

**Diversidade de Bactérias Endofíticas
na Cultura da Mandioca**



República Federativa do Brasil

Luis Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa

Conselho de Administração

Luís Carlos Guedes Pinto

Presidente

Sílvio Crestana

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Cláudia Assunção dos Santos Viegas

Ernesto Paterniani

Hélio Tollini

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Sílvio Crestana

Diretor-Presidente

José Geraldo Eugênio de França

Kepler Euclides Filho

Tatiana Deane de Abreu Sá

Diretores-Executivos

Embrapa Meio Ambiente

Paulo Choji Kitamura

Chefe Geral

Ladislau Araújo Skorupa

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Cristina Martins Cruz

Chefe-Adjunto de Administração

Ariovaldo Luchiari Junior

Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios

Embrapa

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1516-4675

Outubro, 2005

Boletim de Pesquisa 33 e Desenvolvimento

Diversidade de Bactérias Endofíticas na Cultura da Mandioca

Manoel Araújo Teixeira
Itamar Soares de Melo
Rosana Faria Vieira

Jaguariúna, SP
2005

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP 340 - Km 127,5 - Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 - Cep.13820-000, Jaguariúna, SP
Fone: (19) 3867-8750
Fax: (19) 3867-8740
www.cnpma.embrapa.br
sac@cnpma.embrapa.br

Comitê de Editoração da Unidade

Presidente: Ladislau Araújo Skorupa
Secretário-Executivo: Sandro Freitas Nunes
Bibliotecário: Maria Amélia de Toledo Leme
Membros: Cláudio César de Almeida Buschinelli; Heloisa Ferreira Filizola;
Manoel Dornelas de Souza; Maria Conceição Peres Young Pessoa; Marta
Camargo de Assis; Osvaldo Machado R. Cabral
Normalização Bibliográfica: Maria Amélia de Toledo Leme
Editoração eletrônica: Silvana Cristina Teixeira

1ª edição**Todos os direitos reservados.**

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

Teixeira, Manoel Araújo
Diversidade de bactérias endofíticas na cultura da mandioca /
Manoel Araújo Teixeira, Itamar Soares de Melo, Rosana Faria
Vieira. – Jaguariúna : Embrapa meio Ambiente, 2005.
22p. – (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e
Desenvolvimento, 33)

1. Bactérias endofíticas. 2. Mandioca. I. Melo, Itamar Soares
e. II. Vieira, Rosana Faria. III. Título. IV. Série.

CDD 632.32

©Embrapa 2005

Sumário

Resumo.....	6
Abstract.....	7
Introdução.....	8
Material e Métodos.....	9
Resultados e Discussão.....	10
Conclusões.....	18
Referências Bibliográficas.....	18

Diversidade de Bactérias Endofíticas na Cultura da Mandioca

*Manoel Araujo Teixeira*¹

*Itamar Soares de Melo*²

*Rosana Faria Vieira*³

Resumo

A diversidade de bactérias endofíticas na cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) foi avaliada em plantas coletadas em plantios comerciais no estado de São Paulo e em etnovariedades coletadas em aldeias indígenas e pequenos agricultores nos estados do Amazonas e Bahia. A identificação das bactérias foi realizada pela análise do perfil dos ácidos graxos (FAME). Nos três estados foram identificadas 48 espécies bacterianas pertencentes a 27 gêneros, sendo que os mais freqüentemente isolados foram: *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Stenotrophomonas*. O gênero *Bacillus* foi encontrado com maior freqüência em todas as regiões amostradas e o maior número de espécies deste gênero foi encontrado no estado de São Paulo. No estado do Amazonas, à exceção do *B. pumilus*, e na Bahia, à exceção do *B. atropheus*, todas as espécies de *Bacillus* encontradas foram pertencentes ao grupo do *B. cereus*. Nas plantas dos estados do Amazonas e da Bahia foram encontradas espécies bacterianas endofíticas pertencentes aos três grupos bacterianos, ou seja, Proteobacteria, Firmicute e Actinobacteria; o mesmo não foi observado para o estado de São Paulo, onde não foram isoladas bactérias do grupo Actinobacteria. O número de gêneros bacterianos encontrados, associados a 11 diferentes famílias, no estado do Amazonas, demonstra a maior diversidade de bactérias endofíticas nas plantas provenientes deste estado.

¹ Biólogo, Doutor em Biotecnologia, Universidade do Vale do Sapucaí, Av. Prefeito Tuany Toledo, 470, Fátima I, Caixa Postal 213, 37.550-00, Pouso Alegre, MG. teixeira@cnpma.embrapa.br

² Engenheiro Agrônomo, Doutor em Genética, Núcleo de Microbiologia Ambiental, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5, Tanquinho Velho, Caixa Postal 69, 13.820-000, Jaguariúna, SP. itamar@cnpma.embrapa.br

³ Engenheira Agrônoma, Doutora em Solos e Nutrição de Plantas, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5, Tanquinho Velho, Caixa Postal 69, 13.820-000 Jaguariúna, SP. rosana@cnpma.embrapa.br

Diversity of Endophytic Bacteria in Cassava

Abstract

Diversity of endophytic bacteria in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) was evaluated in plants collected from commercial plantings in the State of São Paulo and in ethnovarieties collected from Indian villages in the states of Amazonas and Bahia. Bacteria identification was performed by the fatty acids extraction method (FAME). In the three states, 48 bacterial species were identified belonging to 27 genera, and the most frequently isolated genera were: *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Serratia*, and *Stenotrophomonas*. The genus *Bacillus* was the most frequently found in all sampled regions, and the largest number of species in this genus was found in the State of São Paulo. In Amazonas, except for *B. pumilus*, and in Bahia, except for *B. atropheus*, all *Bacillus* species found belonged to the *B. cereus* group. Endophytic bacterial species were found in the states of Amazonas and Bahia belonging to the three bacterial groups, i.e., Proteobacteria, Firmicute, and Actinobacteria; the same was not observed to São Paulo state where was not isolated bacteria from Actinobacteria group. The number of bacterial genera found, associated with 11 different families in the State of Amazonas, demonstrates the higher diversity of endophytic bacteria in plants that came from that state.

Introdução

A presença de bactérias endofíticas em tecidos de plantas saudáveis tem sido relatada para muitas espécies cultivadas, em diferentes estágios de crescimento. As comunidades endofíticas variam espacialmente na planta (Fisher et al., 1992) ou podem ser dependentes da interação com outras bactérias endofíticas ou patogênicas (Quadt-Hallmann et al., 1997).

Os gêneros mais comumente isolados incluem: *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas* (Hallmann et al., 1997). Em plantas de citrus cultivadas no estado de São Paulo e Minas Gerais, Araújo et al. (2002) isolaram as seguintes espécies: *Alcaligenes* sp., *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Burkholderia cepacia*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Methylobacterium* spp, *Nocardia* sp., *Pantoea agglomerans*, *Streptomyces* sp. e *Xanthomonas campestris*. *Pantoea agglomerans* juntamente com a espécie bacteriana *Sphingomonas sanguinis* foram isoladas como endofíticas em batata doce no Japão (Adachi et al., 2002). Zinniel et al. (2002) identificaram pela primeira vez a natureza endofítica da *Microbacterium testaceum* em várias plantas hospedeiras. Krechel et al. (2002) encontraram que em batata (*Solanum tuberosum* cv. Cilena) os endófitos bacterianos, *Pantoea agglomerans* e *Stenotrophomonas maltophilia*, as quais pertencem ao subgrupo das γ -Proteobacteria, foram as espécies isoladas com maior frequência. *Pantoea agglomerans* é também citada como bactéria endofítica de milho e outras espécies de plantas (Quadt-Hallmann et al., 1997), enquanto *S. maltophilia* é um colonizador endofítico comum de batata (Garbeva et al., 2001).

Vários são os exemplos da aplicação de bactérias endofíticas na produção agrícola. Elas aumentam o crescimento do trigo por meio da produção de fitohormônios (Barbieri et al., 1986), aumentam a produção de arroz por meio do aumento da disponibilidade de minerais (Murty & Ladha, 1988), aumentam a resistência de plantas de algodão às doenças (Chen et al., 1995), contribuem no manejo de pragas do milho (Fahey et al., 1991), fixam nitrogênio no arroz e trigo (Webster et al., 1997) e aumentam a formação de tubérculos de batata em condições de estresse de calor (Bensalim et al., 1998). Ambientalmente, o uso de endófitos específicos pode ser preferível ao uso de fertilizantes químicos e aos de pesticidas, não somente devido ao menor custo, mas por contribuir com um sistema agrícola sustentável. Zinniel et al. (2002) sugeriram que as bactérias endofíticas poderão ser utilizadas, futuramente, como produtoras de enzimas degradativas, para controlar certas doenças de plantas ou decompor produtos úteis. No início dos anos 80, Webber (1981) foi um dos primeiros pesquisadores a relatar a importância de microrganismos endofíticos na proteção de plantas contra doenças. Posteriormente, outros benefícios foram descobertos.

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) pertencente à família Euphorbiaceae é uma importante cultura tropical e constitui-se na principal fonte de calorias para mais de 500 milhões de pessoas na África e América do Sul (Costa et al., 2003). Em alguns locais do Brasil, como no estado do Amazonas e Bahia, etnovarietades de mandioca são mantidas por

tribos indígenas, para produção de subsistência. Por outro lado, no estado de São Paulo, as mandiocas produzidas com fins comerciais são resultantes da seleção de genótipos de maior importância agrônômica e são cultivadas em um sistema intensivo (Alves et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade de bactérias endofíticas nos tecidos de plantas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) coletadas de áreas comerciais no estado de São Paulo e de etnovarietades provenientes dos estados do Amazonas e Bahia.

Material e Métodos

Foram coletadas variedades comerciais de mandioca, no estado de São Paulo, e etnovarietades mantidas por pequenos agricultores e tribos indígenas nos estados do Amazonas e Bahia. As plantas foram mantidas em caixas de isopor com gelo e transportadas para o laboratório onde se procedeu ao isolamento dos microrganismos endofíticos.

No estado de São Paulo as coletas foram realizadas em áreas consideradas importantes para a produção da mandioca, como Mogi Mirim, Araras e Iêpe, (dados fornecidos pelos técnicos da CATI, Campinas). Nos dois primeiros municípios as plantas se destinam ao consumo humano, enquanto que no terceiro a finalidade de produção é a industrialização. As variedades de mandioca coletadas foram IAC 12.829 e IAC 576-70.

No estado da Bahia, as plantas foram coletadas no Parque Nacional Monte Pascoal localizado no município de Porto Seguro. As variedades coletadas são popularmente denominadas pelos agricultores locais de Bravo, Caixão, Colombo, Cacau, Roxo, Lafaiete, Pretinha, Unha e Branca. Nesta região não é utilizado qualquer tipo de agrotóxico no cultivo da mandioca, embora no preparo da terra as queimadas ainda façam parte da rotina agrícola.

As coletas no estado do Amazonas foram realizadas na região de Autazes, em quatro pontos diferentes; em dois deles foram coletadas etnovarietades de mandioca mansa conhecida popularmente por maca e nos outros as variedades de mandioca brava. Nos três estados, em cada local amostrado, foram retiradas de três a seis plantas. A descrição espacial de alguns pontos de coleta é apresentada na Tabela 1.

O processo de eliminação da população epifítica e de outros microrganismos foi iniciado com a lavagem de todo o material coletado, com bucha e sabão. Raízes, caules e folhas foram desinfetados superficialmente utilizando-se os seguintes produtos químicos em ordem de descrição: álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 2% (6 minutos), álcool 70% (30 segundos) e água destilada. Do material desinfetado foram retiradas às extremidades e o restante foi cortado em pequenos pedaços (0,5 – 0,7 cm), que foram distribuídos por toda superfície dos meios de cultura TSA e amido caseína (Teixeira, 2004). Ambos os meios de cultura foram suplementados com 1000 $\mu\text{l mL}^{-1}$ do fungicida benomil. Para cada parte da planta (raiz, caule e folha) e, para cada planta, foram feitas três placas de cada meio de cultura, cada uma com sete pedaços do tecido vegetal. As culturas foram incubadas em sala com temperatura ambiente entre 25°C e 27°C. A avaliação do crescimento bacteriano teve

Tabela 1. Pontos de coleta das plantas de mandioca nos estados de São Paulo, Bahia e Amazonas.

Local de coleta	Ponto do GPS	Latitude	Longitude
Araras – SP	S – 22°25'140' W - 047°15'523'	22° 21' 26,7	47° 23' 04,4
Iepê – SP	S – 22°39'094' W - 51°03'24,7'	22° 39' 39,6	51° 04' 35,5
Mogi Guaçu – SP		22° 22' 21,7	46° 56' 33,4
Aldeia Boca da Mata – BA	S – 16°50'40,9' W – 039°20'39,9'	16° 27' 26,7	39° 03' 54,1
Aldeia Barra Velha- BA	S – 16°51'29,0' W – 39°10'28,9'	-	-
Aldeia Imbiriba –BA	S – 16°39'30,4' W – 39°09'01,0'	-	-
Manacapuru – AM	-	03° 18' 00, 3	60° 37' 15, 5

início após 48 h de incubação das placas e prosseguiu por um período de dez dias. Ao longo deste tempo as placas foram avaliadas a cada dois dias. Após o crescimento as bactérias foram repicadas para outras placas com o mesmo meio de cultura. Colônias individuais foram purificadas por esgotamento (estrias) e conservadas em óleo mineral. Para evitar o excesso de microrganismos que pudessem inviabilizar o trabalho, as bactérias isoladas foram primeiramente agrupadas segundo algumas características macroscópicas das colônias (forma, borda, pigmentação, superfície, consistência, odor, taxa de crescimento) e, microscópica (forma das células). As bactérias assim selecionadas foram submetidas à identificação pela análise do perfil dos ácidos graxos (Sasser, 2001). Os isolados foram identificados por meio do “Software” de Identificação Microbiana (MIDI, Biblioteca Sherlock® TSBA versão 5.0, Microbial ID, Newark, DE, USA). Os perfis dos ácidos graxos obtidos foram comparados com os dados contidos na biblioteca TSBA 50 (linhagens de referência armazenadas na biblioteca). Isolados com índices de similaridade (IS) de 0,6 ou maior foram considerados positivamente identificados.

Resultados e Discussão

Foram isoladas das plantas de mandioca um total de 482 bactérias endofíticas. Esse número foi obtido após o agrupamento das bactérias, levando-se em consideração suas características macroscópicas e microscópicas. Este isolamento, provavelmente, subestima a população total daqueles microrganismos, em termos de diversidade, uma vez que somente foram selecionadas as bactérias capazes de se desenvolverem nos meios de cultura utilizados. Tais limitações se aplicam à maioria dos estudos baseados em métodos de

plaqueamento, embora eles forneçam indicações relativas da estrutura da população microbiana.

Do total de bactérias isoladas, 137 foram submetidas à identificação, sendo 45 pertencentes às coletas realizadas no estado do Amazonas, 46 no estado São Paulo e 46 no estado da Bahia. Nos três estados foram identificadas 48 espécies bacterianas pertencentes a 27 gêneros, sendo que as bactérias mais freqüentemente isoladas foram: *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Stenotrophomonas* e *Serratia* (Tabelas 2, 3 e 4). Estes gêneros representaram aproximadamente 71% dos isolados identificados.

Tabela 2. Gêneros de bactérias isolados em diferentes partes das plantas de mandioca coletadas no estado de São Paulo.

Gêneros	Porcentagem em relação ao número total de bactérias identificadas
<i>Bacillus</i>	57,7
<i>Enterobacter</i>	15,5
<i>Rhizobium</i>	4,4
<i>Stenotrophomonas</i>	4,4
<i>Gamma</i>	2,2
<i>Flavimonas</i>	2,2
<i>Escherichia</i>	2,2
<i>Serratia</i>	4,4
<i>Acinetobacter</i>	4,4
<i>Pantoea</i>	2,2

Tabela 3. Gêneros de bactérias isolados em diferentes partes das plantas de mandioca coletadas no estado do Amazonas.

Gêneros	Porcentagem em relação ao número total de bactérias identificadas
<i>Bacillus</i>	25,0
<i>Enterobacter</i>	9,0
<i>Stenotrophomona</i>	6,8
<i>Microbacterium</i>	9,0
<i>Pseudomonas</i>	2,27
<i>Ochrobactrum antropi</i>	2,27
<i>Curtobacterium</i>	2,27
<i>Clavibacter</i>	2,27
<i>Salmonella</i>	9,0
<i>Escherichia</i>	6,8
<i>Serratia</i>	2,27
<i>Ralstonia</i>	2,27
<i>Brevibacillus</i>	2,27
<i>Brachybacterium</i>	2,27
<i>Burkholderia</i>	6,8
<i>Bradyrhizobium</i>	2,27
<i>Acidovorax</i>	2,27
<i>Klebsiella</i>	2,27
<i>Streptomyces</i>	2,27
<i>Kluyvera</i>	2,27

Tabela 4. Gêneros de bactérias isolados em diferentes partes das plantas de mandioca coletadas no estado da Bahia.

Gêneros encontrados	Porcentagem em relação ao número total de bactérias identificadas
<i>Bacillus</i>	39,1
<i>Enterobacter</i>	17,4
<i>Stenotrophomonas</i>	10,8
<i>Salmonella</i>	4,3
<i>Pseudomonas</i>	6,5
<i>Gamma</i>	2,1
<i>Serratia</i>	2,1
<i>Variovorax</i>	2,1
<i>Klebsiella</i>	4,3
<i>Rhizobium</i>	2,1
<i>Paenibacillus</i>	4,3
<i>Yersinia</i>	2,1
<i>Microbacterium</i>	2,1

As plantas de mandioca coletadas no estado do Amazonas foram as que apresentaram maior diversidade de microrganismos endofíticos, com 19 dos 27 gêneros identificados e um isolado não identificado pela biblioteca Sherlock® TSBA versão 5.0. Na Bahia e em São Paulo, foram identificados 13 e 10 gêneros, respectivamente, dos 27 obtidos.

No estado da Bahia, à exceção dos gêneros *Bacillus*, *Enterobacter* e *Salmonella* e, em São Paulo, à exceção dos gêneros *Bacillus* e *Enterobacter* foi identificada apenas uma espécie bacteriana para cada gênero. No estado do Amazonas foram encontradas mais de uma espécie bacteriana para os gêneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Microbacterium* (*Microbacterium hominis*, *Microbacterium aerobescens* e *Microbacterium imperiale*) e *Salmonella* (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella bongori* e *Salmonella choleraesuis*).

O gênero *Bacillus* foi encontrado com maior frequência em todas as regiões amostradas. Nos estados de São Paulo, Amazonas e Bahia este gênero representou mais de 57%, 25% e 39%, respectivamente, do total de bactérias endofíticas identificadas. Do total de isolados do gênero *Bacillus*, 60% foram pertencentes ao grupo *B. cereus*, 16,3% à espécie *B. pumilus* e 9,0% à espécie de *B. megaterium*. Os outros 18,4% foram distribuídos, com pequenas diferenças, entre as espécies *B. lentimorbus*, *B. subtilis*, *B. sphaericus* e *B. atrophaeus*. A maior diversidade de espécies do gênero *Bacillus* foi encontrada no estado de São Paulo (Tabela 5). Das nove espécies identificadas oito foram isoladas de plantas oriundas deste estado.

O gênero *Bacillus* é reconhecido como sendo mais heterogêneo que a maioria dos gêneros bacterianos. Estirpes do grupo *B. cereus*, que incluem *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* e *B. mycoides* são notáveis pelo seu "parentesco" fenotípico. Se as espécies do grupo *B. cereus* fossem consideradas como uma única espécie, no estado do Amazonas teríamos apenas duas espécies de *Bacillus*, ou seja, uma pertencente ao grupo *B. cereus* e o

Tabela 5. Espécies do gênero *Bacillus* encontradas nos estados de São Paulo, Amazonas e Bahia.

Espécies	São Paulo	Amazonas	Bahia
<i>B. cereus</i>	X*	X	X
<i>B. anthracis</i>	X	X	
<i>B. megaterium</i>	X		
<i>B. thuringiensis</i>	X	X	X
<i>B. lentimorbus</i>	X		
<i>B. pumilus</i>	X	X	
<i>B. subtilis</i>	X		
<i>B. atrophaeus</i>			X
<i>B. sphaericus</i>	X		

*X = presença da bactéria

B. pumilus. Na Bahia teríamos, além da espécie pertencente ao grupo *B. cereus*, o *B. atrophaeus*. O *B. pumilus* não foi encontrado no estado da Bahia, enquanto que o *B. atrophaeus* não foi encontrado nos estados de São Paulo e do Amazonas. Verifica-se, portanto, que nos estados do Amazonas e Bahia os isolados do grupo *B. cereus* foram responsáveis por 81,8% e 94,4%, respectivamente, das identificações em nível de espécie do gênero *Bacillus*; em São Paulo este percentual caiu para 27%.

Alguns trabalhos relatam o gênero *Bacillus* como a principal bactéria endofítica de determinadas plantas (Hallmann et al., 1997). As espécies de *Bacillus* mais frequentemente citadas como endófitos são: *Bacillus cereus* (Araújo et al., 2002), *Bacillus subtilis* (Bai et al., 2002), *Bacillus megaterium* (Sturz et al., 1997) *Bacillus insolitus* (Sturz et al., 1997), *Bacillus brevis* (Sturz et al., 1997), *Bacillus pumilus* (Araújo et al., 2002) e *Bacillus lentus* (Araújo et al., 2001), sendo encontradas nas mais diversas espécies vegetais tais como: *Zea mays* L. (Lalande et al., 1989), *Gossypium hirsutum* L. (Misaghi & Donndelinger, 1990), *Beta vulgaris* (Jacobs et al., 1985), e *Solanum tuberosum* L. (Hollis, 1949). *Bacillus* juntamente com o gênero *Pseudomonas* têm sido considerados agentes de biocontrole de doenças de plantas (Cook et al., 1996), o que demonstra o seu grande potencial para utilização na agricultura. A estirpe de *B. cereus*, por exemplo, isolada como endófito de planta de mostarda, quando inoculada em mudas de algodão, é capaz de reduzir a incidência da doença de podridão da raiz causada pela *Rhizoctonia solani* (Pleban et al., 1995).

Um resultado importante deste trabalho é a possível identificação da bactéria *Bacillus thuringiensis* como endofítica de mandioca. Este é um dos poucos relatos existentes na literatura sobre a ocorrência desta espécie bacteriana como microrganismo endofítico (Bai et al., 2002). Na cultura de mandioca possivelmente será a primeira descrição. Este microrganismo é conhecido pelo seu enorme potencial para utilização em programas de controle biológico. A sua íntima associação com aquela cultura pode estar relacionada ao

controle de algum tipo de entomopatógeno. Trabalhos posteriores serão necessários para comprovação ou não desta hipótese. Por outro lado, existe grande controvérsia entre técnicas que possam realmente diferenciar *Bacillus cereus* de *B. thuringiensis*, conforme descrito anteriormente.

Depois do *Bacillus*, o gênero *Enterobacter* foi o que apresentou o maior número de espécies isoladas (Tabela 6). Somente a *Enterobacter cloacae* foi encontrada em plantas oriundas dos três estados. A *E. cancerogenus* foi encontrada nos estados do Amazonas e São Paulo. A espécie *E. aerogenes* foi encontrada nos estados do Amazonas e no estado da Bahia, enquanto a *E. hormachei* foi encontrada tanto na Bahia como no estado de São Paulo. A *E. agglomerans* e a *E. sakazakii* foram isoladas de plantas provenientes dos estados de São Paulo e Bahia, respectivamente.

Tabela 6. Espécies do gênero *Enterobacter* encontradas nos estados do Amazonas, São Paulo e Bahia.

Espécies	Amazonas	São Paulo	Bahia
<i>E. cloacae</i>	X*	X	X
<i>E. cancerogenus</i>	X	X	-
<i>E. aerogenes</i>	X	-	X
<i>E. sakazakii</i>	-	-	X
<i>E. hormachei</i>	-	X	X
<i>E. agglomerans</i>	-	X	-
<i>Enterobacter</i> sp.	-	X	-

*X = presença da bactéria

A espécie *Enterobacter cloacae* é considerada um patógeno de importantes culturas. Na década de 70 esta espécie foi isolada de sementes de arroz sem que o seu envolvimento no processo de doenças fosse constatado (Tanii et al., 1974). Na década de 80, Cooter & Dowling (1986) noticiaram a patogenicidade da *E. cloacae* em cebolas armazenadas. No Brasil, a fitopatogenicidade desta bactéria foi primeiramente observada em melões coletados na região nordeste do país (Robbs et al., 1995). *Enterobacter cloacae* é também descrita como um antagonista de *Pythium* sp., que causa podridão das raízes de pepino e também aumenta a supressão do solo, em solos infectados com *Fusarium oxysporum*. Bactérias do gênero *Enterobacter* são também citadas como endófitos em plantas de *Citrus jambhiri* (Gardner et al., 1982), *Zea mays* L. (Fisher et al., 1992), *Gossypium hirsutum* (McInroy & Kloepper, 1995), *Citrus sinensis* [L] Obeck cv. Pera (Lacava et al., 2004), *Citrus reticulata* cv. Blanco (Lacava et al., 2004), dentre outras.

O gênero *Burkholderia* é citado como endófito de várias espécies de *Citrus* (Araújo et al., 2001) e é considerado um dos microrganismos mais freqüentemente isolados do tecido interno de plantas (Hallmann et al., 1997). O gênero *Microbacterium* foi isolado por Zinniel et al. (2002) em plantas agrônômicas e em plantas coletadas em regiões de pradaria. Têm sido

também identificados antagonistas microbianos pertencentes ao gênero *Microbacterium*, que diminuem a população de nematóides no solo (Hallmann et al., 1999). O gênero *Pantoea*, somente encontrado no estado de São Paulo é também citado como endófito de plantas de citrus (Araújo et al., 2002) e de ervilha (Elvira-Recuenco & Van Vuurde, 2000). Os gêneros *Acinetobacter* e *Serratia* são, respectivamente, citados na literatura como endófitos de *Citrus jambhiri* (Gardner et al., 1982) e de plantas de pepino (Liu et al., 1995). O gênero *Stenotrophomonas* é citado como endófito em plantas de cana-de-açúcar e em plantas de trigo e tem também sido relacionado com o melhor crescimento de girassóis em estufa (Fages & Arsac, 1991). A *Klebsiella pneumoniae* é um endófito comum de milho (Chelius & Triplett, 2000). Existem também relatos de *Klebsiella* sp. como endófitos de trevo vermelho (Sturz et al., 1998), de videira (Bell et al., 1995) e de arroz (Elbeltagy et al., 2000). O gênero *Salmonella* é citado como endófito em plantas de maçã, alface e alface (Dong et al., 2003).

As espécies bacterianas são classificadas em três grandes grupos, ou seja: Proteobacteria, Firmicutes e Actinobacteria. Os isolados obtidos das plantas provenientes do Amazonas e Bahia foram representados por espécies pertencentes a estes três grupos, enquanto que nas plantas oriundas de São Paulo não foram encontradas espécies de *Actinobacteria* (Tabela 7)

Apesar das espécies de bactérias endofíticas, tanto de plantas oriundas da Bahia, como de plantas oriundas do Amazonas, terem sido classificadas nos mesmos grupos, a maior diversidade foi encontrada no estado do Amazonas (Tabela 7). Neste estado, as espécies pertencentes ao sub-grupo das α -Proteobacteria foram representadas por espécies bacterianas pertencentes a duas famílias, ou seja, Bradyrhizobiaceae e Brucellaceae, enquanto que nos estados de São Paulo e Bahia somente foram identificadas espécies pertencentes à família Rhizobiaceae.

Na classe das Actinobacteria foram encontradas espécies bacterianas endofíticas pertencentes a quatro famílias de actinomicetos, ou seja, Micrococcineae, Streptomycetaceae, Dermabacteriaceae e Microbacteriaceae. As espécies bacterianas representantes destas famílias foram: *Microbacterium aerobescens*, *Microbacterium imperiale*, *Microbacterium hominis*, *Streptomyces olivaceus*, *Brachybacterium paraconglomeratum*, *Clavibacter michiganensis* e *Curtobacterium luteum*. Na Bahia foi encontrada apenas uma espécie de actinomiceto (*Microbacterium chocolatum*), pertencente à família Micrococcineae.

Actinomicetos são bactérias conhecidas por constituir grande parte da microbiota da rizosfera. Eles são importantes produtores de compostos bioativos e são também encontrados como endofíticos (Azevedo et al., 2000). Souza (1996) obteve 189 isolados bacterianos em milho (*Zea mays* L.) cultivado em duas localidades no Brasil. Dentre os principais gêneros observados estava a *Clavibacter*. Assis et al. (1998) também isolaram actinomicetos endofíticos em repolho, no estado de Pernambuco, no Nordeste do Brasil.

Tabela 7. Descrição resumida da filiação taxonômica das espécies de bactérias endofíticas isoladas de plantas de mandioca provenientes dos estados da Bahia, São Paulo e Amazonas.

Amazonas			
Grupo	Subgrupo	Ordem	Família
Proteobacteria	γ -Proteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae
		Xantomonadales	Xantomonadaceae
		Pseudomonadales	Pseudomonadaceae
	β -Proteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae
	α -Proteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae Brucellaceae
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae
			Streptomycetaceae
			Dermabacteriaceae
			Microbacteriaceae
São Paulo			
Grupo	Subgrupo	Ordem	Família
Proteobacteria	γ -Proteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae
		Xantomonadales	Xantomonadaceae
		Pseudomonadales	Pseudomonadaceae Moraxellaceae
	β -Proteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae
Bahia			
Grupo	Subgrupo	Ordem	Família
Proteobacteria	γ -Proteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae
		Xantomonadales	Xantomonadaceae
		Pseudomonadales	Pseudomonadaceae
	β -Proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae
	α -Proteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae

Stamford (1997) isolaram bactérias endofíticas de raízes de *Pachyrhizus erosus*, uma planta leguminosa cultivada em áreas tropicais do Brasil e México. Os actinomicetos endofíticos do gênero *Streptomyces*, *Streptosporangium* e *Nocardiopsis* foram estudados para a produção de enzimas relacionadas à hidrólise do amido. Produções satisfatórias da amilase e amiloglucosidase foram obtidas para algumas estirpes dos gêneros *Streptosporangium* e *Nocardiopsis*. Matsuura (1998) isolou 31 actinomicetos endofíticos de caupi (*Vigna*

unguiculata), em Manaus, estado do Amazonas, Brasil. Cerca de 20% dos isolados mostraram atividade antibiótica contra outras bactérias. Brito (1998) também isolou actinomicetos de *Phaseolus vulgaris*, o feijão comum, em Pernambuco, Nordeste do Brasil. Trinta e dois isolados foram obtidos de raízes e folhas, a grande maioria sendo originada de raízes (78%); atividade antibiótica contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* foi encontrada em 6% dos isolados.

Dentro dos diferentes grupos de microrganismos endofíticos que foram isolados da mandioca destaca-se a diversidade de actinomicetos encontrados no estado do Amazonas. Estes microrganismos apresentam grande potencialidade para propósitos biotecnológicos, como para usos farmacêuticos e de biocontrole. Apesar disso, os trabalhos na literatura relacionados com este tipo de microrganismo são escassos (Azevedo et al., 2000). Recentemente, na Austrália, Coombs et al. (2003) isolaram actinomicetos endofíticos de plantas de trigo; os gêneros encontrados foram *Microbispora*, *Micromonospora*, *Nocardioides* e *Streptomyces*.

A maior diversidade de bactérias endofíticas encontradas no estado do Amazonas, em particular para os actinomicetos, demonstra que o sistema agrícola utilizado, de forma não intensiva, pode manter ou proporcionar um ambiente mais favorável aos microrganismos endofíticos. Em São Paulo, a mandioca recebe uma grande quantidade de pesticidas e fertilizantes que podem, de alguma forma, estar influenciando de forma negativa a população de microrganismos do solo e, conseqüentemente, os endófitos. Na Bahia, embora não seja praticado um sistema de cultivo intensivo, a queimada é prática comum entre os pequenos agricultores, o que pode estar selecionando determinados microrganismos do solo. Além desses, outros fatores podem ter influenciado a diversidade de bactérias endofíticas isoladas. Musson (1994), cita que a penetração de endofíticos nas plantas pode ser, provavelmente, controlada pela própria planta e pelas condições ambientais. O solo da rizosfera da planta é citado como a fonte primária para a colonização de microrganismos endofíticos (Hallmann et al., 1997). Muitos autores têm comparado a comunidade bacteriana interna e externa de plantas de algodão (Hallmann et al., 1997) e batata (Sturz, 1995) e, quase todas as bactérias endofíticas, foram também encontradas na rizosfera. Diversos fatores físicos e químicos do solo podem ter sido os responsáveis pela diferença na diversidade de microrganismos encontrados nos três estados.

Trabalhos relacionando a comunidade endofítica da planta com práticas agrícolas e tipos de solo são raros. Seghers et al. (2004) observaram diferenças na comunidade de microrganismos endofíticos nas raízes de milho obtidas de plantas cultivadas sob um sistema de cultivo orgânico ou não. Os autores relatam, porém, que não fica claro dos resultados obtidos, se as diferentes práticas agrícolas afetaram diretamente a comunidade endofítica das raízes, ou indiretamente, por meio de mudanças na comunidade total de microrganismos do solo. Conn e Franco (2004) mostraram que o tipo de solo afetou a população de actinomicetos endofíticos isolados das raízes de trigo; a maior diversidade de gêneros

endofíticos foi obtida de plantas cultivadas em solos com maior população microbiana indígena.

Conclusões

1. O gênero *Bacillus* parece ser o endófito predominante na mandioca, tanto em etnovarietades como em mandioca obtida de áreas cultivadas para fins comerciais.
2. As espécies de *Bacillus* obtidas de etnovarietades de mandioca são praticamente restritas às espécies do grupo *B. cereus*, ao contrário das variedades comerciais.
3. Este parece ser um dos primeiros relatos do *B. thuringiensis* como endófito de planta.
4. Depois do grupo Bacilli, o maior número de isolados endofíticos foi encontrado no grupo das Proteobacteria, onde a maior parte foi representada por espécies do subgrupo das γ -Proteobacteria.
5. A maior diversidade de bactérias endofíticas foram isoladas de plantas de mandioca provenientes do estado do Amazonas.
6. A diferença na predominância de grupos bacterianos na mandioca, em função do estado de coleta, indica a importância do genótipo dos hospedeiros, no estabelecimento de bactérias endofíticas.

Referências Bibliográficas

- ADACHI, K.; NAKATANI, M.; MOCHIDA, H. Isolation of an endophytic diazotroph, *Klebsiella oxytoca*, from sweet potato stems in Japan. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.48, p.889-895, 2002.
- ALVES, L.R.A.; FELIPE, F.I.; BARROS, G.S.C. **Custo de produção de mandioca no estado de São Paulo: mandioca industrial (maio/04) e de mesa (junho/04)**. Piracicaba: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (COPEA), 2004. 10p.
- ARAÚJO, W. L.; MACCHERONI JR., W.; AGUILLAR-VILDOSO, C. I.; BARROSO, P.A.V.; SARIDKIS, H.O.; AZEVEDO, J.L. 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.

ARAÚJO, W.L.; MARCON, J.; MACCHERONI JR., W.; VAN ELSAS, J. D.; VAN VUURDE, J. W. L.; AZEVEDO, J.L. Diversity of endophytic bacterial populations and their interactions with *Xylella fastidiosa* in Citrus plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68 , p.4906-4914, 2002.

ASSIS, S.M.P.; SILVEIRA, E.B; MARIANO, R.L.R.; MENEZES, D. Bactérias endofíticas. Método de isolamento e potencial antagônico no controle da podridão negra do repolho. **Summa Phytopathologica**, v.24, p.216-220, 1998.

AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI JR., W.; PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plantas. **Journal of Biotechnology**, v.3, p.40-65, 2000.

BAI, Y.; DÁOUST, F.; SMITH, D.L.; DRISCOLL, B.T. Isolation of plant-growth-promoting *Bacillus* strains from soybean root nodules. **Canadian Journal of Microbiology**, v.48, p.230-238, 2002.

BARBIERI, P.; ZANELLI, E.; GALLI, E.; ZANETTI, G. Wheat inoculation with *Azospirillum brasiliense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. **FEMS Microbiology Letters**, v.36, p.87-90, 1986.

BELL, C.R.; DECKIE, G.A.; HARVEY, W.L.G.; CHAN, J.M.Y.F. Endophytic bacteria in grapevine. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41, p.46-53, 1995.

BENSALIM, S.; NOWAK, J.; ASIEDU, S.K. A plant growth promoting rhizobacterium and temperature effects on performance of 18 clones of potato. **American Journal of Potato Research**, v.75, p.145-152, 1998.

BRITO, K.C. **Isolamento e atividade antimicrobiana de actinomicetos endofíticos do feijão (*Phaseolus vulgaris* L).** 1998. 42f. (Monografia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1998.

CHELIUS, M.K.; TRIPLETT, E. W. Imunolocalization of dinitrogenase reductase produced by *Klebsiella pneumoniae* in association with *Zea mays* L. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, p.783-787, 2000.

CHEN, C.; BAUSKE, E.M.; MUSSON, G.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; KLOPPER, J. W. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria. **Biological Control**, v.5, p.83-91, 1995.

CONN, V.M.; FRANCO, C.M.M. Analysis of the endophytic actinobacterial population in the roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) by terminal restriction fragment length polymorphism and sequencing of 16S rRNA clones. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, p.1787-1794, 2004.

COOK, R. J.; BRUCKART, W. L.; COULSON, J. R.; GOETTEL, M. S.; HUMBER, R. A.; LUMSDEN, R. D.; MADDOX, J. U.; McMANUS, M. L.; MOORE, L.; SUSAN, F.; QUIMBY, P. C.; STACK, J. P.; VAUGHN, J. L. Safety of microorganisms intended for pest and plant disease control: A framework for scientific evaluation. **Biological Control**, v.7, p.333-351, 1996.

COOMBS, J. T.; FRANCO, C. M. M. Isolation and identification of actinobacteria isolated from surface-sterilized wheat roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.5303-5308, 2003.

COOTHER, E. J.; DOWING, V. Bacteria associated with internal breakdown of onion and their possible role in disease expression. **Plant Disease**, v.35, p.329-336, 1986.

COSTA, M. R.; CARDOSO, E. R.; OHAZE, M .M. M. Similaridade genética de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta*) por meio de marcadores RAPD. **Ciência Agrotécnica**, v.27, p.158-164, 2003.

DONG, Y.; INIGUEZ, A. L.; AHMER, B. M. M.; TRIPLETT E. W. Kinetics and strain specificity of rhizosphere and endophytic colonization by enteric bacteria on seedlings of *Medicago sativa* and *Medicago truncatula*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.1783-1790, 2003.

ELBELTAGY, A.; NISHIOKA, K.; SUZUKI, H.; SATO, T.; SATO, Y.; MORISAKI, H.; MITSUI, H.; MINAMISAWA, K. Isolation and characterization of endophytic bacteria from wild and traditionally cultivated rice varieties. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.46, p.617-629, 2000.

ELVIRA-RECUENCO, M.; VAN VUURDE, J. W. L. Natural incidence of endophytic bacteria in pea cultivars under field conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, v.46, p.1036-1041, 2000.

FAGES, J.; ARSAC, J. F. Sunflower inoculation with *Azospirillum* and other plant growth promoting rhizobacteria. **Plant and Soil**, v.137, p.87-90, 1991.

FAHEY, J. W.; DIMOCK, M. R.; TOMASINO, S. F.; TAYLOR, J. M.; CARISON, P. S. Genetically engineered endophytes as biocontrol agents: a case study from industry. In: ANDREWS, J. H.; HIRANO, S. S. (Ed.). **Microbial ecology of leaves**. London: Springer-Verlag, 1991. p.401-411.

FISHER, P.J.; PETRINI, O.; LAPPIN SCOTT, H.M. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). **New Phytologist**, v.122, p.299-305, 1992.

GARBEVA, P.; VAN OVERBECK, L.S.; VAN VUURDE, J.W.L.; VAN ELSAS, J.D. Analysis of endophytic bacterial communities of potato by plating and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of 16S rDNA based PCR fragments. **Microbial Ecology**, v.43, p.369-383, 2001.

GARDNER, J. M.; FELDMAN, A. W.; ZABLOTOWICZ, M. Identity and behavior of xylem-residing bacteria in rough lemon roots of Florida citrus trees. **Applied and Environmental Microbiology**, v.43, p.1335-1342, 1982.

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

HALLMANN, J.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; KLOPPER, 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.

HOLLIS, J. P. Bacteria in healthy potato tissue. **Phytopathology**, v.41, p.350-367, 1949.

JACOBS, M. J.; BUGDEE, W. M.; GABRIELSON, D. A. Enumeration, location, and characterization of endophytic bacteria within sugar beet roots. **Canadian Journal of Botany**, v.63, p.1262-1265, 1985.

KRECHEL, A.; FAUPEL, A.; HALLMANN, J.; ULRICH, A.; BERG, G. Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood. **Canadian Journal of Microbiology**, v.48, p.772-786, 2002.

LACAVALA, P. T.; ARAÚJO, W. L.; MARCON, J.; MACCHERONI JR., W.; AZEVEDO, J. L. Interaction between endophytic bacteria from citrus plants and the phytopathogenic bacteria *Xylella fastidiosa*, causal agent of citrus-variegated chlorosis. **Letters in Applied Microbiology**, v.39, p.55-59, 2004.

LALANDE, R.; BISSONNETTE, N.; COUtlÉE, D.; ANTOUN, H. Identification of rhizobacteria from maize and determination of their plant-growth promoting potential. **Plant and Soil**, v.115 , p.7-11, 1989.

LIU, L.; KLOEPPER, J.W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant-growth-promoting rhizobacterial. **Phytopathology**, v.85, p.843-847, 1995.

MATSUURA, T. **Ocorrência de actinomicetos endofíticos produtores de antibióticos isolados de folhas e raízes de feijão caupi (*Vigna unguiculata*)**. 1998. 69f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1998.

McINROY, J. A.; KLOEPPER, J. W. Populations dynamics of endophytic bacteria in field-growth sweet corn and cotton. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41, p. 895-901, 1995.

MISHAGI, I.J.; DONDELINGER, C. R. Endophytic bacteria in symptom-free cotton plants. **Phytopathology**, v.80 , p.808-811, 1990.

MURTY, M.G.; LADHA, J.K. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. **Plant and Soil**, v.108, p. 281-285, 1988.

MUSSON, G. **Ecology and effects of endophytic bacteria in plants**. Masters Thesis. Auburn University, Auburn, 1994.

PLEBAN, S.; INGEL, F.; CHET, I. Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in greenhouse using endophytic *Bacillus* spp. **European Journal of Plant Pathology**, v.101, p.665-672, 1995.

QUADT-HALLMANN, A.; HALLMANN, A.; KLOEPPER, J.W. Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant associated bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.254-259, 1997.

ROBBS, C.F.; RODRIGUES NETO, J.; SILVA, O.F.; BERIAM, L.O.S. Deterioração de polpa de frutas de melão causada por *Enterobacter cloacae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.281, 1995.

SASSER, M. **Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids: revised**. Newark: MIDI, 2001. 6p. (MIDI Technical Note, 101).

SEGHERS, D.; WITTEBOLLE, L.; TOP, E. M.; VERSTRAETE, W.; SICILIANO, S. D. Impact of agricultural practices on the *Zea Mays* L. endophytic community. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, p.1475-1482, 2004.

SOUZA, A.O. **Bactérias endofíticas de milho (*Zea mays* L.) e sua variabilidade genética analisada por RAPD**. 1996. 85f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

STAMFORD, T.L.M. **Isolamento e identificação de microorganismos endofíticos: seleção e caracterização de actinomicetos produtores de enzimas amilolíticas**. 1997. 110f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1997.

STURZ, A.V. The role of endophytic bacteria during seed piece decay and potato tuberization. **Plant and Soil**, v.175, p.257-263, 1995.

STURZ, A.V.; CHRISTIE, B.R.; MATHESON, B.G.; NOWAK, J. 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, p.13-19, 1997.

STURZ, A.V.; CHRISTIE, B.R.; MATHESON, B.G. Association of bacterial endophyte populations from red clover and potato crops with potential for beneficial allelopathy. **Canadian Journal of Microbiology**, v.44, p.162-167, 1998.

TANII, A.; BABA, T.; HARIKI, T. Bacteria isolated from black rot rice grains. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, v.40, p.309-318, 1974.

TEIXEIRA, M.A. **Diversidade de bactérias endofíticas de mandioca (*Manihotis esculenta* Crantz) coletada de diferentes regiões do Brasil**. 2004. 102f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

WEBBER, J. A natural control of Dutch elm disease. **Nature**, v.292, p.449-451, 1981.

WEBSTER, G.; GOUGH, C.; VASSE, J.; BATCHELOR, C. A.; O'CALLAGHAN, K. J.; KOTHARI, S. I.; DAVEY, M. R.; DÉNARIÉ, J.; COCKING, E. C. Interactions of rhizobia with rice and wheat. **Plant and Soil**, v.194, p.115-122, 1997.

ZINNIEL, D. K.; LAMBRECHT, N.; HARRIS, B.; FENG, Z.; KUEZMARSKI, D.; HIGLEY, P.; ISHIMARU, C. A.; ARUNAKUMARI, A.; BARLETTA, R. G.; VIDAVER, A. K. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p.2198-2208, 2002.



Meio Ambiente

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

