

# Atuação de rizóbios com rizobactéria promotora de crescimento em plantas na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.)

Valéria Nogueira da Silva<sup>1\*</sup>, Luiz Eduardo de Souza Fernandes da Silva<sup>1</sup> e Márcia do Vale Barreto Figueiredo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Rua Dom Manuel de Medeiros s/n, 52171-900, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, Brasil. <sup>2</sup>Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Estação Experimental de Pesquisa de Alagoas (EPEAL), Av. Gal. San Martin, 1371, 50761-000, Bongí, Recife, Pernambuco, Brasil. \*Autor para correspondência. e-mail: vnds1@hotmail.com

**RESUMO.** O objetivo deste estudo foi verificar a potencialidade da colonização conjunta em feijão caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) por *Paenibacillus* e *Bradyrhizobium* em diferentes métodos de inoculação que proporcionam crescimento visando a uma agricultura sustentável. Os trabalhos foram realizados na Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), com Argissolo Amarelo (Itapirema, Estado de Pernambuco), dois modos de inoculação (semente e solo) em cultivar de caupi (IPA-205). Foi determinado: número e matéria seca dos nódulos; matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR); relação MSPA/MSR; Nitrogênio acumulado na MSPA; altura da planta. As estirpes de rizóbios apresentaram comportamento instável nos diferentes métodos de inoculação. A eficiência simbiótica da colonização conjunta do sistema radicular por *Paenibacillus* e as estirpes de *Bradyrhizobium* nos diferentes métodos de inoculação apresentou-se variável. Os benefícios têm sido aqui evidentes e os fatos informados na literatura podem direcionar futuros estudos que ajudem a explicar os comportamentos acima relatados sobre diferentes mecanismos de ação de cada célula bacteriana.

**Palavras chave:** métodos de inoculação, *Paenibacillus*, *Bradyrhizobium*, caupi

**ABSTRACT.** Rhizobias performance with rhizobacteria growth promoter in plants in the cowpea crop (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). The aim of this work was to verify the colonization potential in cowpea bean (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) for *Paenibacillus* and *Bradyrhizobium*, using different inoculation methods to provide growth, seeking a maintainable agriculture. The study was carried out at Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, in Yellow Argisol (Itapirema, Pernambuco State). Two methods of inoculation (seed and soil) in cowpea crop (IPA-205) was used. The following aspects were evaluated: number and dry matter nodule; shoot dry matter (SDM) and root (RDM); relation SDM/RDM; nitrogen accumulated in the SDM and plant height. The rhizobial strains showed low stability in the different inoculation methods. The symbiotic efficiency of the colonization for *Paenibacillus* and the *Bradyrhizobium* strains in the different inoculation methods were variable. Results showed that the benefits here are evident. And, this literature review can address future studies aiming to explain the behaviors mentioned above under different mechanisms of action of each bacterial cell.

**Key words:** inoculation methods, *Paenibacillus*, *Bradyrhizobium*, cowpea.

## Introdução

A cultura do caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) é extremamente rústica, tolerante a altas temperaturas, à seca e com boas condições para adaptação e expansão de áreas exploradas. É cultivado, predominantemente, nas Regiões Norte e Nordeste, onde é mais conhecido por denominações regionais, tais como: feijão-de-corda, feijão de macassar. É a principal cultura de subsistência do semi-árido e fonte de proteínas de baixo custo, notadamente, para as populações carentes. Quase toda sua produção vem do plantio em regime de sequeiro,

onde tem expressiva área cultivada (Melo, 1999).

No Nordeste, seu melhoramento tem sido feito, principalmente, visando à produtividade e à resistência a doenças (Martins *et al.*, 2000). Um dos mecanismos alternativos para o melhoramento de plantas e, conseqüentemente, melhor rendimento é a associação com outros microrganismos que podem melhorar sua resistência a patógenos, além de apresentar efeitos sinérgicos com as bactérias simbióticas. Atualmente, sabe-se que esses microrganismos exercem muitas funções importantes para a sobrevivência do hospedeiro, por meio de diferentes mecanismos que ainda permanecem

obscuros, sabe-se, contudo, que trazem um efeito benéfico à planta e, por esse motivo, são chamadas de Rizobactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (PGPRs).

As PGPRs têm sido apontadas como essenciais ao ecossistema de plantas em relação ao suprimento de elementos de crescimento como nitrogênio, fósforo e ferro (Chanway, 1997), além de aumentarem o comprimento das raízes e o número dos pêlos radiculares. Esses efeitos são atribuídos à produção bacteriana de hormônios vegetais ou reguladores do crescimento vegetal como o ácido indol-acético (AIA), giberelinas e citocininas (Cattelan, 1999), controle biológico (Plebam *et al.*, 1995; Jimenez *et al.*, 2001), indução de resistência sistêmica a patógenos e absorção de nutrientes pela solução do solo (Hallmann *et al.*, 1997).

Outro possível mecanismo que estimula o crescimento da planta hospedeira é utilizado por bactérias denominadas diazotróficas, que usam como fonte de nitrogênio o enorme reservatório de nitrogênio gasoso (N<sub>2</sub>) da atmosfera. Sob condição de limitação de nitrogênio mineral, as bactérias conhecidas como rizóbio formam nódulos simbióticos nas raízes de leguminosas. Nesses nódulos, a bactéria, na forma de bacteróides, converte nitrogênio atmosférico em amônia, através da nitrogenase, que é utilizada pela planta como fonte de nitrogênio e, posteriormente, é transformada em elementos essenciais, como proteínas. Esse processo é chamado de fixação biológica de nitrogênio (Neves, 1981; Neves e Rumijaneck, 1998).

A habilidade dos rizóbios para fixar nitrogênio em simbiose com leguminosas é de considerável importância agrícola, visto que as leguminosas têm, a seu dispor, duas fontes de nitrogênio: o mineral, proveniente do solo e/ou fertilizante e o nitrogênio gasoso, fixado biologicamente. Entretanto, a subida vertiginosa dos preços dos adubos nitrogenados devido ao consumo de energia fóssil em sua fabricação, aliada a graves problemas de poluição, causados pelo uso intensivo desses adubos, tem deixado à agricultura dos países em desenvolvimento e à dos desenvolvidos apenas as alternativas de maximizar a fixação biológica de nitrogênio, otimizar a distribuição e emprego dos compostos nitrogenados dentro das plantas, a de tornar mais eficiente a utilização de carboidratos pelos nódulos (Hungria *et al.*, 1999).

Assim, este trabalho fundamentou-se no estudo do efeito da interação rizóbio com PGPRs cujo objetivo foi: verificar a potencialidade da colonização conjunta de sementes de caupi pela interação *Paenibacillus* e *Bradyrhizobium* em diferentes métodos de inoculação que proporcionam crescimento do caupi visando a uma agricultura sustentável.

## Material e métodos

O cultivar de caupi utilizado foi a IPA-205, e as estirpes de *Bradyrhizobium* e a de *Paenibacillus* usadas encontram-se listadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Estirpes de *Bradyrhizobium* sp. e *Paenibacillus polymyxa*.

Bactérias	Código de Acesso	Isoladas de:	Procedência
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	BR2001	<i>Crotalaria juncea</i> L.	CNPAB-Seropédica-Km 47- RJ
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	NFB -700	<i>Cajanus cajan</i> s	UFPE (NFB) – Laboratório de Microbiologia.
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Loutit (L)	Solo de pastagens: Otago, Nova Zelândia.	Line e Loutit (1971)

A estirpe de *Bradyrhizobium* foi repicada em meio YMA (Agar, manitol, extrato de levedura) com vermelho congo como indicador, segundo Vincent (1970), por 5 dias e, posteriormente, repicada em meio YM (manitol, extrato de levedura) pelo mesmo tempo a uma temperatura de 28°C, sob agitação mecânica. A estirpe de *Paenibacillus* foi repicada em meio GB (Seldin *et al.*, 1983) e incubada a 32°C por 38h. A inoculação e co-inoculação foram efetuadas nas sementes (por 30 minutos em seus respectivos meios de cultura, antes do plantio) e, diretamente, no solo, a uma profundidade de 3,5 cm. Para a co-inoculação foram misturadas as células de *Bradyrhizobium* + células de *Paenibacillus*. Cada semente foi inoculada com 1mL da respectiva cultura líquida com 10<sup>8</sup> cels mL<sup>-1</sup> para *Bradyrhizobium* e 10<sup>7</sup> cels mL<sup>-1</sup> para *Paenibacillus*. Aos 45 dias após o plantio, foram analisadas as seguintes variáveis: número e matéria seca dos nódulos; matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR); relação MSPA/MSR; nitrogênio acumulado na MSPA (Malavolta *et al.*, 1997); altura da planta.

Utilizou-se um Argissolo Amarelo da Estação Experimental da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), em Itapirema, Estado de Pernambuco. Usaram-se 4 kg de solo vaso<sup>-1</sup>, sendo este autoclavado por uma hora à temperatura de 120°C a 101kPa por três dias consecutivos com pH 6,5.

A análise de variância dos dados foi feita seguindo-se o modelo de um delineamento em blocos casualizados (DBC). A comparação das médias foi realizada por meio do teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Os resultados foram analisados entre o grupo A, B e dentro dos grupos.

Grupo A - Tratamentos inoculados apenas com as estirpes de *Bradyrhizobium* sp. (BR2001 e NFB -700), inoculadas no solo e na semente.

Grupo B - Tratamentos co-inoculados com as

estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) e com *Paenibacillus polymyxa* (Loutit (L.)), inoculados no solo e na semente, em mistura.

### Resultados e discussão

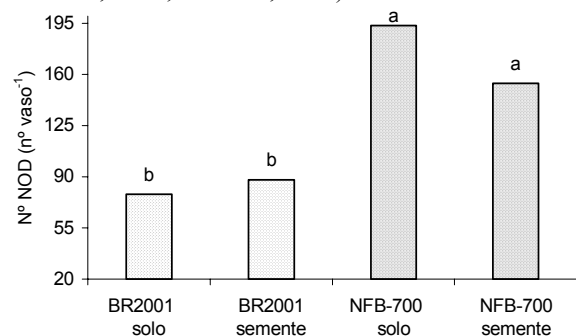
As Figuras 1 e 2 mostram que o número de nódulos (N° nod.), nos tratamentos inoculado e co-inoculado com a estirpe de *Bradyrhizobium sp.* (NFB-700) aumentou quando a estirpe de *Bradyrhizobium sp.* (NFB-700) foi inoculada no solo. Ela apresentou diferença significativa em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey para o tratamento co-inoculado em mistura. Comparativamente para o tratamento com *Bradyrhizobium sp.*, (BR2001) ocorreu o inverso. O tratamento co-inoculado com essa estirpe apresentou maior média para número de nódulo chegando a 11,1%, sugerindo que o *P. polymyxa* (Loutit (L.)), provavelmente, proporciona incrementos na nodulação, aumentando a colonização pelos rizóbios.

Halverson e Handelsman (1991), em trabalho com soja, observaram que, aplicada às sementes, a linhagem de *Bacillus cereus* UW85 trouxe um aumento na nodulação. Para tal fato, sugeriu-se um efeito direto sobre a planta ou sobre o *Bradyrhizobium* por estimular sua colonização, em razão de o solo ter sido autoclavado.

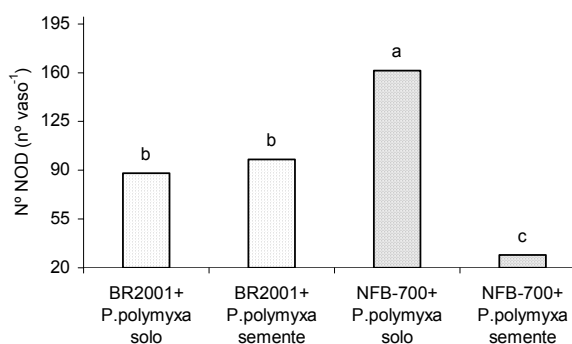
Li e Alexander (1988), em seu trabalho com alfafa co-inoculado com *Rhizobium meliloti* e *Pseudomonas sp.* e com feijão co-inoculado com *Bradyrhizobium japonicum* e *Bacillus sp.*, observaram que o número de nódulos aumentou quando *Bacillus sp.* e *Pseudomonas sp.* foram inoculados tanto no solo quanto na semente.

Pesquisas têm demonstrado o efeito de compostos tóxicos no rizóbio liberados pelas sementes de certas espécies de leguminosas antes e durante a germinação (Vidor, 1979; Date, 1996).

Os mecanismos pelos quais altas concentrações de rizóbios, adicionados ao solo com as sementes são reduzidas, bem como as razões e mecanismos que levam outras estirpes de rizóbio a sobreviver e colonizar o solo ainda não estão perfeitamente delineados (Chatel e Parker, 1973; Cardoso, 1999).



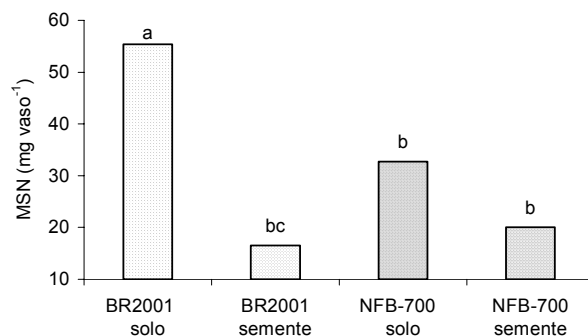
**Figura 1.** Nodulação (N.º NOD) em raízes de plantas de caupi inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) no solo e na semente.



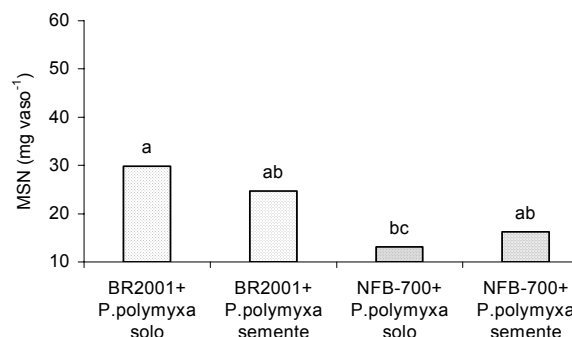
**Figura 2.** Nodulação (N.º NOD) em raízes de plantas de caupi co-inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) e *Paenibacillus polymyxa* (Loutit (L.)) no solo e na semente, em mistura.

O mesmo acontece para a matéria seca de nódulos (MSN), em que a maioria das plantas apresentou maior média quando as estirpes de rizóbios foram introduzidas no solo (Figuras 3 e 4).

Figueiredo *et al.* (2001), trabalhando com feijão caupi co-inoculado com *Bradyrhizobium sp.* e *Bacillus sp.* em diferentes métodos de inoculação, obtiveram o mesmo resultado corroborando com o presente trabalho.

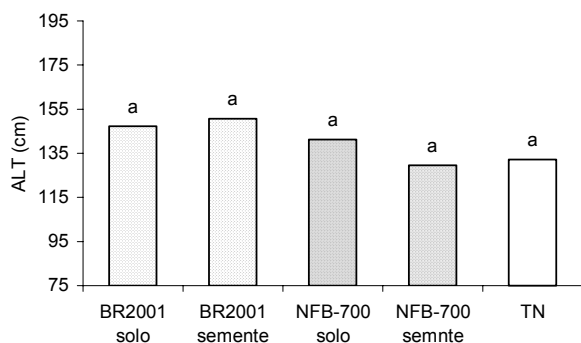


**Figura 3.** Produção de matéria seca de nódulos (MSN) em raízes de plantas de caupi inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) no solo e na semente.

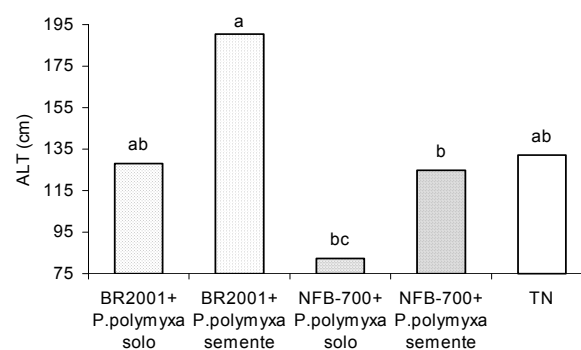


**Figura 4.** Produção de matéria seca de nódulos (MSN) em raízes de plantas de caupi co-inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) e *Paenibacillus polymyxa* (Loutit (L.)) no solo e na semente, em mistura.

As Figuras 5 e 6 mostraram que a maior parte dos tratamentos co-inoculados apresentou médias inferiores em relação aos tratamentos inoculados. Isto sugere um maior gasto de energia para produção dos nódulos e fixação de  $N_2$  que pode refletir uma redução no crescimento da planta.



**Figura 5.** Altura das plantas (ALT) de caupi inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) no solo e na semente, em relação à testemunha nitrogenada (TN).



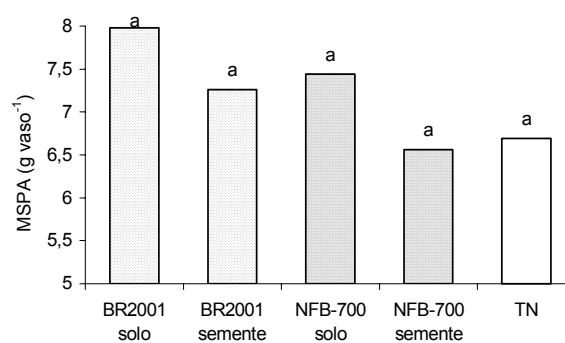
**Figura 6.** Altura de plantas (ALT) de caupi co-inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) e *Paenibacillus polymyxa* Loutit (L) no solo e na semente, em mistura, em relação à testemunha nitrogenada (TN).

O suprimento de carbono nos nódulos fixadores é partilhado entre os componentes dos processos de crescimento e manutenção de nódulos, redução de  $N_2$  pela  $N_2$ ase, assimilação e transporte de N-fixado a partir do nódulo (Mahon, 1983).

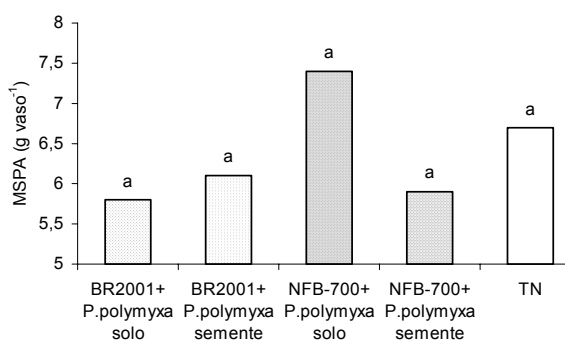
Durante os processos de colonização e desenvolvimento dos nódulos, é necessário gasto de energia para as divisões celulares, obtido da oxidação dos carboidratos produzidos na parte aérea da planta hospedeira (Neves, 1981; Hungria et al., 1999).

Com relação à matéria seca da parte aérea, nas Figuras 7 e 8, verifica-se uma tendência maior para o método de inoculação com rizóbio no solo.

No trabalho de Li e Alexander (1988) houve um acréscimo nessa variável quando a co-inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Bacillus sp.* foi adicionada ao solo.

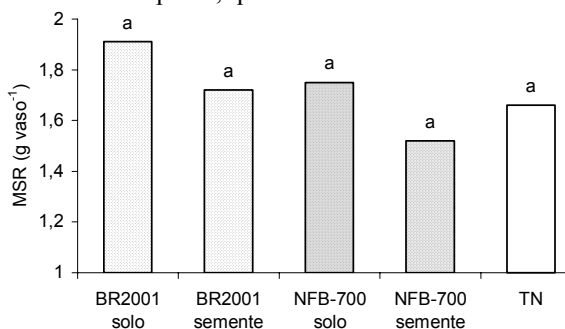


**Figura 7.** Produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) de plantas de caupi inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) no solo e na semente, em relação à testemunha nitrogenada (TN).

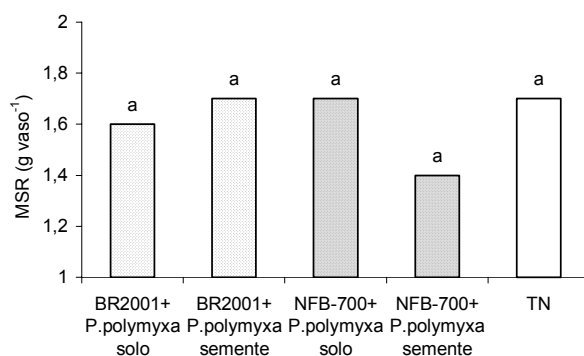


**Figura 8.** Produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) de plantas de caupi co-inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) e *Paenibacillus polymyxa* (Loutit (L) no solo e na semente, em mistura, em relação à testemunha nitrogenada (TN).

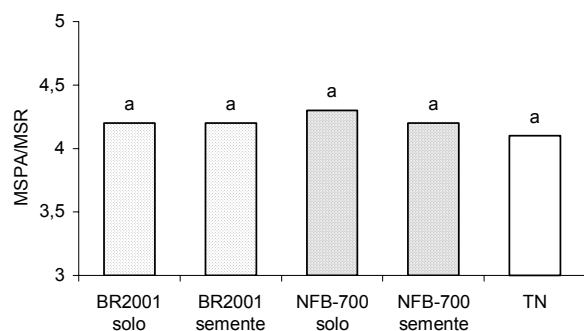
Resultados semelhantes foram encontrados em relação à matéria seca da raiz (MSR) e relação MSPA/MSR como mostra as Figuras 9 e 10, e 11 e 12 respectivamente, em especial para a estirpe NFB-700 que permanece com a mesma tendência de melhor resposta, quando introduzida no solo.



**Figura 9.** Produção de matéria seca da raiz (MSR) de plantas de caupi inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) no solo e na semente, em relação à testemunha nitrogenada (TN).



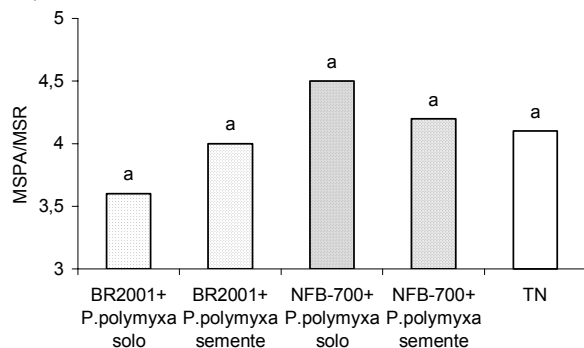
**Figura 10.** Produção de matéria seca da raiz (MSR) de plantas de caupi co-inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) e *Paenibacillus polymyxa* (Loutit (L) no solo e na semente, em mistura, em relação à testemunha nitrogenada (TN).



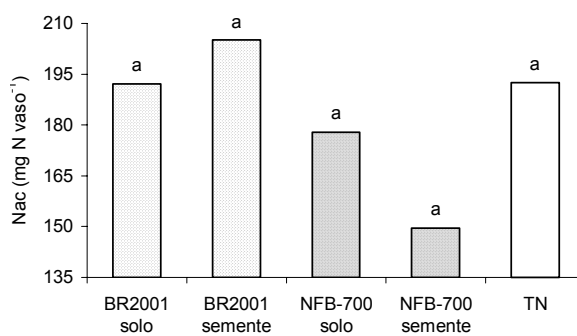
**Figura 11.** Relação matéria seca da parte aérea e da raiz (MSPA/MSR) de plantas de caupi inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) no solo e na semente, em relação à testemunha nitrogenada (TN).

No que se refere ao nitrogênio acumulado na parte aérea, as Figuras 13 e 14 indicam que a estirpe de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001) apresentou maiores valores de médias quando inoculada e co-inoculada na semente.

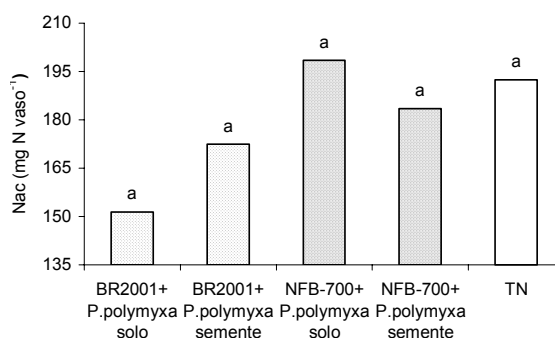
Ocorre, porém, o inverso com a estirpe de *Bradyrhizobium sp.* (NFB-700), em que o tratamento co-inoculado apresentou maior acúmulo de nitrogênio, de até 22,6%.



**Figura 12.** Relação matéria seca da parte aérea e da raiz (MSPA/MSR) de plantas de caupi co-inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) e *Paenibacillus polymyxa* (Loutit (L) no solo e na semente, em mistura, em relação à testemunha nitrogenada (TN).



**Figura 13.** Nitrogênio acumulado (Nac) na parte aérea de plantas de caupi inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) no solo e na semente, em relação à testemunha nitrogenada (TN).



**Figura 14.** Nitrogênio acumulado (Nac) na parte aérea de plantas de caupi co-inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium sp.* (BR2001 e NFB-700) e *Paenibacillus polymyxa* (Loutit (L) no solo e na semente, em mistura, em relação à testemunha nitrogenada (TN).

Li e Alexander (1988), tratando sementes com *Streptomyces griseus*, observaram que o conteúdo de N na alfafa aumentou pelo *Rhizobium meliloti*.

Figueiredo *et al.* (2001) observaram maior acúmulo de nitrogênio quando a estirpe de *Bradyrhizobium sp.* foi inoculada no solo e *Bacillus sp* na semente, em que a maioria das variáveis estudadas apresentou a mesma tendência em relação aos diferentes métodos de inoculação.

Observa-se ainda que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre todos os tratamentos inoculados e co-inoculados com BR-2001 e NFB-700 em relação à Testemunha Nitrogenada (TN), mostrando que o nitrogênio proveniente da simbiose foi suficiente para prover as necessidades da planta, podendo o efeito ser dependente da estirpe introduzida de rizóbio. Essa bactéria pode suprir grande parte do nitrogênio necessário ao desenvolvimento e produtividade do caupi.

### Conclusão

As estirpes de rizóbios apresentaram comportamento instável nos diferentes métodos de inoculação;

A eficiência simbiótica da colonização conjunta em

caupi pela interação *Paenibacillus* e as estirpes de *Bradyrhizobium* nos diferentes métodos de inoculação apresentou-se variável;

Os benefícios têm sido aqui evidentes. Os fatos informados na literatura podem direcionar futuros estudos que ajudem explicar os comportamentos acima relatados sobre diferentes mecanismos de ação de cada célula bacteriana.

### Referências

- CARDOSO, E.J.B.N. Curso de especialização em manejo do solo. 3º Módulo: Biologia e poluição do solo/ recuperação de solos degradados e/ou contaminados. Piracicaba: São Paulo. 51p. 1999.
- CATTELAN, A.J. *Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal*. Londrina: Embrapa, 1999.
- CHATEL, D.L.; PARKER, P.A. The colonization of host root and soil by rhizobia-I. Species and strain differences in the field. *Soil Biol. Biochem.*, Elmsford, v. 5, p. 425-432, 1973.
- CHANWAY, C.P. Inoculation of tree roots with plant growth promoting soil bacteria: an emerging technology for reforestation. *Rev. Forest. Sci.*, Bethesda, v. 43, p. 99-112, 1997.
- DATE, R. Selection of strains for inoculants production. In: BALATTI, A.P.; FREIRE, J.R.J. (Ed.). *Legume inoculants. Selection and characterization of strains. Production, use and management*. Buenos Aires, cap. 2, p. 38-72, 1996.
- FIGUEIREDO, M.V.B. et al. *Bradyrhizobium-Bacillus* interaction on nodulation and development of cowpea. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. 21., 2001. Foz do Iguaçu. *Anais...* Foz do Iguaçu: Paraná. 2001. p. 253.
- HALLMANN, J. et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.*, Ottawa, v. 43, p. 895-914, 1997.
- HALVERSON, L.J.; HANDELSMAN, J. Enhancement of soybean nodulation by *Bacillus cereus* UW85 in the field and in a growth chamber. *Appl. Environ. Microbiol.*, Washington, D.C., v. 57, n. 9, p. 2767-2770, 1991.
- HUNGRIA, M. et al. Nitrogen Fixation: From molecules to crop productivity. In: INTERNACIONAL CONGRESS ON NITROGEN FIXATION. 12., 1999, Foz do Iguaçu. *Anais...* Foz do Iguaçu: UFPN, 1999. p. 384.
- JIMENEZ, M.B. et al. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasiliense*. *Soil Biol. Biochem.*, Elmsford, v. 33, p. 167-172, 2001.
- LI, DE-MING.; ALEXANDER, M. Co-inoculation with antibiotic-producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. *Plant and Soil*, Dordrecht. v. 108, p. 211-119, 1988.
- LINE M.A.; LOUTIT M.W. Non-symbiotic nitrogen fixing organisms from some New-Zealand tussock grassland soils. *J. Gen. Microbiol.* n. 66, p. 309-318, 1971.
- MAHON, J.D. Energy relationships. In: BROUGHTON, W.J. (Ed.). *Nitrogen fixation*. Oxford: Clarendon Press, cap. 2, p. 199-325, 1983.
- MALAVOLTA, E. et al. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997.
- MARTINS, L.M.V. et al. Inoculação de caupi cultivada em área de sequeiro do sertão nordestino. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 24., 2000, Santa Maria. *Anais...* Santa Maria: SBFS, 2000. p. 78.
- MELO, A.R.B. *Utilização de nitrato e ajustamento osmótico em plantas de feijão de corda (Vigna unguiculata [L] Walp.) submetidas a diferentes níveis de estresse salino*. 1999. Tese (Doutorado)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.
- NEVES, M.C.P. Interdependência fisiológica entre os componentes do sistema simbiótico. *Rhizobium-leguminosa. Rev. Bras. Cienc. Solo*, Campinas, v. 5, p. 79-92, 1981.
- NEVES, M.C.P.; RUMIJANEK, N.G. Ecologia das bactérias diazotróficas nos solos tropicais. In: MELO, I.S. de; AZEVEDO, J.L. de. (Ed.). *Ecologia microbiana*. São Paulo: Jaguariúna, cap. 1, p. 15-60, 1998.
- PLEBAN, S. et al. Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in the greenhouse using endophytic *Bacillus* sp. *J. Plant Pathol.*, Oxford, v. 101, p. 665-672, 1995.
- SELDIN, L. et al. *Bacillus* nitrogen fixers from brazilian soils. *Plant and Soil*, Dordrecht. v. 70, p. 243-255, 1983.
- VINCENT J.M. *Manual for the practical study of root nodule bacteria*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970.
- VIDOR, C. Estudos ecológicos do *Rhizobium* no solo: curso rápido sobre tecnologia do *Rhizobium*. Porto Alegre: Mircen, 1979.

Received on February 02, 2006.

Accepted on August 10, 2006.