillium* sp., além dos patógenos humanos *B. anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis multi-resistente*, *S. aureus* resistente à metilicina e o protozoário parasita da malária *Plasmodium falciparum*.

Muitos fungos endofíticos isolados de vegetais saudáveis da espécie *Theobroma cacao* foram cultivados in vitro para combater micro-organismos patogênicos por reações antagonistas, as principais espécies encontradas foram *Colletotrichum gloeosporioides*, *Clonostachys rosea* e *Botryosphaeria ribis*, tais espécies endofíticas atuam em antagonismo in vitro contra *Moniliophthora roreri* (podridão parda), *Phytophthora palmivora* (podridão negra) e *Moniliophthora perniciosa* (vassoura), respectivamente. O mecanismo antagônico mais comum foi simples competição por substrato. (MEJÍA, et al. 2008). Para o combate ao ataque de nematódeos, também são usados fungos endofíticos que substituem os nematicidas, sendo que os principais gêneros são: *Acremonium*, *Actinomucor*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cercospora*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Humicola*, *Paecilomyces*, *Phyllosticta*, *Stagonospora*, *Trichoderma* e *Ureobasidium* (YAN, et al., 2011).

Compostos anti-insetos também foram isolados a partir de fungos endofíticos encontrados em plantas da espécie *Gaultheria procumbens*. Os dois novos compostos, 5-hidroxi-2- (1-hidroxi-5'-metil-4'-hexenilo) benzofurano e 5-hidroxi-2- (1-oxo-5'-metil-4'-hexenil) benzofurano, mostraram toxicidade para insetos e vermes presentes no solo. Outro fungo endofítico, *Muscodor vitigenus*, isolado a partir da planta *Paullinoides paullina*, apresentou resultados preliminares promissores quanto à produção de compostos de ação repelente, dentre eles onaftaleno, princípio ativo da naftalina, amplamente utilizada como repelente de insetos (DAISY, *et al.*; 2002; DAISY, *et al.*; 2002).

### **3.2.2 – Produção de fito-hormônios**

Muitos micro-organismos promotores de crescimento produzem hormônios reguladores de crescimento vegetal. Os fito-hormônios são os reguladores naturais de crescimento das plantas, influenciando nos processos fisiológicos em baixas concentrações. Os processos de divisão, expansão e diferenciação celular, ramificação de brotos e morte celular são regulados por estas moléculas (VESSEY, 2003). Os principais fito-hormônios são auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno (ZAHIR *et al.*, 2003).

#### **3.2.2.1 – Auxinas**

As auxinas (do grego “*auxein*”, que significa “crescer”), particularmente o ácido 3-indol acético (AIA), foram os primeiros hormônios vegetais a serem descobertos. É um hormônio muito importante, porque estão envolvidos com quase todos os processos celulares e fisiológicos dos vegetais, sendo considerados, juntamente com as citocininas, hormônios essenciais ao desenvolvimento das plantas (MOCKAITIS e ESTELLE, 2008). São responsáveis pela extensão, divisão e diferenciação de células e tecidos vegetais, tropismos, dominância apical, formação de raízes adventícias, diferenciação do sistema vascular, abscisão foliar, germinação de sementes e crescimento de frutos, podendo afetar também a

fotossíntese, biossíntese de vários metabólitos e produção de fatores de resistência a estresses ambientais. Estes efeitos podem variar dependendo de fatores como local de atuação, concentração, estágio de desenvolvimento do tecido ou órgão alvo, envolvimento de outros hormônios, dentre outros (ZHAO, 2010).

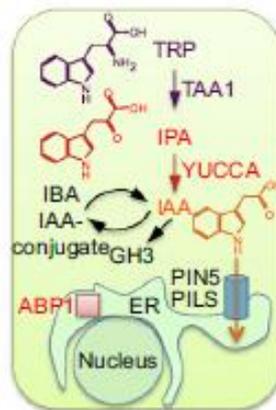
A via de ação do AIA, o membro mais potente da família das auxinas, é controlada em muitos níveis, que incluem a biossíntese deste fito hormônio, o seu metabolismo e transporte pelos vegetais. Além disso, foi proposto que esta auxina age como um integrador de atividades de vários hormônios vegetais (FINET e JAILLAIS, 2012).

Níveis elevados de AIA são detectados em tecidos de brotos e raízes meristemáticas, em cotilédones, bem como em folhas jovens que têm a maior capacidade biossintética deste fito-hormônio. Em folhas e raízes maduras, AIA continua presente, mas em quantidades menores (LJUNG *et al.*, 2001).

A identificação dos componentes moleculares da biossíntese de AIA revelou a existência de pelo menos duas grandes vias separadas. Uma é dependente do precursor triptofano (Trp) e a outra é independente de Trp (FINET e JAILLAIS, 2012).

Na espécie *Arabidopsis thaliana*, é possível distinguir duas vias dependentes de triptofano: a via indol - 3 - acetaldoxima (IAOx) e a via indol - 3 - piruvato (IPA) (FINET e JAILLAIS, 2012). A via IAOx envolve as enzimas *CYP79B2* e *CYP79B3*, duas monooxigenases do citocromo P450. A expressão de *CYP79B2* leva a um aumento nos níveis de auxina livre, levando a uma ação deste fito-hormônio sobre as características fisiológicas dos vegetais (hipocótilos mais longos, e cotilédones mais desenvolvidos), enquanto mutantes desta espécie não produtores destas monooxigenases apresentam níveis reduzidos de IAOx e AIA, tendo como consequência pecíolos e folhas menores (ZHAO *et al.*, 2003). O intermediário IAOx pode ser convertido diretamente em AIA pela enzima aldeído AAO1 oxidase ou indiretamente, pela inserção o indol através da via de glicosinolatos em que a última etapa consiste em hidrolisar a molécula indol-3-acetonitrila (IAN) (QUITTENDEN, *et al.*, 2009).

Dois estudos moleculares independentes revelaram a importância do ácido indol-3-pirúvico (IPA) na biossíntese de auxina. Em ambos os estudos, foram utilizados mutantes para a enzima aminotransferase triptofano (TAA1) que converte IPA em indol-3-acetaldeído (STEPANOVA *et al.*, 2008; TAO *et al.*, 2008). Foi demonstrado que a via IPA converte esta substância em AIA por uma enzima denominada Flavina Monooxigenase da família YUCCA (figura 7) (MASHIGUCHI *et al.*, 2011).



**FIGURA 7:** Representação da biossíntese de AIA utilizando a IPA.

**Fonte:** Finet e Jaillais, 2012.

Plantas com super expressão dos genes YUCCA apresentaram níveis elevados de auxina livre e exibiram fenótipos relacionados a esta superprodução, ou seja, um fenótipo dependente da atividade da enzima TAA1 (WON *et al.*, 2011).

Em plantas com sementes, os eixos principais do corpo do vegetal são moldados desde o início do desenvolvimento embrionário se estendendo em todo o ciclo de vida. (COOKE *et al.*, 2004). Durante a embriogênese, ocorre a formação do eixo apical-basal, o eixo radial, os cotilédones (folhas embrionárias) e as raízes meristemáticas. No desenvolvimento pós-embrionário, estes meristemas irão produzir órgãos laterais ao longo do eixo do corpo primário em crescimento e estabelecer o eixo proximal da planta. Em vegetais superiores do grupo das angiospermas, todos estes grandes eventos embrionários e pós-

embrionários envolvem um fito-hormônio denominado auxina (COOKE *et al.*, 2004).

### 3.2.2.2 – Ácido Abscísico

O ácido abscísico (ABA) desempenha um papel importante na maturação da semente e germinação, bem como na adaptação ao estresse ambiental. O ABA promove o fechamento dos estômatos por alterar rapidamente o fluxo de íons nas células-guarda (LEUNG e GIRAUDAT, 1998).

As folhas das plantas possuem em sua superfície estômatos, poros rodeados por pares de células guarda adjacentes que regulam sua abertura. Tais estruturas trabalham facilitando a difusão de gases relacionados principalmente à fotossíntese, de maneira que, quando os estômatos se encontram abertos, permitem o gás CO<sub>2</sub> difundir para o interior da folha, ao passo que também deixa o vapor de água sair da folha para a atmosfera. Assim, por sua abertura e fechamento, os estômatos regulam não só a assimilação de CO<sub>2</sub>, mas também o nível de água presente no interior da folha (PANTIN *et al.*, 2012).

Entre os inúmeros fatores ambientais que afetam a abertura dos estômatos, a disponibilidade de água no solo e a pressão de vapor na atmosfera são os principais. Quando os vegetais são submetidos à um estresse hídrico, ocorre uma mediação bioquímica levando ao fechamento dos estômatos (PANTIN *et al.*, 2012). O hormônio Ácido Abscísico (ABA), atua como o principal mediador envolvido nesta resposta, sendo sintetizado nas raízes (SIMONNEAU *et al.*, 1998) e brotos (CHRISTMANN *et al.*, 2005, 2007) e transportado para as células guarda, onde induz fechamento dos estômatos (WILKINSON e DAVIES, 2002).

A resposta das células guarda ao ABA é desencadeada por uma cascata molecular onde a ligação da ABA aos seus receptores (PIR/PYL/RCARs) libera a inibição da PP2Cs (nomeadamente ABI1 e ABI2) em SnRK2s (nomeadamente OST1), que por sua vez inicia muitas respostas, incluindo a ativação dos canais iônicos de efluxo (em especial

SLAC1), levando, finalmente, ao efluxo de água e o fechamento dos estômatos (KIM *et al.*, 2010).

Shatil-Cohen e colaboradores (2011) relataram que ABA reduz a condutividade hidráulica de água, diminuindo a permeabilidade à água nas células da bainha vascular. Este papel emergente dos tecidos perivasculares na sensibilidade do sistema hidráulico nas folhas pelo ABA questiona a visão clássica deste hormônio apenas agindo nas células guarda para induzir fechamento dos estômatos. (SIBBERNSEN e MOTT, 2010).

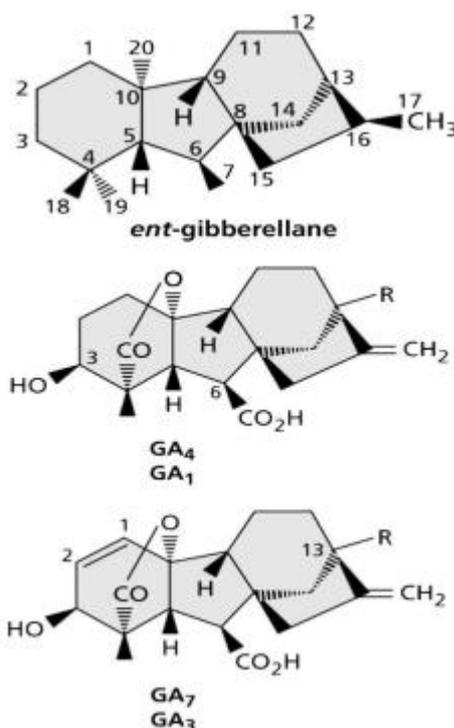
ABA é um importante regulador de crescimento envolvido em vários processos fisiológicos nas plantas. No desenvolvimento de sementes, ABA é necessário para induzir a síntese e armazenamento de proteínas e lípidos, funcionando como um iniciador da dormência da semente e na aquisição de tolerância à dessecação (FINKELSTEIN *et al.*, 2002). ABA também desempenha importante papel no desenvolvimento vegetativo da planta, em resposta a vários estresses osmóticos ambientais, como secas e condições de alta salinidade (XIONG *et al.*, 2002).

O ácido abscísico (ABA) é um sinal de resistência para a planta a patógenos bem como é responsável pela biossíntese de metabólitos essenciais para o vegetal (FINKELSTEIN *et al.*, 2002).

### **3.2.2.3 – Giberelina**

As giberelinas (GAs) são um tipo de fito – hormônio diterpenóide, detectadas pela primeira vez na década de 1920 a partir de culturas de *Gibberella fujikuroi*, um agente patogênico do arroz (OGAS, 2000). GAs são produzidas em meristemas, folhas jovens, sementes imaturas e frutos, estimulam o alongamento e a divisão celular, levando ao alongamento caulinar, germinação de sementes, crescimento de folhas e produção de flores e frutos (NISHIJIMA *et al.*, 1995). GAs podem modificar a expressão sexual das flores, induzir o desenvolvimento de frutos partenocárpicos e promover o atraso da senescência (HAMAYUN, *et al.*, 2009). Também, estimulam a formação de enzimas hidrolíticas durante a germinação da semente (MARTIN, 1983).

Recentemente, várias linhagens de fungos endofíticos foram relatados como produtores de giberelinas, dentre eles o principal representante é o pertencente ao gênero *Chrysosporium* (KHAN *et al.*, 2008). GAs são diterpenos cíclicos, com 19 ou 18 C), apresentando um esqueleto Ent-giberelano com 4 ou 5 anéis (Figura 8). Os gases bioativos mais comuns são os encontrados nas formas GA1, GA3, GA4 e GA7 (Figura 8) (SPONSEL e HEDDEN, 2004).



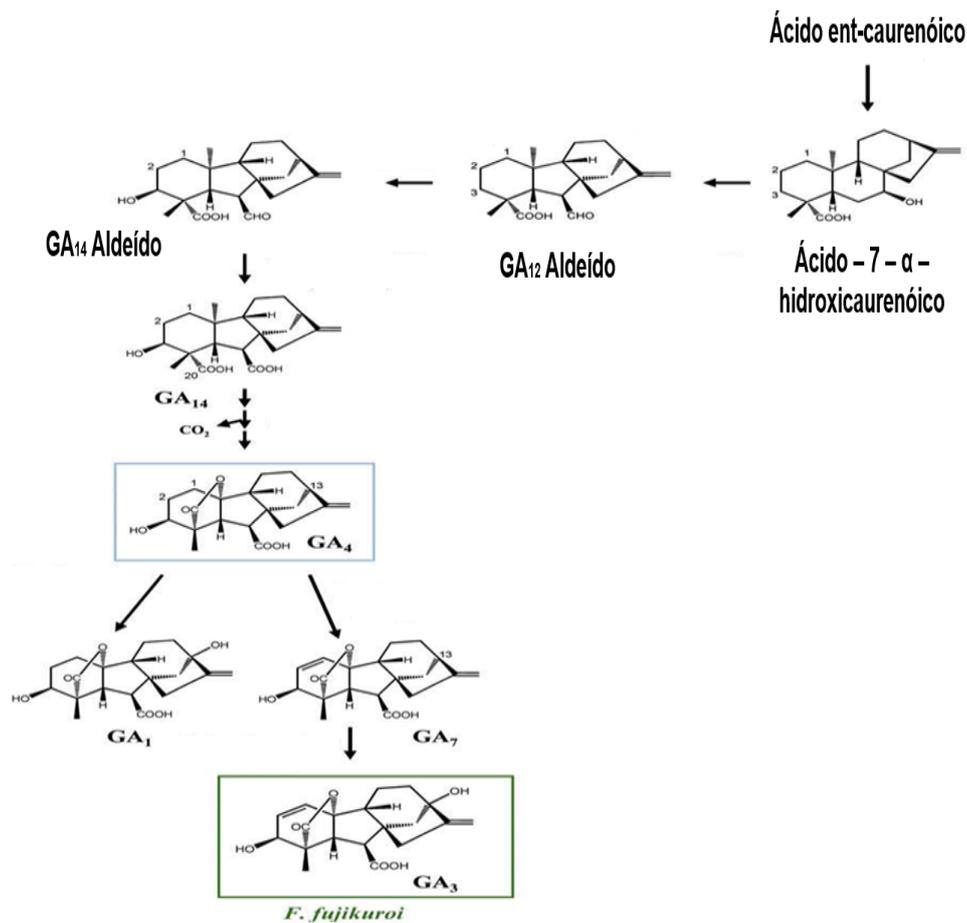
**FIGURA 8:** Estruturas do esqueleto tetracíclico ent-giberelano e alguns GAs importantes.

**Fonte:** Sponsel, 2006.

GAs fúngicas são sintetizadas a partir de acetil-CoA através da via do ácido mevalônico (MVA) e de um isoprenóide como unidade básica, difosfato de isopenil (IPP) (BÖMKE e TUDZYNSKI, 2009). Iniciando com a via biossintética geral dos terpenóides, a biossintese de GA ramifica na forma de farnesil difosfato (FDP). A produção do intermediário subsequente, GGDP é catalisada por duas diferentes GGDP sintases: GGS1 e GGS2 (MENDE *et al.*, 1997).

Na maioria das plantas, com exceção das regiões verdes, a unidade básica de isoprenóide IPP produzida não somente pela via do MVA (localizada no citoplasma), mas também, pela via do fosfato de metil eritritol (MEP) (localizados nos plastídios), a partir do piruvato e gliceraldeído 3-fosfato (SPONSEL, 2002).

As etapas iniciais da via de GGDP até a formação do aldeído  $GA_{12}$  são idênticas em plantas superiores e no fungo da espécie *F. fujikuroi*, o primeiro intermediário, o ent-caureno, é sintetizado de GGDP em duas etapas da via ent-copalil difosfato (CPP), que é convertido em seguida por uma sequência de reações de oxidação em ácido ent-caurenóico, seguido por uma reação de hidroxilação, gerando o ácido ent-7 $\alpha$ -hidroxicaurenóico. (BÖMKE e TUDZYNSKI, 2009).



**FIGURA 9:** Via de biossíntese de giberelina produzida pelo fungo *F.fujikuroi*.

**Fonte:** Bömke e Tudzynski, 2009.

Após a formação do aldeído GA<sub>12</sub>, as vias metabólicas nas plantas e nos fungos começam a se diferir, no caso dos fungos endofíticos, o aldeído GA<sub>12</sub> hidroxilado é oxidado em C-7 para formar GA<sub>14</sub> (URRUTIA *et al.*, 2001). A conversão posterior de GA<sub>14</sub> para GA<sub>4</sub> por oxidação é análoga à formação de GA<sub>9</sub> e GA<sub>20</sub> em plantas superiores. A dessaturação de GA<sub>4</sub> em C-1,2 resulta na formação de GA<sub>7</sub>, que é convertido para o produto principal no *F. fujikuroi*, GA<sub>3</sub>, por hidroxilação. O GA<sub>1</sub> é formado como um produto menor de GA<sub>4</sub> e não é convertido em GA<sub>3</sub> (figura 9) (BÖMKE e TUDZYNSKI, 2009).

#### **3.2.2.4 – Citocinina**

Citocininas estimulam a divisão e crescimento celular, a expansão tecidual em diversos tecidos da planta, podendo ainda promover abertura dos estômatos e estimular o crescimento da parte aérea (WEYENS *et al.*, 2009). Os micro-organismos também podem sintetizar citocininas (ARKHIPOVA *et al.*, 2007), principalmente as bactérias presentes no solo. Desse modo, quando o ambiente no qual a raiz da planta está inserida é inoculado com bactérias produtoras de citocinina, o crescimento da planta pode ser estimulado (ARKHIPOVA *et al.*, 2005). Até o momento, bactérias produtoras de citocininas foram isoladas a partir de alface, trigo, soja, e pinho (SAKAKIBARA, 2006).

Para Hare e colaboradores (1997), um ambiente seco influencia na redução da concentração de citocinina nas plantas, tal ação influencia na conservação de água no interior do vegetal. A aplicação de citocininas pode estimular a abertura dos estômatos, logo, um declínio deste hormônio leva ao fechamento dos estômatos, provavelmente agindo em conjunto com o hormônio ácido abscísico (ABA), impedindo a perda de água pelos estômatos (DAVIES *et al.*, 2005).

#### **3.2.2.5 – Etileno**

O etileno é um hormônio produzido pelas plantas frente a um estresse ambiental, tais como seca, formação de nódulos nas raízes e ataques de

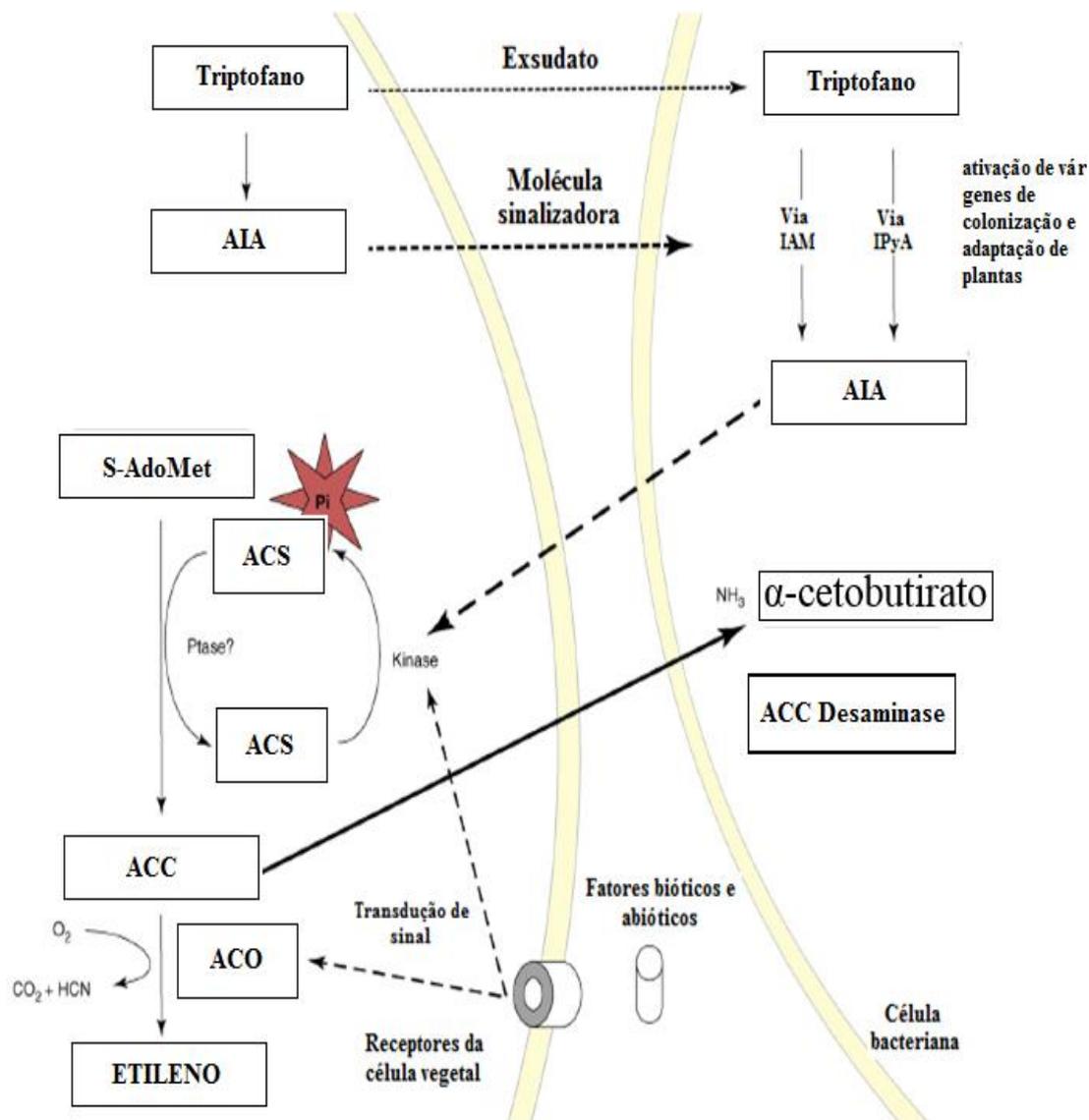
patógenos (SUGAWARA, *et al.* 2006). É um fito-hormônio com um papel central no metabolismo celular, e também na resistência contra doenças (HARDOIM *et al.*, 2008).

O controle dos níveis de etileno na planta é uma característica de extrema importância, uma vez que este fito-hormônio atua na fisiologia vegetal. Plantas associadas a micro-organismos endofíticos podem promover a modulação da produção deste hormônio para o crescimento vegetal (HARDOIM *et al.*, 2004).

Estudos demonstraram que em leguminosas, a aplicação de etileno exógeno, ou o seu precursor direto o 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), inibe o desenvolvimento dos processos de infecção causados por micro-organismos patogênicos na planta hospedeira, em que foi aplicada o hormônio (SUGAWARA, *et al.*, 2006). Iniguez e colaboradores (2005) constataram que bactérias endofíticas tais como a *Klebsiella pneumoniae* cepa 342 possuem uma alta taxa de colonização em espécies mutantes de *Medicago trunculata* para a produção de etileno quando comparado com a linhagem selvagem da espécie vegetal. Estes resultados indicam que o etileno é um importante regulador na colonização de tecidos vegetais por bactérias e que esta regulação é provavelmente mediada pelo seu efeito sobre as vias de sinalização da planta. Além disso, foi observado que o ácido jasmônico (JA) envolvido na via de sinalização de defesas da planta tem um papel restritivo na interação entre o endófito *Azoarcus sp.* BH72 com espécies de arroz *IR42*, indicando que ele pode funcionar de forma independente da sinalização de etileno, assim, restringindo a colonização endofítica (MICHE, *et al.*, 2006)

As bactérias são capazes de modular os níveis de etileno no vegetal por dois mecanismos: primeiramente clivando ACC (GLICK, *et al.*, 2007) ou através da inibição das enzimas ACC-sintase e / ou b - cistationase, ambas da via de biossíntese de etileno (SUGAWARA *et al.*, 2006). A ACC desaminase bacteriana cliva ACC em amônia e um cetobutirato. (GLICK *et al.*, 2007). Bactérias endofíticas com atividade de desaminase de ACC induzida localmente podem ser excelentes promotoras de crescimento de plantas, porque diminuem o estresse vegetal bloqueando a produção de etileno (CHENG *et al.*, 2007). Além disso, as bactérias produtoras de fito

hormônios conhecidos por estimular o crescimento das plantas pode até aumentar os níveis de etileno de plantas (ARSHAD, *et al.*2007). Para evitar os efeitos deletérios de etileno (por exemplo, o crescimento reduzido da raiz), ocorre uma seleção de bactérias produtoras de ACC – desaminase que se tornam endofíticas, atenuando, assim, o estresse da planta causada por níveis excessivos de etileno (CHENG *et al.*, 2007). A figura 10 resume a via de produção do etileno por micro-organismo endofítico.



**FIGURA 10:** Representação esquemática da modulação da biossíntese de etileno pela planta modulada por uma bactéria endofítica.

**Fonte:** HARDOIM, *et al.* 2004.

O Triptofano é absorvido pelas células bacterianas (seta pontilhada) e convertido em AIA, principalmente através das vias e de IAM IPyA. O AIA produzido pela planta também é utilizado como uma molécula de sinalizadora para as bactérias (pontilhado seta negrito). O AIA bacteriano é absorvido pelas células vegetais através da membrana por meio da difusão, processo realizado através de transportadores (seta tracejado em negrito). A família multigênica de ACS (Sintase 1-aminociclopropano-1-carboxilato) e ACO (oxidase 1-aminociclopropano-1-carboxilato) é regulada de maneira autônoma por fatores bióticos (incluindo auxinas) e fatores abióticos (seta tracejada) (HARDOIM, *et al.* 2004).

A forma fosforilada da ACS é mais estável e ativa, convertendo de S-adenosilmetionina (S-AdoMet) para ACC. Uma enzima denominada fosfatase (PTase) regula este processo. Na presença de bactérias produtoras de ACC desaminase, o ACC produzido pela planta é sequestrado por células bacterianas e clivado em amônia (NH<sub>3</sub>) e um cetobutirato (seta negrito). Na ausência de tais bactérias, o ACC é oxidado pelo ACO para formar etileno, cianeto e CO<sub>2</sub> (HARDOIM, *et al.* 2004).

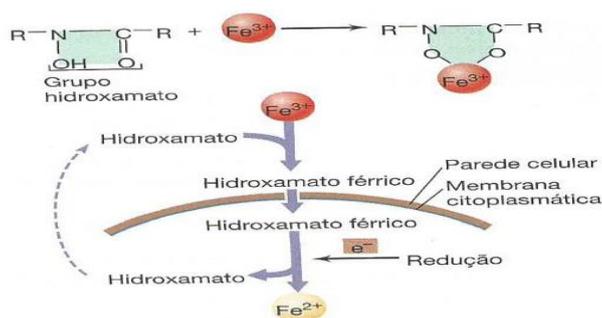
### **3.3.3 – Produção de sideróforos**

Sideróforos são compostos de baixo peso molecular, também chamados de quelantes de ferro, produzidos por plantas e micro-organismos com alta afinidade por ferro (III) (HIDER e KONG, 2010).

Os micro-organismos precisam de vários nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento no ambiente e dentre eles o ferro, que possui uma grande importância em processos metabólicos e fisiológicos que ocorrem nas células dos micro-organismos, dentre eles a respiração celular, em que o ferro é um componente essencial dos citocromos e proteínas (DENG, *et al.* 2011). Concentrações mínimas de ferro são necessárias para o crescimento vegetal, e muitos micro-organismos possuem sistemas específicos que regulam o transporte de ferro pela membrana celular até o interior da célula. Tais sistemas incluem os sideróforos e outros receptores de ferro de membrana correspondentes que absorvem o ferro do meio (LOPER e BUYER, 1991).

Os sideróforos são produzidos por bactérias, existindo vários grupos que são classificados de acordo com suas características químicas, dentre elas o hidroxamato, aerobactina, ferricromo e enterobactinas (WANDERSMAN e DELEPELAIRE, 2004).

Frequentemente, o ferro está presente em condições limitantes no ambiente, sendo alvo de grande disputa entre os organismos. No solo, embora muitas vezes se encontre em excesso, usualmente esse elemento se encontra na forma insolúvel de óxidos e hidróxidos, pouco biodisponíveis. Embora as plantas sejam capazes de aumentar a biodisponibilidade do ferro no solo pela produção de sideróforos e redução do pH da rizosfera, frequentemente essa capacidade é insuficiente para atender as suas demandas, principalmente em solos alcalinos, que favorecem ainda mais sua precipitação (ZUO e ZHANG, 2011; RADZKI *et al.*, 2013). As bactérias que crescem em condições aeróbicas também recorrem à produção de sideróforos para solubilizar o ferro na forma férrica. Algumas bactérias Gram negativas possuem proteínas receptoras de membrana que reconhecem especificamente o ferro na forma férrica, e como consequência, complexos de sideróforos férricos atravessam ativamente a membrana das células (SANDY e BUTLER, 2009).



**FIGURA 11:** O hidroxamato irá se ligar no ferro em sua forma férrica e, com isso, ocorrerá o transporte para o interior da célula, ocorrendo uma redução e a transformação do ferro para a forma ferrosa, liberando o hidroxamato livre novamente.

**Fonte:** Madingan *et al.*, 2010.

Os sideróforos do grupo do ácido hidroxâmico possuem a ação de quelar fortemente o ferro em sua forma férrica. Uma vez que o complexo ferro – hidroxamato é transportado para o meio intracelular, o ferro é liberado e o hidroxamato é excretado e voltado novamente para que transporte outra molécula de ferro (RADZKI *et al.*, 2013) (figura 11).

A afinidade de um sideróforo por ferro é representada por uma constante de estabilidade, tais constantes variam de aproximadamente  $10^{23}$  hidroxamatos-citratos tal como as aerobactinas para  $10^{52}$  para o sideróforo enterobactina (LOPER e BUYER, 1991).

Recentemente, Radzki e colaboradores (2013) demonstraram que plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* var. Marglobe) em condição de privação de ferro, em estufa, apresentaram ganho de peso seco em relação às plantas supridas com ferro, quando tratadas com sideróforos produzidos por duas cepas bacterianas, uma *Chryseobacterium* spp. e uma *Pseudomonas fluorescens*, isoladas da rizosfera de arroz (*Oryza sativa*) e *Nicotina glauca*, respectivamente. O conteúdo de clorofila das plantas tratadas com sideróforos também não apresentou diferença estatística em relação às plantas supridas com ferro.

Dimpka e colaboradores (2008), trabalhando com *Streptomyces* spp., observaram que a presença dos metais tóxicos  $Al^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  e  $Ni^{2+}$  inibiam a produção de AIA por seus isolados, porém aumentava a produção de sideróforos, já que competiam pela atividade quelante com os íons  $Fe^{3+}$ . Posteriormente, os autores também observaram que a inibição da produção de AIA promovida pelos metais pesados também era suprimida pela produção de sideróforos, provavelmente pela capacidade destes de sequestrar os metais inibidores da síntese do fito-hormônio. Os autores ainda concluíram que, de fato, a produção de sideróforos indiretamente induzia o crescimento vegetal, devido a síntese de auxinas que era normalizada pelo sequestro dos metais inibidores de sua síntese.

A produção de sideróforos por populações endofíticas associadas ao milho também tem sido relatada. Em trabalhos de prospecção como o de Montañez e colaboradores (2012) e Johnston-Monje e Raizada (2011), por exemplo, foi observado a produção de sideróforos por *P. fluorescens*, *Burkholderia* spp., *Enterobacter* spp. e *Pantoea* spp., assim como a

capacidade de produzir fito-hormônios de crescimento, de solubilizar fosfato, antagonizar patógenos, dentre outras habilidades. Alguns dos isolados destes trabalhos também promoveram o crescimento de plantas em condições laboratoriais, porém a associação direta do potencial de produzir sideróforos com o crescimento de plantas não foi analisado.

Os micro-organismos produzem diversos tipos de sideróforos, como os ferricromos produzidos por fungos *Ustilago* sp., as enterobactinas produzidas por *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. e *Erwinia* spp., e as pioverdinas produzidas por *Pseudomonas* spp e *Burkholderia* spp. (NEILANDS, 1984). A habilidade de produzir um ou mais sideróforos e de captar não apenas os seus próprios, como os produzidos por outras espécies, conferem aos micro-organismos uma grande capacidade competitiva, podendo garantir, por exemplo, a habilidade de um determinado micro-organismo de colonizar eficientemente uma planta e até mesmo competir por tal com micro-organismos fitopatógenos (MIRLEAU *et al.*, 2000; RADZKI *et al.*, 2013). Em geral, os sideróforos produzidos por bactérias apresentam maior afinidade por ferro que os produzidos por fungos patogênicos (COMPANT *et al.*, 2005). Cao e colaboradores (2005) isolaram 131 actinomicetos endofíticos de raízes de banana (*Musa* sp.). Um dos isolados, o *Streptomyces* S96, apresentou a capacidade de produzir sideróforos e atividade antagonista contra o fitopatógeno *Fusarium oxysporum*, causador de uma ferrugem em bananeiras. Observou-se que a atividade antagonista era perdida quando se adicionava  $FeCl_3$  à zona de inibição, em meio sólido. Além disso, em ensaios *in vivo*, os autores relataram que o índice de severidade da doença foi significativamente reduzido nas plantas inoculadas com a linhagem S96, indicando o potencial de se explorar a capacidade de micro-organismos endofíticos produtores de sideróforos em se combater doenças.

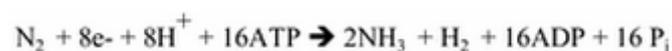
### 3.3.4 – Fixação de Nitrogênio

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no sistema biológico, compreendendo a principal unidade construtora de ácidos nucléicos, enzimas e proteínas, entre suas múltiplas funções. Na natureza,

existe principalmente sob a forma gasosa e constitui cerca de 78% da atmosfera. Apesar de sua abundância, o elemento nitrogênio (N) é um dos nutrientes mais limitantes de crescimento em ecossistemas terrestres e aquáticos (DALTON e KRAMMER, 2006), a sua forma gasosa é inerte e inutilizável pela maioria dos organismos vivos, exceto para microorganismos que fixam o nitrogênio no ambiente. (CANFIELD, 2010). Taxas de fixação de nitrogênio mediada por bactérias são maiores em ambientes ricos em carbono e muitas bactérias diazotróficas são frequentemente encontradas nas raízes das plantas (DALTON e KRAMER, 2006).

O nitrogênio é fixado naturalmente através de processos abióticos, tais como incêndios florestais e atividade vulcânica. Estes processos produzem óxidos de nitrogênio na atmosfera que posteriormente dissolvem na chuva e precipitam como moléculas de amônia (BEATTY e GOOD, 2011). Para que o nitrogênio se torne biologicamente disponível, deve ser reduzido a partir de sua forma gasosa (N<sub>2</sub>) em amônia (NH<sub>3</sub>), que em seguida, pode ser assimilada por uma variedade de seres vivos (DALTON e KRAMER, 2006).

A fórmula a seguir representa o processo de transformação do nitrogênio, catalisado por enzimas denominadas nitrogenases:



Para Beatty e Good (2011), o complexo enzimático das nitrogenases possuem duas proteínas denominadas dinitrogenase e dinitrogenase redutase, de maneira que a redução do nitrogênio gasoso ocorre no centro destas proteínas. Os elétrons necessários para que ocorra a redução do N<sub>2</sub>, são transferidos para as dinitrogenases redutases através de importantes estruturas (ferredoxina e flavodoxina), o processo ainda necessita de grande quantidade de energia, durante os processos de transferência (DALTON e KRAMER 2006).

Nos processos de transferência de elétrons, as dinitrogenases redutases são reduzidas tanto pelas ferredoxinas quanto pelas flavodoxinas, ligando-se ao final em moléculas de ATP, esta ligação entre as dinitrogenases redutases e o ATP irá sofrer uma hidrólise durante a transferência de elétrons para a dinitrogenase, e a dinitrogenase redutase

irá sofrer um processo de dissociação, para recomeçar um novo ciclo de redução e ligação com a molécula de ATP, quando ocorre o processo de redução completo, a dinitrogenase irá reduzir o  $N_2$  em  $NH_3$  (DALTON e KRAMER 2006).

O processo de fixação biológica, na qual as bactérias passam o nitrogênio ( $N_2$  do ar) a uma planta hospedeira, é bem conhecido na associação de leguminosas e de bactérias do gênero *Rhizobium*. O caso menos conhecido, mas de igual importância, é a capacidade de alguns vegetais abrigarem bactérias fixadoras de nitrogênio. A associação de vegetais – bactérias é mais conhecida no caso de gramíneas, uma vez que as bactérias podem ser encontradas dispersas na rizosfera ou associadas no interior das paredes das células no interior da planta (DALTON e KRAMER, 2006).

Para Canfield (2010), as principais bactérias de vida livre que atuam na fixação do nitrogênio pertencem aos gêneros: *Azobacter*, *Agrobacterium*, *Klebsiella*, *Azospirillum* e *Pseudomonas*.

Em seu estudo, Cocking (2003), descobriu que a bactéria endofítica da espécie *Azorhizobium caulinodans*, associadas a leguminosas e não leguminosas atuam na fixação de nitrogênio. Araújo e colaboradores (2001), também isolaram de plantas (citrus, soja e crotalária) espécies endofíticas de *Methylobacterium* com a capacidade de fixar  $N_2$ . Perin e colaboradores (2003) promoveram estudos de bactérias endofíticas associadas com plantas de milho e arroz, constatando que obtiveram um melhor desempenho na fixação de nitrogênio quando comparado com as outras espécies estudadas.

Um exemplo de fixação de nitrogênio em vegetais não leguminosos ocorre na associação entre a cana de açúcar e bactérias endofíticas como *Gluconoacetobacter diazotrophicus*. Esta associação é responsável pelo cultivo da cana de açúcar em solos sem a adição de fertilizantes nitrogenados. Experimentos comparando plantas de cana-de-açúcar inoculadas e não inoculadas por *Gluconoacetobacter diazotrophicus* sugerem que as bactérias fixadoras de nitrogênio fornecem um grande benefício para a planta hospedeira, quando comparado com as espécies que não foram tratadas pela bactéria da espécie, no entanto, alguns desses

benefícios podem surgir a partir da capacidade das bactérias em produzir outros fatores promotores de crescimento, como os fito-hormônios (DALTON e KRAMER, 2006). Outras relações similares às descritas para a cana de açúcar incluem: 1) várias gramíneas tropicais, como *Digitaria* e *Paspalum* com bactérias como *Azospirillum*, 2) grama Kallar (*Leptochloa fusca*) com *Azoarcus* e 3) uma ampla gama de plantas hospedeiras (café, milho, gramíneas de dunas) com as bactérias do gênero *Burkholderia* (DALTON e KRAMER, 2006).

Diversas são as espécies bacterianas endofíticas que podem influenciar a absorção do nitrogênio pelas plantas incluindo espécies dos gêneros *Azospirillum* spp., *Azoarcus* spp. e *Herbaspirillum*, associadas principalmente a cereais (SANTI *et al.*, 2013).

Johanna Döbereiner (1958) foi quem primeiro descreveu a ocorrência da espécie *Beijerinckia fluminensis* na rizosfera da cana – de – açúcar. Tal micro-organismo influencia na fixação biológica do nitrogênio, melhorando no desenvolvimento da planta. Para Montañez e colaboradores (2009), diversos gêneros de bactérias diazotróficas se associam com o milho, tais como *Rhizobium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pantoea*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella* e *Azospirillum*, influenciando também na fixação de N<sub>2</sub>.

### 3.3.5 – Solubilização de Fósforo

O fósforo pode ser encontrado sobre as formas de fosfatos orgânicos e inorgânicos, a matéria orgânica é considerada um importante reservatório de fósforo imobilizado, responsável por 20-80% de fosfato no solo (RICHARDSON e HADOBAS, 1997).

Para que o fosfato seja absorvido pelos vegetais, é preciso que esteja na forma de ortofosfato (HPO<sub>4</sub><sup>-2</sup> e H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-1</sup>), neste sentido, inclui-se a importância dos micro-organismos capazes de promover a solubilização das formas insolúveis. Tais *Micro-organismos Solubilizadores de Fósforo* (MSP) podem ser encontrados livres no solo ou associados às plantas (COLLAVINO *et al.*, 2010).

Os MSP utilizam de vários mecanismos para promover a solubilização e/ou disponibilização do fósforo livre. Dentre eles, estão a

redução do pH no solo por meio da produção de ácidos orgânicos ou liberação de prótons, associada às trocas de íons com o meio ambiente durante a aquisição de nutrientes (BHATTACHARYA e JHA, 2012).

Os principais ácidos orgânicos são o citrato, oxalato, acetato, malato, isocitrato e tartarato (PANHWAR, *et al.*, 2013). Que mobilizam o fósforo e aumentam a sua biodisponibilidade no solo (COLLAVINO, *et al.*, 2010). Os ácidos orgânicos podem não só solubilizar o fósforo no solo por trocas aniônicas do  $PO_4^{2-}$  pelo ácido aniônico como, podem também apresentar atividades quelantes de cátions associados ao fosfato, como o  $Al^{3+}$  e o  $Fe^{+3}$ , e competição pelos sítios de adsorção do fósforo a elementos do solo, como compostos húmicos (RICHARDSON *et al.*, 2009).

Por sua vez, o fósforo pode ser liberado a partir de compostos orgânicos no solo por três grupos de enzimas: (1) Fosfatases inespecíficas, que realizam desfosforilação de grupos fosfo - éster ou fosfoanidrido, (2) As fitases, que causam especificamente liberação de fósforo do ácido fítico, e (3) Fosfatases de carbono e fósforo, enzimas que promovem a clivagem C - P em organofosfonatos (PANHWAR, *et al.*, 2013). A principal atividade está relacionada às fosfatases ácidas e fitases, devido à presença predominante dos seus substratos no solo (RICHARDSON *et al.*, 1999).

As fosfatases alcalinas são usualmente intracelulares e apresentam alta especificidade, estando envolvidas com vias metabólicas sem contribuição considerável para a solubilização de fosfato no solo (RODRIGUEZ *et al.*, 2006). A classificação de ácidas ou alcalinas deriva das condições ótimas de pH para a atividade das enzimas (JONER *et al.*, 2000).

Para Unno e colaboradores (2005), diversos isolados de *Herbaspirillum hiltneri* promoveram altos índices de solubilização de fosfato. Neste trabalho, muitos isolados também apresentaram outros atributos promotores de crescimento vegetal, como fixação biológica de nitrogênio e produção de AIA.

Young e colaboradores (2013) descreveram uma espécie endofítica *Burholdeira cepacia* que, quando inoculada em sementes de milho, após um mês, as plantas cultivadas in vitro apresentaram aumento de 45% na altura, 48% na produção de biomassa, e 86% no comprimento das raízes em relação aos controles não-inoculados. A taxa de assimilação de fósforo

pelas plantas inoculadas apresentou um aumento de 2,4 vezes, sendo observado também um aumento da atividade fosfatase nas raízes das plantas inoculadas.

## CONCLUSÃO

Com base nos levantamentos bibliográficos realizados, pode-se concluir que a interação micro-organismo-planta é de extrema importância para o desenvolvimento de ambos. A partir desta interação, pode-se destacar diversas vantagens que garantem a evolução tanto dos micro-organismos quanto das plantas, uma vez que as interações podem resultar em benefícios para ambos.

Micro-organismos endofíticos são definidos como aqueles que tem como habitat os tecidos internos vegetais sem causar sintomas patológicos. Tais micro-organismos não induzem estruturas anormais no corpo do vegetal hospedeiro, em pelo menos uma parte do seu ciclo de vida. A comunidade endofítica pode trazer diversas vantagens para a planta hospedeira, dentre elas o controle biológico de doenças causadas por bactérias, fungos, vírus, protozoários, podendo diminuir também a ação de herbívoros, insetos e de nematódeos.

Os micro-organismos endofíticos podem inclusive mediar a produção de fito-hormônios tais como auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno, que auxiliam no desenvolvimento vegetal bem como na sobrevivência da planta frente a estresses ambientais tais como seca e calor.

Pode-se ainda atribuir à comunidade endofítica o auxílio na absorção de ferro presente no solo através da produção de substâncias quelantes, tais como os sideróforos e na disponibilização do fósforo por meio da produção de enzimas fitases, fosfatases ácidas e alcalinas e produção de ácidos orgânicos. Os sideróforos atuam na absorção de ferro nas formas óxidas (encontrados em minerais insolúveis), um grupo também produzido pelos micro-organismos, são os chamados sideróforos fenólicos, conhecidos como enterobactinas. O fósforo é um mineral de extrema importância que pode ser absorvido através do processo de biodisponibilização, os micro-organismos que realizam este processo são chamados de micro-organismos solubilizadores de fosfato (MSP), recorrem à produção de ácidos orgânicos que atuam como substâncias quelantes a este elemento, ajudando, portanto, em sua absorção.

A pesquisa relacionada aos micro-organismos endofíticos vem crescendo cada vez mais, principalmente pelo interesse em descobrir novos recursos para o cultivo de plantas com menor dependência do uso de fertilizantes químicos e pesticidas produzidos a partir de derivados do petróleo para o combate pragas e doenças que assolam plantações. Porém, muito ainda precisa ser estudado para que a aplicação destes organismos em escala industrial se torne realidade.

## REFERÊNCIAS

ANDREWS, J. H.; R. F. HARRIS. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. **Annu. Rev. Phytopathol.** **38**:145– 2000.

ARAÚJO, W.L.; *et al.* Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal Microbiology**. v. 47, 2001.

ARAÚJO, J. M.; *et al.* Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of maize (*Zea mays* L.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 4, 2000.

ARKHIPOVA, T.N., *et al.* Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. **Plant Soil**, vol. 292, 2007.

ARKHIPOVA, T.N., *et al.* Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant Soil**, vol. 272, 2005.

ARNOLD, E.A.; *et al.* Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. **PNAS**. v. 100, n.26, 2003.

ARSHAD, M.; *et al.* Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. **Trends in Biotechnology**. v. 25, n.8, 2007.

BACILIO-JIMENEZ, M.; *et al.* Chemical characterization of root exudates from rice (*Oryza sativa*) and their effects on the chemotactic response of endophytic bacteria. **Plant and Soil**. v. 249, no.2, 2003.

BAIS, H.P. *et al.* The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**. v. 57, 2006.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, 2012.

BEATTIE, G. A., LINDOW, S. E. Bacterial Colonization of Leaves: A Spectrum of Strategies. **The American Phytopathological Society**, Vol. 89, No. 5, 1999.

BEATTY, P.H.; GOOD, A.G. Future prospects for cereals that fix nitrogen. **Science**, Vol.333, 2011.

BENEDUZI, A. *et al.* Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolate from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied Soil Ecology**. v. 63, 2013.

BERENDSEN, R. *et al.* The rizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**. v. 17, 2012.

BEVER, J.D.; *et al.* Microbial Population and Community Dynamics on Plant Roots and Their Feedbacks on Plant Communities. **Annual review of microbiology**. Vol. 66, 2012.

BÖMKE, C., TUDZYNSKI, B.,. Diversity, regulation and evolution of the gibberellin biosynthetic pathway in fungi compared to plants and bacteria. **Phytochemistry**, vol. 70, 2009.

BONFANTE, P., ANCA, I.A. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: A network of 362 interactions, **Annu. Rev. Microbiol**, vol. 63, 2009.

BULGARELLI, D.; *et al.* Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. **Nature**. Vol. 488, 2012.

CANFIELD, D. E.; *et al.* The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. **Science**, v. 330, n. 6001, 2010.

CANKAR, K.; *et al.* Bacterial endophytes from seeds of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst). **FEMS Microbiology Letters**, v.244, 2005.

CAO, L.; *et al.* Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. **FEMS microbiology letters**, v. 247,n.2, 2005.

CASTILLO, U. F.; *et al.* Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigricans*. **Microbiology**, v. 148, n.9, 2002.

CHENG, Z.Y.; *et al.* 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. **Canadian Journal of Microbiology**. Vol. 53, No. 7, 2007.

CHERNIN, L. & CHET, I. Microbial enzymes in biocontrol of plant pathogens and pests. In: BURNS, R. AND DICK, R., Eds., Marcel Dekker Inc., New York, NY, p. 171–225, 2002.

CHRISTMANN, A.; *et al.* Generation of active pools of abscisic acid revealed by in vivo imaging of water-stressed *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 137, 2005.

CHRISTMANN, A.; *et al.* A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. **The Plant Journal**, v. 52, 2007.

COCKING, E. C. Endophytic colonization of plants roots by nitrogen fixing bacteria. **Plant and Soil**, v. 252, 2003.

COOKE T.J.; *et al.* (2004) Did auxin play a crucial role in the evolution of novel body plans during the Late-Silurian-Early Devonian radiation of land plants? In AR Hemsley, I Poole, eds, *The Evolution of Plant Physiology: From Whole Plants to Ecosystems*. Linnean Society of London and Elsevier Academic Press, Amsterdam, pp 85–107.

COLLAVINO, M. M.; *et al.* Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. **Biology and Fertility of Soils**, v. 46, no.7, 2010.

COMPANT, S.; *et al.* Climate change effects in beneficial plant-microorganism interactions. **FEMS Microbiology Ecology**, vol. 73, 2010.

COMPANT, S.; *et al.* Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 71, No. 2, 2005.

CZABAN, J.; *et al.* The Motility of Bacteria from Rhizosphere and Different Zones of Winter Wheat Roots. **Polish Journal of Environmental Studies**. Vol. 16, No. 2, 2007.

DALTON, D.A.; KRAMER, S. (2006). Nitrogen-fixing bacteria in non-legumes. In Springer Netherlands, Dordrecht pp. 105-130

DAISY, B., *et al.* *Muscodor vitigenus* anam. sp. nov., an endophyte from *Paullinia paullinioides*. **Microbiology**, v. 148, 2002.

DAISY, B., *et al.* Naphthalene, an insect repellent, is produced by *Muscodor vitigenus*, a novel endophytic fungus. **Mycotaxon**, v. 84, 2002.

DAVIES, W.J., *et al.* Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant' response to drought. **J Plant Growth Regul**, vol. 24, 2005.

DEANGELIS, K.M., *et al.* Selective progressive response of soil microbial community to wild oat roots. **The ISME Journal**. V. 3, 2009.

DEMAIN, A. L. 2000. Microbial natural products: a past with a future, p. 3-16. In S. K. Wrigley, M. A. Hayes, R. Thomas, E. J. T. Chrystal, and N. Nicholson (ed.), *Biodiversity: new leads for pharmaceutical and agrochemical industries*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom.

DENG, Z.S. *et al.* *Paracoccus sphaerophysae* sp. nov., a siderophore producing, endophytic bacterium isolated from root nodules of *Sphaerophysa salsula*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, p. 665 – 669, 2011.

DE WERT, S.; *et al.* Flagella-Driven Chemotaxis Towards Exudate Components Is an Important Trait for Tomato Root Colonization by *Pseudomonas fluorescens*. **Molecular plant-microbe interactions**. v. 15, no. 11, 2002.

DIMPKA, C.O.; *et al.* Involvement of siderophores in the reduction of metal-induced inhibition of auxin synthesis in *Streptomyces* spp. **Chemosphere**, v. 74, n. 1, 2008.

DÖBEREINER, J.; RUSCHEL, A. P. Uma nova espécie de *Beijerinckia*. **Revista de Biologia**, v. 1, 1958.

FIERER, N.; JACKSON, R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **PNAS**, vol. 103, no. 3, 2012.

FINET, C.; JAILLAIS, Y. AUXOLOGY: When auxin meets plant evo-devo. **Developmental Biology**, vol. 369, no. 1, 2012.

FINKELSTEIN, R.R.; *et al.* Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. **Plant Cell**, v. 14, 2002.

FOKKEMA N.J., *et al.* Aphid honeydew, a potential stimulant of *Cochliobolus sativus* and *Septoria nodorum* and the competitive role of saprophytic mycoflora. **Trans. Brit. Mycol. Soc.**, vol. 81, 1983.

GARRIDO, J.F.A., *et al.* Bacterial community structure in the rhizosphere of three cactus species from semi-arid highlands in central Mexico. **Springer Science & Business**. vol. 101. 2012.

GLICK, B.R. *et al.* Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 26, n. 5-6, 2007.

HAGGAG, W.M. Role of Entophytic Microorganisms in Biocontrol of Plant Diseases. **Life Science Journal**, v. 7, n. 3, p. 57-62, 2010.

HALLMANN, *et al.* Endophytic Colonization of Plants by the Biocontrol Agent *Rhizobium etli* G12 in Relation to *Meloidogyne incognita* Infection. **The American Phytopathological Society**, v. 91, 2001.

HALLMANN, *et al.* Bacterial endophytes in agriculture crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 895 – 914, 1997.

HAMAYUN, M. *et al.* *Cladosporium sphaerospermum* as a new plant growth-promoting endophyte from the roots of *Glycine max*. **World J Microbiol Biotechnol**, 2009.

HARDOIM, P.R.; OVERBEEK, L.S.V.; ELSAS, J.D.V. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**. v. 16, n.10, 2008.

HARDOIM, P.R.; *et al.* Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Phytopatology**. v. 94, n.5, 2004.

HARE P.D.; *et al.* The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress. **Plant Growth Regul**, vol. 23, 1997.

HASSAN, S.; MATHESIUS, U. The role of flavonoids in root – rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant–microbe interactions. *Journal of Experimental Botany*. V. 63. No. 3. 2012.

HIDER, R. C.; KONG, X. Chemistry and biology of siderophores. **Natural Product Reports**, v. 27, n. 5, p. 637-657, 2010.

HIRANO, S.S.; UPPER, C.D. Ecology and Epidemiology of foliar bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. v. 211. No.1. 1983.

INCEOGLU, O.; *et al.* Soil and Cultivar Type Shape the Bacterial Community in the Potato Rhizosphere. **Soil Microbiology**. v. 63. 2012.

INIGUEZ, A.L. *et al.* Regulation of enteric endophytic bacterial colonization by plant defenses. **Mol. Plant Microbe Interact**. v. 18, 2005.

JOHNSTON-MONJE, D.; RAIZADA, M.N. Conservation and diversity of seed associated endophytes in *zea* across boundaries of evolution, ethnography and ecology. **Plos one**. v. 6, n. 6, 2011.

KHAN, S.A., *et al.* Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. **BMC Microbiol**. Vol. 8, 2008.

KIERS, E.T.; DENISON, R.F. Mediating mutualisms: farm management practices and evolutionary changes in symbiont co-operation. **J. Appl. Ecol**. Vol. 39, 2002.

KIM, T.H.; *et al.* Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO<sub>2</sub>, and Ca<sup>2+</sup> signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, 2010.

KOWALCHUK, G.; *et al.* Rhizosphere fungal communities are influenced by *Senecio jacobaea* pyrrolizidine alkaloid content and composition. **Soil Biology and Biochemistry**. V. 38. No. 9. 2006.

KRECHEL, A.; *et al.* Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Canadian Journal of Microbiology**. V. 48, n. 9, 2002.

LEUNG, J.; GIRAUDAT, J. Abscisic Acid Signal Transduction **Annu. Rev. Phytopathol and Plant Molecular Biology**. v. 49. 1998

LINDOWN, E.S.; BRANDL, M.T. Microbiology of the Phyllosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n.4, 2003.

LOPER, J.E., BUYER, J.S. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. **Molecular plant – microbe interactions**, v. 4, n. 21, 1991.

LOUSIER, J.D., PARKINSON, D. Litter decomposition in a cool temperate deciduous forest. **Canadian Journal of Botany**, v.54, 1976.

LJUNG, K.; *et al.* Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. **Plant Journal**, v. 28, 2001.

LUGTENBERG, B. J. J.; *et al.* 1999. Tomato seed and root exudate sugars: Composition, utilization by *Pseudomonas* biocontrol strains and role in rhizosphere colonization. **Environ Microbiol**. Vol. 1, 1999.

LYNCH, J.M., WHIPPS, J.M. Substrate flow in the rhizosphere. **Plant and Soil**, v. 129, 1990.

MARTIN, G.C. 1983. The biochemistry and physiology of gibberellins, vol. 2, p. 395-444. In A. Crozier (ed.). Praeger, New York, USA.

MASHIGUCHI, K.; *et al.* The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis*. **Proc. Natl Acad. Sci.** vol. 108, 2011.

MCCULLY, M.E. Niches for bacterial endophytes in crop plants: a plant biologist's view. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, 2001.

MECHABER, W.L., *et al.* Mapping leaf surface landscapes. **PNAS**, v.93, n.10, 1996.

MEJÍA, L.C. *et al.* Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. **Elsevier – Biological Control**, v. 46, 2008.

MENDE, K., *et al.* Molecular characterization of the geranylgeranyl diphosphate synthase gene of *Gibberella fujikuroi*. **Mol. Gen. Genet.** Vol. 255, 1997.

MICHE, L. *et al.* Upregulation of Jasmonate-Inducible Defense Proteins and Differential Colonization of Roots of *Oryza sativa* Cultivars with the Endophyte *Azoarcus* sp. **The American Phytopathological Society**, vol. 19, n. 5, 2006

MIRLEAU, P.; *et al.* Fitness in soil and rhizosphere of *Pseudomonas fluorescens* C7R12 compared with a C7R12 mutant affected in pyoverdine synthesis and uptake. **FEMS microbiology ecology**, v. 34, n.1, 2000.

MOCKAITIS, K.; ESTELLE, M. Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm. **Annu Rev Cell Dev Biol.**, vol. 24, 2008.

MONTAÑEZ, A; *et al.* Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects in vitro. **Applied Soil Ecology**, v. 58, 2012.

MONTAÑEZ, A.; *et al.* (2009). Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by <sup>15</sup>N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. *Biology and fertility of soils*, v. 45(3), p. 253-263, 2009.

MOREIRA, F.M. de S., SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2.ed. **atual. e ampl. Lavras**: Ufla, 2006.

MORRIS, C.E.; KINKEL, L.L. Fifty years of phyllosphere microbiology: significant contributions to research in related fields. In: LINDOW.S. *et al.* **Phyllosphere microbiology**. 5. ed. St. Paul, MN, USA: APS Press, p. 365-375.

NEILANDS, J. B. Siderophores of bacteria and fungi. **Microbiological sciences**, v. 1, n. 1, 1984.

NETO, P.C.S.P; *et al.* Micro-organismos Endofíticos – Interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biociência** v. 29. p. 62-73, 2002.

NISHIJIMA, T., *et al.* Endogenous gibberellins and bolting in cultivars of Japanese radish. **Acta Hort.** Vol. 394, 1995.

O'BRIEN, R.D., LINDOW, S.E. Epiphytic fitness and host preference among ice nucleation active strains of *Pseudomonas syringae*. **Phytopathology**, v. 76, 1986

OGAS, J. Gibberellins. The endophytic continuum. **Mycol. Res.** Vol. 109, 2000.

OKUNISHI, S.; *et al.* Bacterial flora of endophytes in the maturing seeds of cultivated rice (*Oryza sativa*). *Microbes Environ*, v.20, 2005.

OVERBECK, G.E.; *et al.* Brazil's neglected biome: the South Brazilian Campos. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v.9, 2007.

PANHWAR, Q. A.; *et al.* Application of Potential Phosphate-Solubilizing Bacteria and Organic Acids on Phosphate Solubilization from Phosphate Rock in Aerobic Rice. **The Scientific World Journal**, 2013

PANTIN, F.; *et al.* The dual effect of abscisic acid on stomata. **New Phytologist**, vol. 197, 2012

PERIN, L.; *et al.* Avaliação da capacidade de estabelecimento endofítico de estirpes de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* em milho e arroz. **Agronomia**, vol. 37, 2003

PHILIPPOT, L.; *et al.* Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology**, vol. 11, 2013

QUITTENDEN, L.J.; *et al.* Auxin Biosynthesis in Pea: Characterization of the Tryptamine Pathway. **American Society of Plant Biologists**, vol. 151, 2009

RADZKI, W., *et al.* Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 104, 2013.

RASCHE, F., *et al.* Chilling and cultivar type affect the diversity of bacterial endophytes colonizing sweet pepper (*Capsicum annuum L.*). *Canadian Journal of Microbiology*, v.52,n.11, 2006.

REINHOLD-HUREK, B; HUREK, T. Living inside plants: bacterial endophytes. **Science Direct**. n.14, 2011.

REDFORD, A.J., *et al.* The ecology of the phyllosphere: geographic and phylogenetic variability in the distribution of bacteria on tree leaves. **Environmental Microbiology**, v.12,n.11, 2010.

RICHARDSON, A. E.; HADOBAS, P. A. Soil isolates of *Pseudomonas* spp. that utilize inositol phosphates. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, 1997.

RICHARDSON, A. E.; HADOBAS, P. A. Soil isolates of *Pseudomonas* spp. that utilize inositol phosphates. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, 1999.

ROBERTS, D.P. *et al.* Role of colonization in biocontrol: studies with *Enterobacter cloacae*. **Elsevier – Plant Science**, v. 101, 1994.

RODRIGUEZ, H.; *et al.* Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and soil*, v. 287, no. 2, 2006.

ROUSE, D.I., *et al.* A model relating the probability of foliar disease incidence to the population frequencies of bacterial plant pathogens. **Phytopathology**. V. 75, 1985

RYAN, R.P. *et al.* Bacterial endophytes: recent developments and applications. **Federation of European Microbiological Societies**, no. 278, 2008.

SAIKKONEN K., *et al.* Evolution of endophyte–plant symbioses. **Trends Plant Sci**. vol. 9, 2004.

SAKAKIBARA, H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. **Annu Rev Plant Biol**, vol. 57, 2006.

SANDY, M. BUTLER, A. Microbial Iron Acquisition: Marine and Terrestrial Siderophores. **Chemical Reviews**, Vol. 109, No. 10, 2009.

SANTI, C.; *et al.* Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Ann. Bot.**, vol. 111, no. 5, 2013.

SCHULZ, B., BOYLE, C. The endophyte continuum. **Mycological research**, vol. 109, 2005.

SESSITSCH, A., *et al.* Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes-specific PCR of 16S rRNA genes. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 39, n. 1, 2002.

SHATIL- COHEN, C. A.; *et al.* Bundle-sheath cell regulation of xylem-mesophyll water transport via aquaporins under drought stress: a target of xylem-borne ABA. **The Plant Journal**, v. 67, 2011.

SIBBERNSEN, E.D.; MOTT, K.A. Stomatal responses to flooding of the intercellular air spaces suggest a vapor-phase signal between the mesophyll and the guard cells. **Plant Physiology**, v. 153, 2010.

SIMONNEAU, T.; *et al.* 1998. Accumulation rate of ABA in detached maize roots correlates with root water potential regardless of age and branching order. **Plant, Cell & Environment**, v. 21, 1998.

SORENSEN, J. The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. In: J. D. van Elsas, J. T. Trevors, and E. M. H. Wellington. Modern soil microbiology. Marcell Dekker. Disponível em: <[http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=XSoPhnm19EC&oi=fnd&pg=PA21&dq=S%C3%B8rensen,+J.+1997.+The+rhizospee+as+a+habitat+for+soil+microorganisms&ots=0\\_RCODUxmM&sig=0oX8R\\_8auQKNImUyBfZm4BLpv3s#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=XSoPhnm19EC&oi=fnd&pg=PA21&dq=S%C3%B8rensen,+J.+1997.+The+rhizospee+as+a+habitat+for+soil+microorganisms&ots=0_RCODUxmM&sig=0oX8R_8auQKNImUyBfZm4BLpv3s#v=onepage&q&f=false)>

SPONSEL V.M., HEDDEN, P. (2004) Gibberellin biosynthesis and inactivation. In PJ Davies, ed, Plant Hormones: Biosynthesis, Signal

Transduction, Action! Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p. 63–94.

SPONSEL, V.M. The deoxyxylulose phosphate pathway for the biosynthesis of plastidic isoprenoids-early days in our understanding of the early stages of gibberellin biosynthesis. **J. Plant Growth Regul.** Vol. 20, 2002.

STEPANOVA, A.N.; *et al.* TAA1-Mediated Auxin Biosynthesis Is Essential for Hormone Crosstalk and Plant Development. **Cell**, Vol. 133, 2008.

STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversidade de Fungos Micorrízicos Arbusculares em Ecossistemas Brasileiros. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. Eds. Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros – Lavras: Ed. UFLA, 2008. p.537-583.

SUGAWARA, M. *et al.* Rhizobitoxine modulates plant–microbe interactions by ethylene inhibition. **Biotechnology advances**, No. 24, 2006.

TAO, Y., *et al.* Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. **Cell**, vol.133, 2008.

UNNO, Y., *et al.* Plant growth promotion abilities and microscale bacterial dynamics in the rhizosphere of Lupin analysed by phytate utilization ability. **Environmental Microbiology**, v. 7, no. 3, 2005.

URRUTIA, O., *et al.* Monooxygenases involved in GA12 and GA14 synthesis in *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, vol. 56, 2001.

VAN LOON, L.C.; *et al.* Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**. V. 36, 1998

VAN OVERBEECK, L.; VAN ELSAS, J.D. Effects of plant genotype and growth stage on the structure of bacterial communities associated with potato (*Solanum tuberosum* L.). **FEMS Microbiology Ecology**, vol.64, No.2, 2008.

VESSEY, J.K. Plant growth promoting *rhizobacteria* as biofertilizers. **Plant and Soil**, vol.255, 2003.

WANDERSMAN, C; DELEPELAIRE, P. Bacterial iron sources: From Siderophores to Hemophores. **Annual Review of Microbiology**, vol.58, pg. 611 – 47, 2004.

WEINERT, N. *et al.* Rhizosphere Communities of Genetically Modified Zeaxanthin-Accumulating Potato Plants and Their Parent Cultivar Differ Less than Those of Different Potato Cultivars. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 2, 2009.

WEYENS, N., *et al.* Exploiting plant–microbe partnerships to al.improve biomass production and remediation. **Trends Biotechnol** vol. 27, 2009.

WHITE, P. J.; BROWN, P. H. Plant nutrition for sustainable development and global health. **Annals of Botany**, v. 105, n. 7, 2010.

WILKINSON, S.; DAVIES, W.J. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, 2002.

WON C.; *et al.* 2011. Conversion of tryptophan to indole- 3-acetic acid by Tryptophan Aminotransferases of Arabidopsis and YUCCAs in *Arabidopsis*. **Proc Natl Acad Sci**, v. 108, 2011.

YAN, X.N., *et al.* Potential use of cucumber (*Cucumis sativus* L.) endophytic fungi as seed treatment agents against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Zhejiang University Science**. v.12, n.3, 2011.

XIONG, L.; *et al.* Cell signaling during cold, drought, and salt stress. **Plant Cell**, v. 4, 2002.

YANG, CH., *et al.* Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. **PNAS**. v.98, n.7, 2000.

YOUNG, L. S., HAMEED, A., PENG, S. Y., SHAN, Y. H., WU, S. P. Endophytic establishment of the soil isolate *Burkholderia* sp. CC-A174 enhances growth and P-utilization rate in maize (*Zea mays* L.). **Applied Soil Ecology**, v. 66, 2013.

ZAHIR, Z.A.; *et al.* Cytokinin and its precursors for improving growth and yield of rice. **Soil Biol. Biochem.**, v. 33, 2008.

ZHAO, Y. Auxin Biosynthesis and Its Role in Plant Development. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, 2010.

ZUO, Y.; ZHANG, F.. Soil and crop management strategies to prevent iron deficiency in crops. **Plant and soil**, v. 339, n. 1-2, 2011.