

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM SEMENTES E
PLÂNTULAS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS DE
GUARANAZEIRO

LAIS ALVES DA GAMA

MANAUS

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

LAIS ALVES DA GAMA

INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM SEMENTES E
PLÂNTULAS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS DE GUARANAZEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia Tropical, área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Ferreira da Silva

Coorientadora: Prof.^a Dra. Sônia Maria Figueiredo Albertino

MANAUS

2015

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

G184i Gama, Lais Alves da
INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM SEMENTES E
PLÂNTULAS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS DE
GUARANAZEIRO / Lais Alves da Gama. 2015
68 f.: il.; 31 cm.

Orientador: Prof. Dr. José Ferreira da Silva
Coorientadora: Prof.^a Dra. Sônia Maria Figueiredo Albertino
Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade
Federal do Amazonas.

1. micro-organismos. 2. auxina. 3. produção de mudas. 4.
carboidratos. I. Silva, Prof. Dr. José Ferreira da II. Universidade
Federal do Amazonas III. Título

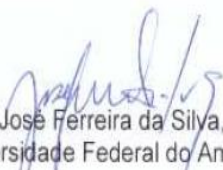
LAÍS ALVES DA GAMA

INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM SEMENTES E
PLÂNTULAS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS DE
GUARANAZEIRO

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Agronomia
Tropical da Universidade Federal do
Amazonas, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em
Agronomia Tropical, área de
concentração em Produção Vegetal.

Aprovada em 5 de março de 2015

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Ferreira da Silva, Presidente
Universidade Federal do Amazonas



Profa. Dra. Eva Maria Alves Cavalcanti Atroch, Membro
Universidade Federal do Amazonas



Prof. Dr. Ari de Freitas Hidalgo, Membro
Universidade Federal do Amazonas

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe Paula Alves, avó
Marly Alves, e ao meu esposo Marcos José de Freitas,
com todo amor.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por ser minha fonte inesgotável.

Aos professores, José Ferreira da Silva e Sônia Maria Figueiredo Albertino, pela orientação, incentivo e principalmente, pela oportunidade e confiança depositada na realização do trabalho.

À Universidade Federal do Amazonas pela minha formação, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, professores, colegas e técnicos.

Ao CNPQ pelo auxílio financeiro.

À Fazenda Agropecuária Jayoro Ltda pela disponibilidade do material vegetal, em especial ao Engenheiro Lúcio Rezende.

Ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia - UFAM, em especial aos professores Spartaco Astolfi Filho, Jose Odair Pereira e a técnica Dina, pelo auxílio com os micro-organismos utilizados neste trabalho.

Ao Dr. Firmino José do Nascimento Filho, pela valiosa contribuição e sugestões para este trabalho.

Ao Prof. Dr. Pedro Queiroz pelas valiosas contribuições ao meu trabalho.

À equipe do Laboratório de Ciência das Plantas Daninhas: Anselmo Ferreira, Bruna Leite, Francisco Martins de Castro, Gerlândio Suassuna, Giancarlo Monteiro, Gilsimar Melo, Karla Dutra e Líbia Miléo.

Em especial aos amigos Gerlândio, Bruna e Líbia, por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Ao meu esposo Marcos, por toda ajuda com as análises, apoio e incentivo.

À minha amada família, por todo apoio, carinho e incentivo.

RESUMO

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) é uma espécie nativa da região amazônica com alta concentração de cafeína e potencial econômico para o Estado do Amazonas. Existem cultivares desenvolvidas pela Embrapa com resistência a pragas e doenças, boa adaptabilidade e produtividade. Estas cultivares e suas interações com micro-organismos do solo são importantes, principalmente no processo de produção de mudas. As relações benéficas entre planta e micro-organismos estão relacionadas com a biossíntese e fornecimento de substâncias estimuladoras do crescimento, podendo resultar em encurtamento do ciclo da planta em viveiro ou aumento na produtividade. Assim, esta pesquisa tem o objetivo de avaliar o potencial de rizobactérias promotoras de crescimento no enraizamento de mudas de guaranazeiro. O delineamento experimental foi de blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 2x2+2, onde os fatores são: duas cultivares de guaranazeiro (BRS-Amazonas e BRS-Maués), duas rizobactérias (*Burkholderia ambifaria* e *Bacillus* sp.) e mais duas testemunhas, uma para cada cultivar. Aos 180 dias após a semeadura, as mudas foram retiradas dos sacos de polietileno, separando o sistema radicular da parte aérea da planta, sendo aferido o comprimento da parte radicular, volume, matéria seca da parte aérea, altura, número de folhas, área foliar e matéria seca da parte aérea, determinado o teor de carboidratos, prolina e nutrientes da parte aérea. As rizobactérias não influenciaram no crescimento das mudas, entretanto, os teores de carboidratos e nutrientes foram maiores quando houve a inoculação das rizobactérias, tendo a bactéria *Burkholderia ambifaria* na cultivar BRS Amazonas os melhores resultados. Os teores de prolina foram maiores no tratamento testemunha das duas cultivares.

Palavras-chave: micro-organismos; auxina; produção de mudas; carboidratos.

ABSTRACT

The guaraná tree (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) is a native species of the Amazon region with high caffeine concentration and economic potential for Amazonas State. There are cultivars developed by Embrapa with resistance to pests and diseases, good adaptability and productivity. These cultivars and their interactions with soil microorganisms are important, especially in the seedling production process. The beneficial relationships between plant and microorganisms are related to the biosynthesis and supply of growth stimulator substances may result in shortening the cycle plant yatchery or increasing in productivity. Thus, this research has the objective to evaluate the potential of rhizobacteria promoters of growth on rooting of guarana plants. The experimental research was completely randomized block design with four repetitions in a 2x2 factorial + 2, where the factors are: two cultivars of guarana tree (BRS-Amazon and BRS-Maués), two rhizobacteria (*Burkholderia ambifaria* and *Bacillus* sp.) And more two witnesses, one for each cultivar. At 180 days after sowing, the seedlings were taken from the plastic bags, separating the root system of the plant canopy, and measured the length of roots, volume, shoot dry mass, height, number of leaves, leaf area and shoot dry mass, determined the carbohydrate content, proline and shoot nutrients. The rhizobacteria did not influence the growth of seedlings, however, the levels of carbohydrates and nutrients were higher when there was inoculation of rhizobacteria, and the bacterium *Burkholderia ambifaria* cultivar BRS the best results. Proline contents were higher in the control treatment of both cultivars.

Key words: microorganisms; auxin; seedling production; carbohydrates.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Teores de açúcares solúveis totais (*AST*) nas cultivares de guaraná BRS Amazonas e BRS Maués, tratadas com as rizobactérias *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*, e o tratamento controle 34
- Figura 2.** Teores de amido (*AMI*) nas cultivares de guaraná BRS Amazonas e BRS Maués, tratadas com as rizobactérias *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*, e o tratamento controle (sem inoculação). 35

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Médias da matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), total (MST), diâmetro da raiz (DR), prolina (PRO) e área foliar (AF) de mudas de guaraná inoculadas com as bactérias *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*, independentes da cultivar, Manaus-2015.....23
- Tabela 2.** Médias da altura (ALT), número de folhas (NF), comprimento da raiz (CR), área foliar (AF) e prolina (PRO) das mudas de duas cultivares de guaranazeiro, independente da inoculação com as bactérias, Manaus-2015.27
- Tabela 3.** Médias da matéria seca da raiz (MSR) e comprimento da raiz (CR) da interação entre as bactérias (*Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*) e as cultivares de guaraná (BRS Amazonas e BRS Maués), Manaus-2015.....28
- Tabela 4.** Valores médios dos conteúdos dos macronutrientes (N, Mg, Ca, P, K e S), em g kg⁻¹, presentes na parte aérea das cultivares de guaraná BRS Amazonas e BRS Maués, Manaus-201538
- Tabela 5.** Valores médios dos conteúdos dos micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn, Zn), em g.kg⁻¹, presentes na parte aérea das cultivares de guaraná BRS Amazonas e BRS Maués, Manaus- 2015.....41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1 Guaraná	4
3.1.1 Importância econômica e social.....	4
3.1.2 Descrição botânica	6
3.1.3 Propagação.....	7
3.2 Bactérias endofíticas	8
3.2.1 Rizobactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (RPCP)	10
3.2.1.1 Mecanismos de ação das rizobactérias	12
3.2.1.1.1 Produção de fito-hormônios.....	13
3.2.1.1.1.1 Produção de auxina (Ácido indol-3-acético)	14
3.2.2. <i>Bacillus</i> e <i>Burkholderia</i> e estudos desses gêneros como RPCPs em diversas espécies vegetais	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1 Experimento de viveiro.....	18
4.1.1 Biometria	20
4.2 Experimento de laboratório.....	20

4.2.1 Compostos fitoquímicos	20
4.2.1.1 Teor de prolina.....	21
4.2.1.2. Teor de Carboidratos	21
4.2.1.3 Nutrientes foliares.....	22
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1 Biometria	23
5.2 Carboidratos.....	33
5.3 Nutrientes nas folhas.....	37
6. CONCLUSÕES	43
7. REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) é uma espécie nativa da região Amazônica, conhecida por suas propriedades energéticas e medicinais, sendo o município de Maués seu centro de origem. Por possuir uma concentração de cafeína superior ao encontrado no café, mate e cacau, gera uma grande demanda por produtos como xaropes, bebidas estimulantes e refrigerantes, sendo este último responsável pelo consumo de 70% da produção nacional.

O guaraná é de grande importância para o Estado do Amazonas, com grande potencial de mercado interno e externo. O Brasil é o único produtor mundial de guaraná, sendo plantado nos Estados do Acre, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Bahia e Mato Grosso.

A disponibilidade de material vegetal geneticamente uniforme, precoce e produtivo se faz necessária para a expansão e melhoria da cultura do guaraná na região. Neste sentido, a Embrapa Amazônia Ocidental tem desenvolvido cultivares com resistência a pragas e doenças, boa adaptabilidade e produtividade.

Estas cultivares e suas interações com micro-organismos do solo são importantes, principalmente no processo de produção de mudas, tendo em vista que alguns destes micro-organismos são promotores de crescimento.

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) são encontradas em vida livre no solo e podem se associar com algumas plantas, promovendo benefícios à mesma. Esses benefícios estão relacionados à biossíntese e fornecimento de substâncias estimuladoras do crescimento, essenciais em diversos aspectos fisiológicos. Dentre essas substâncias promotoras de crescimento, as auxinas se destacam como as principais e mais responsivas estimuladoras.

Existem inúmeros gêneros de rizobactérias, mas grande ênfase tem sido dada aos gêneros *Bacillus* e *Burkholderia*, conhecidos por seus benefícios como promotores de crescimento.

O benefício das RPCPs é dado pelo aumento da produção de matéria seca da parte aérea e raiz, podendo resultar em encurtamento do ciclo da planta ou aumento na produtividade, dependendo da espécie vegetal e do isolado bacteriano (FREITAS et al., 2003). A relação benéfica entre planta e micro-organismos é uma alternativa para melhorar aspectos de cultivo, como produção de mudas provenientes de sementes, macro e micropropagação.

Embora haja muitos trabalhos enfatizando a associação benéfica das RPCPs com diversas espécies de plantas, bem como o conhecimento genético desses micro-organismos, não há informações na literatura sobre estes estudos com guaranazeiro. Assim, esta pesquisa tem o objetivo de avaliar o potencial de rizobactérias promotoras de crescimento no enraizamento de mudas de guaranazeiro.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito das rizobactérias *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria* sobre o desenvolvimento das mudas de guaraná propagadas por sementes.

2.2 Objetivos específicos

Determinar o efeito da inoculação das rizobactérias, sobre o crescimento da parte aérea e radicular;

Avaliar a interação entre as rizobactérias e as cultivares de guaranazeiro;

Quantificar os teores de carboidratos, prolina e nutrientes nas folhas de guaranazeiro, tratadas com as rizobactérias.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Guaraná

3.1.1 Importância econômica e social

O guaraná é uma espécie nativa do Amazonas, usada desde a época pré-colombiana como estimulante, afrodisíaco e tônico. Suas propriedades medicinais e estimulantes estão vinculadas à presença da cafeína natural, que compõe de 2,5 a 5% do peso da matéria seca da semente, valor superior ao encontrado no café (1 a 2%), mate (1%) e cacau (0,7%) (NASCIMENTO FILHO, 2003).

Doses diárias de guaraná de 75 mg podem ser benéficas para a saúde humana, pois apresentam resultados positivos para a memória e cognição, devido aos efeitos psicoativos vinculados à presença de saponinas e taninos que são antioxidantes presentes na planta (CAMPOS et al., 2011).

O Brasil é o único produtor comercial de guaraná e atende ao mercado internacional e nacional, sendo Maués o principal município produtor do Estado do Amazonas, onde cerca de 2.600 famílias cultivam 3.120 ha de guaranazais (NASCIMENTO FILHO et al., 2009; CONAB, 2014). A produção de guaraná vem ganhando importância cada vez maior no cenário econômico e social, especialmente para a região amazônica, onde ele é produzido principalmente pela agricultura familiar.

Em 2014, mais de 2,8 mil famílias atuaram no cultivo do fruto em uma área de plantio de aproximadamente 6,7 mil hectares no Estado do Amazonas. Desse total, apenas duas propriedades utilizam áreas maiores que 400 ha. Significando que os pequenos produtores são responsáveis pela maior parte da área plantada, possuindo em torno de um a três hectares cultivados com guaraná (PEREIRA, 2007).

Até os anos 80, a cidade de Maués era líder absoluta na produção do guaraná, com 90% da produção brasileira. A crescente demanda do produto na forma de extrato de guaraná pelas indústrias de refrigerantes, farmacêuticas e de cosméticos estimularam a expansão da guaranaicultura em estados vizinhos como Acre, Pará e Mato Grosso, chegando até a região cacaueira no sul da Bahia, que atualmente é a maior produtora (IBGE, 2011).

No entanto, o preço de comercialização da semente do guaraná na Bahia é menor (R\$ 13,00 Kg-1) em relação ao Amazonas (R\$ 21,00 Kg-1) (CONAB, 2014). Isso se deve, em grande parte, à comercialização direta da produção do guaraná amazonense com grandes indústrias de refrigerantes localizadas no Estado, as quais não adquirem o produto da Bahia, devido ao alto custo com transporte e encargos (ALBERTINO, 2011).

Atualmente há indícios de um crescimento sustentável da produção de sementes de guaraná no Amazonas, com base na distribuição de mudas resistentes a doenças e de alta produtividade pela Embrapa-AM e na implantação de projetos empresariais de cultivo que tendem a adotar padrões agrícolas tecnificados (SEBRAE, 2005).

O alto consumo nacional de bebidas gaseificadas contendo extrato de guaraná abre perspectivas mercadológicas para investidores com foco no crescente mercado, bem como o surgimento de novos produtos baseados em evidências benéficas à saúde humana proporcionada pelas substâncias presentes nessa planta, que podem levar a maior aceitação e, conseqüentemente, maior demanda por guaraná (SCHIMPL, 2013).

Para o ano de 2015, estimativas sugerem que a Bahia permanecerá em primeiro lugar no *ranking* brasileiro, com 2.672 toneladas e o Amazonas também deverá produzir o mesmo quantitativo do ano passado, se colocando em segundo lugar com 740 toneladas (CONAB, 2014).

As exportações brasileiras do produto giram em torno de US\$ 15 milhões/ano, alcançando 175 países, dentre eles, Espanha, Porto Rico, Portugal e Japão. Acredita-se que 90% da produção total é absorvida pelo mercado interno (SANTOS, 2007).

Portanto, o guaraná é uma cultura que oferece oportunidades de negócios para as indústrias, remuneração para os produtores e, ainda contribui para a fixação do homem no meio rural, destacando-se como um dos produtos de alto potencial econômico e de grande significado social no meio rural amazônico (CRAVO, 2001).

O cultivo comercial do guaraná tem sido incentivado por meio de práticas agrícolas e novas tecnologias geradas pelas pesquisas. O conhecimento sobre a cultura evoluiu consideravelmente nos últimos anos, mas muito ainda necessita ser feito (ALBERTINO et al., 2012).

3.1.2 Descrição botânica

O guaranazeiro é uma dicotiledônea tropical que pertence à família Sapindaceae. Na natureza, cresce como liana até atingir o estrato superior da floresta; porém, quando cultivado, tem a forma de arbusto sub-ereto com aproximadamente 3,0 m de altura (ARRUDA, 2007; IPNI, 2012).

A espécie *Paullinia cupana* H.B.K., é dividida em duas variedades, *P. cupana* variedade *typica* que é o guaraná venezuelano, enquanto *P. cupana* variedade *sorbillis* que é o guaraná brasileiro, economicamente explorado e o único usado comercialmente (SCHIMPL et al., 2013). O município de Maués é o seu centro de origem, onde os Sateré-Mawé o transformaram, de uma trepadeira silvestre, em arbusto cultivado, introduzindo seu plantio e beneficiamento.

O guaraná é uma espécie monóica possuindo inflorescências com flores pseudo-hermafroditas, sendo polinizadas por insetos – principalmente por abelhas. Sua inflorescência é um cacho, com tamanho variável, chegando a ultrapassar 25 cm e ocorre, geralmente, na axila das folhas ou na bifurcação de uma gavinha (SOUZA et al., 1996).

O fruto é uma cápsula deiscente e, quando maduro, tem coloração que vai desde amarelo-alaranjada, passando por vermelho-amarelada até vermelho-vivo e brilhante. Quando abre, pode possuir de uma a quatro sementes, de forma arredondada, mas essa característica pode variar conforme sejam oriundas de cápsulas obovadas ou oblatas, de coloração castanho-escuras envoltas parcialmente por um arilo branco e farináceo (CORRÊA, 1989; SOUZA et al., 1996; POLO, 2006).

As sementes apresentam altos teores de substâncias como a teobromina (vasodilatadora), teofilina (broncodilatadora) e cafeína (2,5-5%) propícias para serem usadas nas indústrias farmacêuticas e de bebidas (LIMA et al., 2005).

3.1.3 Propagação

A propagação do guaranazeiro é realizada por sementes ou por estacas. A reprodução sexuada é o principal método de propagação das plantas superiores e para algumas espécies, o único método viável. É considerada a forma mais segura, por reproduzir plantas mais vigorosas, com um sistema radicular abundante e profundo e, conseqüentemente, com maior longevidade (FACHINELLO et al., 2005). Além disso, esse método de propagação proporciona a obtenção de novas variedades e formação de bancos de germoplasma (MANICA et al., 2003).

O desenvolvimento vigoroso e a maior longevidade das plantas propagadas por sementes, podem estar associados à formação de um sistema radicular pivotante que atinge

maior profundidade no solo, comparado ao fasciculado, encontrado em plantas propagadas por estacas (FACHINELLO et al., 2005).

Apesar de plantas propagadas por sementes apresentarem maior variabilidade genética, o que muitas vezes pode ser uma desvantagem quando se quer obter um estande de plantas para fins comerciais (FACHINELLO et al., 2005), existem variedades que produzem frutos com formatos e tamanhos diferentes, e após uma seleção, podem ser propagados vegetativamente e vir a constituir-se uma nova cultivar.

3.2 Bactérias endofíticas

Micro-organismos endofíticos colonizam os tecidos internos da planta, sem causar danos aparentes ao hospedeiro (AZEVEDO et al., 2000), podendo ser separados em dois grupos, os que não produzem estruturas externas à planta, e os que produzem estruturas externas, sendo caracterizados pelos rizóbios e micorrizas (MENDES e AZEVEDO, 2007).

A distinção entre endofíticos, epífitos (aqueles que vivem na superfície das plantas) e patógenos (que causam doenças às plantas) é puramente didática. Existem populações bacterianas que podem flutuar entre a colonização endofítica e epifítica (HALLMANN et al., 1997).

Estima-se que das aproximadamente 300.000 espécies de plantas existentes no planeta, cada indivíduo contenha um ou mais micro-organismos endofíticos (STROBEL et al., 2004).

De acordo com a revisão publicada por Rosenblueth e Martinez-Romero (2006), além dos nódulos formados por rizóbios e micorrizas, pode-se encontrar micro-organismos endofíticos em folhas, caules, raízes, sementes e frutos.

Apesar de colonizarem todos os órgãos vegetais, no sistema radicular são encontrados em maior densidade, por geralmente ser o primeiro local de colonização (SCHULZ e

BOYLE, 2006). Contudo, estas bactérias podem se translocar do sistema radicular para outros órgãos através dos vasos do xilema, durante o desenvolvimento do vegetal (COMPANT et al., 2010).

Em geral, estes micro-organismos penetram nas plantas por aberturas naturais como estômatos, hidatódios, lenticelas, área de emergência de raízes laterais ou ferimentos. Uma das portas de entrada mais utilizadas pelos endófitos são as raízes, pelo fato de apresentarem ferimentos durante a emergência de raízes secundárias laterais (HALLMAN et al., 1997).

Outras portas de entrada são as aberturas causadas por insetos e pela produção de enzimas que facilitam a sua penetração. As bactérias podem penetrar de forma ativa através da degradação enzimática da parede celular da planta pelas enzimas celulíticas e pectinolíticas (HALLMAN et al., 1997). Essas observações indicam que a bactéria entra na planta pela epiderme da raiz e migra até o cilindro central, onde possivelmente se insere em algum vaso condutor e coloniza sistemicamente a planta (DANHORN e FUQUA, 2007).

Com colonização sistêmica da planta, estas bactérias podem alterar as condições fisiológicas e morfológicas do hospedeiro, além de atuar sobre as populações de outros micro-organismos presentes no interior da planta (ANDREOTE, 2009).

Vários estudos destacam as características benéficas que os micro-organismos endofíticos conferem às plantas hospedeiras, tais como resistência às condições de estresse, alteração em propriedades fisiológicas, produção de fito-hormônios e de outros componentes de interesse biológico (AZEVEDO et al., 2000; STROBEL et al., 2004).

Diversos gêneros bacterianos já foram encontrados colonizando endofiticamente as plantas. No guaranazeiro foram encontrados os gêneros *Bacillus* spp. e *Burkholderia* spp. (BONATELLI, 2012).

O estudo sobre as substâncias produzidas por esses micro-organismos é importante para viabilizar a aplicação dos mesmos no controle biológico de patógenos ou no isolamento

de compostos de importância biotecnológica (BLOEMBERG e LUGTENBERG, 2001; SESSITSCH et al., 2004).

3.2.1 Rizobactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (RPCP)

A interação entre as bactérias e as plantas, é uma forma de protocooperação, pois a planta oferece seus exsudados, ricos em nutrientes, e recebe em troca proteção contra patógenos, substâncias promotoras de crescimento, como os fito-hormônios, dentre outras substâncias que inibem a acumulação de elementos tóxicos à planta (MORGAN et al., 2005; BADRI et al., 2009).

Devido a estes fatores, as bactérias benéficas que habitam a rizosfera são chamadas bactérias promotoras de crescimento (COMPANT et al., 2010). Estas bactérias constituem um grupo heterogêneo e podem ser encontradas na rizosfera, na superfície ou colonizando suas raízes. Podem ser classificadas, de acordo com seus efeitos sobre o crescimento vegetal, em benéficas, deletérias ou neutras, e com isso, implementar a extensão ou qualidade do crescimento da planta de maneira direta ou indireta (DOBBELAERE et al., 2003; GRAY e SMITH, 2005; AHMAD et al., 2008).

Gray e Smith (2005) propuseram novos conceitos para classificar ou dividir as RPCPs:

- 1) iRPCPs - Bactérias que residem dentro das células das plantas, produzindo nódulos, estruturas especializadas na fixação de nitrogênio em leguminosas. Atualmente, as bactérias pertencentes ao gênero *Rhizobium* são as mais estudadas deste grupo, mas existem outros gêneros bacterianos de solos que pertencem a essa categoria, como: *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* e *Allorhizobium*.

2) eRPCPs - Bactérias que se desenvolvem extracelularmente nos tecidos das raízes de diversas plantas, não produzindo nódulos, mas com capacidade de promover o crescimento vegetal através da produção de sinais ou substâncias específicas. Podem ser incluídas nesta categoria as bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Burkholderia*.

As bactérias promotoras de crescimento podem influenciar as plantas afetando diretamente o seu metabolismo, por fornecerem substâncias que normalmente estariam pouco disponíveis. Estas podem fixar nitrogênio, solubilizar fósforo ou produzir hormônios como auxinas, giberelinas, citocininas e etileno (BASHAN e DE-BASHAN, 2005).

A outra forma de atuação dessas bactérias é o biocontrole de patógenos, que, de forma indireta, permite que a planta expresse todo o seu potencial de crescimento (BASHAN e DE-BASHAN, 2005).

Esse efeito benéfico das rizobactérias em relação ao maior crescimento das plantas é refletido na altura, crescimento das raízes, produção de biomassa vegetal, vigor e produtividade, quando comparadas a plantas não associadas às RPCPs (BERTRAND et al., 2001; ROMEIRO e BATISTA, 2002).

Segundo Silveira (2008), o aumento do sistema radicular promovido pelas rizobactérias, pode favorecer uma maior eficiência na retirada de água, macro e micronutrientes.

Essas bactérias têm sido estudadas em uma extensa variedade de plantas, incluindo muitas de interesse agrícola, tais como, eucalipto (MAFIA et al., 2005), citros (ARAÚJO et al., 2001; AMORIM e MELO, 2002), milho (ARAÚJO et al., 2000), batata (REITER et al., 2002), trigo e sorgo (ZINNIEL et al., 2002), feijão (SILVEIRA et al., 1995), arroz (NANDAKUMAR et al., 2001), entre outras.

Aquelas bactérias que estabelecem uma associação benéfica com as plantas têm sido isoladas, multiplicadas, formuladas e utilizadas como prática agronômica rotineira em alguns países, favorecendo o desenvolvimento e a produtividade das plantas (LUZ, 1996).

Ambientalmente, a utilização destes micro-organismos pode ser preferível ao uso de fertilizantes e pesticidas, não somente pelo menor custo e tempo, mas por contribuir com um sistema agrícola sustentável e a redução dos problemas associados ao uso de produtos químicos (CATTELAN e GRASSANO, 2007; AVIS et al., 2008; SOLANO et al., 2008).

Dentre os gêneros de rizobactérias mais estudados, pode-se citar *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Hydrogenophaga*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* e *Burkholderia* (OLIVEIRA et al., 2003).

3.2.1.1 Mecanismos de ação das rizobactérias

O estímulo ao crescimento vegetal pode ser resultado de ações diretas, como o aumento da disponibilidade de nutrientes e produção de substâncias reguladoras de crescimento vegetal (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009), e também por ações indiretas, como o controle de fitopatógenos por competição, antibiose e indução de resistência sistêmica no hospedeiro (RAMAMOORTHY et al., 2001).

A promoção indireta do crescimento por RPCPs ocorre por supressão de micro-organismos patogênicos na rizosfera por meio da produção de β -1,3-glicanase (FRIDLENDER et al., 1993), antibióticos (RAAIJMAKERS et al., 1997), ácido cianídrico (OWEN e ZDOR, 2001) e sideróforos (PIDELLO, 2003).

A promoção de crescimento de plantas por diminuição da incidência de doenças pode ocorrer pela inibição direta do crescimento do patógeno (OWEN e ZDOR, 2001) e pela

indução de resistência sistêmica da planta (FRIDLENDER et al., 1993; NANDAKUMAR et al., 2001), entre outras maneiras.

Entre os mecanismos de promoção de crescimento que ocorrem de forma direta verifica-se a capacidade de solubilização de fosfatos, a fixação biológica de nitrogênio, a síntese de sideróforos e a produção de fito-hormônios (OLIVEIRA et al., 2003).

3.2.1.1.1 Produção de fito-hormônios

A maioria das RPCPs já estudadas são gram-negativas e o principal efeito delas sobre as plantas é o fornecimento de fito-hormônios de crescimento, como auxinas, giberelinas e citocininas (EL-KHAWAS e ADACHI, 1999).

Estudos relacionados às diversas culturas e suas associações com rizobactérias, constata a produção dos seguintes compostos: auxinas que atuam na diferenciação celular, crescimento radicular e promoção de crescimento dos frutos; citocininas ligadas à regulação do crescimento, diferenciação e senescência vegetal; giberelinas responsáveis pela divisão e alongamento celular, interrupção da dormência e aumento do desenvolvimento dos frutos e etileno que promove o amadurecimento dos frutos, abscisão de folhas, flores e frutos e influencia na expressão do sexo feminino nas plantas (CATTELAN, 1999; CASSÁN et al., 2001; RAVEN et al., 2001; VERMA et al., 2001; KOENING et al., 2002).

Hormônios como etileno e ABA (ácido abscísico) estão relacionados a estresses ambientais e podem ser regulados ou produzidos por bactérias em associação com plantas. O etileno produzido em situação de estresse afeta o crescimento radicular e consequentemente, na parte aérea. Bactérias que possuem a enzima aminociclopropano-1- carboxilase deaminase (ACC deaminase) podem regular a produção desse hormônio, sendo vantajosas para o crescimento sob condições de estresse (SALEEM et al., 2007). O ABA, também está

relacionado a sinais anti stresses, principalmente estresse hídrico, estimulando o fechamento dos estômatos (HARTUNG e SLOVIK,1991).

Outro hormônio sintetizado pelos micro-organismos é a citocinina, que também auxilia no crescimento de diversas espécies vegetais, atuando nas divisões celulares, na germinação das sementes, na expansão das raízes e folhas e também na senescência do vegetal. Dentre os micro-organismos produtores deste composto podemos citar a espécie *Pseudomonas fluorescens* que produz altas concentrações deste fito-hormônio (GRAY e SMITH, 2005).

As giberelinas são hormônios produzidos principalmente nas raízes e nos brotos foliares, que atuam estimulando o crescimento de caules e folhas, mas tem pouco efeito sobre o crescimento das raízes. Juntamente com as auxinas, as giberelinas atuam no desenvolvimento dos frutos e junto com as citocininas, possuem importante papel no processo de germinação das sementes (PEDRINHO, 2009).

Algumas bactérias como *Bacillus* spp. também produzem altos níveis de giberelinas, que induzem efeitos positivos no crescimento de caules e galhos de diversas plantas (GRAY e SMITH, 2005).

3.2.1.1.1 Produção de auxina (Ácido indol-3-acético)

Entre os hormônios vegetais, o AIA é a auxina natural mais comum encontrada em plantas. Sua função está relacionada ao alongamento de células, estimulando a síntese ou desinibindo a ação de enzimas que atuam sobre as microfibrilas da parede celular, o que resulta em aumento da plasticidade da membrana. É responsável pela formação de raízes adventícias no caule e aumento da extensão nas raízes. Essa substância é produzida principalmente no meristema apical (gema) do caule e transportada através das células do

parênquima até as raízes. O transporte do AIA é unidirecional, dependendo de energia para ocorrer (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Acredita-se que seu efeito benéfico para o crescimento e morfologia da raiz seja pelo maior acesso à água e nutrientes do solo (VESSEY, 2003).

Os tecidos radiculares são especialmente sensíveis a flutuações da concentração de AIA. Quando em baixas concentrações o AIA pode estimular, enquanto em altas concentrações pode inibir o crescimento das raízes das plantas e o desenvolvimento do sistema radicular pode ser profundamente afetado (LAMBRECHT et al., 2000; TANIMOTO, 2005). Neste contexto, micro-organismos rizosféricos degradadores de AIA podem também ter um efeito positivo no crescimento de plantas (GRAVEL et al., 2007).

Os níveis de AIA produzidos pelas bactérias dependem do crescimento bacteriano, da atividade metabólica e da expressão de genes que codificam enzimas para a biossíntese de AIA (LAMBRECHT et al., 2000).

Zakharova et al., (1999) verificaram que 80% das bactérias isoladas de rizosfera são capazes de produzir AIA. Apesar disso, existem poucos trabalhos sobre a síntese de auxinas por micro-organismos no solo, mas sabe-se que o aminoácido L-triptofano (LTrp) é um precursor fisiológico para a produção de auxinas em diversas plantas e micro-organismos, e que a enzima chamada ipdC (indol-3-piruvato descarboxilase - EC 4.1.1.74) é a enzima-chave para a biossíntese destes fito-hormônios (LEBUHN e HATMANN, 1993). Exsudados de raízes são naturalmente fonte de triptofano (DAKORA e PHILLIPS, 2002) para os micro-organismos, aumentando a biossíntese de auxina na rizosfera.

Existem evidências de que os micro-organismos podem selecionar uma via metabólica diferenciada, dependendo do ambiente. Bactérias endofíticas sintetizam AIA através de duas vias principais, uma dependente do aminoácido triptofano e outra independente deste (PATTEN e GLICK, 1996).

Segundo Tsavkelova et al. (2006), as principais vias de produção de AIA bacteriano dependentes de triptofano são quatro: 1) através da conversão do triptofano em ácido 3-indol piruvato, via esta que é comum à maior parte das bactérias, sendo estas patogênicas ou não; 2) através da conversão do triptofano em aldeído 3-indol acético ou alternativamente em triptamina; 3) através da via 3-indol acetamida; 4) através da conversão do triptofano em 3-indol acetonitrila e uma via de biossíntese de AIA independente do triptofano. De acordo com Lambrecht et al. (2000), as principais vias de biossíntese de AIA são a 3-indol acetamida e a 3-indol piruvato.

O AIA pode ser produzido mesmo quando o L-triptofano não é adicionado ao meio já que as bactérias podem sintetizar L-triptofano ou sintetizar AIA por uma via independente do L-triptofano (ZAKHAROVA et al., 1999; KUSS et al., 2007), sendo que diferentes vias bioquímicas podem levar a diferentes quantidades de AIA sintetizado.

Uma visão mutualística desta interação pode ser correta, pois o fornecimento de auxinas promove o crescimento de plantas e, desta forma, há mais exsudatos e mais nutrientes para a bactéria (SOLANO et al., 2008).

3.2.2. *Bacillus* e *Burkholderia* e estudos desses gêneros como RPCPs em diversas espécies vegetais

Dos vários gêneros de bactérias benéficas presentes no solo, grande ênfase tem sido dada ao gênero *Bacillus* (CHANWAY et al., 2000; AAGOT et al., 2001). Várias linhagens de RPCP, incluindo *Bacillus pumilus* e *Bacillus licheniformis* têm sido reportadas como sendo produtoras de auxinas (GUTIÉRREZ-MAÑERO et al., 1996). Também tem sido relatado que o rendimento de trigo foi aumentado em até 43% com a inoculação de *Bacillus*, devido a

algum hormônio de crescimento excretado, tal como o ácido indol-3-acético (AIA) (KLOEPPER et al., 1991).

Bacillus é um dos gêneros mais promissores para serem usados em bioinoculantes comerciais devido à sua capacidade de formação de esporos, aumentando assim a adaptação da linhagem na formulação comercial e aplicação de campo (AYSHA, 2012).

Bactérias que compõe o gênero *Bacillus* são amplamente distribuídas no solo (ROSCH et al., 2002; GARBEVA et al., 2003). Numerosas linhagens deste grupo expressam atividades promotoras de crescimento e diversas delas têm sido desenvolvidas comercialmente como fungicidas biológicos, inseticidas, nematicidas, indutores de resistência sistêmica ou genéricos promotores de crescimento de plantas (KLOEPPER et al., 1991; BENEDUZI et al., 2008).

Um outro gênero de microrganismo diazotrófico endófitico está sendo objeto de estudos recentes: *Burkholderia* spp., foi reclassificado a partir de linhagens antes incluídas no gênero *Pseudomonas* (YABBUCHI e KOSAKO, 1992).

O gênero *Burkholderia* é um grupo de grande importância devido à sua habilidade em produzir compostos antimicrobianos, promover o crescimento vegetal, fixar nitrogênio atmosférico e ocupar uma grande variedade de nichos ecológicos (SALLES, 2006).

Estirpes pertencentes a diferentes espécies dentro desse gênero foram isoladas de arroz no Vietnã (TRAN VAN e GILLIS, 1994) e de cana-de-açúcar, batata-doce, mandioca e arroz, no Brasil (BALDANI et al., 1996).

Nos últimos anos, estudos demonstraram que várias culturas podem ser colonizadas por bactérias diazotróficas, como por exemplo, plantas de milho associadas com *Burkholderia unamae* (CABALLERO-MELLADO et al., 2004).

Batista (2012), isolando rizobactérias das raízes do guaranazeiro, obteve 101 linhagens, dentre essas, 89% foram capazes de produzir AIA, 23% fixaram nitrogênio atmosférico, 43% solubilizaram fosfato inorgânico e 24% produziram sideróforos. Cinco

linhagens foram selecionadas para o ensaio de promoção de crescimento de milho em casa de vegetação, identificadas pelo sequenciamento completo do gene 16S rDNA e compuseram os tratamentos como segue: RZ2MS9 - *Bacillus* sp. (T1), RZ2MS16 - *Burkholderia ambifaria* (T2) e consórcio (T3) de 5 linhagens (RZ1MS6 - *Burkholderia vietnamiensis*, RZ1MS11 - *Burkholderia* sp., RZ2MS9 - *Bacillus* sp., RZ2MS16 - *Burkholderia ambifaria* e RZ4MS18 - *Delftia acidovorans*). As linhagens *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria* foram eficientes como promotoras de crescimento em milho, aumentando a altura cerca de 39% e 33% respectivamente, e do sistema radicular cerca de 248 e 136% respectivamente, comparado ao controle não inoculado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Experimento de viveiro

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e no Laboratório de Ciência de Plantas Daninhas (LCPD), no Departamento de Produção Animal e Vegetal (DPAV) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus-AM.

O delineamento experimental foi de blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 2x2+2, onde os fatores são: duas cultivares de guaranazeiro (BRS-Amazonas e BRS-Maués), duas rizobactérias (*Burkholderia ambifaria* e *Bacillus* sp.) e mais duas testemunhas, uma para cada cultivar. A unidade experimental foi constituída de dez plantas, com quatro repetições.

O experimento teve início em fevereiro de 2014. As sementes de guaraná das cultivares BRS-Amazonas e BRS-Maués, foram coletadas na Usina Agropecuária Jayoro,

localizada no município de Presidente Figueiredo, a 120 Km da cidade de Manaus, no Estado do Amazonas.

Após a coleta dos frutos, houve a retirada do arilo das sementes em água corrente, seguida de lavagem em água destilada e imersão em solução de sacarose a 10%, por 30 minutos.

As rizobactérias utilizadas foram *Burkholderia ambifaria* e *Bacillus* sp., cedidas pelo Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas (UFAM).

As suspensões bacterianas foram preparadas a partir da multiplicação das linhagens em concentração de 10^8 UFC mL⁻¹, transferidas para balão de erlenmeyer contendo 50 mL de meio líquido Luria-Bertani (LB), sob agitação orbital de 150 rpm a 28 °C por 24 horas. Após este procedimento, foram retirados 200 µL da solução com as linhagens bacterianas e colocados em microtubos de 0,5 mL identificados com o nome de cada gênero bacteriano, juntamente com 200 µL de glicerol 15% e armazenados em freezer a -80 °C.

Para a inoculação, as sementes foram aspergidas com a suspensão bacteriana na concentração de 10^8 UFC mL⁻¹ colocadas em sacos plásticos por 30 minutos e agitadas para que todas entrassem em contato com a bactéria uniformemente, até o momento em que foram semeadas em bandejas plásticas, contendo a casca dos frutos de guaraná, previamente curtidos e peneirados, como substrato. As bandejas contendo as sementes foram irrigadas três vezes por semana em casa de vegetação e nenhuma solução nutritiva foi adicionada às mesmas.

Aos 90 dias após a semeadura, quando as plântulas atingiram cerca de 10 cm de altura e um par de folíolos bem definidos foram retiradas das bandejas e novamente inoculadas com os isolados bacterianos, por meio da imersão do sistema radicular durante 30 minutos.

Após a inoculação, as mudas foram transplantadas para sacos de polietileno preto medindo 23 x 18 cm, contendo como substrato, uma mistura de terriço e areia, na proporção 4:1. Os tratamentos sem inoculação de micro-organismos (testemunha) foram apenas

repicados diretamente para os sacos de polietileno. As mudas permaneceram em casa de vegetação, recebendo três irrigações semanais.

4.1.1 Biometria

Aos 180 dias após a semeadura, as mudas foram retiradas dos sacos de polietileno, separando o sistema radicular da parte aérea da planta, sendo ambos lavados em água corrente, obtendo-se o sistema radicular intacto para anotação das seguintes características: número de raízes secundárias, comprimento da raiz pivotante e volume das raízes. A medição do comprimento foi com auxílio de régua e do diâmetro com paquímetro digital. O volume das raízes foi medido pelo deslocamento de água provocado pela introdução das raízes em proveta graduada.

A altura da parte aérea (APA) foi aferida com auxílio de régua milimetrada e a área foliar de todas as folhas por meio do medidor "Area Meter" (Licor Inc., Lincon, Nebraska, US). O sistema radicular e a parte aérea de cada planta foram colocados em sacos de papel para posterior secagem em estufa, com ventilação forçada, a 70 °C, até o peso constante. Em seguida foi determinado o peso da matéria seca da parte aérea (PSPA) e o peso da matéria seca do sistema radicular (PSSR), com o auxílio de uma balança analítica.

4.2 Experimento de laboratório

4.2.1 Compostos fitoquímicos

4.2.1.1 Teor de prolina

A quantificação de prolina foi realizada segundo Rena e Masciotti (1976). Em tubos de ensaio, foram adicionados 100 µL de glicina 0,1M, 300 µL de extrato vegetal, 2,6 mL de água mili-Q, e 2 mL de ácido acético concentrado. Após serem agitados para homogeneizar a solução, foram acrescentados 2 mL de reagente de ninhidrina (600 mg de ninhidrina + 15 mL de ácido acético concentrado + 10 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) 6 mol L⁻¹). Após agitação, a mistura foi encubada em banho-maria a 100°C, por 35 minutos. Em seguida, os tubos foram colocados em banho de gelo para rápido resfriamento da reação e adicionados 4 mL de tolueno concentrado, agitando vigorosamente e a absorbância do sobrenadante (tolueno) determinada em espectrofotômetro com o comprimento de onda de 515 nm. A reta padrão obtida com solução de prolina em concentrações de 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 µg mL⁻¹. O conteúdo de prolina foi expresso em µmol g⁻¹ de massa seca.

4.2.1.2. Teor de Carboidratos

Para a extração de açúcares solúveis totais, as amostras da parte aérea foram moídas e 0,1 g dessas amostras foram maceradas com pistilo adicionando-se 10 mL da mistura de metanol – clorofórmio – água, na proporção de 120:50:30, aquecida a 60 °C. O produto da maceração foi transferido quantitativamente para tubos plásticos e centrifugado a 2.000 g, por 15 minutos. Os sobrenadantes tiveram seu volume anotados e foram armazenados sob refrigeração para posteriormente serem particionados em funil de separação com 15 mL de clorofórmio, para clarificação do extrato e remoção dos lipídios.

A quantificação dos açúcares solúveis totais foi por reação com antrona, segundo metodologia preconizada por McCready et al. (1950). Alíquotas de 0,1 mL foram colocadas

em tubos de ensaio rosqueados e o volume completado para 1 mL com água destilada. Os tubos foram mantidos em banho de gelo enquanto eram acrescentados 5 mL do reativo de antrona, depois foram tampados e colocados em água fervente por 10 minutos. A reação foi interrompida por meio da imersão em banho de gelo. Após estabilização da cor, procedeu-se a determinação da absorbância no comprimento de onda de 625 nm, em espectrofotômetro marca Micronal, modelo B580.

Para a extração do amido, o resíduo das extrações alcoólicas foi tratado com 10 mL de ácido perclórico 35%, que permaneceu reagindo por 20 minutos e, em seguida foi centrifugado a 2.000 *g*, por 10 minutos. Alíquotas de 0,1 mL foram tomadas e colocadas em tubos de ensaio rosqueados para a quantificação do amido, por reação com antrona (McCready et al., 1950), conforme foi descrito para a quantificação dos açúcares solúveis totais.

4.2.1.3 Nutrientes foliares

Amostras de folhas depois de secas em estufa foram trituradas em moinho para extração e determinação de macro e micronutrientes. As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Solos e Plantas – LASP, da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus-AM.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey e Scott Knott a 5% de significância para comparação de médias através do programa Assistat.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Biometria

As mudas de guaraná utilizadas neste experimento apresentaram diferentes respostas em relação aos parâmetros analisados.

Independente da interação, as rizobactérias não apresentaram efeito benéfico sobre as variáveis, matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz, matéria seca total, diâmetro da raiz e área foliar, apresentando menores médias em relação ao tratamento controle, o que demonstra que as rizobactérias apresentaram efeitos negativos sobre o crescimento da planta (Tabela 1).

Dentre as rizobactérias, *Bacillus* sp. apresentou as maiores médias dentre as variáveis analisadas quando comparada com *Burkholderia ambifaria*, mesmo não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 1). Não houve diferença significativa para o número de raízes.

Tabela 1. Médias da matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST), diâmetro da raiz (DR), prolina (PRO) e área foliar (AF) de mudas de guaranazeiro provenientes de sementes inoculadas com *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*, independentes da cultivar, Manaus-2015.

Tratamentos	MSPA	MSR	MSP	DR	PRO	AF
	g planta ⁻¹			mm	μmol g ⁻¹	cm ²
Controle	1,85 a	0,65 a	2,51 a	3,92 a	4,31 a	14,20 a
<i>Bacillus</i> sp.	1,37 b	0,43 b	1,95 b	3,37 b	3,55 b	12,84 ab
<i>Burkholderia ambifaria</i>	1,34 b	0,42 b	1,85 b	3,32 b	3,52 b	12,43 b
C.V. (%)	11,41	13,43	11,33	11,42	12,20	6,74

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Araújo et al. (2012), ao trabalharem com rizobactérias inoculadas em sementes de *Brachiaria brizantha*, concluíram que a rizobactéria *Bacillus* sp. “6 A”, proporcionou maior produção de matéria seca na parte aérea em relação ao controle, comprovando seu potencial na promoção de crescimento, desta e de outras espécies (ARAÚJO e GUERREIRO, 2010; FIGUEIREDO et al., 2010).

Estirpes de *Burkholderia fungorum* e *Burkholderia ambifaria* promoveram o crescimento do milho cultivado em solo pela solubilização de fosfato de cálcio insolúvel, destacando-se *Burkholderia ambifaria* como de maior potencial para promoção de crescimento (OLIVEIRA, 2011). A inoculação de plantas de cana-de-açúcar com rizobactérias do gênero *Burkholderia ambifaria*, também aumentou a biomassa em 20% (GOVINDARAJAN et al., 2006).

Entretanto, em feijão caupi, o estudo com inoculação de 26 estirpes de bactérias, dentre elas *Bacillus* sp., *Brevibacillus* sp., *Paenibacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Rhizobium* sp. e *Bradyrhizobium* sp., mostrou que a produção de matéria seca da parte aérea, da raiz e total, em nenhuma estirpe, foi semelhante ou superior ao controle (COSTA et al., 2013).

Plantas de milho oriundas de sementes imersas em suspensão bacteriana de *Bacillus megaterium* por 12 horas, também não apresentaram aumento significativo no peso da parte aérea e das raízes (CERIGIOLI, 2005).

Em soja, a inoculação da semente com *Bacillus* sp. e *Methylobacterium* sp. resultou em diminuição da matéria seca da raiz e matéria seca da planta, em comparação com o controle (ASSUMPÇÃO et al., 2009), tais resultados estão de acordo com os encontrados nesta pesquisa para o guaraná.

Peixoto Neto et al. (2002), salientaram que o estresse causado pela interferência no processo de colonização das sementes pelas bactérias podem afetar a emergência, a formação de matéria seca da parte aérea e radicular. Determinadas condições ambientais, como luz, pH, nutrientes, temperatura e concentrações de reguladores de crescimento promovidos pelas bactérias, podem fazer com que endofíticos se tornem patógenos, causando danos à planta, já que não existe um limite claro entre eles (COSTA, 2014).

Em se tratando do diâmetro da raiz, Saharan e Nehra (2011) relataram que a produção de raízes finas aumenta a superfície de absorção, facilitando a aquisição de água e nutrientes.

Entretanto, as mudas de guaraná inoculadas com as bactérias, mesmo tendo raízes de diâmetro menor em relação ao tratamento controle, provavelmente, isso não acarretou em maior absorção de nutrientes e conseqüentemente em melhor desenvolvimento da planta, visto que a matéria seca da parte aérea, radicular e total, não foram maiores em relação ao controle, discordando do autor.

Mesmo que Batista (2013) tenha comprovado a liberação de auxina pelas rizobactérias *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*, outras substâncias com capacidades inibitórias ou deletérias podem ter sido sintetizadas por essas rizobactérias, causando um atraso no desenvolvimento da muda.

Segundo Wilkinson et al. (1994), o balanceamento fisiológico entre auxinas giberelinas e ou citocininas e possíveis substâncias tóxicas produzidas por rizobactérias podem suprimir a germinação. Isto foi verificado na inoculação de rizobactérias em sementes de orquídeas *in vitro*.

Plantas de milho submetidas a inoculação com estirpes do gênero *Sphingomonas*, apresentaram altura inferior, comparada à estirpe do *Azospirillum brasiliense*, havendo diferença significativa para este último. Segundo o autor, esta rizobactéria pode ter interferido em algum estágio de desenvolvimento da planta, podendo ser a interação genótipo da planta e a bactéria, adaptação às condições ambientais, tipo de solo, pH entre outros (PEDRINHO, 2010).

Segundo Hardoim et al. (2008) e Davitt et al. (2011), a relação da colonização do organismo endofítico e a planta hospedeira pode ser influenciada pelo genótipo e pelo estágio de crescimento da planta.

Estas variáveis demonstram o que pode ser chamado de efeito deletério da bactéria em contato com a planta, com reduções na área foliar e conseqüentemente as taxas de fotoassimilados, o que pode ter provocado as referidas respostas nas mudas do guaranazeiro.

Para a variável prolina (Tabela 1), os valores encontrados no tratamento controle foram superiores aos tratamentos com as rizobactérias, o que corresponde a uma boa adaptação das mudas inoculadas com as mesmas, aos estresses bióticos e abióticos. Isto sugere que as plantas dos tratamentos em que foram inoculadas as bactérias, conseguem manter-se estáveis.

Portanto, além dos benefícios conhecidos pela utilização das rizobactérias como, fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato, síntese de sideróforos, controle de fitopatógenos e produção de reguladores de crescimento, a adaptação em situações de estresse é também um fator positivo para sua utilização, comprovados pela baixa produção de prolina mesmo sem indução do estresse.

Com relação à altura, número de folhas, comprimento da raiz, área foliar e prolina, não houve interação entre cultivares e as rizobactérias, no entanto, entre as cultivares, todas essas características foram significativas (Tabela 2).

Tabela 2. Médias da altura (ALT), número de folhas (NF), comprimento da raiz (CR), área foliar (AF) e prolina (PRO) das mudas de duas cultivares de guaranazeiro, independente da inoculação com as bactérias. Manaus-2015.

Cultivar	ALT cm	NF -	CR cm	AF cm ²	PRO μmol g ⁻¹
BRS Amazonas	10,52 b	2,77 a	32,93 a	13,68 a	3,48 b
BRS Maués	11,43 a	2,66 b	23,18 b	12,64 b	4,11 a
C.V. (%)	6,07	3,25	15,11	6,74	12,20

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A cultivar BRS-Amazonas foi superior à BRS-Maués em relação ao número de folha, comprimento da raiz e área foliar, entretanto, apresentou menor teor de prolina e porte mais baixo.

Estudos realizados pela Embrapa (1999) já demonstraram diferenças entre estas cultivares, apresentando os maiores resultados na variável altura para a cultivar BRS-Maués, e o maior número de folhas para BRS-Amazonas.

Em plantas, o acúmulo de prolina está relacionado a estresse hídrico, salino, alta e a baixa temperatura, metais pesados, infecção por patógenos, anaerobiose, deficiência de nutrientes, poluição atmosférica e radiação UV (SARADHI et al., 1995; HARE E CRESS 1997; SIRIPORNADULSIL et al., 2002). Todos esses eventos estão relacionados a fatores que afetam o crescimento radicular e parte aérea das plantas. Se o acúmulo de prolina está baixo em uma cultivar, isto pode ser considerado um fator de melhor adaptabilidade desta cultivar ao meio, tendo um melhor desenvolvimento e crescimento.

Existem características específicas para cada cultivar do guaraná, em relação a adaptação ao meio, resistência a doenças, crescimento, desenvolvimento e produtividade, que permitem a seleção de indivíduos superiores, com maior número de características desejáveis para uso direto pelos produtores ou nos programas de melhoramento genético (NASCIMENTO FILHO et al., 2001). Portanto, a adaptação a níveis de estresse, também são pontos a serem considerados ao se escolher uma cultivar, sendo comprovado que elas se adaptam de forma variada a modificações do ambiente.

Na interação entre as rizobactérias e as cultivares de guaraná, houve diferenças significativas em relação a matéria seca, mas não houve em relação ao comprimento da raiz (Tabela 3).

Tabela 3. Médias da matéria seca da raiz (MSR) e comprimento da raiz (CR) da interação entre as bactérias (*Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*) e as cultivares (BRS Amazonas e BRS Maués) de guaraná, Manaus-2015.

MSR (g planta ⁻¹)			
Cultivares	Bactéria		Controle
	<i>Bacillus spp</i>	<i>Burkholderia ambifaria</i>	
BRS-Amazonas	0,41 aB	0,52 aAB	0,63 aA
BRS-Maués	0,53 aA	0,37 bB	0,67 aA
C.V(%)	13,43		
CR (cm)			
Cultivares	Bactéria		Controle
	<i>Bacillus spp</i>	<i>Burkholderia ambifaria</i>	
BRS-Amazonas	29,62 aA	35,88 aA	33,30 aA
BRS-Maués	26,39 aA	21,48 bA	21,69 bA
C.V (%)	15,11		

Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para a cultivar BRS-Amazonas, o tratamento controle apresentou melhores resultados na matéria seca da raiz, diferindo da bactéria *Bacillus* sp., mas não houve diferença em relação a bactéria *Burkholderia ambifaria*. Entre as bactérias, *Burkholderia ambifaria* aumentou o peso da matéria seca, quando comparado a bactéria *Bacillus* sp.

Para a cultivar BRS-Maués, o tratamento controle não diferiu da bactéria *Bacillus* sp., mas apresentou as maiores médias da matéria seca da raiz em relação a bactéria *Burkholderia ambifaria*, diferindo desta. Entre as bactérias, *Bacillus* sp. apresentou um melhor resultado em relação a *Burkholderia ambifaria*.

Para o comprimento da raiz, não houve diferença entre os tratamentos. A diferença encontrada entre as cultivares na bactéria *Burkholderia ambifaria* e no tratamento controle, provavelmente estejam relacionados a variabilidade genética do guaraná. O mesmo pode ter acontecido na matéria seca da raiz, onde *Burkholderia ambifaria* também apresentou diferenças entre cultivares.

Ferreira (2014) trabalhando com o isolado *Rhizobium* sp. inoculado em cultivares de arroz, apresentou diferença significativa em relação ao tratamento controle para o comprimento de raízes.

Harthmann (2009) avaliando a inoculação de diversas rizobactérias, entre elas a *Bacillus cereus*, inoculadas em sementes de cebola, comprovou a efetividade desta bactéria em promover o crescimento de plantas de cebola quando comparado à testemunha, apresentando maiores médias para todas as variáveis, altura, diâmetro, número de folhas e matéria seca da parte aérea, avaliadas aos 90 DAT.

PROBANZA (1996) demonstra o efeito negativo de *B. subtilis* no comprimento da parte aérea e raízes de pinus (*Pinus taeda* L.). SANTOS et al. (2005) observaram o efeito negativo de diferentes espécies de bactérias endofíticas e epifíticas sobre o desenvolvimento de unidades propagativas de helicônia (*Heliconia psittacorum* L.).

Estes efeitos podem ser explicados pelo fato de que bactérias endofíticas podem estimular o crescimento de plantas em um estágio de desenvolvimento e inibir em outro (STURZ et al. 2000).

Em ensaio de colonização de bactérias em mudas de cafeeiro, Silva et al. (2008) verificaram que a exposição às variações de temperatura e umidade, principalmente, podem ser mais um desafio para as bactérias endófitas colonizarem o filoplano e os tecidos vegetais.

Estudos demonstram que a habilidade de algumas bactérias em produzir substâncias promotoras do crescimento em plantas pode ser altamente específica a certas espécies de plantas, ou até mesmo de cultivares (NOWAK, 1998).

O fato de os tratamentos não terem, em sua maioria, promovido o crescimento de plantas pode ser atribuído a diversos fatores: estresse sofrido pelas sementes durante a debulha; eliminação dos micro-organismos epifíticos; e pequenas variações no balanço da população bacteriana endofítica, que pode ter causado um desequilíbrio nas substâncias benéficas e deletérias, produzidas pelas bactérias (WHIPPS, 2001).

Machado (2000) relata a instabilidade ou a diminuição do potencial de colonização do organismo inoculado à semente, pois, tratando-se de um produto biológico, deve-se

considerar que existem limitações como manutenção das características do agente biológico e instabilidade do antagonista.

Estes resultados podem ser previsíveis uma vez que bactérias que oferecem prejuízos ou benefícios coexistem no mesmo eco nicho (SANTOS et al., 2005). Os resultados obtidos neste trabalho reforçam a ideia de que a promoção de crescimento de plantas é um fenômeno complexo que é alcançado pela atividade simultânea de vários micro-organismos e fatores (LIFSHITZ et al., 1987).

Nehl et al. (1996) atentaram ao fato de que isolados bacterianos individuais podem flutuar de promotores a inibidores de crescimento conforme as condições ambientais, genótipo do hospedeiro e *status* micorrízico.

Nem sempre as rizobactérias podem promover o crescimento de plantas, havendo diversos relatos de inconsistência nos resultados, em que uma rizobactéria ora é benéfica, ora não tem ação sobre o crescimento vegetal (FREITAS, 2003).

Bacillus sp. não apresentou habilidade específica em promover o crescimento de plantas de alface em areia esterilizada (FREITAS, 2003), com isso há de se atentar sobre a influência do substrato utilizado na colonização das bactérias nas raízes.

Os baixos índices de crescimento verificados nas mudas de guaraná em presença dos micro-organismos podem ter sido influenciados pela quantidade e composição dos exsudatos liberados pela planta, interferindo na competência rizosférica destas bactérias. Tais compostos disponibilizados em quantidade e qualidade variada podem selecionar grupos funcionais específicos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

A disponibilidade de AIA exercida pelas bactérias, pode ter retardado o crescimento e o desenvolvimento da planta, causando a diminuição do seu crescimento e consequentemente, seus efeitos deletérios sobre a planta.

As concentrações das substâncias promotoras de crescimento, como a auxina, promovidas pela presença das bactérias na planta, estimulam o seu crescimento desde que esta esteja em baixas concentrações. Em altas concentrações este efeito passa de benéfico para deletério ou tóxico, sugerindo que a inoculação com grande número de células bacterianas viáveis possa causar um efeito deletério ao invés de estimular o crescimento das raízes.

Os níveis de AIA produzidos pelas bactérias dependem do crescimento bacteriano, da atividade metabólica e da expressão de genes que codificam enzimas para a sua biossíntese, o que explicaria parte das variações observadas entre os parâmetros analisados da planta (crescimento em altura, número de folhas e peso seco da parte aérea e raiz) (BISWAS et al., 2000; LAMBRECHT et al., 2000; DOBBELAERE et al., 2002; SOBRAL, 2003; SPAEPEN et al., 2007).

Segundo Tanimoto (2005), os tecidos radiculares são sensíveis a flutuações da concentração de AIA e o desenvolvimento do sistema radicular pode ser afetado por fontes não conhecidas deste regulador de crescimento.

O ajuste da suspensão bacteriana para 10^4 ufc mL⁻¹, pode ser outro fator a se considerar nos resultados, já que não foram realizados estudos preliminares quanto à concentração ótima de rizobactérias para a etapa de inoculação nas sementes de guaraná e no transplante das mudas para os sacos plásticos.

Ahmad et al. (2005), trabalhando com isolados de *Azotobacter* produtores de AIA, observaram um aumento no alongamento radicular de plântulas de *Sesbania aculeata* em concentrações de AIA entre 4,40µg mL⁻¹ e 24,80µg mL⁻¹ e, em plântulas de *Vigna radiata*, entre 4,40µg mL⁻¹ e 14,36µg mL⁻¹. Por sua vez, Barazani e Friedman (1999), constataram que rizobactérias com ação deletéria sobre plântulas de alface excretaram concentrações de AIA em torno de 13,5µg mL⁻¹, enquanto as benéficas excretaram pouco menos de 3µg mL⁻¹.

Batista (2012) analisando a concentração de auxinas das rizobactérias *Burkholderia ambifaria* e *Bacillus* sp., inoculadas em sementes de milho, apresentaram a média de produção de AIA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) em 49,871 e 16,102, respectivamente. Este fato corrobora com os autores que citam a ação deletéria das rizobactérias quando essas excretaram altas concentrações de auxina.

Para Teixeira et al. (2007) o efeito do AIA não depende apenas da quantidade produzida pela bactéria, variando de acordo o genótipo e a idade da planta, o que pode afetar o nível endógeno deste hormônio.

Predaza et al. (2004), relatam que *in vivo* a quantidade de AIA liberada pela bactéria difere da condição *in vitro*, uma vez que sofre influência direta dos exsudatos disponibilizados pela planta, o que poderá interferir numa maior ou menor produção do composto.

Trabalhos utilizando *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria* na promoção de crescimento de plantas de guaraná são inexistentes. Assim, esses resultados são pioneiros com a utilização de micro-organismos na promoção de crescimento de plantas de guaraná, constituindo os primeiros estudos com essas bactérias de forma endofítica.

As rizobactérias tiveram efeitos diferenciados em função das cultivares de guaraná. Isso indica que algumas rizobactérias podem promover o crescimento em uma espécie de planta e serem ineficazes em outras, como foi demonstrado em um estudo na inoculação de rizobactérias em miniestacas de eucalipto (TEIXEIRA, 2007).

Isso possivelmente pode ser explicado pelo fato de que substâncias promotoras de crescimento produzidas por bactérias podem ser altamente específicas a certas espécies de plantas, ou até mesmo de cultivares, como também a diferentes ambientes onde estão inseridos, ou, por sua vez, em decorrência do estresse pelo qual a comunidade possa estar passando devido a alterações ambientais e antropogênicas (JHA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2009; PRAKAMHANG et al., 2009).

A maioria dos trabalhos com RPCPs discutem principalmente o efeito benéfico dessas bactérias, contudo, a ocorrência de efeitos negativos é relatada por alguns autores aqui citados e que também podem estar correlacionadas com a espécie de microrganismo testada e seu hospedeiro.

As rizobactérias são micro-organismos conhecidos por seus benefícios em promoção de crescimento, principalmente da raiz e parte aérea. Por todas as referências utilizadas neste trabalho sobre os seus benefícios, juntamente com os resultados obtidos por Batista (2013), do qual foram selecionadas as rizobactérias, os resultados obtidos não foram os esperados, ou seja, que o maior crescimento fosse observado em plantas cujas sementes tivessem sido inoculadas com as rizobactérias, em relação à testemunha.

5.2 Carboidratos

A inoculação das bactérias aumentou o teor de açúcares solúveis totais da cultivar BRS Amazonas, quando comparado com o tratamento controle, porém não apresentaram diferença entre si. No entanto, para BRS Maués, as bactérias não influenciaram o teor dos açúcares (Figura 1).

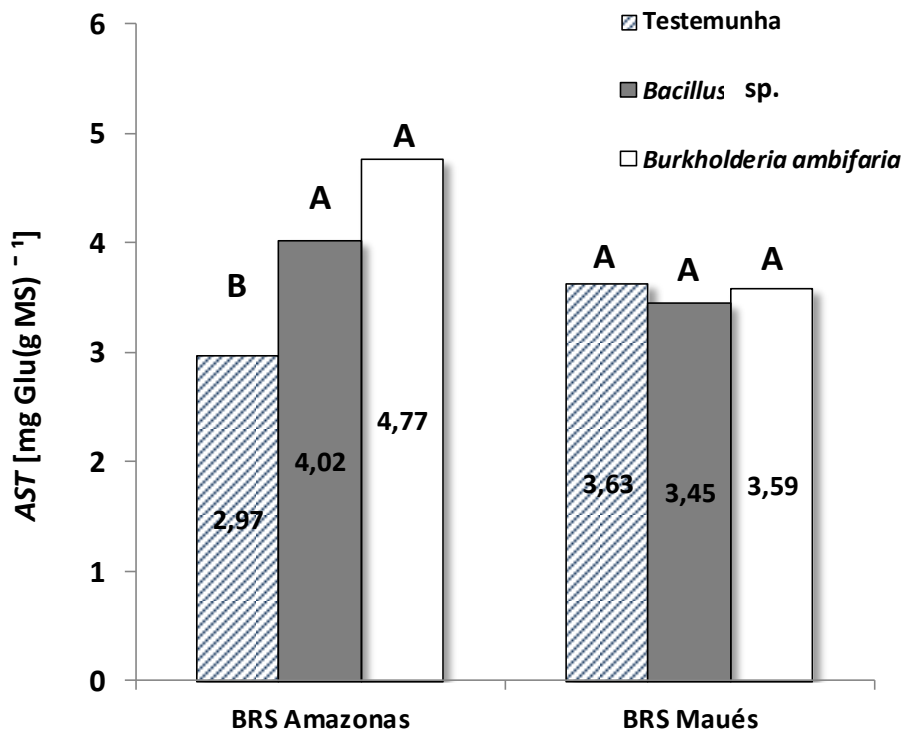


Figura 1. Teores de açúcares solúveis totais (AST) da parte aérea de duas cultivares de guaranazeiro tratadas ou não com rizobactérias *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas entre as concentrações de açúcares solúveis totais dentro do mesmo tratamento bacteriano pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Em genótipos de cana-de-açúcar inoculados com a bactéria *Glucanoacetobacter* também houve aumento dos açúcares solúveis totais quando comparados com os genótipos inoculados com a bactéria *Herbaspirillum* (MARCOS, 2012).

Açúcares solúveis, além de serem fontes de carbono para manutenção e recuperação de crescimento, são também tidos como moléculas osmoticamente ativas, assim como a prolina. O aumento na concentração dessas moléculas é uma estratégia de proteção, já que esses solutos contribuem para ajuste osmótico, estabilização de membranas de estruturas de enzimas e de proteínas (CHAVES, 2002; FAROOQ et al., 2009).

O açúcar em abundância promove o crescimento e o armazenamento de carboidratos nos drenos e quando a taxa de fotossíntese é alta, ocorre o acúmulo de açúcares totais nas folhas (TAIZ e ZEIGER, 2009)

Em relação ao amido, *Burkholderia ambifaria* também se destacou como melhor tratamento, por elevar os teores desse carboidrato em mais de 100%, nas folhas da cultivar BRS Amazonas. Já para a BRS Maués, nenhuma diferença foi encontrada entre os tratamentos (Figura 2).

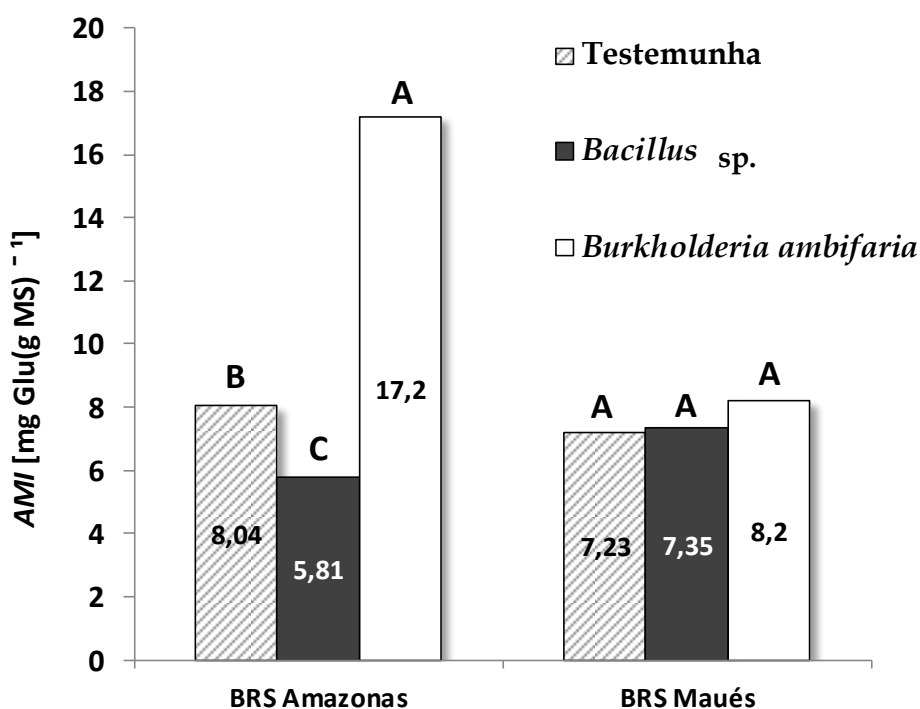


Figura 2. Teores de amido (AMI) da parte aérea de duas cultivares de guaranazeiro tratadas ou não com rizobactérias. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas entre as concentrações de amido dentro do mesmo tratamento bacteriano pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

Barka et al. (2006) mostraram que plantas tratadas com uma estirpe de *Burkholderia phytofirmans* tiveram aumento nos teores de prolina, amido e compostos fenólicos.

Tecidos fotossinteticamente ativos, como folhas maduras consideradas fonte, produzem mais carboidratos do que necessitam para manterem seu metabolismo e crescimento, exportando os fotoassimilados excedentes, na forma de sacarose ou amido. No entanto, as relações fonte-dreno não são estáticas (ROITSCH et al., 2003; LEITE et al., 2009).

Frassetto (2007) afirma que a aplicação de substâncias reguladoras de crescimento, em especial as auxinas em baixas concentrações, melhora a mobilização dos carboidratos em folhas e ramos superiores, aumentando o transporte para as raízes. Entretanto, mesmo com maior disponibilidade de amido nas folhas, principalmente na cultivar BRS Amazonas inoculada com a bactéria *Burkholderia ambifaria*, parece ter havido baixa translocação desses fotoassimilados para as raízes e com isso, baixo incremento no comprimento e matéria seca das mesmas.

Em diversas espécies tem sido demonstrado que a atividade metabólica das raízes é altamente dependente da importação de açúcares e que fatores que afetam a integridade das folhas e/ ou transporte no floema, induzem rápido declínio no metabolismo das raízes, em virtude do decréscimo na disponibilidade de fotoassimilados (SABLIO e PRADET, 1980).

Uma hipótese a ser considerada como resposta a esses dados, pode estar relacionada à relação entre auxina e citocinina, pois mensageiros químicos, como hormônios e nutrientes, são fatores que também controlam a relação fonte/dreno de assimilados (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Quando ocorre uma alta concentração de citocinina em algum órgão da planta, como por exemplo, nas folhas, esta provoca translocação de assimilados para área tratada, indicando que esse fito-hormônio aumenta a força do dreno. Os assimilados na folha fonte são direcionados para os drenos fortes mais próximos, o que significa que as folhas do terço superior direcionam os assimilados para os ápices e folhas novas em desenvolvimento (MARENCO e LOPES, 2009).

Outro fator a ser considerado está na capacidade da citocinina de influenciar o movimento de nutrientes (orgânicos e inorgânicos) de outras partes da planta para as folhas, um fenômeno conhecido como mobilização de nutrientes induzido pelas citocininas, e na

capacidade de promoverem a síntese de proteínas e de carboidratos (CASTRO e VIEIRA, 2001; COLL et al., 2001; DAVIES, 2004).

O crescimento de plantas é muito influenciado pelos reguladores vegetais, podendo estes promover, inibir ou modificar os processos fisiológicos. Em virtude de serem produtos que atuam em concentrações muito baixas, qualquer alteração pode modificar o efeito desejado (CASTRO e VIEIRA, 2003; SEVERINO et al., 2003).

5.3 Nutrientes nas folhas

As RPCPs podem favorecer as plantas, mineralizando e solubilizando nutrientes, deixando-os prontamente disponíveis para as raízes.

Na Tabela 4, são apresentados os resultados médios dos conteúdos de diferentes nutrientes presentes na parte aérea das plantas de guaraná, cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos tratamentos deste estudo. A inoculação com as rizobactérias influenciou o acúmulo dos macronutrientes (N, Mg, Ca, P, K e S), nas folhas de guaraná, porém não houve diferença significativa para os micronutrientes.

Tabela 4. Valores médios dos conteúdos dos macronutrientes (N, Mg, Ca, P, K e S), em g kg⁻¹, presentes na parte aérea das cultivares de guaraná BRS Amazonas e BRS Maués, Manaus – 2015.

Cultivar	Bactéria		
	Controle	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Burkholderia ambifaria</i>
N			
BRS Amazonas	30,49 aB	32,48 aA	32,77 aA
BRS Maués	30,21 aB	32,64 aA	29,78 bB
Mg			
BRS Amazonas	5,73 aB	5,97 aAB	6,17 aA
BRS Maués	4,17 bC	4,99 bA	4,51 bB
Ca			
BRS Amazonas	8,02 aA	7,57 bA	8,01 aA
BRS Maués	7,21 bB	8,45 aA	7,76 aAB
P			
BRS Amazonas	3,06 aC	3,39 aB	3,63 aA
BRS Maués	2,26 bA	2,40 bA	2,36 bA
K			
BRS Amazonas	9,75 aB	9,99 aB	11,39 bA
BRS Maués	10,13 aB	9,70 aB	13,89 aA
S			
BRS Amazonas	3,02 aA	3,08 aA	3,31 aA
BRS Maués	2,79 aA	2,81 aA	2,69 bA

Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O acúmulo de nitrogênio foi superior quando as plantas foram inoculadas com a bactéria *Bacillus* sp., nas duas cultivares, em relação ao controle, porém a inoculação com *Burkholderia ambifaria* aumentou o acúmulo de N apenas nas plantas da cultivar BRS Amazonas, comparada ao controle, mas não diferiu de *Bacillus* sp.

Araújo (2008) verificou um aumento no teor de N em folhas de milho inoculadas com *Bacillus* sp., aumentando o teor de N em aproximadamente 150% quando comparado a testemunha. Bactérias do gênero *Burkholderia* inoculadas em plantas de cana-de-açúcar apresentaram capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, solubilizar fosfato inorgânico e promover o crescimento vegetal (PERIN et al., 2006; MENDES et al., 2007; LUVIZOTTO et al., 2010).

A fixação biológica de nitrogênio por rizobactérias é uma das vantagens da associação entre bactérias e plantas. Na fixação biológica do N, os micro-organismos convertem o nitrogênio atmosférico em amônia, utilizando a enzima nitrogenase. Depois de convertido em amônia, o N pode ser transformado em diversos compostos orgânicos, facilitando sua disponibilização para as plantas (OLIVEIRA, 2009).

Essas bactérias não são capazes de suprir totalmente a demanda de N das plantas somente pela fixação biológica de nitrogênio, porém, podem influenciar fortemente a nutrição nitrogenada das culturas às quais estão associadas, aumentando a capacidade de assimilação de N, indiretamente, com o aumento do sistema radicular, ou diretamente, estimulando o sistema de transporte de N nas plantas (MANTELIN & TOURAINE, 2004). Entretanto, mesmo com o aumento no teor de N, não houve o aumento do sistema radicular, comprovando a associação de forma apenas direta.

No teor de magnésio, *Burkholderia ambifaria* apresentou os melhores resultados em relação tratamento controle, mas não apresentou diferença significativa quando comparada com *Bacillus* sp. na cultivar BRS Amazonas. Na cultivar BRS Maués, *Bacillus* sp. apresentou os melhores resultados em relação ao demais tratamentos, diferindo estatisticamente.

Para a cultivar BRS Amazonas, o teor de cálcio não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, entretanto, para a cultivar BRS Maués, os maiores valores foram obtidos em plantas inoculadas com *Bacillus* sp., em relação ao controle, mas não diferindo da *Burkholderia ambifaria*.

Um aspecto importante diz respeito às raízes das plantas necessitarem de cálcio no próprio ambiente de absorção de água e nutrientes. Isto porque esse elemento não é translocado pelo floema, até as raízes (RAIJ, 1991).

Burkholderia ambifaria apresentou valores superiores em relação aos demais tratamentos no teor de fósforo quando inoculado na cultivar BRS Amazonas, e no teor de potássio para as duas cultivares.

Vários estudos têm examinado a habilidade de diferentes espécies bacterianas em solubilizar compostos de fosfato inorgânico. Entre os gêneros com essa capacidade estão *Bacillus* e *Burkholderia* (RODRÍGUEZ E FRAGA,1999). A capacidade de solubilizar compostos fosfatados é uma característica importante dessas bactérias, visto que o fósforo (P) é o nutriente mais limitante ao crescimento vegetal na maioria dos solos brasileiros, porque a concentração de P livre (forma disponível para as plantas), mesmo em solos férteis, é geralmente baixa (BARROTI e NAHAS, 2000).

O potássio é importante em muitos processos fisiológicos, dentre os quais se destacam a manutenção do turgor celular, regulação da abertura e fechamento dos estômatos, transporte e armazenamento de carboidratos e síntese de proteínas e amido (MALAVOLTA, 2006; TAIZ e ZAIGER, 2009).

Malavolta (2006) menciona que em plantas deficientes de potássio ocorre diminuição no movimento de açúcares nos tecidos, haja visto que a produção do ATP, energia necessária para o transporte de açúcares no floema, é mediada pelo potássio.

O aumento das concentrações de N, P, K, e Mg nas folhas e a redução do comprimento das raízes, sugere um aumento na translocação e concentração desses nutrientes para a folha, em decorrência da redução de crescimento da parte radicular e haja visto a maior demanda destes nutrientes na parte aérea (DIMKPA et al., 2009; PAIXÃO,2012; SANTOS et al. 2014).

Os resultados encontrados na concentração de N e P corroboram com os dados encontrados por Batista (2013), analisando a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e o índice de solubilização de fosfato (ISF) das bactérias que também foram utilizadas neste trabalho,

onde o gênero *Bacillus* sp. apresentou os maiores valores na ISF e um resultado positivo para FBN.

Para os micronutrientes, os teores de boro e ferro apresentaram diferenças entre tratamentos. Os teores de cobre e manganês foram inferiores para as plantas inoculadas com as rizobactérias, havendo diferença para o tratamento controle, e o zinco não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios dos conteúdos dos micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn, Zn), em g.Kg⁻¹, presentes na parte aérea das cultivares de guaraná BRS Amazonas e BRS Maués, Manaus – 2015.

Cultivar	Bactéria		
	Controle	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Burkholderia ambifaria</i>
B			
BRS Amazonas	30,94 bA	30,43 bA	27,53 bB
BRS Maués	36,37 aA	35,85 aA	36,20 aA
Fe			
BRS Amazonas	133,56 aAB	161,49 aA	105,28 aB
BRS Maués	135,57 aA	113,18 bA	126,62 aA
Cu			
BRS Amazonas	10,51 aA	8,58 aB	8,11 aB
BRS Maués	7,78 bA	6,15 bB	6,27 bB
Mn			
BRS Amazonas	55,50 aA	26,50 aB	19,53 aC
BRS Maués	29,03 bA	21,30 bB	15,93 bC
Zn			
BRS Amazonas	38,87 aA	38,55 aA	45,29 bA
BRS Maués	65,44 aA	43,04 aA	115,88 aA

Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para os teores de B e Fe, a bactéria *Bacillus* sp. apresentou maiores valores em comparação a *Burkholderia ambifaria*, mas não diferindo do tratamento controle para BRS Amazonas. Para a cultivar BRS Maués não houve diferença significativa entre os teores desses elementos entre os tratamentos.

Os maiores teores de Cu e Mn foram encontrados no tratamento controle para as duas cultivares. Um dos fatores que podem causar a redução na produção de matéria seca é a deficiência de Cu durante o crescimento vegetativo, isto porque, o Cu faz parte de uma proteína (plastocianina) que em menores teores diminui a fixação de CO₂, de tal modo que o teor de amido e de carboidratos solúveis (especialmente sacarose) é diminuído (KIRKBY e RÖMHELD, 2007).

Até mesmo deficiências leves de Mn afetam a fotossíntese e diminuem a concentração de carboidratos solúveis na planta. As menores concentrações de carboidratos em plantas deficientes em Fe e Mn, como no caso da BRS Maués, também são indicativas da diminuição da atividade fotossintética (KIRKBY e RÖMHELD, 2007).

De acordo com Dey et al. (2004), as interações entre os micro-organismos e os vegetais têm grande importância na transformação, mobilização e solubilização de nutrientes do solo, possibilitando aumento da absorção pelos vegetais.

A adoção de práticas para o melhor aproveitamento dos nutrientes e consequentemente, diminuindo os custos e impactos ambientais, é sempre recomendável. O uso de micro-organismos, se bem manejado, pode se tornar uma solução interessante, benéfica e de baixo impacto ambiental (OLIVEIRA, 2013).

6. CONCLUSÕES

A inoculação das rizobactérias não promoveu aumento no crescimento das mudas de guaranazeiro.

A inoculação das rizobactérias aumentou os teores de carboidratos e nutrientes, e reduziu teor de prolina nas mudas de guaranazeiro.

7. REFERÊNCIAS

- AAGOT, N. et al. An altered *Pseudomonas* diversity is recovered from soil by using nutrient-poor *Pseudomonas*-selective soil extract media. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, n.11, p.5233– 5239, 2001.
- AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Screening of free-living rhizosferic bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research**, Jena, v.163, n.2, p.173-181, 2008.
- AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Produção de indol ácido acético por isolados indígenas de *Azotobacter* e *Pseudomonas* fluorescentes na presença e na ausência de triptofano. **Jornal turco de Biologia**, v. 29, n. 1, p. 29-34, 2005.
- ALBERTINO, S. M. F. **Adubação, níveis crescentes de irradiância nas plantas matrizes e uso do AIB nas estacas para o enraizamento de cultivares de guaranazeiro (*Paullinia cupana*, var. *sorbilis*, (Mart.) Ducke)**. 2011. 109p. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus.
- ALBERTINO, S. M. F. et al. Rooting of guarana cultivar cuttings with fertilization of matrix plants. **Pesq. Agrop. Bras.** v.47, p.1449-1454, 2012.
- ALVES, G. C. **Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* em genótipos de milho**. 2007. 65 p. Dissertação de mestrado em Agronomia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ.
- AMBIENTE BRASIL. **Glossário/b**. Disponível em: <<http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base=./educacao/index.php3e conteudo=./glossario/b.html>>. Acessado em julho de 2014.
- AMORIM, E. P. R.; MELO, I. S. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora parasítica* e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citrus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.24, n.2, p.565-568, 2002.
- ANDREOTE, F. D. **Fatores determinantes na composição da comunidade bacteriana associada às plantas**. 2009. 201p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e agrotecnologia**, v. 2, p. 456-462, 2008.
- ARAUJO, F. F.; GUABERTO, L. M.; DA SILVA, I. F. Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 3, p. 521-527, 2012.
- ARAÚJO, F. F.; GUERREIRO, R. T. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* promotores de crescimento de milho cultivado em solo autoclavado e natural. **Ciências e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 837-844, 2010.

ARAÚJO, J. M.; SILVA, A. C.; AZEVEDO, J. L. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of maize (*Zea mays* L.) **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.43, p.447-451, 2000.

ARAÚJO, W. L. et al. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, v.47, p.229-236, 2001.

ARRUDA, M. R. et al. Enraizamento de estacas herbáceas de clones de guaranazeiro em diferentes substratos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 236-241, 2007 .

ASSUMPÇÃO, L. C. et al. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 503-510, 2009.

AVIS, T. J. et al. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.40, n.7, p.1733–1740, 2008.

AYSHA, O. S. et al. PGPR *Bacillus* species isolated from tomato plant-A comparative study on coconut water enrichment. **International Journal of Bioassays (IJB)**, Nova Delhi, v. 1, n. 11, p. 131-137, 2012.

AZEVEDO, J. L. et al. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 3, p. 40-65, 2000.

BADRI, D. V. et al. Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions. **Current Opinion in Biotechnology**, v.20, p.642-650, 2009.

BALDANI, V. L. D. **Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica**. 1996. 262p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

BARAZANI, O.; FRIEDMAN, J. Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria? **Journal of Chemical Ecology**, v.25, n.10, p.2397-2406, 1999.

BARKA, E. A.; NOWAK, J.; CLÉMENT, C. Enhancement of chilling resistance of inoculated grapevine plantlets with a plant growth-promoting rhizobacterium, *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, p. 7246-7252, 2006.

BARROTI, G.; NAHAS, E. População microbiana total e solubilizadora de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 2043-2050, 2000.

BASHAN Y.; DE-BASHAN L.E. Bacteria/plant growth-promotion. In: Hillel D, editor. **Encyclopedia of soils in the environment**. Oxford, UK: Elsevier. vol. 1, p 103–115, 2005.

BATISTA, B. D. **Promoção de crescimento em milho (*Zea mays* L.) por rizobactérias associadas à cultura do guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)**.2012. 89 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)- Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz- ESALQ, Piracicaba.

BENEDUZI, A. et al. Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen-fixing bacilli isolated from rice fields in South Brazil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.3, n.3, p.311-320, 2008.

BERTRAND, H. et al. Isolation and identification of the most efficient plant growth promoting bacteria associated with canola (*Brassica napus*). **Biology and Fertility Soils**, v.33, p.142-156, 2001.

BISWAS et al. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of Lowland rice. **Soil Scientific Society American**. v. 64, p. 1644-1650, 2000.

BONATELLI, M. L. **Bactérias endofíticas e epifíticas cultivadas e não cultivadas do guaranazeiro e o controle da antracnose**. 2012. 83 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”- ESALQ-USP, Piracicaba.

BLOEMBERG, G. V.; LUGTENBERG, B. J. J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrole by rhizobacteria. **Plant Biology**, v.4, p.343-350,2001.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos** v. 61, 255p. 1972.

BURGER, L.M.; RICHTER, H. G. Anatomia da madeira. São Paulo: Nobel, 1991. 154p.

CABALLERO-MELLADO, J. et al. *Burkholderia unamae* sp. nov., a N₂-fixing rhizospheric and endophytic species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 1165-1172, 2004.

CAMPOS, M. P. O. et al. Guarana (*Paullinia cupana*) improves Fatigue in Breast Cancer Patients Undergoing Systemic Chemotherapy. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**,v. 17, p.505-512, 2011.

CASSÁN, F. D. et al. *Azospirillum* spp. metabolize [17,17-2H₂] gibberellin A₂₀ to [17,17-2H₂] gibberellin A₁ *in vivo* in dry ice mutant seedlings. **Plant Cell Physiology**, v.42, p.763-767, 2001.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. Aplicação de Reguladores Vegetais na Agricultura Tropical. Guaíba: Agropecuária. 1 ed. 2001, 131p.

CATTELAN, A. J. **Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal**. Londrina: Embrapa Soja, 36p. (Embrapa Soja. Documentos, 139), 1999.

CATTELAN, A. J.; GRASSANO, A. Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculante, estirpes e outras tecnologias relacionadas a bactérias promotoras do crescimento vegetal. In.: CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. **Anais da XIII reunião da rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbianos de interesse agrícola (RELARE)**. Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSO, p.154-173, 2007.

CERIGIOLI, M. M. **Diversidade de bactérias endofíticas de raízes de milho (*Zea Mays* L.) e potencial para promoção de crescimento**. 2005. 132 p .Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP.

CHANWAY, C. P. et al. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **Forest Ecology and Management**, v.133, p.81-88, 2000.

CHAVES M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v.42, p.1-16, 1991.

COLL, J.B. et al. **Fisiologia vegetal**. Madrid: Ediciones Piramide, 2001. 662p.

COMPANT, S.; CLÉMENT, S.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanism involved and prospects for utilization. **Soil Biology e Biochemistry**, v.30, p 660-678, 2010.

CONAB – Companhia nacional de abastecimento, **Guaraná**, 2006. Acesso em 5 de maio.2014. Disponível em www.conab.gov.br.

CORRÊA, M. P. F. **Caracteres quantitativos e qualitativos para descrição morfológica do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke)**. 1989. 186 p. Tese (Dooutorado em Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Fundação Universidade do Amazonas, Manaus-AM.

COSTA, E. M. et al. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 9, p. 1275-1284, 2013.

COSTA, F. S. S. ***Bacillus thuringiensis* como endofítico em algodão: avaliação na promoção de crescimento e controle de *Spodoptera frugiperda***. 2014. 99 p. Dissertação de Mestrado. : Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília. Brasília.

CRAVO, M. S. DA. Programa de pesquisa com a cultura do guaraná da Embrapa Amazônia Ocidental. In: **Reunião Técnica da cultura do guaraná**, Manaus, 2000. Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos. p. 16-42, 2001.

DAKORA, F. D.; PHILLIPS, D. A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low nutrient environments. **Plant and Soil**, v.245, p.35-47, 2002.

DANHORN, T.; FUQUA, C. Biofilm formation by plant-associated bacteria. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 61, p. 401-422, 2007.

DAVIES, P. J. **Plant hormones and their roles in plant growth and development**. / Editor P. J. Davies. – New York, 2004, 614p.

DAVITT, A. J.; CHEN, C.; RUDGERS, J. A. Understanding context-dependency in plant-microbes symbiosis: The influence of abiotic and biotic contexts on host fitness and the rate of symbiont transmission. **Enviromental and Experimental Botany**, v. 71, p. 137-145, 2011.

DEY, R. et al. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiological Research, Gujarat**, v. 159, n. 4, p. 371-394, 2004.

DIMKPA, C. et at. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant Cell Environment**, Logan, v. 32, n. 12, p. 1682-1694, 2009.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Washington, v. 22, n. 2, p. 107 - 149, 2003.

DOP, P.; GAUTIÉ, A. **Manuel technique** 2. ed. Paris, J. Lamane. Duke, 1928.

EL-KHAWAS, H.; ADACHI, K. Identification and quantification of auxins in culture media of *Azospirillum* and *Klebsiella* and their effect on rice roots. **Biology and Fertility of Soils**. v.28, p.377-381, 1999.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Embrapa Amazônia Ocidental. Guaraná: BRS-Amazonas e BRS- Maués - Clones para o estado do Amazonas. Manaus, 2 p, 1999.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Embrapa Amazônia Ocidental. Sistema de produção para o guaraná. **Documentos**, 13. Manaus, 4ª ed., 40 p, 2005.

FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa, p.221, 2005.

FAROOQ, M. et al. Plant drought stress effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, p.185-212, 2009.

FERREIRA, E. P. B.; KNUPP, A. M.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. Crescimento de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 655-665, May/June, 2014.

FIGUEIREDO, M. V. B. et al. Rizobactérias promotoras do crescimento: fundamentos e aplicações. In: **O crescimento das plantas e bactérias promotoras de saúde**. Springer Berlin Heidelberg. p. 21-43. 2011.

FRASSETTO, E. G. **Enraizamento adventício de estacas de *Sebastiania schottiana* Müll. Arg.** 2007. 115 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria.

FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; DONZELI, V. P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 1, p. 61-70, 2003.

FRIDLENDER, M., INBAR, J., CHET, I. Biological control of soilborne plant pathogens by a β -1,3-glucanase producing *Pseudomonas cepacia*. **Soil and Biology Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 1211-221, 1993.

GARBEVA, P.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D, Predominant *Bacillus* spp. In agricultural soil under different management regimes detected via PCR-DGGE. **Microbial Ecology**, New York, v.45, n.2, p.302–316. 2003.

GOVINDARAJAN, M.; KWON, S. W.; WEON, H. Y. Isolation, molecular characterization and growth-promoting activities of endophytic sugarcane diazotroph *Klebsiella* sp. GR9. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 23, p. 997-1006, 2007.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDEL, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or

Trichoderma atroviride: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.39, n.8, p.1968–1977, 2007.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology e Biochemistry**, Elmsford, n. 37, p. 395 - 412, 2005.

GUERRITS, P. O. **The application of glycolmethacrylate in histiotechnology**: some fundamental principles. Gröningen, Netherlands: Department of Anatomy and Embriology. 1991. 80p.

GUTIÉRREZ-MAÑERO, F. J. et al. The influence of native rhizobacteria on European alder (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) growth. II. Characterization and biological assays of metabolites from growth promoting and growth inhibiting bacteria. **Plant and Soil**, The Hague, n. 182, p. 67-74. 1996.

HALMANN, J. et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p. 895-914, 1997.

HALMANN, J.; RODRIGUES-KABANA, R.; KLOEPPER, J. W. Chitin mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, p. 551-560, 1999.

HARDOIM, P. R.; OVERBEEK, L. S.; ELSAS, J. D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v.16, p. 463-471, 2008.

HARTHMANN, O. E. L. et al. Tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola. **Ciência Rural**, v.39, n.9, dez, 2009.

HARTUNG, W.; SLOVIK, S. Physicochemical properties of plant growth regulators and plant tissues determine their distribution and redistribution: stomatal regulation by abscisic acid in leaves. **New Phytologist**, v. 119, p. 361-382, 1991.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola** – LSPA. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 24, p. 82, 2011.

IPNI. 2012. **The International Plant Names Index**. www.ipni.org/ipni/simplePlantNameSearch.do?jsessionid=8F908F948C39E46BA6D4B256B812DF42?find_wholeName=Paullinia+cupana+eoutput_format=normalequery_type=by_queryeback_page=query_ipni.html. Consultado em 06 de maio de 2014.

JHA, B. et al. Isolation, partial identification and application of diazotrophic rhizobacteria from traditional Indian rice cultivars. **Europe Journal Soil Biology**., v.45, p. 62-72, 2009.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book. 1940

KLIEWER, W. M. Grapevine physiology: how does a grapevine make sugar? Berkeley: University of California, 1981. 13p.

KLOEPPER, J.W. et al. Plant growth promotion by bacterial rhizosphere colonizers. In: KEISTER, D.L.; CREGAN, P.B. (Eds.) **The rhizosphere and plant growth**. Dordrecht : Kluwer Academic Publishing, p. 315-326. 1991.

KOENING, R. L.; MORRIS, R. O.; POLACCO, J. C. tRNA is the source of lowlevel trans-zeatin production in *Methylobacterium* spp. **Applied Environmental Microbiology**, v.184, p.1832-1842, 2002.

KUSS, A.V. et al. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético *in vitro* por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p. 1459-1465, 2007.

LAMBRECHT, M. et al. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, v.8, p.298-Amazonas, 2000.

LEBUHN, M; HARTMANN, A. Method for the determination of indole-3-acetic acid and related compounds of L-tryptophan catabolism in soils. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.629, p.255-266, 1993.

LEITE, G. H. P.; CRUSCIOL, C.A.C.; LIMA, G.P.P.; SILVA, M.A. Reguladores vegetais e atividades de invertases em cana-de-açúcar em meio de safra. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.3, p.718-725, maio/jun. 2009.

LIFSHITZ, R. et al. Growth promotion of canola (rape-seed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, v.33, p.390-395, 1987.

LIMA, W.P. et al. Lipid metabolism in trained rats: Effect of guarana (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation. **Clinical Nutrition**, v.24, p. 1019-1028, 2005.

LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**. v.63, p.541-556, 2009.

LUVIZOTTO, D. M. **Caracterização fisiológica e molecular de *Burkholderia* spp. associada às raízes de cana-de-açúcar**. 2008. 94p. Dissertação de mestrado em Microbiologia Agrícola – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo: RAPP, v. 4, p. 1-49, 1996.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. Histological and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Canadian Journal of Botany**. v.52:p.2423-2426. 1974

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138p.

MAFIA, R. G. et al. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de eucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.29, p.843-851. 2005.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo. Ceres. 2006. 638 p.

MANICA, I. et al. **Frutas Anonáceas (ata ou pinha, atemólia, cherimólia e graviola)**. Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003, 596 p.

MANTELIN, S.; TOURAINE, B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 27-34, 2004.

MARCOS, F. C.C. **Influência de bactérias endofíticas na fisiologia de plantas de cana-de-açúcar sobre restrição hídrica**. 2012. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas- IAC, Campinas, 2012.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Editora UFV, 2009.

MENDES, R.; AZEVEDO, J.L. Valor biotecnológico de fungos endofíticos isolados de plantas de interesse econômico. In: COATA-MAIA, L; MALOSSO, E.; YANO-MELO, A.M. (Org.). **Micologia: avanços no conhecimento**. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia, v. 1, p. 129-140, 2007.

MOREIRA, F. M. DE S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. v. 1. 729 p.

MORGAN, J. A. W.; BENDING, G. D.; WHITE, P. J. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**. v. 56, n. 417, p.1729-1739, 2005.

NANDAKUMAR, R. et al. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology and Biochemistry**, v.33,p.603 -612, 2001.

NASCIMENTO FILHO, F. J. **Interação genótipos x ambientes, adaptabilidade, estabilidade e repetibilidade em clones de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke)**. 2003. 199 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NASCIMENTO FILHO, F. J.; ATROCH, A. L.; CRUZ, C. D. Adaptabilidade e estabilidade de clones de guaraná. **Pesq. Agropec. Bras., Brasília**, v. 44, n. 9, p. 1138-1144, 2009.

NASCIMENTO FILHO, F. J.; ATROCH, A. L.; REGAZZI, A. J. Avaliação de características de mudas de clones de guaranazeiro utilizando análise de fatores. **Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 54, n. 2, p. 107-112, 2012.

NEHL, D. B.; ALLEN, S. J.; BROWN, J. F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.5, p.1-20, 1996.

NOWAK, J. Review benefits of *in vitro* "biotization" of plant tissue cultures with microbial inoculants. **In vitro Cellular and Developmental Biology of Plant**. Largo, v.34, n.2, p.122-130, 1998.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell-walls by toluidine blue O. **Protoplasma** 59:368-373. 1964.

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

OLIVEIRA, A. L. M. et al. Colonization of sugarcane plantlets by mixed inoculations with diazotrophic bacteria. **European Journal Soil Biology**, 45:106-113, 2009.

OLIVEIRA, P. G. **Avaliação do inoculação de micro-organismos benéficos em porta-enxertos de citros**. 2013. 69 p. Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical – Instituto Agrônomo de Campinas, IAC, Campinas- SP.

OLIVEIRA, S. M. **Rizobactérias promovem o crescimento de feijoeiro-comum e de milho por diferentes processos**. 2011. 103 p. Tese (Doutorado) em Microbiologia Agrícola. Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG.

OLIVEIRA, Z. M. **Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal isoladas de cana-de-açúcar sob biofertilização orgânica e/ou convencional**. 2009. 164p. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas-USP, São Paulo.

OWEN, A; ZDOR, R. Effect of cyanogenic rhizobacteria on the growth of velvet leaf (*Abutilon theophrasti*) and corn (*Zea mays*) in autoclaved soil and the influence of supplemental glycine. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 33, p. 801- 809, 2001.

PAIXÃO, C. L. **Aspecto fisiológico e bioquímico de genótipos de girassol sob estresse hídrico**. 2012. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) -Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA.

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

PEDRAZA, R. O. et al. Aromatic amino acid aminotransferase activity and índole-3-acetic production by associative nitrogen-fixing bacteria. **Microbiology Letters**, v.233, p. 15-21, 2004.

PEDRINHO, E. A. N. et al. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p. 905-911, 2010.

PEDRINHO, E. A. N., **Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (*Zea mays*)**. 2009. 74p. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP), Jaboticabal, 2009.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Micro-organismos endofíticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 29, p. 62-77, 2002.

PEREIRA J. C. R. **Pesquisa com Guaranazeiro na Embrapa Amazônia Ocidental: status atual e perspectivas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2007. p. 244-250.

PIDELLO, A. The effect of *Pseudomonas fluorescens* strains varying in pyoverdine production of the soil redox status. **Plant and Soil**, v.253, p.373-379, 2003.

POLO, S.H.O. **Estrutura e desenvolvimento de sementes de Paullinia L. (Sapindaceae)**. 2006. 118 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas – SP.

PRAKAMHANG, J. et al. The communities of endophytic diazotrophic bacteria in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). **Applied Soil Ecology**, v.42, p.141-149, 2009.

PROBANZA, A. et al. The influence of native rhizobacteria on European alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) growth. 1. Characterization of growth promoting and growth inhibiting bacterial strains. **Plant and Soil**, v.182, p.59-66, 1996.

RAAIJMAKERS, J.M.; WELLER, D.M.; THOMASHOW, L.S. Frequency of Antibiotic-Producing *Pseudomonas* spp. in Natural Environments. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, n. 3, p. 881-887, 1997.

RAIJ, B.V. **Fertilidade do solo e adubação**. Agronômica Ceres, São Paulo. 1991, 343 p.

RAMAMOORTHY, V. et al. Induction of systemic resistance by plant growth Promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, p.1-11, 2001.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Regulando o crescimento e o desenvolvimento: os hormônios vegetais. In: RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. (Eds.). **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.28, p.646-675, 2001.

REITER, B. et al. Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* sbsp. *atropptica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.2261-2268, 2002.

RENA, A. B.; MASCIOTTI, G. Z. The effect of dehydration on nitrogen metabolism and growth of bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v.23, p. 288-301, 1976.

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

ROITSCH, T. et al. Extracellular invertases: metabolic enzyme and metabolic protein. *Journal of Experimental Botany*, Lancaster, v.54, n.382, p. 513-524, 2003.

ROMEIRO, R. S.; BATISTA, U. G. Preliminary results on PGPR research at the Universidade Federal de Viçosa, Brasil. <http://www.ufv.br/dfp/bac/Cordoba.html>. Acessado em julho de 2014.

ROSCH, C., MERGEL, A., BOTHE, H. Biodiversity of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in an acid forest soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.68, n.8, p.3818-3829, 2002.

ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **The American Phytopathological Society**. v.19, n.8, p.827-837, 2006.

SABLIO, P.H. & PRADET, A. Soluble sugars, respiration and energy change during aging of excised maize roots. *Plant Physiology*, v. 66, p. 516-519, 1980.

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. **Life Sciences and Medicine Research**, v.11, p.1-30, 2011.

SALEEM, M. et al. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology**, v.34, p.635-648, 2007.

SALLES, J. F. et al. Mudanças na gestão agrícola conduzir a diversidade de espécies de *Burkholderia* isoladas do solo em PCAT médio. **Biologia e Bioquímica do Solo**, v. 38, n. 4, p. 661-673, 2006.

SANTOS, J. D. A. **Guaraná: Proposta de Preço Mínimo**, CONAB p. 165-171, 2007.

SANTOS, M. et al. Bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento de *Heliconia psittacorum* Lf. **Hoehnea**, v. 32, 2005.

SARADHI, P. et al. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV induced peroxidation. **Biochem Biophys Res Commun**, v.209, p.1-5, 1995.

SCHIMPL, F. C. **Teores de metilxantinas e metabolismo de cafeína em frutos de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* Kunth)**, 2013, 72 p. Dissertação (Mestrado em Biologia vegetal) – Universidade de Campinas, Campinas, 2013.

SCHLINDWEIN, G. et al. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, 2008.

SCHULZ, B.; BOYLE, C. **What are endophytes?** IN: Microbial Root Endophytes. Soil Biology. Springer, v. 9, p.1-13, 2006.

SEBRAE (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas). **Informações de Mercado sobre Guaraná**. Manual Operacional, 2005. 56 p.

SESSITSCH, A.; REITER, B.; BERG, G. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant growth-promoting and antagonistic abilities. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, p. 239-249, 2004.

SEVERINO, L. S. et al. Aplicação de Regulador de Crescimento em Sementes de Algodão, Amendoim, Gergelin e Mamona. Embrapa Algodão (Campina Grande, PB) Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, novembro, 2003.

SILVA, H. et al. Bactérias endófitas fazer cafeeiro e a indução de enzimas relacionadas com o controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*). **Trop. planta pathol.**, Brasília, v. 33, n. 1, fevereiro de 2008.

SILVEIRA, A. P. D. et al. Interações de micorrizas arbusculares e rizobactérias promotoras do crescimento em plantas de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.19, p.205-211, 1995.

SIRIPORNADULSIL, S. et al. Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. **Plant Cell**, v.14, p.2837-2847, 2002.

SOBRAL, J. K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endófitos planta**. 2003. 137p. Tese de Doutorado - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba.

SOLANO, B. R., BARRIUSO, J. GUTIÉRREZ-MAÑERO, F.J. Physiological and molecular mechanisms of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). In: AHMAD, I.;PICHTTEL, J.; HAYAT, S. **Plant-Bacteria Interactions** - strategies and techniques to promote plant growth. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH e Co., p.41-54, 2008.

SOUZA, A. G .C. et al. **Fruteiras da Amazônia**. Embrapa - SPI/Embrapa – CPAA, Brasília. (Biblioteca Botânica Brasileira, 1),p.204, 1996.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Review**, v.31, p.425-448, 2007.

STROBEL, G et al. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**, Ohio, v. 67, p. 257-268, 2004.

STURZ, A. V. et al. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. *Biology and Fertility of Soils*, v.25, n.10, p 13-19. 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3ª Ed. Porto Alegre: Guanabara Koogan, 2004. 460 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Artmed, 4ª Porto Alegre. 2009.379p.

TANIMOTO, E. Regulation of root growth by plant hormones — roles for auxin and gibberellin. **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v.24, p.249–265, 2005.

TEIXEIRA, D. A. et al. Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.38, p.118-123,2007.

TRAN VAN, V.; GILLIS, M. Isolation from the rice rhizosphere of a new nitrogen fixing Proteobacteria, belonging to the genus *Burkholderia*. In: HEGAZI, N.A.; FAYEZ, M.; MONIB, M., ed. *Nitrogen fixation with non-legumes*. Cairo: American University in Cairo Press, p.299-309, 1994.

TSAVKELOVA, E. A. et al. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**. v.42,n.2, p. 117-126, 2006.

VERMA, S. C.; LADHA, J. K.; TRIPATHI, A. K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of Biotechnology**. v.91, p.127-141, 2001.

VESSEY, J. K. Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**,The Hague, v.255, p.571-586, 2003.

WHIPPS,J. M.; SKENE,K. R.; JONES,H. G. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Roots: from gene to ecosystem*. **Journal of Experimental Botany**, v.52, p.487-511,2001.

WILKINSON, K. et al. Effect of IAA on symbiotic germination of an Australian orchid and its production by orchid associated bacteria. **Plant and Soil**, The Hague, v.159, p.291–295, 1994.

YABBUCHI, E.; KOSAKO, Y. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes, 1981) com. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v.36, p.1251-1275, 1992.

ZAKHAROVA E. A. et al. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*. **European Journal Biochemistry**, Berlin, v. 259, p. 572- 576, 1999.

ZINNIEL, D. K. et al. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.2198-2208, 2002.