



**MICROBIOLOGIA DO
SOLO:
DESAFIOS PARA O
SÉCULO XXI**

Editores

*Mariangela Hungria
Élcio Libório Balota
Arnaldo Colozzi-Filho
Diva de S. Andrade*

BIOMASSA MICROBIANA E CICLAGEM DO NITROGÊNIO	81
LINKAGES BETWEEN THE SOIL MICROBIAL BIOMASS AND CLIMATIC AND BIOTIC FACTORS.	
David A. Wardle	82
OS MICRORGANISMOS DO SOLO E O CICLO DO NITROGÊNIO.	
Segundo Urquiaga; Bruno J.R. Alves; Robert M. Boddey	96
BIODEGRADAÇÃO POR MICRORGANISMOS	99
TRANSFORMATION AND DEGRADATION OF PESTICIDES IN SOILS - THE ROLE OF SOIL MICROORGANISMS.	
Irene Scheunert	100
A BIOACUMULAÇÃO E A PERSISTÊNCIA DOS XENOBIONTES NO AMBIENTE.	
Tomaz Langenbach	119
BIODEGRADAÇÃO DE MOLÉCULAS ORGÂNICAS: EXPERIÊNCIA COM BIFENILAS POLICLORADAS.	
Vivian Helena Pellizari	137
METODOLOGIAS EMPREGADAS NA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS.	
Moacir Horacio M. Oliveira	140
DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DA MICROBIOLOGIA NA INDÚSTRIA DE PETRÓLEO.	
Gabriel Henrique da Silva	151
INTERAÇÃO ENTRE PLANTAS E MICRORGANISMOS DO SOLO	152
INTERAÇÃO PLANTA-MICRORGANISMOS: UMA VISÃO GERAL.	
José Oswaldo Siqueira	153
MICORRIZAS· PROCESOS ENZIMATICOS DE LA INFECCION RADICULAR.	
Juan.A. Ocampo; I. Garcia-Romera; J.M. Garcia-Garrido	177

- PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases. Effects of pectinesterases. **J. Food Biochem.**, v.6, p.57-74, 1982.
- REXOVA-BENKOVA, L.; MARKOVIC, O. Pectic enzymes. **Adv. Carb. Chem. Biochem.**, v.33, p.323-385, 1976, 1976.
- SEXTON, R.; ROBERTS, J.A. Cell biology of abscission. **Ann. Rev. Plant Physiol.** 33 133-162 1982.
- SPANU, P.; BONFANTE-FASOLO, P. Cell-wall-bound peroxidase activity in roots of mycorrhizal *Allium porum*. **New Phytologist.**, v.109, p.119-124, 1988.
- UMALI-GARCIA, M., HUBBELL, D.H., GASKINGS, M.H., DAZZO, F.B. Association of *Azospirillum* with grass roots. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.39, p.219-226, 1980.
- VERMA, D.P.S. & ZOGBI, V. A cooperative action of plant and *Rhizobium* to dissolve the host cell wall during development of root symbiosis. **Plant Sci. Letts.**, v.13, p.137-142, 1979.

MICORRIZAS: PROCESOS ENZIMATICOS DE LA INFECCION RADICULAR

Juan.A. Ocampo; I. Garcia-Romera; J.M. Garcia-Garrido

1996

Estación Experimental del Zaidín, C.S.I.C., Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos, Prof. Albareda 1, E- 18008, Granada, España.

Se sabe que los hongos micorrizicos arbusculares (MA) mejoran el crecimiento de las plantas (Harley, 1986). El proceso de colonización de la raíz de las plantas por hongos arbusculares implica la formación de hifas intercelulares, arbusculos intracelulares muy ramificados y vesículas distribuidas por la raíz (Bonfante-Fasolo, 1984). Esas observaciones sugieren que el establecimiento de una simbiosis intracelular entre el hongo y la raíz requiere que el hongo atraviese la pared y penetre en la célula hospedadora. Las enzimas hidrolíticas que actúan sobre la pared celular vegetal tales como celulasas, hemicelulasas y pectinasas deben estar implicados en estos procesos (García-Romera et al., 1990). Se conoce bastante bien el papel de las enzimas hidrolíticas en los cambios fisiológicos y patológicos de las plantas (Sexton & Roberts, 1982, Coughlan & Ljungdhal, 1988). La mayoría de hongos y bacterias fitopatógenos producen enzimas que degradan sustancias pécticas y celulósicas (Albersheim & Anderson-Prouty, 1975). Esas enzimas degradan los enlaces a 1,4 entre polímeros de ácido galacturónico y los enlaces b 1,4 entre polímeros de glucosa. Estas enzimas juegan un papel fundamental en la patogénesis vegetal (Garibaldi & Bateman, 1971, Coughlan & Ljungdhal, 1988), sin embargo, la investigación de esas enzimas en raíces de plantas y el modo de acción en los procesos de penetración y desarrollo de microorganismos simbióticos es muy escasa (Collmer et al., 1982). La infección de la raíz por microorganismos mutualistas como *Rhizobium* y *Azospirillum* parece estar mediada por enzimas hidrolíticas de pared (Collmer & Keen, 1986, Umali-García et al., 1980). Apesar de la baja producción de enzimas hidrolíticas por esos microorganismos mutualistas (Morales et al., 1984) esas enzimas parecen estar involucradas en la

disolución de la pared celular lo cual permite a *Rhizobium* entrar en la célula hospedadora (Chalifour & Benhamou, 1989).

La observación de que los hongos arbusculares penetran la pared celular de las plantas en el lugar de contacto durante el establecimiento de una simbiosis intracelular (Bonfante-Fasoli 1984), indica que las enzimas hidrolíticas pueden estar involucradas en los procesos de colonización de la raíz por hongos arbusculares. Sin embargo, debido a que los hongos arbusculares no se han podido cultivar todavía, de forma axénica, en ausencia de la planta es difícil confirmar la producción de las enzimas hidrolíticas por los hongos formadores de micorrizas arbusculares o su posible participación en la colonización de la raíz debido a la baja cantidad de enzimas que es lógico que produzcan, tal y como ocurre con otros microorganismos mutualistas (Morales et al., 1984; Angers 1988).

Los intentos que se habían efectuado para demostrar la producción de pectinasa y celulasa en extractos de tejidos micorrizados no tuvieron éxito (Anderson, 1988). Sin embargo, posteriormente García Romera et al (1990) mediante experimentos de represión catabólica observaron que las enzimas pectolíticas podían estar implicados en los procesos de colonización de la raíz por hongos MA. Estos experimentos se llevaron a cabo, bajo condiciones estériles, en tubos de cristal llenos con una mezcla de arena:vermiculita, inoculados con esporas de *Glomus mosseae* en alfalfa como planta hospedadora. Se aplicaron al medio de cultivo pectina, pectato sódico y carboximetil celulosa (CMC) a las concentraciones de 0, 0.05, 0.2 o 0.6%. También se aplicó pectina y pectato sódico a las concentraciones del 1%. El retraso en el comienzo de la infección y la disminución en el "plateau" de las curvas de infección arbuscular fueron paralelas al incremento de la concentración de pectina y pectato sódico que se adicionó al medio. La pectina y el pectato sódico aplicado no afectó el crecimiento de las plantas, eliminando así el posible efecto negativo de la difusión insuficiente de oxígeno (García-Romero et al., 1990). Estos resultados se ven reforzados por el hecho de que tratamientos con mayor viscosidad como, por ejemplo, soluciones de L-ascorbato o de polisacáridos extracelulares de *Rhizobium meliloti*, utilizados en idénticas condiciones no produjeron ninguna inhibición en la infección arbuscular de las plantas (Azcon-Aguilar & Bana,

1981). Esos resultados indican que parece ser necesario un cierto nivel de producción enzimática para el desarrollo inicial y posterior de la infección arbuscular. Una vez que la infección MA se establece en una raíz parece facilitarse la infección posterior (Mosse & Hepper., 1975), sin embargo, el nivel de enzimas pectolíticas producidos por las esporas inoculadas o por el micelio procedente de otra parte de la raíz infectada parece ser insuficiente para producir el mismo grado de infección en los tratamientos a los que se añadió pectina o pectato sódico que en el control no micorrizada. La aplicación de pectina o de pectato sódico al medio de cultivo "protege" las paredes celulares de la raíz de las pectinasas producidas por el hongo, retrasando la expresión de la actividad enzimática sobre la pared celular por un período paralelo al nivel de sustrato añadido. La presencia de sustrato en esta forma fácilmente accesible inhibe la actividad enzimática mediante la acumulación del producto o mediante la represión catabólica de la síntesis enzimática (Collmer & Keen., 1986). Por lo tanto las pectinasas pueden estar implicadas en la penetración de los hongos arbusculares en las células radicales de las plantas. Sin embargo, el efecto de las celulosas en el proceso de infección no fue claro, según los resultados obtenidos en los mismos experimentos, ya que no se encontró relación entre los niveles de celulosa añadidos al medio de cultivo y el porcentaje de infección.

Los extractos de esporas de *G. mosseae* produjeron zonas de hidrólisis en placas de agar con pectina y CMC teñidas con rojo Rutenio y rojo Congo respectivamente (Chalifour & Benhamou, 1989). Se ha puesto de manifiesto que la degradación de la pectina se debe a la acción de un complejo enzimático (Collmer & Keen, 1986). Se ha observado que las esporas y el micelio externo de *G. mosseae* poseen un complejo de enzimas pectinolíticas [(pectin esterasa (PE), endopolimetilgalacturonasa (endo-PMG), polimetilgalacturonasa (PMG)) y pectin liasa (PL)], pectolíticas [(endopoligalacturonasa (endoPG), poligalacturonasa (PG) y pectato liasa (PAL)] y celulolíticas (endo y exocelulasas) (García-Garrido et al., 1992a). Se ha encontrado que la actividad poligalacturonasa es mayor en hongos patógenos que en micorrizas ericoides y esta actividad es, a su vez, mayor que la del micelio externo de *G. mosseae*.

La presencia de esas enzimas hidrolíticas en las esporas y micelio externo puede ser una indicación de los tipos de enzimas que los hongos micorrizicos son capaces de producir en relación

a la colonización de la raíz. Sin embargo, la capacidad de los microorganismos para producir enzimas hidrolíticas *in vitro* no constituye una prueba de su patogenicidad (Angle, 1986). Algunos microorganismos son capaces de producir enzimas hidrolíticas en medio nutritivo sintético y siempre poseen la capacidad de producirlos *in vivo*. Cuando el hongo arbuscular coloniza y penetra la pared celular radical produce una rotura mínima que no afecta a la viabilidad de la célula vegetal (Bonfante-Fasolo & Vian, 1989). Por tanto, se puede esperar que los hongos micorrizicos produzcan cantidades abundantes de enzimas que puedan macerar el tejido cortical de la raíz. La confirmación de la producción de enzimas hidrolíticas puede estar, por tanto, dificultada por los niveles tan bajos de producción enzimática tal y como se ha encontrado en otros microorganismos mutualistas. Otras causas responsables de la dificultad para detectar estas enzimas puede radicar en la composición química de la pared celular de las plantas las cuales reprime o controla la producción de enzimas hidrolíticas (Rexova-Benkova & Markovic, 1976). Además de este mecanismo protector, hay la posibilidad del efecto de otros inhibidores, incluyendo compuestos fenólicos (Mullen & Bateman, 1971; Dazzo & Hubbel, 1974) los cuales se pueden producir durante el proceso de colonización o durante la extracción de las enzimas a partir de los tejidos colonizados. El tipo de extractante puede, por tanto, influenciar la cantidad de enzimas que se pueden detectar en la raíz (Morales et al., 1984). Se han ensayado varios procedimientos de extracción y los tampones más adecuados fueron 250 mM NaCl para PE, citrico-phosphato (CP) para las otras enzimas pectolíticas (García-Romera et al., 1991a) y 1 M Tris-HCl para las enzimas celulolíticas (García-Garrido et al., 1992a).

La producción de enzimas hidrolíticas se estudió durante el proceso de penetración y desarrollo de *G. mosseae* en raíces de lechuga, el cual mostró un desarrollo típico de colonización arbuscular: 15 días después de transplantar la colonización se incrementó, alcanzando un máximo a los 50 días. El número de vesículas alcanzó un máximo a los 35 días y disminuyó después de 50 días. No hubo una disminución aparente en el número de puntos de entrada, el cual alcanzó un máximo a los 80 días de crecimiento de la planta. El desarrollo de los arbusculos se incrementó hasta los 50 días de crecimiento de la planta (García-Romera et al., 1991c).

La actividad PE fue mayor en plantas inoculadas con *G. mosseae* que en los controles, a lo largo del proceso de colonización de la raíz. Se piensa que este enzima facilita la acción de las otras pectinasas (Pressey & Avant, 1992). Las actividades Endo-PMG, PMG y PNL (enzimas pectinolíticas) fueron superiores en plantas inoculadas con *G. mosseae* que en los controles, durante la etapa logarítmica de crecimiento del hongo arbuscular. El incremento de estructuras fúngicas que penetran la pared celular durante la etapa logarítmica de colonización de la raíz (Hayman, 1983) puede explicar el incremento en las actividades endo-PMG, PMG y PNL. Sin embargo, las actividades endo-PG, PG and PL (enzimas pectinolíticas) detectadas en plantas micorrizadas fueron similares a los controles no micorrizados (García-Romera et al., 1991c). La ausencia de diferencias en la actividad de esas enzimas degradativas no es, sin embargo, una evidencia conclusiva de que no participan en los procesos de colonización de la raíz, ya que esas enzimas se encuentran en los extractos de esporas y micelio externo de *G. mosseae* (García-Romera et al., 1991b). Esos resultados sugieren que la planta controla la producción y/o la actividad de esas enzimas (Rexova-Benkova & Markovic, 1976), evitando, por lo tanto, la rotura indiscriminada de la pared celular. PE, endo-PMG, PMG y PNL parecen ser las principales pectinasas involucradas en la colonización de plantas de lechuga por *G. mosseae*. Por lo tanto parece que un sistema de enzimas degradadores de pectina parece jugar un papel más importante que un sistema de enzimas degradadoras de pectato, en el proceso de colonización de la raíz por hongos arbusculares. Las actividades endo y exoglucanasa de plantas micorrizadas de 30 días de cultivo, es decir cuando el hongo estaba en la fase logarítmica de crecimiento, fueron superiores a las de plantas no micorrizadas. No se encontró relación entre el número de vesículas y las actividades celulolíticas, sin embargo el máximo de actividad celulolítica coincidió con el incremento en la formación de puntos de entrada y desarrollo de arbusculos (García-Garrido et al., 1992b). La formación de puntos de entrada y de arbusculos requiere que la hifa fúngica pase a través de la pared celular, después de lo cual se forma una matriz interfacial alrededor de la hifa (Bonfante-Fasolo et al., 1984). Esta matriz está compuesta de ácido poligalacturónico y material celulosídico procedente del hospedador (Bonfante-Fasolo et al., 1990). Esas observaciones citoquímicas sugieren que los hongos arbusculares producen enzimas

hidrolíticas, lo que permitiría la penetración de la pared celular sin afectar la viabilidad de la célula hospedadora (Bonfante-Fasolo et al., 1984; Bonfante-Fasolo et al., 1990). Sin embargo, la rotura de las paredes durante el desarrollo fúngico debe de ser localizada y, en consecuencia, es difícil detectar la actividad de las enzimas degradadores de la pared. De hecho las actividades hidrolíticas fueron extremadamente bajas tal y como debe esperarse de una interacción mutualística. Por tanto es difícil demostrar una relación estrecha entre la evolución de las diferentes actividades hidrolíticas y el desarrollo de las estructuras fúngicas.

Las plantas de lechuga suprimieron la actividad pectolítica de *G. mosseae* y disminuyeron las actividades celulolíticas y pectinolíticas (excepto PE) del endofito arbuscular a un nivel similar o menor que el de las raíces no micorrizadas. Esos resultados sugieren que el crecimiento del hongo arbuscular en el interior de la raíz puede ser controlado por la planta (Anderson, 1988), y que ese control puede inhibir la producción de esas enzimas hidrolíticas por el hongo como ocurre en el caso de otras enzimas, evitando la rotura indiscriminada de la pared celular (Spanu & Bonfante-Fasolo, 1988).

Las endoglucanasas están también presentes en raíces no colonizadas durante el crecimiento y desarrollo de la planta (Byrne et al., 1975). Se ha observado que varias bandas de actividad endoglucanasa de plantas micorrizadas poseen la misma movilidad electroforética que las de plantas no micorrizadas, sin embargo, algunas de esas bandas aparecían en plantas micorrizadas en estadios de crecimiento anteriores al de plantas no micorrizadas (García-Garrido et al., 1992c). La presencia de bandas diferentes a las observadas en plantas nomicorrizadas y a las procedentes de micelio externo sugiere que alguna de estas actividades puede inducirse en la planta por el hongo. Esos resultados indican que las endoglucanasas producidas por la planta o por el hongo arbuscular pueden estar implicadas en el proceso de degradación de la pared hospedadora y en la movilización de la pared durante la colonización de la raíz tal y como se ha sugerido para otras asociaciones simbióticas. Alguna de las actividades endoglucanasicas se pueden atribuir a la fase extramatrical del hongo ya que al menos una de las actividades endoglucanasicas encontradas en el micelio

externo y en los extractos de raíces micorrizadas poseen la misma movilidad electroforética (García-Garrido et al., 1992c).

La secuencia de actividades hidrolíticas observadas en la asociación MA y el hecho de que las estructuras fúngicas de *G. mosseae* mostraran actividad hidrolítica sugiere que esas enzimas juegan un papel importante en el proceso de colonización de la raíz por los hongos arbusculares.

Referencias

- ALBERSHEIM, P.; ANDERSON-PROUTY, A.J. Carbohydrates proteins, cell surface and the biochemistry of pathogenesis. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v.26, p.31-52, 1975.
- ANDERSON, A.J. Mycorrhizae-host specificity and recognition. **Phytopathology**, v.78, p.375-378, 1988.
- ANGLE, J.S. Pectin and proteolytic enzymes produced by fast- and slow-growing soybean rhizobia. **Soil Biol. Biochem.**, 18, 115-116, 1986.
- AZCON-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. Implications of some extracellular products from soil microorganisms of plant infection by VA-mycorrhizal fungi. In: FAO/IAEA CONSULTANT MEETING ON THE USE OF ISOTOPOS IN STUDIES OF NUTRIENT AVAILABILITY TO FOOD CROPS BY ENDOMYCORRHIZAS, Vienna, Austria. Vienna: FAO,IAEA, 1981. p. 109-126.
- BYRNE, H.; CHRISTOU, N.V.; PAL, D.; VERMA, S.; MACLACHLAN, G.A. Purification and characterization of two cellulases from auxin treated pea epicotyls. **J. Biol. Chem.**, v.250, p.1013-1018, 1975.
- BONFANTE-FASOLO, P. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In: OWELL, C. L.I, BAGYARAJ, D.J., eds. **VA Mycorrhizas** Boca Raton, Florida: CRC Press, 1984, p.5-33.

- BONFANTE-FASOLO, P.; VIAN, B. Cell wall architecture in mycorrhizal roots of *Allium porrum* L. **Ann. Sc. Natur., Botan**, v.10, p.97-109, 1989.
- BONFANTE-FASOLO, P.; VIAN, B.; PEROTTO, S.; FACCIO, A.; KNOX, J.P. Cellulose and pectin localization in roots of mycorrhizal *Allium porrum*: labelling continuity between host cell and interfacial material. **Planta**, v.180, p.537-547, 1990.
- CHALIFOUR, F.P.; BENHAMOU, N. Indirect evidence for cellulase production by *Rhizobium* pea root nodules during bacteroid differentiation: cytochemical aspects of cellulase breakdown in rhizobial droplets. **J. Microbiol.**, v.35, p.821-829, 1989.
- COLLMER, A.; KEEN, N.T. The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. **Annu. Rev. Phytopathol.**, 24, 383-409, 1986.
- COLLMER, A.; BERMAN, P.; MOUNT, M.S. Pectate lyase regulation and bacterial soft-root pathogenesis. In: (MOUNT, M.S.; LACY G.H., eds.). **Phytopathogenic Prokaryotes, Vol. I**, pp. 395-422., London: Academic Press, 1982. p.395-422.
- COUGHLAN, M.P.; LJUNGDHAL, L.G. Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzyme systems. In: (AUBERT, J.P.; BEGUIN, P.; MILLET, J.). **Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation**. New York: Academic Press, 1988. p.11-30.
- DAZZO, F.; HUBBELL, D. A quantitative assay of insoluble polyvinylpyrrolidone. **Plant Soil**, v.40, p.435-439, 1974.
- GARCIA-GARRIDO, J.M.; GARCIA-ROMERA, I.; OCAMPO, J.A. Cellulase activity in lettuce and onion plants colonized by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. **Soil Biol. Biochem.**, v. 25, p.503-504, 1992a.
- GARCIA-GARRIDO, J.M.; GARCIA-ROMERA, I.; OCAMPO, J.A. Endoglucanase activity in lettuce plants colonized with the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum*. **Soil Biol. Biochem.**, v.24, p.955-959, 1992b.
- GARCIA-GARRIDO, J.M.; GARCIA-ROMERA, I., OCAMPO, J.A. Cellulase production by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd. Gerd. and Trappe). **New Phytol.**, v.121, p.221-226, 1992c.
- GARCIA-ROMERA, I., GARCIA-GARRIDO, J.M., MARTINEZ-MOLINA, E., OCAMPO, J.A. Possible influence of hydrolytic enzymes on vesicular arbuscular mycorrhizal infection of alfalfa. **Soil Biol. Biochem.**, v.22, p.149-152, 1990.
- GARCIA-ROMERA, I., GARCIA-GARRIDO, J.M., MARTINEZ-MOLINA, E., OCAMPO, J.A. Production of pectolytic enzymes in lettuce root colonized by *Glomus mosseae*. **Soil Biol. Biochem.**, v.23, p.597-601, 1991a.
- GARCIA-ROMERA, I., GARCIA-GARRIDO, J.M., OCAMPO, J.A. Pectolytic enzymes in the vesicular-arbuscular fungus *Glomus mosseae*. **FEMS Microbiol. Letts.**, v.78, p.343-346, 1991b.
- GARCIA-ROMERA, I., GARCIA-GARRIDO, J.M., OCAMPO, J.A. Pectinase activity in vesicular-arbuscular mycorrhiza during colonization of lettuce. **Symbiosis**, v.12, p.189-198, 1991c.
- GARIBALDI, A., BATEMAN, D.F. Pectic enzymes produced by *Erwinia chrysanthemi* and their effect on plant tissue. **Physiol. Plant Pathol.**, v.1, p.25-40, 1971.
- HARLEY, J.L. Mycorrhizal studies. past and future. Mycorrhizae: physiology and genetics. EUROPEAN SYMPOSIUM ON MYCORRHIZA, Dijon, Paris, 1986. **Proceedings**. Dijon, 1986.
- HAYMAN, D.S. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. **Can. J. Bot.**, v.61, p.944-963, 1983.
- MORALES, V.M., MARTINEZ-MOLINA, E., HUBBELL, D.H. Cellulase production by *Rhizobium*. **Plant Soil**, v.80, p.407-415, 1984.
- MOSSE, B., HEPPEL, C. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in root organ cultures. **Physiol. Plant Pathol.**, v.5, p.215-223, 1975.
- MULLEN, J.M., BATEMAN, D.F. Production of an endo-polygalacturonate trans-eliminase by potato dry-root pathogen, *Fusarium roseum* "Avenaceum", in culture and in diseased tissue. **Physiol. Plant Pathol.**, v.1, p.363-373 1971.

- PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases. Effects of pectinesterases. **J. Food Biochem.**, v.6, p.57-74, 1982.
- REXOVA-BENKOVA, L.; MARKOVIC, O. Pectic enzymes. **Adv. Carb. Chem. Biochem.**, v.33, p.323-385, 1976, 1976.
- SEXTON, R.; ROBERTS, J.A. Cell biology of abscission. **Ann. Rev. Plant Physiol.** 33 133-162, 1982.
- SPANU, P.; BONFANTE-FASOLO, P. Cell-wall-bound peroxidase activity in roots of mycorrhizal *Allium porum*. **New Phytologist.**, v.109, p.119-124, 1988.
- UMALI-GARCIA, M.; HUBBELL, D.H.; GASKINGS, M.H., DAZZO, F.B. Association of *Azospirillum* with grass roots. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.39, p.219-226, 1980.
- VERMA, D.P.S. & ZOGBI, V. A cooperative action of plant and *Rhizobium* to dissolve the host cell wall during development of root symbiosis. **Plant Sci. Letts.**, v.13, p.137-142, 1979.

ECOSSISTEMAS E ECOLOGIA MICROBIANA