



BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS COMO PROMOTORAS DO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE ARROZ

Daniele Cristina Costa Sabino¹; Joilson Silva Ferreira², Salomão Lima Guimarães³,
Vera Lúcia Divan Baldani⁴

1. Professora, Doutora, Universidade Federal do Mato Grosso/Campus Sinop (danielesabino@ufmt.br);
2. Professor, Doutor, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia/Campus Vitória da Conquista;
3. Professor, Doutor, Universidade Federal do Mato Grosso/Campus Rondonópolis;
4. Pesquisadora, Doutora, Embrapa Agrobiologia/RJ

Recebido em: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de plântulas de arroz cultivadas em condições axênicas. As estirpes de bactérias diazotróficas BR11417 (ZAE94) e BR11507 (M2) de *Herbaspirillum seropedicae*, BR11340 (M130) de *Burkholderia kururiense* e BR11002 (Cd) de *Azospirillum brasilense* foram inicialmente caracterizadas quanto ao seu potencial de fixação de nitrogênio através da atividade de redução de acetileno (ARA) e capacidade de produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro*. As bactérias foram inoculadas, de modo isolado ou em conjunto, em solução nutritiva agarizada, com e sem suplementação nitrogenada, onde as plântulas dos cultivares de arroz IR42 e IAC4440 foram cultivadas por 30 dias, avaliando-se a biomassa fresca da raiz e da parte aérea. Com exceção da estirpe M2, mutante natural não fixador de nitrogênio, todas as estirpes foram capazes de reduzir o acetileno. A capacidade de produção de AIA foi verificada em todas as estirpes testadas. A inoculação das estirpes afetou de modo diferenciado o desenvolvimento inicial das plântulas dos cultivares de arroz IR42 e IAC4440 e foi dependente da aplicação de nitrogênio mineral.

PALAVRAS-CHAVE: Fixação, nitrogênio, auxina

DIAZOTROPHS AS PROMOTING THE INITIAL DEVELOPMENT OF RICE SEEDLING

ABSTRACT

The research aimed to evaluate the influence of diazotrophic bacteria inoculation in the early development of seedlings of rice grown in the axenic conditions. The strains of diazotrophs BR11417 (ZAE94) and BR11507 (M2) of *Herbaspirillum seropedicae*, BR11340 (M130) of *Burkholderia kururiense*, BR11002 (Cd) of *Azospirillum brasilense* were initially characterized as their nitrogen fixation potential through the acetylene reduction assay (ARA) and indole acetic acid (IAA) production in vitro. The bacteria were inoculated either isolated or jointed in agar nutrient solution, with and without nitrogen supplementation, where the seedlings of rice cultivars IR42 and IAC4440 were cultivated for 30 days, evaluating the fresh root weight and shoot. With the exception of strain M2, natural non-nitrogen-fixator, all strains were able to reduce the acetylene. The ability to produce IAA was verified in all strains. The inoculation of strains affected, in a different way, the early development of seedlings of rice cultivars IR42 and IAC4440 and it was dependent of nitrogen mineral application.

KEYWORDS: Fixation, Nitrogen, Auxin

INTRODUÇÃO

Bactérias diazotróficas são aquelas capazes de fixar o nitrogênio atmosférico. Estas bactérias podem viver livre no solo, associadas a espécies vegetais, tanto na rizosfera quanto endofiticamente, bem como formar simbioses, como ocorre em muitas leguminosas. As bactérias diazotróficas associativas são encontradas em diferentes espécies vegetais, incluindo diferentes representantes da família *Poacea*, tais como arroz, milho e cana-de-açúcar (BHATTACHARJEE et al., 2008; MOREIRA et al., 2010).

Além de fixar o nitrogênio atmosférico, estas bactérias são descritas por serem capazes de produzir hormônios vegetais, solubilizar fosfato, atuar como antagônicas a espécies patogênicas, além de poderem influenciar o metabolismo nitrogenado da planta, sendo considerada como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas - RPCP (BALDANI & BALDANI, 2005; MOREIRA et al., 2010, HUNGRIA, 2011; JAMES & BALDANI, 2012;). Dentre os hormônios vegetais produzidos pelas RPCP, destaca-se a síntese de ácido indol acético e de outros compostos indólicos (BHATTACHARYYA & JHA, 2012).

Plantas de arroz são frequentemente colonizadas por diversas bactérias diazotróficas formando associações onde a contribuição em termos de fixação biológica de nitrogênio é pequena quando comparada ao fornecido pelo rizóbio às plantas leguminosas. No entanto, estudos com ¹⁵N e balanço de nitrogênio demonstram que ocorre a contribuição da FBN, variando de 0 a 30%, dependendo do genótipo da planta de arroz. BODDEY et al. (1995) consideraram o cultivar de arroz IR42 como de alto potencial para FBN (30%) enquanto o cultivar IAC4440 foi considerado como de baixo potencial (0%). Do mesmo modo, VARGAS et al., (2012)

observaram uma diferença no padrão de expressão de receptores de etileno (ERs) nos dois cultivares, onde o IR42 apresentou uma maior expressão de ERs em relação ao IAC4440. Os autores observaram que esta resposta foi dependente da estirpe inoculada, existindo diferenças no padrão de expressão das plantas associadas à *Azospirillum brasilense* em relação às associadas à *Burkholderia kururiense*. Deste modo, a resposta à inoculação por bactérias diazotróficas pode ser influenciada pela estirpe de bactéria, bem como pelo cultivar da planta utilizada, ou seja, é dependente da combinação dos genótipos de planta e bactéria (MONTEIRO et al., 2012).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de plântulas de arroz em condições controladas de cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Para as análises foram utilizadas as estirpes ZAE94 (BR11417) e M2 (BR11507) de *Herbaspirillum seropedicae*, M130 de *Burkholderia kururiense* (BR11340) e Cd (BR11002) de *Azospirillum amazonense*, pertencentes à coleção de cultura da Embrapa Agrobiologia.

A atividade da enzima nitrogenase foi avaliada através da atividade de redução de acetileno (ARA). Foram inoculados 50 µl de cultura (com densidade ótica ajustada para 0,5) em frascos com volume de 10 mL contendo 5 mL de meio de cultivo (JNFb para *Herbaspirillum*; JMV – para *Burkholderia*; NFb para *Azospirillum*) incubados a 30°C. As análises foram realizadas 48 e 72h após a inoculação. Os frascos foram vedados com uma rolha de borracha perfurável e 1mL de acetileno foi introduzido com o auxílio de uma seringa e incubados por 1h a 30°C. Posteriormente, 0,5 mL da atmosfera foi retirada e injetado em cromatógrafo para determinar a concentração de etileno na amostra. Foram utilizadas três repetições de cada estirpe, além de meio de cultura estéril como controle. Após a determinação da ARA, foi realizada a quantificação de proteína das culturas bacterianas (LOWRY et al., 1951; GUEDES et al., 2007).

A produção de ácido indol acético das estirpes bacterianas foi determinada segundo a metodologia colorimétrica descrita por SARWAR & KREMER (1995). Dois mililitros de suspensão bacteriana com densidade ótica ajustada (D.O.=0,5) foram inoculadas em frascos erlenmeyer contendo 28 mL de meio de cultivo (JNFb para *Herbaspirillum*; JMV – para *Burkholderia*; NFb para *Azospirillum*), acrescido de 1 mL de solução de triptofano (3 mg.mL⁻¹). Os frascos foram incubados a 30°C no escuro, e sob agitação constante. A quantificação foi realizada 24, 48 e 72h após a inoculação. Uma alíquota de 150 µl de cada cultura e 100 µl do reagente de Salkowisk (1mL de FeCl₃.6H₂O 0,5M em 50 mL de HClO₄ 35%) foram colocados em poços de microplacas de poliestireno e incubados no escuro por 30 minutos. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 492 nm e a concentração de AIA estimada através de uma curva padrão com concentrações conhecidas de AIA. Foram utilizadas três repetições para cada estirpe bacteriana além de um meio de cultura estéril como controle. Além da quantificação de AIA, as culturas bacterianas foram avaliadas em relação ao seu teor protéico (LOWRY et al., 1951; GUEDES et al., 2007).

Um experimento em condições axênicas foi conduzido em tubos de ensaio com capacidade para 120 mL, contendo 60 mL de solução modificada de HOGLAND e ARNON (1950), sem nitrogênio, acrescido de 6 mL l⁻¹ de agar. Metade dos tubos

receberam nitrogênio, na forma de NH_4NO_3 , simulando uma dose correspondente a 50 kg N ha^{-1} . Os tubos, contendo a solução nutritiva agarizada, foram tampados com uma rolha de algodão e esterilizados em autoclave. Após a esterilização, antes da solidificação do agar ($40\text{-}45^\circ\text{C}$), para cada tratamento, foram adicionados 2 mL das culturas bacteriana com a densidade ótica ajustada ($\text{D.O.} = 0,5$). Os tratamentos de inoculação consistiram da inoculação das estirpes bacterianas de forma isolada ou conjunta. O tratamento controle recebeu 2 mL de meio Dygs estéril. As sementes, superficialmente desinfestadas e pré-germinadas (DOBEREINER et al., 1995), dos cultivares de arroz IR42 e IAC4440 foram plantadas na superfície da solução nutritiva agarizada e inoculada com os tratamentos bacterianos. Todo o procedimento foi realizado em capela com ventilação forçada e os tubos foram mantidos tampados com rolha de algodão e em câmara de crescimento por 30 dias. Avaliou-se a biomassa fresca da parte aérea e das raízes das plântulas e os resultados foram avaliados segundo o teste LSD a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como observado na Tabela 1, todas as estirpes testadas, com exceção da M2, foram capazes de reduzir o acetileno. A estirpe M2, é uma estirpe mutante natural não-fixadora de nitrogênio (BALDANI et al., 1996) e, por tanto, incapaz de reduzir o acetileno. A estirpe Cd de *Azospirillum brasilense* apresentou o maior potencial de fixação em meio de cultura. As estirpes M130, de *Burkholderia kururiense* e ZAE94 de *Herbaspirillum seropedicae* apresentaram uma ARA menor que a estirpe Cd de *Azospirillum brasilense*, resultados semelhantes aos obtidos por RODRIGUES et al., (2006).

TABELA 1: Atividade de redução de acetileno (ARA) por estirpes de bactérias diazotróficas em meio semissólido com 48 e 72h de crescimento (valores expressos em $\eta\text{mol etileno mg de proteína}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Estirpe ¹	48h	72h
M130	20,2	37,2
ZAE94	54,8	42,4
M2	n.d.	n.d.
Cd	304,2	201,0

¹ZAE94 – *H. seropedicae*; M2- mutante natural não-fixador de *H. seropedicae*; M130 – *B. kururiense*; Cd – *A. brasilense*

n.d. – não detectável nas condições testadas. Dados médios de três repetições e expressos em $\eta\text{mol mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de proteína bacteriana.

Todas as estirpes testadas produziram compostos indólicos quando cultivadas em meio de cultura semissólido (Tabela 2). A produção de substâncias hormonais, tais como os compostos indólicos, por diferentes espécies de bactérias diazotróficas têm sido relatada em diversos estudos (KUSS et al., 2007; MOREIRA et al., 2010; MONTEIRO et al., 2012). A estirpe M2, não fixadora de nitrogênio, produziu ácido indol acético (AIA) em quantidades superiores aos produzidos pelas estirpes M130 e ZAE94 em todas as análises. No entanto, a partir de 48h após a inoculação, a estirpe Cd apresentou a maior produção de AIA. Resultados diferentes dos obtidos por KUSS et al., (2007), que observaram que as estirpes de *Azospirillum lipoferum* e *A. brasilense* apresentaram uma baixa produção de AIA em comparação

aos demais isolados bacterianos.

TABELA 2: Produção de ácido indol acético (AIA) por estirpes de bactérias diazotróficas em meio semissólido (valores em μg ácido indol acético mg^{-1} de proteína).

Estirpe ¹	24h	48h	72h
M130	8,1	8,8	9,8
ZAE94	26,9	22,8	23,0
M2	48,2	28,2	29,9
Cd	34,1	85,3	80,5

¹ZAE94 – *H. seropedicae*; M2- mutante natural não-fixador de *H. seropedicae*; M130 – *B. kururiense*; Cd – *A. brasilense*.

Dados médios de três repetições e expressos em micrograma de ácido indol acético por miligrama de proteína bacteriana

A inoculação das bactérias diazotróficas em meio de cultivo Hoglands, com e sem adição de nitrogênio, alterou o desenvolvimento inicial das plântulas de arroz dos cultivares IR42 e IAC4440 (Tabela 3). Quando o nitrogênio não foi adicionado ao meio, os cultivares apresentaram comportamentos diferenciados. Para o cultivar IR42, todos os tratamentos inoculados reduziram a biomassa fresca da parte aérea, porém no cultivar IAC4440, as plântulas que foram inoculadas isoladamente com a estirpe Cd e aquelas que foram inoculadas com a mistura das estirpes ZAE94 e M2, apresentaram biomassa fresca da parte aérea superiores ao controle não-inoculado.

TABELA 3: Biomassa fresca da parte aérea dos cultivares de arroz IR42 e IAC4440 inoculadas com bactérias diazotróficas e cultivadas em solução nutritiva, com e sem suplementação de nitrogênio mineral, por 30 dias (valores expressos em mg planta^{-1})

Bactéria ¹	0 kg N ¹ ha ⁻¹		50 kg N ¹ ha ⁻¹	
	IR42	IAC4440	IR42	IAC4440
M130	31 c	64 b	130 a	206 a
ZAE94	37 bc	44 b	80 abc	110 cd
M130+ZAE94	40 bc	47 b	49 d	85 d
M130+M2	24 c	48 b	62 cd	134 bc
ZAE94+M2	69 b	101 a	86 bc	157 b
M130+ZAE94+M2	37 bc	63 b	72 bcd	83 d
M2	51 bc	53 b	107 ab	136 bc
Cd	52 bc	102 a	80 bcd	111 cd
Não-inoculado	116 a	30 b	90 bc	41 e
CV (%)	31,74			

¹Valores seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste LSD a 5% de probabilidade. ZAE94 – *H. seropedicae*; M2- mutante natural não-fixador de *H. seropedicae*; M130 – *B. kururiense*; Cd – *A. brasilense*

Quando o nitrogênio foi suplementado ao meio, a inoculação com a estirpe M130 promoveu a maior biomassa fresca da parte aérea nos dois cultivares, sendo que no IR42, apenas este tratamento de inoculação foi estatisticamente superior ao que não recebeu bactéria, enquanto no IAC4440, todos os tratamentos inoculados

diferiram do controle não-inoculado (Tabela 3). Outros autores também observaram que a inoculação das bactérias diazotróficas em conjunto com a adubação nitrogenada apresentou melhor resultado em relação ao desenvolvimento e a produção de grãos das plantas dos cultivares IR42 e IAC4440 (GUIMARÃES et al. 2010, 2011; FERREIRA et al., 2011). Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por FERREIRA et al., (2011), que observaram que a inoculação de *H. seropedicae* nestas cultivares, ocasionou resultados semelhantes aos obtidos nos tratamentos adubados com 50kg N¹ ha⁻¹.

Em relação à biomassa da raiz no cultivar IR42, quando o nitrogênio não foi fornecido, o controle não inoculado apresentou a maior biomassa fresca, porém diferente do que ocorreu na parte aérea não diferiu estatisticamente dos tratamentos inoculados (Tabela 4). Na cultivar IAC440, de modo semelhante ao que ocorreu na parte aérea, as plântulas que não receberam nitrogênio e foram inoculadas com a estirpe Cd, bem como aquelas inoculadas com a mistura das estirpes ZAE94 e M2, apresentaram os maiores desenvolvimento radiculares.

TABELA 4: Biomassa fresca das raízes dos cultivares de arroz IR42 e IAC4440 inoculadas com bactérias diazotróficas e cultivadas em solução nutritiva, com e sem suplementação de nitrogênio mineral, por 30 dias (valores expressos em mg.planta⁻¹).

Bactéria ¹	0 kg N ¹ ha ⁻¹		50 kg N ¹ ha ⁻¹	
	IR42	IAC4440	IR42	IAC4440
M130	33 b	66 b	66 a	148 a
ZAE94	31 b	41 c	42 b	68 cd
M130+ZAE94	44 ab	51 bc	35 b	47 de
M130+M2	33 b	56 bc	35 b	77 bc
ZAE94+M2	42 ab	97 a	55 ab	96 b
M130+ZAE94+M2	40 ab	55 bc	38 b	43 e
M2	48 ab	39 c	47 ab	74 bc
Cd	52 ab	99 a	57 ab	59 cde
Não-inoculado	62 a	42 c	55 ab	51 de
CV(%)	29,39			

¹Valores seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste LSD a 5% de probabilidade. ZAE94 – *H. seropedicae*; M2- mutante natural não-fixador de *H. seropedicae*; M130 – *B. kururiense*; Cd – *A. brasilense*

Quando o meio para crescimento das plântulas foi suplementado com nitrogênio, as plântulas das duas cultivares que foram inoculadas com a estirpe M130 apresentaram os maiores acúmulos de biomassa, embora, no cultivar IR42 esta diferença não tenha sido estatisticamente diferente do tratamento não inoculado. No cultivar IAC4440, as raízes das plântulas não inoculadas foram estatisticamente inferiores a este tratamento de inoculação. RADWAN et al. (2004), observaram em condições axênicas em função da elevada produção de compostos indólicos, uma redução no comprimento radicular das cultivares de arroz, principalmente quando inoculadas com *Azospirillum*. Esta variabilidade na resposta de cada cultivar de arroz em relação à estirpe de bactéria diazotrófica inoculada foi observada, tanto em condições axênicas quanto em condição de casa de vegetação e campo (BALDANI & BALDANI, 2005).

Uma vez que todas as estirpes testadas foram capazes de produzir compostos indólicos em meio de cultura (Tabela 2) e, com exceção da estirpe M2, reduzir acetileno (Tabela 1), é provável que parte dos efeitos observados com a inoculação das bactérias diazotróficas no desenvolvimento das plântulas das cultivares IR42 e IAC4440 (Tabelas 3 e 4) seja devida não somente a FBN, como também a produção de fitormônios, aumento da absorção de nutrientes, entre outros, atuando em um sistema aditivo, como já observado em outros estudos. (RADWAN et al., 2004; HARDOIM et al., 2008; HUNGRIA et al., 2010, HUNGRIA, 2011)

CONCLUSÕES

A inoculação com estirpes de bactérias diazotróficas, de modo isolado ou em conjunto, afetou o desenvolvimento inicial das plântulas de arroz dos cultivares IR42 e IAC4440;

A inoculação das estirpes de bactérias diazotróficas em conjunto com a aplicação de 50kgN.ha⁻¹ propiciou os maiores acúmulos de biomassa nas plântulas dos cultivares de arroz IR42 e IAC4440.

AGRADECIMENTOS

À UFFRJ, Embrapa Agrobiologia, Capes e Faperj.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDANI, J.I.; POT, B.; KIRCHHOF, G.; FALSEN, E; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMANN, A.; GILLIS, M.; DÖBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a milk plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 46, n.3, p. 802-810, 1996.

BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 77, n.3, 2005.

BHATTACHARJEE, R.B; SINGH, A.; MUKHOPADHYAY, S.N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, n. 2, p.199-209, 2008.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n.4, p.1327–1350, 2012.

BODDEY, R.M; OLIVEIRA, O.C; URQUIAGA S., REIS, V.M.; OLIVARES, E.L.; BALDANI, V.L.D.; DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: Contributions and prospects for improvement. **Plant and Soil**,

v.174, n.1, p.195–209, 1995.

DOBEREINER, J. ; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas em plantas não-leguminosas.** Brasília:EMBRAPA-SPI:Itaguaí, RJ, EMBRAPA-CNPAb, 1995. 60p.

FERREIRA, J.S.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, V.L.D. Produção de grãos de arroz em função da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. **Enciclopédia Biosfera**, v.7, n.13, 2011.

GUEDES, H.V.; PERIN, L; REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; TEIXEIRA, K.R.S. **Quantificação de proteínas totais de bactérias diazotróficas crescidas em meio de cultivo semissólido.** Comunicado técnico n. 95. Embrapa: Seropédica. 2007.

GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V.L.D.; JACOB-NETO, J. Influência do nitrogênio mineral e do ph da rizosfera sobre a população de bactérias diazotróficas em plantas de arroz. **Enciclopédia biosfera**, v.7, n.12, 2011.

GUIMARÃES, S. L.; CAMPOS, D. T. S.; BALDANI, V. L. D.; JACOB-NETO, J. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga**,v.23, n.4, p. 32-39, 2010.

HARDOIM, P.R.; VAN OVERBEEK, L.S.; VAN ELSAS, J.D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology** v.16, n. 10, p. 463-471, 2008.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture growing plant without soil. **California Agricultural Experimental Station Circular**, v. 347, p. 1-32, 1950.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Documentos n. 325, Londrina: Embrapa Soja, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n.1, p.413-425, 2010.

JAMES, E.K.; BALDANI, J.I. The role of biological nitrogen fixation by non-legumes in the sustainable production of food and biofuels. **Plant and Soil**, v. 356, n.1, p. 1 - 3, 2012.

KUSS, A.V.; KUSS, V.V.; LOVATO, T.; FLORES, M.L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, v.42, n.10, p.1459-1465, 2007.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n.1, p. 265-275, 1951.

MONTEIRO, R.A.; BALSANELLI, E.; WASSEN, R.; MARIN, A.M.;

BRUSAMARELLO-SANTOS, L.C.C.; SCHMIDT, M.A.; TADRA-SFEIR, M.Z.; PANKIEVICZ, V.C.S.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; PEDROSA, F.O.; SOUZA, E.M. *Herbaspirillum*-plant interactions: microscopical, histological and molecular aspects. **Plant Soil**, v. 356, n. 1, p. 175-196, 2012.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v.1, n.2, p.74-99, 2010.

RADWAN, T.S.D., MOHAMED, Z.K., REIS, V.M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.10, p.987-994, 2004.

RODRIGUES, L.S.; BALDANI, V.L.D.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* na cultura do arroz inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 275-284, 2006.

SARWAR, M.; KREMER, R.J. Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. **Letters in Applied Microbiology**, v. 20, n.5, p. 282-285, 1995.

VARGAS, L.; CARVALHO, T.L.G.; FERREIRA, P.C.G; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I.; HEMERLY, A.S. Early responses of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings to inoculation with beneficial diazotrophic bacteria are dependent on plant and bacterial genotypes. **Plant and Soil**, v. 356, n.1, p.127–137, 2012.