

JENNIFER KATHERINE SALGUERO LONDOÑO

**Análises da expressão gênica da linhagem SR1.6/6 de
Methylobacterium mesophilicum em interação com citros (*Citrus
sinensis*), soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

São Paulo

2022

JENNIFER KATHERINE SALGUERO LONDOÑO

**Análises da expressão gênica da linhagem SR1.6/6 de
Methylobacterium mesophilicum em interação com citros (*Citrus
sinensis*), soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Welington Luiz de Araújo

Versão original

São Paulo

2022

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Salguero Londoño, Jennifer Katherine

Análises da expressão gênica da linhagem SR1.6/6 de *Methylobacterium mesophilicum* em interação com citros (*Citrus sinensis*) soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*) / Jennifer Katherine Salguero Londoño; orientador Wellington Luiz de Araújo. -- São Paulo, 2022.

140 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Interação. 2. Transcriptoma. 3. Expressão gênica. 4. SR1.6/6. 5. Planta hospedeira. I. de Araújo, Wellington Luiz, orientador. II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato (a): Jennifer Salguero Londoño

Titulo da Dissertação/Tese: Análises da expressão gênica da linhagem SR1.6/6 de *Methylobacterium mesophilicum* em interação com citros (*Citrus sinensis*), soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*).

Orientador: Welington Luiz de Araújo

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado/Tese de Doutorado, em sessão publica realizada a/...../....., considerou o(a) candidato(a):

() **Aprovado(a)** () **Reprovado(a)**

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:



Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508 000
Comissão de Ética em Pesquisa - Telefone(11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO DE ISENÇÃO **800/2016 - ERRATA**

Certificamos que o Protocolo CEP-ICB nº 800/2016 referente ao projeto intitulado: "Análise transcriptômica e da expressão gênica de *Methylobacterium mesophilicum* SR1.6/6 durante a interação com *Citrus sinensis*, *Glycine max* e *Zea mays*", sob a responsabilidade do(a) aluno(a) "Jennifer Salguero Londoño", e orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a) "Wellington Luiz de Araújo", do Departamento de Microbiologia, foi analisado pela CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais e pelo CEPESH - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, tendo sido deliberado que o referido projeto não utilizará animais que estejam sob a égide da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, nem envolverá procedimentos regulados pela Resolução CONEP nº 466/2012.

São Paulo, 02 de Junho de 2022.

Profa. Dra. Luciane Valéria Sita
Coordenadora CEUA ICB/USP

Profa. Dra. Camila Squarzoni Dale
Coordenadora CEPESH ICB/USP

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer aos meus pais amados (**Santiago e Teresa**) por me apoiarem sempre e ter me incentivado a continuar e a não desistir em momento nenhum. Quero agradecer especialmente ao meu pai **Santiago Salguero** (Q.E.P.D.) por ter sido o melhor pai do mundo, por acreditar em mim, por nunca me abandonar, entender e acompanhar todo o processo e as coisas que passei, você estará sempre em meu coração, sinto muita saudade, mas eu consegui chegar até aqui por você. Te amo pai, por sempre e para sempre.

Agradeço com todo o amor do mundo a minha filha Maitê, o presente antecipado durante o doutorado, porque ela me mantém em pé todos os dias da minha vida, embora a caminhada tivesse sido um desafio, superando muitos obstáculos, foi o seu sorriso e o seu carinho que me permitiu continuar. Te amo muito filha. Você é maravilhosa, fantástica e incrível.

Ao professor Dr. Welington Luiz de Araújo, meu orientador, pela oportunidade, paciência, apoio, guia e conselhos durante todo esse processo. Muito obrigada.

Aos integrantes do LABMEM pelos cafés, risadas, conhecimento e intercâmbio de experiências.

Ao conhecimento do Dr. Leandro Maza Garrido, Manu, Dai e Linoca pelo tempo, o aprendizado e todos os conselhos e ensinamentos que me ajudaram no processo.

Ao meu grande amigo e maravilhoso ser humano Dr. Almir Ferreira, obrigada pela ajuda nas análises do transcriptoma, pela amizade, companheirismo e toda sua generosidade.

À secretaria da pós-graduação: Gisele e Renato pelo apoio e suporte no decorrer do doutorado e pelo ótimo trabalho que desempenham auxiliando os estudantes e orientando sobre os processos da pós-graduação.

Aos meus grandes amigos: Sandra Sánchez, Sandra Suarez, Dayanne Rodríguez, Alejandra Gonzáles, Marcela Hernández Torres, Adriana Rojas, Luana Lima, Johana Becerra e Dante Picazzo, por seu apoio, generosidade, solidariedade, carinho, cumplicidade e por acreditar em mim, sou grata a vocês por ter sido tão bons comigo.

A todos aqueles que me ajudaram de uma ou outra forma, muito obrigada por tudo.

Finalmente quero agradecer a Deus ao me dar força e resiliência para me manter firme.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Quero agradecer especialmente ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de doutorado e taxa de bancada outorgada com número de projeto 141094/2006-8, fazendo possível o desenvolvimento dos experimentos, também quero agradecer pelo apoio à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pelos auxílios outorgados durante o trabalho. “O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”

RESUMO

SALGUERO-LONDOÑO, J. K. **Análises da expressão gênica da linhagem SR1.6/6 de *Methylobacterium mesophilicum* em interação com citros (*Citrus sinensis*) soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*).** 2022. 140f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Espécies do gênero *Methylobacterium* possuem um potencial biotecnológico e agrônomico bastante amplo. Este gênero é capaz de sintetizar diversos compostos como biopolímeros (PHA e PHB) ou produzir hormônios vegetais como auxina. Apresenta metabolismo metilotrófico, o qual lhe confere uma vantagem adaptativa no ambiente, permitindo colonizar diversas plantas de importância econômica. Durante a interação com diversas espécies vegetais, bactérias deste gênero são capazes de induzir resistência sistêmica, reduzir o estresse da planta, promover o crescimento vegetal e proteger a planta do ataque de patógenos. Sendo estas características importantes na procura de biofertilizantes, agentes de controle biológico e alternativas sustentáveis para o meio ambiente, incluindo o solo. Conseqüentemente, os mecanismos envolvidos na interação com a planta hospedeira precisam ser elucidados e para isso estudos de genômica, transcriptômica e proteômica ajudam na compreensão das estratégias de interação planta-bactéria endofítica por meio da identificação de genes e vias metabólicas que regulam esta interação. Portanto, neste trabalho foram realizadas análises de transcriptoma da linhagem SR1.6/6 de *Methylobacterium mesophilicum* durante a interação com citros (*Citrus sinensis*), soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*) com o objetivo de entender a influência dos exsudatos radiculares na expressão de genes bacterianos relacionados à colonização com a planta hospedeira. Os resultados das análises do transcriptoma para os tratamentos avaliados, mostraram que durante a interação de Citros+SR1.6/6 foram identificados 1634 genes diferencialmente expressos (580 genes induzidos e 1054 genes reprimidos); na interação Soja+SR1.6/6, foram encontrados 2426 genes diferencialmente expressos (1091 genes induzidos e 1335 genes reprimidos) e durante a interação Milho+SR1.6/6 foram detectados 2619 genes diferencialmente expressos (1229 genes induzidos e 1390 genes reprimidos). Os valores de *log2 fold change* de genes estatisticamente significativos mostraram que existe um perfil de expressão específico para as diferentes plantas avaliadas, sendo estas vias relacionadas com *quorum sensing* (QS), quimiotaxia, transporte de aminoácidos, montagem de flagelo, proteínas envolvidas com formação de biofilme como glicosiltransferases e polissacarídeos, proteínas envolvidas na adesão como proteínas de membrana externa e lipoproteínas, integridade da célula através da síntese do lipídeo A, sistema de secreção tipo I e bombas de efluxo da família RND, receptores TonB para captura de ferro e genes envolvidos com sínteses de fenazinas. Dessa forma, considerando que a expressão destes genes é regulada pela presença dos exsudatos radiculares liberados pelas plantas avaliadas, pode-se concluir que devem participar do processo de reconhecimento e colonização da planta hospedeira.

Palavras chave: Interação. Transcriptoma. Expressão gênica. SR1.6/6. Planta hospedeira.

ABSTRACT

SALGUERO-LONDOÑO, J. K. **Gene expression. Analysis of SR1.6/6 strain of *Methylobacterium mesophilicum* in interaction with citrus (*Citrus sinensis*), soybean (*Glycine max*) and maize (*Zea mays*).**2022. 140p. Ph.D. thesis (Microbiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Species of the genus *Methylobacterium* have a broad biotechnological and agronomic potential. Bacterium belonging to this genus is capable to synthesizing several compounds, such as biopolymers (PHA and PHB) and plant hormones (auxin). In addition, these bacteria present a methylotrophic metabolism which result in an adaptive advantage in the environment, allowing to colonize several crops. During interaction with several plant species, this genus can induce systemic resistance, reduce plant stress, promote plant growth and protect the plant from pathogen attack. These characteristics are important in the search for biofertilizers, biological controllers and sustainable alternatives for the environment, including the soil. Consequently, the mechanisms during the interaction with the host plant need to be elucidated and for this genomics, transcriptomics and proteomic studies help to understand the strategies of plant-endophytic bacteria interaction by the identification of genes and metabolic pathways related to recognition and settling inside the host plant. Therefore, in this work, transcriptome of the SR1.6/6 strain of *Methylobacterium mesophilicum* in response to the root exudates released by citrus (*Citrus sinensis*), soybean (*Glycine max*) and maize (*Zea mays*) were evaluated in order to understand the initial steps associated to plant colonization. The results of the transcriptome analysis for the evaluated treatments showed that during the interaction of Citrus+SR1.6/6, 1634 differentially expressed genes were identified (580 induced genes and 1054 repressed genes); in the Soybean+ SR1.6/6 interaction, 2426 differentially expressed genes were found (1091 induced genes and 1335 repressed genes) and during the Corn+ SR1.6/6 interaction 2619 differentially expressed genes were detected (1229 induced genes and 1390 repressed genes). The log₂ fold change values of statistically significant genes showed that there is a specific expression profile for the different plants evaluated in pathways related to quorum sensing (QS), chemotaxis, amino acid transport, flagellum assembly, proteins involved in biofilm formation such as glycosyltransferases and polysaccharides, proteins involved in adhesion such as outer membrane proteins and lipoproteins, cell integrity through lipid A synthesis, type I secretion system and RND family efflux pumps, TonB receptors for iron capture and genes involved with phenazine synthesis. Therefore, considering that the expression of these genes is regulated by the root exudates released by the evaluated plants, we concluded that these mechanisms are related to host plant recognition and colonization.

Keywords: Interaction. Transcriptome. Gene expression. SR1.6/6. Host plant.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.1 - Interações influenciadas pelos exsudatos radiculares..... | 26 |
| Figura 1.2 - Representação esquemática das interações planta-bactéria endofítica..... | 29 |
| Figura 1.3 -Possíveis mecanismos de colonização e promoção de crescimento vegetal identificados em <i>Methylobacterium</i> sp..... | 35 |
| Figura 1.4 - Estratégias de colonização por parte de <i>M. mesophilicum</i> | 38 |
| Figura 1.5 - Sistemas de secreção descritos para a linhagem <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 42 |
| Figura 3.1 - Crescimento de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em água (1 – controle) e em associação com citros (2), milho (3) e soja (4) | 48 |
| Figura 3.2 - Foto do gel de agarose 1% da extração de RNA total das amostras. M: marcador 1kb..... | 49 |
| Figura 3.3 – <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 após 120 horas de inoculação nas plantas hospedeiras..... | 51 |
| Figura 3.4 - Análises por eletroforese e gel de agarose 1% para confirmação da qualidade do RNA extraído para sequenciamento por RNAseq..... | 52 |
| Figura 3.5 - Genes diferencialmente expressos durante a interação de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com milho, soja e citros..... | 54 |
| Figura 3.6 - Diagrama de Venn dos genes compartilhados durante a interação de <i>Methylobacterium mesophilicum</i> SR1.6/6 com as plantas hospedeiras: <i>Citrus sinensis</i> , <i>Glycine max</i> e <i>Zea mays</i> | 55 |
| Figura 3.7 - Distribuição dos genes diferencialmente expressos por categorias COG em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 57 |
| Figura 3.8 - Distribuição dos genes diferencialmente expressos por categorias COG em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com <i>Citrus sinensis</i> | 59 |
| Figura 3.9 - Distribuição dos genes diferencialmente expressos por categorias COG em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com <i>Glycine max</i> | 59 |
| Figura 3.10 - Distribuição dos genes diferencialmente expressos por categorias COG em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com <i>Zea mays</i> | 60 |
| Figura 3.11 - Genes diferencialmente expressos em vias relacionadas à utilização de carbono durante a interação <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com citros..... | 61 |
| Figura 3.12 - Genes diferencialmente expressos em vias relacionadas à utilização de carbono durante a interação <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com soja..... | 62 |
| Figura 3.13 - Genes diferencialmente expressos em vias relacionadas à utilização de carbono durante a interação <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com milho..... | 63 |

| | |
|---|----|
| Figura 3.14 - Expressão diferencial das vias envolvidas com a biossíntese de aminoácidos para <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com citros..... | 64 |
| Figura 3.15 - Expressão diferencial das vias envolvidas com a biossíntese de aminoácidos para <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com soja..... | 65 |
| Figura 3.16 - Expressão diferencial das vias envolvidas com a biossíntese de aminoácidos para <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com milho..... | 66 |
| Figura 3.17 - Expressão de genes de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 do metabolismo metilotrófico durante a interação com as diferentes plantas hospedeiras..... | 68 |
| Figura 3.18 - Genes estatisticamente significativos na expressão de transportadores para as distintas plantas hospedeiras (citros, soja e milho) durante a interação com <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 69 |
| Figura 3.19 - Transportadores diferencialmente expressos relacionados ao transporte de moléculas na interação de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com citros, soja e milho, obtidos pelo KEGG..... | 70 |
| Figura 3.20 - Regulação global de genes envolvidos com montagem de flagelo durante a interação de SR1.6/6 com citros, milho e soja segundo o KEGG..... | 71 |
| Figura 3.21 - Genes diferencialmente expressos envolvidos na codificação de proteínas de montagem do flagelo nas plantas hospedeiras (citros, soja e milho) durante a interação com <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 72 |
| Figura 3.22 - Resposta antioxidante por <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 na interação com citros, soja e milho. Análises de vias metabólicas pelo KEGG..... | 73 |
| Figura 3.23 - Genes diferencialmente expressos relacionados ao metabolismo da glutatona durante a interação da <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com <i>Citrus sinensis</i> | 74 |
| Figura 3.24 - Genes diferencialmente expressos relacionados ao metabolismo da glutatona durante a interação da <i>M. mesophilicum</i> com <i>Glycine max</i> | 74 |
| Figura 3.25 - Genes diferencialmente expressos relacionados ao metabolismo da glutatona durante a interação da <i>M. mesophilicum</i> com <i>Zea mays</i> | 75 |
| Figura 3.26 - Genes estatisticamente significativos na expressão de síntese de lipopolissacarídeo (LSP) para as distintas plantas hospedeiras (citros, soja e milho) durante a interação com <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 76 |
| Figura 3.27 - Regulação de genes envolvidos com quimiotaxia em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 durante a interação com citros, milho e soja de acordo ao KEGG..... | 77 |
| Figura 3.28 - Genes estatisticamente significativos na expressão de quimiotaxia para as distintas plantas hospedeiras (citros, soja e milho) durante a interação com <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 78 |
| Figura 3.29 - Genes relacionados à formação de biofilme encontrados em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com citros, milho e soja..... | 79 |
| Figura 3.30 - Genes estatisticamente significativos na expressão de estruturas ribossômicas para as distintas plantas hospedeiras (citros, soja e milho) durante a interação com <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 80 |

| | |
|--|-----|
| Figura 3.31 - Perfil de expressão de genes relacionados ao sistema de secreção tipo I em citros, soja e milho durante a interação com <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 81 |
| Figura 3.32 - Perfil de expressão de genes relacionados a bombas de efluxo do tipo RND, em citros, soja e milho durante a interação com <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 82 |
| Figura 3.33 - Via de síntese de PHB descrita para <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com citros, milho e soja..... | 82 |
| Figura 4.1 - Genes estatisticamente significativos na expressão de transportadores para as distintas plantas hospedeiras (citros, soja e milho) durante a interação com <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 96 |
| Figura 4.2 - Contexto gênico da quimiotaxia de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6. Distribuição dos genes e níveis de expressão log ₂ (FC) durante a interação com <i>Citrus sinensis</i> , <i>Glycine max</i> e <i>Zea mays</i> | 98 |
| Figura 4.3 - Proteínas envolvidas na formação e montagem do flagelo bacteriano..... | 100 |
| Figura 4.4 - Contexto gênico na montagem do flagelo em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6. Distribuição dos genes e níveis de expressão log ₂ (FC) durante a interação com <i>Citrus sinensis</i> , <i>Glycine max</i> e <i>Zea mays</i> | 102 |
| Figura 4.5 - Ilustração esquemática de <i>Tad pilus</i> . Proteínas envolvidas na montagem do pilus tipo IV em <i>Liberibacter</i> s..... | 106 |
| Figura 4.6 - Distribuição dos genes e níveis de expressão log ₂ (FC) do regulador PilZ envolvido na formação do pilus tipo IV em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 durante a interação com citros, soja e milho..... | 106 |
| Figura 4.7 - Distribuição dos genes e níveis de expressão log ₂ (FC) da biossíntese de LPS em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 durante a interação com citros, soja e milho..... | 110 |
| Figura 4.8 - Modelos desenvolvidos durante a interação <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 e <i>Citrus sinensis</i> de acordo as análises do transcriptoma..... | 125 |
| Figura 4.9 - Modelos proposto durante a interação <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 e <i>Glycine max</i> de acordo as análises do transcriptoma..... | 125 |
| Figura 4.10 - Modelo proposto durante a interação <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 e <i>Zea mays</i> de acordo as análises do transcriptoma..... | 126 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1.1 – Algumas linhagens de bactérias metilotróficas associadas a diferentes cultivos e suas atividades..... | 32 |
| Tabela 3.1 - Medição de densidade ótica a 600 nm avaliada em espectrofotômetro para os distintos tratamentos durante a interação de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 para as análises do transcriptoma em distintas plantas hospedeiras..... | 51 |
| Tabela 3.2 - Rendimento da extração das amostras de RNA de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 52 |
| Tabela 3.3 - Rendimento e qualidade do transcriptoma de amostras obtidas no sequenciamento..... | 53 |
| Tabela 3.4 - Agrupamentos de Grupos Ortólogos (COG), divididos em categorias funcionais por alinhamento com o banco de dados COG..... | 56 |
| Tabela 3.5 - Distribuição e percentagem de genes diferencialmente expresso por categorias COG de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 durante a interação com citros, soja e milho..... | 58 |
| Tabela 3.6 - <i>Locus tag</i> da linhagem <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 envolvidos na montagem da enzima metanol desidrogenase, encontrados no transcriptoma das diferentes plantas hospedeiras..... | 67 |
| Tabela 3.7 - <i>Locus tag</i> da linhagem <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 do regulador PilZ, envolvido com montagem de pilus tipo IV..... | 79 |
| Tabela 4.1 - Genes envolvidos com síntese de flagelo encontrados na SR1.6/6..... | 97 |
| Tabela 4.2 - Genes diferencialmente expressos, envolvidos com a expressão do regulador LuxR, relacionado com a resposta QS..... | 99 |
| Tabela 4.3 - Transcritos não regulados envolvidos na síntese de EPS encontrados em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com a planta hospedeira..... | 103 |
| Tabela 4.4 - Genes diferencialmente expressos envolvidos com a síntese de polissacarídeos em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 na interação com citros..... | 104 |
| Tabela 4.5 - Genes diferencialmente expressos envolvidos com a síntese de polissacarídeos em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 na interação com soja..... | 104 |
| Tabela 4.6 - Genes diferencialmente expressos envolvidos com a síntese de polissacarídeos em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 na interação com milho..... | 105 |
| Tabela 4.7 - Genes envolvidos com montagem de pilus encontrados no transcriptoma de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 107 |
| Tabela 4.8 - Genes induzidos durante a interação de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com citros envolvidos na expressão de proteínas de membrana externa e síntese de lipoproteínas..... | 107 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 4.9 - Genes induzidos durante a interação de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com soja envolvidos na expressão de proteínas de membrana externa e síntese de lipoproteínas..... | 108 |
| Tabela 4.10 - Genes induzidos durante a interação de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com milho envolvidos na expressão de proteínas de membrana externa e síntese de lipoproteínas..... | 108 |
| Tabela 4.11 - Genes envolvidos na expressão do LPS encontrados em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6..... | 109 |
| Tabela 4.12 - Genes diferencialmente expressos envolvidos com resposta a estresse oxidativo em <i>M. mesophilicum</i> durante a interação com <i>Zea mays</i> | 110 |
| Tabela 4.13 - Genes diferencialmente expressos envolvidos com resposta a estresse oxidativo em <i>M. mesophilicum</i> durante a interação com <i>Glycine max</i> | 111 |
| Tabela 4.14 - Genes diferencialmente expressos envolvidos com resposta a estresse oxidativo em <i>M. mesophilicum</i> durante a interação com <i>Citrus sinensis</i> | 111 |
| Tabela 4.15 - Expressão diferencial de genes envolvidos na montagem do sistema de secreção tipo I e bombas de efluxo em <i>M. mesophilicum</i> durante a interação com citros..... | 112 |
| Tabela 4.16 - Expressão diferencial de genes envolvidos na montagem do sistema de secreção tipo I e bombas de efluxo em <i>M. mesophilicum</i> durante a interação com soja..... | 113 |
| Tabela 4.17 - Expressão diferencial de genes envolvidos na montagem do sistema de secreção tipo I e bombas de efluxo em <i>M. mesophilicum</i> durante a interação com milho..... | 114 |
| Tabela 4.18 - Expressão diferencial de receptores TonB presentes em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 na interação com <i>Citrus sinensis</i> | 114 |
| Tabela 4.19 - Expressão diferencial de receptores TonB presentes em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 na interação com <i>Glycine max</i> | 114 |
| Tabela 4.20 - Expressão diferencial de receptores TonB presentes em <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 na interação com <i>Zea mays</i> | 115 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO..... | 21 |
| 1.1 OBJETIVOS..... | 22 |
| 1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 22 |
| 1.2 REVISÃO DE LITERATURA..... | 22 |
| 1.2.2 <i>O gênero Methylobacterium.....</i> | <i>22</i> |
| 1.2.3 <i>Exsudatos radiculares nas interações planta-bactéria.....</i> | <i>25</i> |
| 1.2.4 <i>Methylobacterium e sua interação com a planta hospedeira.....</i> | <i>29</i> |
| 1.2.5 <i>Methylobacterium mesophilicum SR1.6/6.....</i> | <i>35</i> |
| 2. CAPÍTULO 2- DESCRIÇÃO GERAL DA TESE DE DOUTORADO E RELAÇÃO ENTRE OS CAPÍTULOS..... | 43 |
| 3. CAPÍTULO 3- Sequenciamento de RNA de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 em interação com citros (<i>Citrus sinensis</i>), soja (<i>Glycine max</i>) e milho (<i>Zea mays</i>) e análises do transcriptoma..... | 44 |
| RESUMO..... | 44 |
| 3.1 INTRODUÇÃO..... | 45 |
| 3.2 MATERIAS E MÉTODOS..... | 47 |
| 3.2.1 <i>Isolado de Methylobacterium mesophilicum e condições de cultivo.....</i> | <i>47</i> |
| 3.2.2 <i>Material vegetal e cultivo em condições axênicas.....</i> | <i>47</i> |
| 3.2.3 <i>Delineamento experimental para análises por RNAseq.....</i> | <i>47</i> |
| 3.2.4 <i>Extração de RNA total de M. mesophilicum SR1.6/6 e em interação com as plantas hospedeiras C. sinensis, Zea mays e Glycine max.....</i> | <i>48</i> |
| 3.2.5 <i>Mapeamento e análise das sequências.....</i> | <i>49</i> |
| 3.2.6 <i>Análise das vias metabólicas.....</i> | <i>50</i> |
| 3.3 RESULTADOS..... | 50 |
| 3.3.1 <i>Crescimento de M. mesophilicum na interação com a planta hospedeira.....</i> | <i>50</i> |
| 3.3.2 <i>Controle de qualidade das amostras avaliadas e rendimento das amostras do transcriptoma obtidas no sequenciamento.....</i> | <i>51</i> |
| 3.3.3 <i>Análise do transcriptoma e regulação da expressão gênica pelos exsudatos radiculares de citros, soja e milho na interação com M. mesophilicum SR1.6/6.....</i> | <i>52</i> |
| 3.3.4 <i>Metabolismo de genes diferencialmente expressos em M. mesophilicum SR1.6/6.....</i> | <i>55</i> |
| <u>3.3.5.1 <i>Metabolismo do carbono.....</i></u> | <u>60</u> |

| | |
|---|-----------|
| <u>3.3.5.2</u> <u>Biossíntese de aminoácidos</u> | 63 |
| <u>3.3.5.3</u> <u>Metanol desidrogenase e metabolismo metilotrófico</u> | 66 |
| <u>3.3.5.4</u> <u>Transporte de moléculas (transportadores do tipo ABC</u> | 68 |
| <u>3.3.5.5</u> <u>Motilidade: Montagem de flagelo</u> | 71 |
| <u>3.3.5.6</u> <u>Sistema antioxidante e metabolismo da glutatona</u> | 72 |
| <u>3.3.5.7</u> <u>Biossíntese de lipopolissacarídeos (LPS)</u> | 75 |
| <u>3.3.5.8</u> <u>Quimiotaxia</u> | 76 |
| <u>3.3.5.9</u> <u>Adesão</u> | 78 |
| <u>3.3.5.10</u> <u>Formação de biofilme</u> | 79 |
| <u>3.3.5.11</u> <u>Estruturas ribossômicas e proteínas ribossomais</u> | 80 |
| <u>3.3.5.12</u> <u>Sistemas de secreção, produção de PHB e bombas de efluxo</u> | 81 |
| 3.4 DISCUSSÃO | 83 |
| 3.5 CONCLUSÕES..... | 88 |
| 4. CAPITULO 4- Mecanismos específicos de interação por parte de <i>M. mesophilicum</i> SR1.6/6 com a planta hospedeira | 89 |
| RESUMO..... | 89 |
| 4.1 INTRODUÇÃO..... | 90 |
| 4.2 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 90 |
| 4.2.1 <i>Interação M. mesophilicum SR1.6/6 com a planta hospedeira</i> | 90 |
| 4.2.2 <i>Extração de RNA e sequenciamento</i> | 91 |
| 4.2.3 <i>Mapeamento e análises dos transcritos da plataforma Illumina</i> | 91 |
| 4.2.4 <i>Análise das vias metabólicas</i> | 92 |
| 4.3 RESULTADOS | 92 |
| 4.3.1 <i>Mecanismos específicos de interação por parte de M. mesophilicum SR1.6/6 com a planta hospedeira</i> | 92 |
| 4.3.2 <i>Mecanismos de reconhecimento à planta hospedeira (Citrus sinensis, Glycine max e Zea mays) por parte de M. mesophilicum SR1.6/6 a partir das análises do transcriptoma</i> | 93 |
| 4.3.2.1 <u>Reguladores transcricionais</u> | 93 |
| 4.3.2.2 <u>Transportadores do tipo ABC</u> | 94 |
| 4.3.2.3 <u>Quimiotaxia</u> | 96 |
| 4.3.2.4 <u>Quorum sensing (QS)</u> | 99 |
| 4.3.2.5 <u>Motilidade: Montagem de flagelo</u> | 100 |
| 4.3.2.6 <u>Formação de biofilme</u> | 102 |
| 4.3.2.6.1 <u>Glicosiltransferases e síntese de polissacarídeos</u> | 103 |

| | |
|---|-----|
| <u>4.3.2.7 Adesão</u> | 105 |
| <u>4.3.2.7.1 Pilus tipo IV</u> | 105 |
| <u>4.3.2.7.2 Proteínas de membrana externa e lipoproteínas</u> | 107 |
| <u>4.3.2.8 Biosíntese de Lipídio A</u> | 108 |
| <u>4.3.2.9 Sistema antioxidante</u> | 110 |
| <u>4.3.2.10 Sistema de secreção, bombas de efluxo e genes de interesse envolvidos na interação <i>M. mesophilicum</i>-planta hospedeira</u> | 111 |
| <u>4.3.2.10.1 Sistema de secreção e bomba de efluxo</u> | 111 |
| <u>4.3.2.10.2 Receptores <i>TonB</i></u> | 114 |
| <u>4.3.2.10.3 Síntese de fenazinas</u> | 115 |
| 4.4 DISCUSSÃO..... | 115 |
| 4.5 CONCLUSÕES..... | 126 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 127 |
| 6. REFERÊNCIAS..... | 128 |
| APÊNDICES..... | 140 |

INTRODUÇÃO

O gênero *Methylobacterium* é composto por bactérias de coloração rósea, metilotróficas (PPFMs) capazes de se estabelecer em diferentes nichos no ambiente, incluindo diferentes espécies vegetais. Em associação com a planta, algumas espécies deste gênero são capazes de promover o crescimento vegetal, aumentar a atividade fotossintética e reduzir o ataque de patógenos. *Methylobacterium* spp. podem estar envolvidas na formação de nódulos e fixação de nitrogênio em fabáceas (leguminosas), além de produzir os reguladores vegetais auxina e citocinina e induzir resistência sistêmica. Por isso, bactérias deste gênero tem despertado grande interesse científico pelo fato de possuir potencial para síntese de produtos biotecnológicos de alto valor agregado como o polihidroxibutirato (PHB) e polihidroxialcanoato (PHA).

M. mesophilicum SR1.6/6 foi isolada de ramos de citros e devido à interação com diversas plantas hospedeiras e possivelmente *Xylella fastidiosa*, tem sido foco de vários estudos nas áreas de genômica, proteômica e transcriptômica. Neste contexto, a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na interação planta-*Methylobacterium* se torna uma estratégia cada vez mais relevante no panorama da agricultura atual, visto que a compreensão dos processos envolvidos na colonização da planta hospedeira pelo endófito permite estabelecer os mecanismos de respostas da planta, incluindo alterações fisiológicas associadas ao aumento da produtividade agrícola. Entre estes mecanismos, cabe ressaltar a secreção de proteínas ou moléculas requeridas para o reconhecimento, adesão e invasão dos tecidos do hospedeiro por parte da bactéria endofítica. Sabe-se que o estabelecimento da interação entre a planta hospedeira e micro-organismos do solo ou epífita inicia quando os exsudatos da planta são reconhecidos por esta microbiota, a qual leva a ativação de genes que codificam proteínas importantes para o estabelecimento da interação, incluindo proteínas envolvidas com transporte e secreção de moléculas.

Dessa forma, diversos estudos têm sido realizados com o fim de caracterizar os mecanismos de invasão e colonização do hospedeiro por parte de bactérias endofíticas. Este conhecimento pode permitir o desenvolvimento de estratégias para o aumento de resistência e tolerância da planta a fatores bióticos e abióticos que afetam a produtividade vegetal. Neste contexto, o presente projeto avaliou o transcriptoma da bactéria endofítica *Methylobacterium mesophilicum* SR.1.6/6 durante a interação com diferentes hospedeiros, incluindo soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays*) e laranja doce (*Citrus sinensis*). Foram identificados genes envolvidos na colonização da planta, bem como rotas metabólicas e estratégias utilizadas por esta bactéria para evadir do sistema de defesa da planta. Adicionalmente foram propostas vias de interação associadas à especificidade da linhagem SR1.6/6 a diferentes hospedeiros.

CAPITULO 2

DESCRIÇÃO GERAL DA TESE DE DOUTORADO E RELAÇÃO ENTRE OS CAPÍTULOS

Methylobacterium mesophilicum SR1.6/6 foi isolada endofiticamente de ramos de citros e, graças à sua capacidade de colonizar difentes plantas hospedeiras, tem se tornado um alvo de estudo como um potencial agente de biocontrole de patógenos e como biofertilizante por estimular o crescimento vegetal e melhorar o rendimento dos cultivos. Porém, pouco é conhecido sobre os mecanismos de interação com a planta hospedeira sendo necessário abordagens ômicas que permitam a identificação de genes e rotas metabólicas importantes envolvidas nesta interação. Este trabalho teve como objetivos detectar genes envolvidos no reconhecimento, adesão e estabelecimento na planta hospedeira por parte de *M. mesophilicum* SR1.6/6 por meio de análises do transcriptoma e estabelecer modelos de interação planta-bactéria específica durante o reconhecimento ao hospedeiro por parte desta linhagem.

Capítulo 3: Apresenta os resultados globais das análises do transcriptoma da linhagem SR1.6/6 de *M. mesophilicum* durante a interação com *Citrus sinensis*, *Glycine max* e *Zea mays*. Os resultados mostraram que durante a interação de Citros+SR1.6/6 foram identificados 1634 genes diferencialmente expressos; na interação Soja+ SR1.6/6, foram encontrados 2426 genes diferencialmente expressos e durante a interação Milho+ SR1.6/6 foram detectados 2619 genes diferencialmente expressos. Observando a regulação de genes envolvidos na expressão proteínas transportadoras de moléculas, metabolismo metilotrófico e atividade da enzima metanol desidrogenase, síntese e montagem de flagelo, biossíntese de LPS, quimiotaxia e motilidade, genes envolvidos com resposta de QS, sistema de secreção tipo I, montagem de pilus, bombas de efluxo, biossíntese de estruturas ribossômicas e proteínas ribossomais, sistema antioxidante e metabolismo da glutatona, importantes para a interação planta-bactéria.

Capítulo 4: Foi reportado que durante a interação da *M. mesophilicum* SR1.6/6 com soja e milho destacam-se mecanismos como metabolismo de carbono e aminoácidos, motilidade por síntese de flagelo, quimiotaxia, síntese do lipídio A, ativação de reguladores transcricionais e transportadores, adesão por proteínas de membrana externa e lipoproteínas e ativação de mecanismos de defesa e translocação de compostos pelo sistema de secreção tipo I. Durante a interação *M. mesophilicum* SR1.6/6-citros foi encontrada ativação de reguladores transcricionais em resposta à planta, adesão por proteínas de membrana externa e lipoproteínas e a ativação de bombas de efluxo RND como um mecanismo de detoxificação e sobrevivência na planta.

CAPITULO 3

Resposta da bactéria endofítica *Methylobacterium mesophilicum* SR1.6/6 à interação com as plantas citros (*Citrus sinensis*), soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*)

Jennifer Salguero-Londoño^a, Welington Luiz Araújo^a

^aDepartment of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, Brazil

RESUMO

Methylobacterium mesophilicum SR1.6/6 foi isolada endofiticamente de ramos de citros e, graças à sua capacidade de colonizar difentes plantas hospedeiras, tem se tornado um alvo de estudo como um potencial agente de biocontrole de patógenos e como biofertilizante por estimular o crescimento vegetal e melhorar o rendimento dos cultivos. Porém, pouco é conhecido sobre os mecanismos de interação com a planta hospedeira sendo necessário abordagens ômicas que permitam a identificação de genes e rotas metabólicas importantes envolvidas nesta interação. Portanto, este estudo teve como objetivo comparar as estratégias de interação de *M. mesophilicum* por meio de análises de RNAseq em respostas aos exsudatos radiculares de diferentes plantas hospedeiras. Os resultados das análises do transcriptoma para os tratamentos avaliados, mostraram que durante a interação de Citros+SR1.6/6 foram identificados 1634 genes diferencialmente expressos (580 genes induzidos e 1054 genes reprimidos); na interação Soja+ SR1.6/6, foram encontrados 2426 genes diferencialmente expressos (1091 genes induzidos e 1335 genes reprimidos) e durante a interação Milho+SR1.6/6 foram detectados 2619 genes diferencialmente expressos (1229 genes induzidos e 1390 genes reprimidos). Foi observada a expressão de genes envolvidos nas vias de transporte de moléculas, metabolismo metilotrófico e atividade da enzima metanol desidrogenase, síntese e montagem de flagelo, biossíntese de LPS, quimiotaxia e motilidade, genes envolvidos com resposta de QS, sistema de secreção tipo I, montagem de pilus, bombas de efluxo, biossíntese de estruturas ribossômicas e proteínas ribossomais, genes envolvidos com resposta a espécies reativas de oxigênio (sistema antioxidante e metabolismo da glutatona), mostrando que a presença da planta influencia a resposta de *M. mesophilicum* SR1.6/6, modificando os perfis de expressão de genes relevantes durante a interação *Methylobacterium*-planta hospedeira.

CAPITULO 4

Mecanismos específicos de interação de *M. mesophilicum* SR1.6/6 com a planta hospedeira

Jennifer Salguero-Londoño^a, Welington Luiz Araújo^a

^aDepartment of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, Brazil

RESUMO

As bactérias utilizam diferentes estratégias de sobrevivência para se estabelecer em diferentes ambientes. A colonização da planta por endófitos é mediada por uma série de eventos que incluem o reconhecimento de moléculas de sinalização e nutrientes secretados pelas plantas (exsudatos radiculares). Estes compostos além de serem utilizados como fonte de carbono e energia, podem exercer uma influência no metabolismo bacteriano, ativando ou reprimindo genes envolvidos em mecanismos específicos de interação. Considerando que os mecanismos de interação *Methylobacterium mesophilicum* SR1.6/6-planta hospedeira ainda não foram totalmente esclarecidos, o objetivo deste trabalho foi detectar genes envolvidos no reconhecimento, adesão e estabelecimento na planta, comparando as estratégias de interação de *M. mesophilicum* SR1.6/6. Para isso, no presente trabalho a resposta desta bactéria à presença dos exsudatos radiculares de citros, soja e milho vou avaliada por meio da análise do seu transcriptoma. Foi observado que a expressão de genes associados à proteínas de vias relacionadas à comunicação celular (QS), quimiotaxia, transporte de aminoácidos, montagem de flagelo, proteínas envolvidas com formação de biofilme como glicosiltransferases e polissacarídeos, proteínas envolvidas na adesão como proteínas de membrana externa e lipoproteínas, integridade da célula através da síntese do lipídeo A, sistema de secreção tipo I e bombas de efluxo da família RND, receptores TonB para captura de ferro e genes envolvidos com sínteses de fenazinas foram reguladas diferencialmente durante a interação. Os resultados permitiram concluir que existem estratégias específicas por parte da linhagem SR1.6/6 em resposta à planta hospedeira e essas repostas são influenciadas pela espécie vegetal, o estágio de desenvolvimento e os exsudatos radiculares.

REFERÊNCIAS¹

ABANDA-NKPWATT, Daniel et al. Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedlings: growth promotion, methanol consumption, and localization of the methanol emission site. **Journal of experimental botany**, v. 57, n. 15, p. 4025-4032, 2006.

ALAVI, Peyman et al. The DSF quorum sensing system controls the positive influence of *Stenotrophomonas maltophilia* on plants. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e67103, 2013.

ALI, S.; CHARLES, T. C.; GLICK, B. R. Delay of flower senescence by bacterial endophytes expressing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 5, p. 1139-1144, 2012.

ALVAREZ-ORTEGA, Carolina; OLIVARES, Jorge; MARTÍNEZ, José L. RND multidrug efflux pumps: what are they good for?. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 7, 2013.

AMARESAN, N. et al. (Ed.). **Beneficial microbes in agro-ecology: bacteria and fungi**. Academic Press, 2020.

ANDRA, Cristina Bogas et al. Effects of growth-promoting endophytic *Methylobacterium* on development of Citrus rootstocks. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 19, p. 646-653, 2016.

ANDREOTE, Fernando D. et al. Model plants for studying the interaction between *Methylobacterium mesophilicum* and *Xylella fastidiosa*. **Canadian journal of microbiology**, v. 52, n. 5, p. 419-426, 2006.

ANDREOTE, Fernando D. et al. Model plants for studying the interaction between *Methylobacterium mesophilicum* and *Xylella fastidiosa*. **Canadian journal of microbiology**, v. 52, n. 5, p. 419-426, 2006.

ANDREOTE, Fernando Dini et al. Culture-independent assessment of Rhizobiales-related Alphaproteobacteria and the diversity of *Methylobacterium* in the rhizosphere and rhizoplane of transgenic eucalyptus. **Microbial ecology**, v. 57, n. 1, p. 82-93, 2009.

ANKATI, Sravani; PODILE, Appa Rao. Metabolites in the root exudates of groundnut change during interaction with plant growth promoting rhizobacteria in a strain-specific manner. **Journal of plant physiology**, v. 243, p. 153057, 2019.

ARAÚJO, Wellington L. et al. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 10, p. 4906-4914, 2002.

¹ De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ARAUJO, Wellington Luiz et al. Genes related to antioxidant metabolism are involved in *Methylobacterium mesophilicum*-soybean interaction. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 108, n. 4, p. 951-963, 2015.

ARDANOV, Pavlo et al. *Methylobacterium*-induced endophyte community changes correspond with protection of plants against pathogen attack. 2012.

ARNOLD, A. Elizabeth et al. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 26, p. 15649-15654, 2003.

AUSTIN, B.; GOODFELLOW, M. *Pseudomonas mesophilica*, a new species of pink bacteria isolated from leaf surfaces. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 29, n. 4, p. 373-378, 1979.

AZEVEDO, João Lúcio; ARAÚJO, Wellington Luiz; LACAVA, Paulo Teixeira. The diversity of citrus endophytic bacteria and their interactions with *Xylella fastidiosa* and host plants. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, p. 476-491, 2016.

BADRI, Dayakar V. et al. Altered profile of secondary metabolites in the root exudates of *Arabidopsis* ATP-binding cassette transporter mutants. **Plant Physiology**, v. 146, n. 2, p. 323-324, 2008.

BADRI, Dayakar V. et al. Application of natural blends of phytochemicals derived from the root exudates of *Arabidopsis* to the soil reveal that phenolic-related compounds predominantly modulate the soil microbiome. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 7, p. 4502-4512, 2013.

BAIS, Harsh P. et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual review of plant biology**, v. 57, n. 1, p. 233-266, 2006.

BALSANELLI, Eduardo et al. Molecular adaptations of *H. erbaspirillum seropedicae* during colonization of the maize rhizosphere. **Environmental microbiology**, v. 18, n. 8, p. 2343-2356, 2016.

BEHERA, B.; WAGNER, G. H. Microbial growth rate in glucose-amended soil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 38, n. 4, p. 591-594, 1974.

BERG, Gabriele. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use

BLANCO, Paula et al. Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants. **Microorganisms**, v. 4, n. 1, p. 14, 2016.

BUSCHART, Anna et al. Flagella mediate endophytic competence rather than act as MAMPs in rice–*Azoarcus* sp. strain BH72 interactions. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 25, n. 2, p. 191-199, 2012.

CAI, Lulu et al. Tad pilus-mediated twitching motility is essential for DNA uptake and survival of *Liberibacter*s. **Plos one**, v. 16, n. 10, p. e0258583, 2021.

- CAMARGO-NEVES, Aline Aparecida; ARAÚJO, Welington Luiz. Ecological and Biotechnological Aspects of *Methylobacterium mesophilicum*. In: **Applied Microbiology and Bioengineering**. Academic Press, 2019. p. 87-99.
- CAMILI, Andrew; BASSLER, Bonnie L. Bacterial small-molecule signaling pathways. **Science**, v. 311, n. 5764, p. 1113-1116, 2006.
- CERVANTES-MARTÍNEZ, Jesús; LÓPEZ-DÍAZ, Sigifredo; RODRÍGUEZ-GARAY, Benjamín. Detection of the effects of *Methylobacterium* in *Agave tequilana* Weber var. azul by laser-induced fluorescence. **Plant science**, v. 166, n. 4, p. 889-892, 2004.
- CHANPRAME, Sermsiri; TODD, J. J.; WIDHOLM, J. M. Prevention of pink-pigmented methylotrophic bacteria (*Methylobacterium mesophilicum*) contamination of plant tissue cultures. **Plant cell reports**, v. 16, n. 3, p. 222-225, 1996.
- CHAO, H.; WU, B.; SHEN, P. Overexpression of the methanol dehydrogenase gene *mxhF* in *Methylobacterium* sp. MB200 enhances L-serine production. **Letters in Applied Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 390-396, 2015.
- CHISTOSERDOVA, Ludmila et al. Methylotrophy in *Methylobacterium extorquens* AM1 from a genomic point of view. **Journal of bacteriology**, v. 185, n. 10, p. 2980-2987, 2003.
- CHISTOSERDOVA, Ludmila et al. Multiple formate dehydrogenase enzymes in the facultative methylotroph *Methylobacterium extorquens* AM1 are dispensable for growth on methanol. **Journal of bacteriology**, v. 186, n. 1, p. 22-28, 2004.
- CHOI, Young J. et al. Production of an insecticidal crystal protein from *Bacillus thuringiensis* by the methylotroph *Methylobacterium extorquens*. **Applied and environmental microbiology**, v. 74, n. 16, p. 5178-5182, 2008.
- CONESA, Ana et al. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. **Bioinformatics**, v. 21, n. 18, p. 3674-3676, 2005.
- COUTINHO, Bruna G. et al. Plant-influenced gene expression in the rice endophyte *Burkholderia kururiensis* M130. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 28, n. 1, p. 10-21, 2015.
- CROES, Chris L. et al. The polar flagellum mediates *Azospirillum brasilense* adsorption to wheat roots. **Microbiology**, v. 139, n. 9, p. 2261-2269, 1993.
- DOERGES, L.; KUTSCHERA, U. Assembly and loss of the polar flagellum in plant-associated methylotrophs. **Naturwissenschaften**, v. 101, n. 4, p. 339-346, 2014.
- DORONINA, Nina V. et al. *Methylobacterium suomiense* sp. nov. and *Methylobacterium lusitanum* sp. nov., aerobic, pink-pigmented, facultatively methylotrophic bacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 773-776, 2002.

DÖRR, Juliane; HUREK, Thomas; REINHOLD-HUREK, Barbara. Type IV pili are involved in plant–microbe and fungus–microbe interactions. **Molecular microbiology**, v. 30, n. 1, p. 7-17, 1998.

DOS SANTOS, Marise Fonseca et al. Proteome of *Gluconacetobacter diazotrophicus* co-cultivated with sugarcane plantlets. **Journal of Proteomics**, v. 73, n. 5, p. 917-931, 2010.

DOURADO, Manuella Nóbrega et al. Biotechnological and agronomic potential of endophytic pink-pigmented methylotrophic *Methylobacterium* spp. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

DOURADO, Manuella Nóbrega et al. Differential gene expression in *Xylella fastidiosa* 9a5c during co-cultivation with the endophytic bacterium *Methylobacterium mesophilicum* SR1.6/6. **Journal of basic Microbiology**, v. 55, n. 12, p. 1357-1366, 2015.

DOURADO, Manuella Nóbrega et al. *Methylobacterium*-plant interaction genes regulated by plant exudate and quorum sensing molecules. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 1331-1339, 2013.

EGAMBERDIEVA, Dilfuza et al. Salt tolerant *Methylobacterium mesophilicum* showed viable colonization abilities in the plant rhizosphere. **Saudi journal of biological sciences**, v. 22, n. 5, p. 585-590, 2015.

EICHINGER, Valerie et al. EffectiveDB—updates and novel features for a better annotation of bacterial secreted proteins and Type III, IV, VI secretion systems. **Nucleic acids research**, v. 44, n. D1, p. D669-D674, 2016.

FENG, Haichao et al. Chemotaxis of beneficial rhizobacteria to root exudates: The first step towards root–microbe rhizosphere interactions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 6655, 2021.

FERNÁNDEZ-LLAMOSAS, Helga; DÍAZ, Eduardo; CARMONA, Manuel. Motility, Adhesion and c-di-GMP Influence the Endophytic Colonization of Rice by *Azoarcus* sp. CIB. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 554, 2021.

FERREIRA FILHO, Antônio Sérgio et al. Endophytic *Methylobacterium extorquens* expresses a heterologous β -1, 4-endoglucanase A (EglA) in *Catharanthus roseus* seedlings, a model host plant for *Xylella fastidiosa*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1475-1481, 2012.

GAI, Cláudia Santos et al. Transmission of *Methylobacterium mesophilicum* by *Bucephalagonia xanthophis* for paratransgenic control strategy of citrus variegated chlorosis. **The Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 448-454, 2009.

GALINDO, Maria Alejandra Mantilla; ARAÚJO, Welington Luiz de. Exsudatos radiculares como reguladores da colonização da planta por *Methylobacterium* spp. e *Methylorubrum extorquens*. 2019.

GAN, Han Ming et al. Genome sequence of *Methylobacterium* sp. strain GXF4, a xylem-associated bacterium isolated from *Vitis vinifera* L. grapevine. 2012.

GOFF, Loyal A.; TRAPNELL, Cole; KELLEY, David. CummeRbund: visualization and exploration of Cufflinks high-throughput sequencing data. **R package version**, v. 2, n. 0, 2012.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, Oscar; RUANO-ROSA, David. Root exudates, a key factor in the plant-bacteria interaction mechanisms. In: **Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture**. Academic Press, 2020. p. 111-121.

GOODWIN, Pat M.; ANTHONY, Chris. The biochemistry, physiology and genetics of PQQ and PQQ-containing enzymes. **Advances in microbial physiology**, v. 40, p. 1-80, 1998.

GRATÃO, Priscila L. et al. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional plant biology**, v. 32, n. 6, p. 481-494, 2005.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil biology and biochemistry**, v. 37, n. 3, p. 395-412, 2005.

GREEN, Peter N.; ARDLEY, Julie K. Review of the genus *Methylobacterium* and closely related organisms: a proposal that some *Methylobacterium* species be reclassified into a new genus, *Methylorubrum* gen. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 68, n. 9, p. 2727-2748, 2018.

GUPTA SOOD, Sushma. Chemotactic response of plant-growth-promoting bacteria towards roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal tomato plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 45, n. 3, p. 219-227, 2003.

HAHLBROCK, Klaus et al. Non-self recognition, transcriptional reprogramming, and secondary metabolite accumulation during plant/pathogen interactions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. suppl_2, p. 14569-14576, 2003.

HARDOIM, Pablo R.; HARDOIM, Cristiane Cassiolato Pires. Genomic features of mutualistic plant bacteria. In: **Endophytes: Biology and Biotechnology**. Springer, Cham, 2017. p. 99-125.

HARDOIM, Pablo R.; VAN OVERBEEK, Leo S.; VAN ELSAS, Jan Dirk. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in microbiology**, v. 16, n. 10, p. 463-471, 2008.

HILTNER, L. Über neue erfahrungen und probleme auf dem gebiet der bodenbackteri-701 ologie und unter besonderer berucksichtigung der grundungung und brache. **Arb. Deut**, v. 702, 1904.

HÖFER, Philipp; VERMETTE, Patrick; GROLEAU, Denis. Introducing a new bioengineered bug: *Methylobacterium extorquens* tuned as a microbial bioplastic factory. **Bioengineered bugs**, v. 2, n. 2, p. 71-79, 2011.

IMAM, Jahangir; VARIAR, Mukund; SHUKLA, Pratyosh. Role of enzymes and proteins in plant-microbe interaction: a study of *M. oryzae* versus rice. In: **Advances in enzyme biotechnology**. Springer, New Delhi, 2013. p. 137-145.

JIANG, Nan et al. A chemotaxis receptor modulates nodulation during the Azorhizobium caulinodans-Sesbania rostrata symbiosis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 11, p. 3174-3184, 2016.

JOE, M. M. et al. Development of alginate-based aggregate inoculants of *Methylobacterium* sp. and *Azospirillum brasilense* tested under in vitro conditions to promote plant growth. **Journal of Applied Microbiology**, v. 116, n. 2, p. 408-423, 2014.

JOURAND, Philippe et al. *Methylobacterium nodulans* sp. nov., for a group of aerobic, facultatively methylophilic, legume root-nodule-forming and nitrogen-fixing bacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 6, p. 2269-2273, 2004.

KANDEL, Shyam L.; JOUBERT, Pierre M.; DOTY, Sharon L. Bacterial endophyte colonization and distribution within plants. **Microorganisms**, v. 5, n. 4, p. 77, 2017.

KANG, Sang Won et al. Mammalian peroxiredoxin isoforms can reduce hydrogen peroxide generated in response to growth factors and tumor necrosis factor- α . **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 11, p. 6297-6302, 1998.

KAUL, Sanjana; SHARMA, Tanwi; K. DHAR, Manoj. "Omics" tools for better understanding the plant-endophyte interactions. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 955, 2016.

KLIKNO, Jana; KUTSCHERA, Ulrich. Regulation of root development in *Arabidopsis thaliana* by phytohormone-secreting epiphytic methylobacteria. **Protoplasma**, v. 254, n. 5, p. 1867-1877, 2017.

KOSKIMÄKI, J. J., et al. The intracellular Scots pine shoot symbiont *Methylobacterium extorquens* DSM13060 aggregates around the host nucleus and encodes eukaryote-like proteins. **MBio**, vol. 6, no 2, p. e00039-15, 2015.

KUMAR, Ajay et al. Entry, colonization, and distribution of endophytic microorganisms in plants. In: **Microbial endophytes**. Woodhead Publishing, 2020. p. 1-33.

KWAK, Min-Jung et al. Genome information of *Methylobacterium oryzae*, a plant-probiotic methylophilic bacterium in the phyllosphere. **PLoS one**, v. 9, n. 9, p. e106704, 2014.

LACAVA, P. T. et al. Interaction between endophytic bacteria from citrus plants and the phytopathogenic bacterium *Xylella fastidiosa*, causal agent of citrus-variegated chlorosis. **Letters in applied microbiology**, v. 39, n. 1, p. 55-59, 2004.

LACAVA, Paulo Teixeira et al. Detection of siderophores in endophytic bacteria *Methylobacterium* spp. associated with *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 521-528, 2008.

LATHA, P.; KARTHIKEYAN, M.; RAJESWARI, E. Endophytic bacteria: prospects and applications for the plant disease management. In: **Plant health under biotic stress**. Springer, Singapore, 2019. p. 1-50.

LEFEVRE, Gregory H.; HOZALSKI, Raymond M.; NOVAK, Paige J. Root exudate enhanced contaminant desorption: an abiotic contribution to the rhizosphere effect. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 20, p. 11545-11553, 2013.

LEVY, Asaf et al. Genomic features of bacterial adaptation to plants. **Nature genetics**, v. 50, n. 1, p. 138-150, 2018.

LI, Heng et al. The sequence alignment/map format and SAMtools. **Bioinformatics**, v. 25, n. 16, p. 2078-2079, 2009.

LI, Xiao-gang et al. The composition of root exudates from two different resistant peanut cultivars and their effects on the growth of soil-borne pathogen. **International Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 2, p. 164, 2013.

LINDOW, Steven E.; BRANDL, Maria T. Microbiology of the phyllosphere. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 4, p. 1875-1883, 2003.

LIU, Hongwei et al. Inner plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2552, 2017.

LIU, Renyi; OCHMAN, Howard. Stepwise formation of the bacterial flagellar system. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 17, p. 7116-7121, 2007.

LIU, Yunpeng et al. Induced root-secreted D-galactose functions as a chemoattractant and enhances the biofilm formation of *Bacillus velezensis* SQR9 in an McpA-dependent manner. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, n. 2, p. 785-797, 2020.

LOCHER, Kaspar P. Mechanistic diversity in ATP-binding cassette (ABC) transporters. **Nature structural & molecular biology**, v. 23, n. 6, p. 487-493, 2016.

LUCKE, Miriam; CORREA, Mario Gabriel; LEVY, Asaf. The role of secretion systems, effectors, and secondary metabolites of beneficial rhizobacteria in interactions with plants and microbes. **Frontiers in Plant Science**, p. 1718, 2020.

MADDOCKS, Sarah E.; OYSTON, Petra CF. Structure and function of the LysR-type transcriptional regulator (LTTR) family proteins. **Microbiology**, v. 154, n. 12, p. 3609-3623, 2008.

MADHAIYAN, M. et al. A new insight into foliar applied methanol influencing phylloplane methylotrophic dynamics and growth promotion of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 57, n. 1-2, p. 168-176, 2006.

MADHAIYAN, M. et al. Plant growth-promoting *Methylobacterium* induces defense responses in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) compared with rot pathogens. **Current microbiology**, v. 53, n. 4, p. 270-276, 2006.

MADHAIYAN, Munusamy; CHAN, Kam Lock; JI, Lianghai. Draft genome sequence of *Methylobacterium* sp. strain L2-4, a leaf-associated endophytic N-fixing bacterium isolated from *Jatropha curcas* L. **Genome announcements**, v. 2, n. 6, p. e01306-14, 2014.

MAHAFFEE, W. F. et al. Comparative analysis of antibiotic resistance, immunofluorescent colony staining, and a transgenic marker (bioluminescence) for monitoring the environmental fate of rhizobacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 4, p. 1617-1622, 1997.

MAHAFFEE, W. F. et al. Comparative analysis of antibiotic resistance, immunofluorescent colony staining, and a transgenic marker (bioluminescence) for monitoring the environmental fate of rhizobacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 4, p. 1617-1622, 1997.

MARGIS, Rogerio et al. Glutathione peroxidase family—an evolutionary overview. **The FEBS journal**, v. 275, n. 15, p. 3959-3970, 2008.

MARINHO ALMEIDA, Diogo et al. Draft genome sequence of *Methylobacterium mesophilicum* strain SR1. 6/6, isolated from *Citrus sinensis*. **Genome announcements**, v. 1, n. 3, p. e00356-13, 2013.

MARINHO ALMEIDA, Diogo et al. Draft genome sequence of *Methylobacterium mesophilicum* strain SR1. 6/6, isolated from *Citrus sinensis*. **Genome announcements**, v. 1, n. 3, p. e00356-13, 2013.

MARX, CHRISTOPHER J. ET AL. Complete genome sequences of six strains of the genus *Methylobacterium*, **Journal of Bacteriology**, v. 194, n. 18, p.4746-4748, 2012.

MASIP, Lluís; VEERAVALLI, Karthik; GEORGIU, George. The many faces of glutathione in bacteria. **Antioxidants & redox signaling**, v. 8, n. 5-6, p. 753-762, 2006.

MCDONALD, Ian R.; MURRELL, J. Colin. The methanol dehydrogenase structural gene *mxaF* and its use as a functional gene probe for methanotrophs and methylotrophs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 8, p. 3218-3224, 1997.

MICHENER, Joshua K. et al. Phylogeny poorly predicts the utility of a challenging horizontally transferred gene in *Methylobacterium* strains. **Journal of bacteriology**, v. 196, n. 11, p. 2101-2107, 2014.

MIRANDA, M. P. et al. Characterization of electrical penetration graphs of *Bucephalagonia xanthophis*, a vector of *Xylella fastidiosa* in citrus. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 130, n. 1, p. 35-46, 2009.

MOROHOSHI, Tomohiro; XIE, Xiaonan; IKEDA, Tsukasa. N-Acylhomoserine lactone-mediated quorum sensing regulates biofilm structure in *Methylobacterium populi* P-1M, an isolate from a pink-pigmented household biofilm. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 83, n. 1, p. 174-180, 2019.

MUNSON, George P.; SCOTT, June R. Binding site recognition by Rns, a virulence regulator in the AraC family. **Journal of bacteriology**, v. 181, n. 7, p. 2110-2117, 1999.

NARULA, Neeru; KOTHE, Erika; BEHL, Rishi Kumar. Role of root exudates in plant-microbe interactions. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 82, n. 2, p. 122-130, 2012.

NAYAK, Dipti D.; MARX, Christopher J. Genetic and phenotypic comparison of facultative methylotrophy between *Methylobacterium extorquens* strains PA1 and AM1. **PloS one**, v. 9, n. 9, p. e107887, 2014.

NAZNIN, Hushna Ara et al. Analysis of volatile organic compounds emitted by plant growth-promoting fungus *Phoma* sp. GS8-3 for growth promotion effects on tobacco. **Microbes and environments**, v. 28, n. 1, p. 42-49, 2013.

NEVES, Aline Aparecida Camargo das. **Análises genômicas de *Methylobacterium mesophilicum* SR1. 6/6 com ênfase na interação com a planta hospedeira.** 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

NIGRIS, S. et al. Is the bacterial endophyte community, living in Glera (*Vitis vinifera*) plants, active in biocontrol?. **Endophytes for plant protection: the state of the art**, p. 12, 2013.

NOINAJ, Nicholas et al. TonB-dependent transporters: regulation, structure, and function. **Annual review of microbiology**, v. 64, p. 43, 2010.

OBENDORF, RALPH L. et al. Methanol accumulation in maturing seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 41, n. 4, p. 489-495, 1990.

OCHSNER, Andrea M. et al. *Methylobacterium extorquens*: methylotrophy and biotechnological applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 2, p. 517-534, 2015.

OMER, Zahra S.; TOMBOLINI, Riccardo; GERHARDSON, Berndt. Plant colonization by pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria (PPFMs). **FEMS microbiology ecology**, v. 47, n. 3, p. 319-326, 2004.

OUKALA, Nadira; AISSAT, Kamel; PASTOR, Victoria. Bacterial endophytes: The hidden actor in plant immune responses against biotic stress. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 1012, 2021.

PEDROSA, Fábio O. et al. Genome of *Herbaspirillum seropedicae* strain SmR1, a specialized diazotrophic endophyte of tropical grasses. **PLoS genetics**, v. 7, n. 5, p. e1002064, 2011.

PETERSEN, Thomas Nordahl et al. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. **Nature methods**, v. 8, n. 10, p. 785-786, 2011.

PINSKI, Artur et al. Defining the genetic basis of plant–endophytic bacteria interactions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 8, p. 1947, 2019.

POHJANEN, Johanna et al. Interaction with ectomycorrhizal fungi and endophytic *Methylobacterium* affects nutrient uptake and growth of pine seedlings in vitro. **Tree Physiology**, v. 34, n. 9, p. 993-1005, 2014.

POMINI, Armando M. et al. Long-chain acyl-homoserine lactones from *Methylobacterium mesophilicum*: synthesis and absolute configuration. **Journal of natural products**, v. 72, n. 12, p. 2125-2129, 2009.

POONGUZHALI, S. et al. Colonization pattern of plant root and leaf surfaces visualized by use of green-fluorescent-marked strain of *Methylobacterium suomiense* and its persistence in rhizosphere. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 78, n. 6, p. 1033-1043, 2008.

POONGUZHALL, Poonguzhall et al. Production of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals is wide-spread in gram-negative *Methylobacterium*. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 226-233, 2007.

QUADT-HALLMANN, A.; HALLMANN, J.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant-associated bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 3, p. 254-259, 1997.

RAMPELOTTI-FERREIRA, Fátima T. et al. Colonization of rice and *Spodoptera frugiperda* JE Smith (Lepidoptera: Noctuidae) larvae by genetically modified endophytic *Methylobacterium mesophilicum*. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 308-310, 2010.

REHMAN, Abdul; ANJUM, Muhammad Sohail. Multiple metal tolerance and biosorption of cadmium by *Candida tropicalis* isolated from industrial effluents: glutathione as detoxifying agent. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 174, n. 1, p. 585-595, 2011.

ROSSETTO, Priscilla B. et al. Specific plant induced biofilm formation in *Methylobacterium* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 878-883, 2011.

SALAM, Lateef B.; OBAYORI, Oluwafemi Sunday; RAJI, S. A. Biodegradation of used engine oil by a methylotrophic bacterium, *Methylobacterium mesophilicum* isolated from tropical hydrocarbon-contaminated soil. **Petroleum Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 186-195, 2015.

SALGUERO LONDOÑO, Jennifer Katherine; ARAUJO, Welington Luiz de. Análises da expressão de genes do sistema de secreção na interação *Methylobacterium mesophilicum* SR 1.6/6 com a planta hospedeira. 2016.

SAMBROOK, Joseph et al. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Cold spring harbor laboratory press, 1989.

SÁNCHEZ-LÓPEZ, Ariadna S. et al. Seed endophyte microbiome of *Crotalaria pumila* unpeeled: Identification of plant-beneficial methylotrophs. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 1, p. 291, 2018.

SCRUTTON, Nigel S.; BERRY, Alan; PERHAM, Richard N. Purification and characterization of glutathione reductase encoded by a cloned and over-expressed gene in *Escherichia coli*. **Biochemical Journal**, v. 245, n. 3, p. 875-880, 1987.

SKOVRAN, Elizabeth et al. XoxF is required for expression of methanol dehydrogenase in *Methylobacterium extorquens* AM1. **Journal of bacteriology**, v. 193, n. 21, p. 6032-6038, 2011.

STAERCK, Cindy et al. Microbial antioxidant defense enzymes. **Microbial Pathogenesis**, v. 110, p. 56-65, 2017.

STEIMLE, Alex; AUTENRIETH, Ingo B.; FRICK, Julia-Stefanie. Structure and function: Lipid A modifications in commensals and pathogens. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 306, n. 5, p. 290-301, 2016.

SUN, Zhihong; COPOLOVICI, Lucian; NIINEMETS, Ülo. Can the capacity for isoprene emission acclimate to environmental modifications during autumn senescence in temperate deciduous tree species *Populus tremula*?. **Journal of plant research**, v. 125, n. 2, p. 263-274, 2012.

SY, Abdoulaye et al. Methylo-trophic metabolism is advantageous for *Methylobacterium extorquens* during colonization of *Medicago truncatula* under competitive conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 11, p. 7245-7252, 2005.

SY, Abdoulaye et al. Methylo-trophic *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of bacteriology**, v. 183, n. 1, p. 214-220, 2001.

TADRA-SFEIR, M. Z. et al. Naringenin regulates expression of genes involved in cell wall synthesis in *Herbaspirillum seropedicae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 6, p. 2180-2183, 2011.

TRAPNELL, Cole et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. **Nature biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 511-515, 2010.

TRAPNELL, Cole; PACHTER, Lior; SALZBERG, Steven L. TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. **Bioinformatics**, v. 25, n. 9, p. 1105-1111, 2009.

TROUDI, Azza; PAGÈS, Jean Marie; BRUNEL, Jean Michel. Chemical highlights supporting the role of lipid A in efficient biological adaptation of gram-negative bacteria to external stresses. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 1816-1834, 2021.

UPADHYAY, Sudhir K. et al. Root exudates: Mechanistic insight of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable crop production. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022.

VENTORINO, Valeria et al. *Methylobacterium populi* VP2: plant growth-promoting bacterium isolated from a highly polluted environment for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) biodegradation. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

VERGINER, Markus et al. Monitoring the plant epiphyte *Methylobacterium extorquens* DSM 21961 by real-time PCR and its influence on the strawberry flavor. **FEMS microbiology ecology**, v. 74, n. 1, p. 136-145, 2010.

VERMA, Priyanka et al. Appraisal of diversity and functional attributes of thermotolerant wheat associated bacteria from the peninsular zone of India. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 7, p. 1882-1895, 2019.

VORHOLT, Julia A. Cofactor-dependent pathways of formaldehyde oxidation in methylo-trophic bacteria. **Archives of microbiology**, v. 178, n. 4, p. 239-249, 2002.

WEI, Hai-Lei; ZHANG, Li-Qun. Quorum-sensing system influences root colonization and biological control ability in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 89, n. 2, p. 267-280, 2006.

YEZZA, A. et al. Production of polyhydroxyalkanoates from methanol by a new methylotrophic bacterium *Methylobacterium* sp. GW2. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 73, n. 1, p. 211-218, 2006.

YIM, Woojong et al. Ethylene emission and PR protein synthesis in ACC deaminase producing *Methylobacterium* spp. inoculated tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) challenged with *Ralstonia solanacearum* under greenhouse conditions. **Plant physiology and biochemistry**, v. 67, p. 95-104, 2013.

YIN, Yanbin et al. dbCAN: a web resource for automated carbohydrate-active enzyme annotation. **Nucleic acids research**, v. 40, n. W1, p. W445-W451, 2012.

YOST, Christopher K.; ROCHEPEAU, Patrice; HYNES, Michael F. *Rhizobium leguminosarum* contains a group of genes that appear to code for methyl-accepting chemotaxis proteins. **Microbiology**, v. 144, n. 7, p. 1945-1956, 1998.

YU, Chao et al. The Regulatory Functions of σ_{54} Factor in Phytopathogenic Bacteria. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12692, 2021.

YU, Nancy Y. et al. PSORTb 3.0: improved protein subcellular localization prediction with refined localization subcategories and predictive capabilities for all prokaryotes. **Bioinformatics**, v. 26, n. 13, p. 1608-1615, 2010.

YUAN, Peiguo et al. Phenazine-producing rhizobacteria promote plant growth and reduce redox and osmotic stress in wheat seedlings under saline conditions. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 575314, 2020.

ZELLER, Tanja; KLUG, Gabriele. Thioredoxins in bacteria: functions in oxidative stress response and regulation of thioredoxin genes. **Naturwissenschaften**, v. 93, n. 6, p. 259-266, 2006.

ZHANG, Meng; LIDSTROM, Mary E. Promoters and transcripts for genes involved in methanol oxidation in *Methylobacterium extorquens* AM1. **Microbiology**, v. 149, n. 4, p. 1033-1040, 2003.

ZHU, Hu; SUN, S. J. Inhibition of bacterial quorum sensing-regulated behaviors by *Tremella fuciformis* extract. **Current microbiology**, v. 57, n. 5, p. 418-422, 2008.

ŻUR, Joanna; WOJCIESZYŃSKA, Danuta; GUZIK, Urszula. Metabolic responses of bacterial cells to immobilization. **Molecules**, v. 21, n. 7, p. 958, 2016.