Bactérias endofíticas: Colonização, benefícios e identificação

Endophytic bacteria: Colonization benefits and identification

DOI:10.34117/bjdv7n1-595

Recebimento dos originais: 29/12/2020
Aceitação para publicação: 22/01/2020

Paulo Sérgio Balbino Miguel
Formação acadêmica: Doutor em Microbiologia Agrícola
Instituição de atuação atual: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Medicina e Enfermagem
Endereço completo: Av. Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário, Viçosa
Email: psbmiguel@gmail.com

Julio Cesar Delvaux
Formação acadêmica: Doutor em Agronomia
Instituição de atuação atual: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Campus Ituiutaba
Endereço completo: Belarmino Vilela Junqueira, s/n, Novo Tempo II. Ituiutaba - MG.
Email: juliodelvaux@iftm.edu.br

Marcelo Nagem Valério de Oliveira
Formação acadêmica: Doutor em Microbiologia Agrícola
Instituição de atuação atual: Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Ciências Básicas da Vida, Campus Governador Valadares
Endereço completo: R. São Paulo, 745 - Centro, Governador Valadares - MG
Email: marcelo.nagem@ufjf.br

Reginaldo de Camargo
Formação acadêmica: Doutor em Agronomia (Fitotecnia)
Instituição de atuação atual: Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG)
Endereço completo: Rodovia BR-050, KM 78, Campus Glória, Uberlândia, MG
Email: rcamargoagro@gmail.com

Miguel Henrique Rosa Franco
Formação acadêmica: Doutor em Agronomia
Instituição de atuação atual: Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG)
Endereço completo: Rodovia BR-050, KM 78, Campus Glória, Uberlândia, MG
Email: miguelmhrf@yahoo.com.br

Henrique de Araujo Sobreira
Formação acadêmica: Mestre em Química
Instituição de atuação atual: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Campus Ituiutaba
Endereço completo: Belarmino Vilela Junqueira, s/n, Novo Tempo II. Ituiutaba/MG.
Email: henrique@iftm.edu.br

Dayane Fonseca Soares
Formação acadêmica: Doutora em Química
Instituição de atuação atual: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Campus Ituiutaba
Endereço completo: Belarmino Vilela Junqueira, s/n, Novo Tempo II. Ituiutaba/MG.
Email: dayane@iftm.edu.br

Vitor Hugo Pacheco Jardim
Formação acadêmica: Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Instituição de atuação atual: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Campus Ituiutaba
Endereço completo: Belarmino Vilela Junqueira, s/n, Novo Tempo II. Ituiutaba/MG.
Email: vitorhugo@iftm.edu.br

RESUMO
Bactérias endofíticas residem nos tecidos internos das plantas em pelo menos uma etapa do seu ciclo de vida, sem causar sintomas aparentes de doença. São representadas por uma grande diversidade bacteriana composta pelos filos Alfa-, Beta- e Gamma-Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes e Bacteroidetes. Em geral originam de comunidades bacterianas das raízes ou epifíticas, bem como sementes infectadas, podendo ainda, penetrar na planta ou ativamente ou por ferimentos e aberturas naturais. Após a penetração elas podem promover o crescimento vegetal pela produção de compostos promotores de crescimento, sendo ainda responsáveis pela liberação de metabólitos antimicrobianos, que podem suprimir patógenos. Apresentam potencial para utilização na agricultura e na indústria, podendo ser empregadas como vetores para introdução de genes de interesse em plantas, inibidores de patógenos e fontes de metabólitos primários e secundários de interesse. Assim, elas são importantes tanto na ciência básica como na aplicada, sendo de fundamental interesse o seu estudo. Portanto, buscou-se com este trabalho levantar os principais aspectos da interação planta-bactéria endofítica, enfatizando os processos de penetração, colonização e identificação delas na planta, baseando-se nas discussões atuais sobre o assunto.

Palavras-chave: Bactérias endofíticas, interação, colonização.

ABSTRACT
Endophytic bacteria inhabits internal tissue plant at least once in your life cycle, whitout causing visible disease symptoms. Those bacteria are represented by phyla Alfa-, Beta and Gamma-Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes and Bacteroidetes. They are commonly originated from bacterial communities from roots or from the plant surface, as well from infected seed, or by plant penetration through active bacterial movements, by plant tissue wounds or by natural plant fissures. After penetration, bacteria can promote vegetal growth by producing promoting compounds, and also being responsabile by antimicrobial metabolites exudation, that can have antagonistic role with pathogens. They are potentially useful for agriculture and industry, can be used as vectors for interest gene insertion in plants, as pathogens inhibitors and primary and secondary metabolite source. Therefore, endophytic bacteria are important for both basic and applied science, and research on them is very important. The main of this work was to raise questions on plant-endophytic bacteria interaction, emphasizing penetration and colonization process in the plant, based in actual discussion on the subject

Keywords: Endophytic bacteria, interaction, colonization

1 INTRODUÇÃO

A maioria das plantas vasculares abrigam bactérias endofíticas (FIRÁKOVÁ et al., 2007; XIE et al., 2020), com representantes Gram-positivas e Gram-negativas dos filos Alfa-, Beta- e Gamma-Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes e Bacteroidetes (BACON & HINTON, 2007). Esses micro-organismos vivem intra ou intercelularmente sem causar danos aparentes à planta (JOO et al., 2020; GOUVEIA et al., 2020), em pelo menos uma parte do seu ciclo de vida (HARDOIM et al., 2008), e são detectados por métodos culturais ou moleculares (KHAN et al., 2020).

A densidade populacional de endofíticos é variável e depende essencialmente das espécies bacterianas, do genótipo e estádio de desenvolvimento do hospedeiro e das condições do ambiente (ROSENBLUETH & MARTÍNEZ-ROMERO 2006). Depende ainda da parte da planta a que associam, a exemplo do demonstrado em cana de açúcar em que a maior parte foi de isolados do caule e folhas (MAGNANI et al., 2010). Além disso, os endolíticos podem expressar genes requeridos para entrada, colonização, crescimento e sobrevivência no interior das plantas, estimulando o desenvolvimento delas, competindo e suprimindo patógenos e produzindo diversas substâncias (AFZAL et al., 2019). O organismo envolvido em associação endofítica tem a necessidade de compartilhar recursos, e assim, o genoma codifica para diversos transportadores que permitem o transporte de nutrientes produzidos pela planta (TAGHAVI et al., 2010).

A existência dessa interação planta-micro-organismo tem sido constatada em diversas partes do vegetal, como: sementes, óvulos, frutos, caules, folhas, raízes, tubérculos, brotos, flores e inflorescências (ZHANG et al., 2006; MIGUEL et al., 2016), sendo provável que a entrada deles seja controlada pela planta e pelas condições do ambiente (SILVA et al., 2006; MIGUEL et al., 2019). Aos endofíticos tem sido atribuída a capacidade de produção de compostos promotores de crescimento das plantas como auxinas, citocininas, giberelinas (HUREK & HUREK, 2011) e metabólitos antimicrobianos, além da supressão da proliferação de nematóides (ROSENBLUETH & MARTINEZ-ROMERO, 2006; CONTI, 2007). Essa relação parece proporcionar outras vantagens, como proteção contra patógenos por indução dos mecanismos de defesa da planta (COMPANT et al., 2010; ELJOUNAIDI et al., 2016), aumento do rendimento das colheitas, fixação do nitrogênio atmosférico (ROSENBLUETH & MARTINEZ-ROMERO, 2006; CONTI, 2007; PADDA et al., 2019) além da solubilização e

assimilação de fosfato (KUKLINSKY-SOBRAL et al., 2004; WALIA et al., 2017). A capacidade do micro-organismo em colonizar tecidos internos pode conferir vantagem ecológica a ele em relação aos epifíticos, já que os tecidos internos provém um ambiente mais protegido de condições extremas de temperatura, potencial osmótico, radiação ultravioleta e competição com outros micro-organismos (HALLMAN et al.; 1997; LATA et al., 2014). Em relação ao seu ciclo de vida, eles podem ser obrigatórios ou facultativos. Endofíticos obrigatórios são estritamente dependentes da associação com a planta para crescimento e sobrevivência. Em contrapartida, os facultativos apresentam um estádio do seu ciclo de vida bifásico, alternando entre plantas e o ambiente, o que constitui o estilo de vida da maioria (HARDOIM et al., 2008).

Neste contexto, buscou-se com este trabalho levantar os principais aspectos da interação planta-bactéria endofítica, enfatizando os processos de penetração, colonização e métodos de identificação do micro-organismo na planta, baseando-se nas discussões atuais sobre o assunto.

2 ASPECTOS SOBRE A COLONIZAÇÃO NA PLANTA

Existe uma relação muito próxima entre bactérias endofíticas e rizosféricas e, por isso, muitas delas podem penetrar na planta hospedeira via raízes (SPRENT & DEFARIA,1988; VAN DER LELIE et al., 2009). Afirma-se que pontos de emergência de raízes laterais e zona de diferenciação e alongamento perto da ponta da raiz são locais proeminentes para ingresso ativo do micro-organismo, onde tecidos um pouco perturbados ou não completamente diferenciados podem facilitar a penetração (HUREK & HUREK., 2011; FIRDOUS et al., 2019). Espaços intercelulares na epiderme, regiões corticais e células vegetais lisadas são os principais locais de colonização, com densidade alta de até 10^{10} células/cm^3 (CHI et al., 2005). Tecidos vasculares e células do xilema também podem ser invadidos, embora muitas vezes em densidades mais baixas (COMPANT et al., 2010).

A colonização pode ocorrer em três etapas, onde na primeira a bactéria move-se em direção às raízes da planta, passivamente ou através do fluxo de água do solo, ou, ainda, ativamente, por meio da atividade flagelar induzida por compostos liberados por ela (SPRENT & DEFARIA,1988), em um mecanismo denominado quimiotaxia, que em *Azosprillum* é induzida por açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos, entre outros compostos (COMPANT et al., 2005). Para isso, genes envolvidos no reconhecimento da célula e quimiotaxia dos exsudados radiculares devem ser ativados. A expressão de genes

envolvidos na quimiotaxia tais como cheY, codificando um regulador de resposta de dois componentes, cheA, codificando um regulador de resposta a quimiotaxia e pctA codificando uma proteína quimiostática são down-regulados com exsudados de uma cultivar de beterraba, mas não por exsudados de uma segunda cultivar. Assim, a composição dos exsudados depende da cultivar, da exposição da planta ao estresse, do estádio de crescimento, o que pode resultar em diferenças na comunidade bacteriana da rizosfera e endofítica (COMPANT et al., 2010).

Numa segunda etapa, pode ocorrer uma adsorção não específica da bactéria às raízes, seguida pelo ancoramento às mesmas (SPRENT & DEFARIA,1988; FIRDOUS et al., 2019). Uma vez ligada às raízes a bactéria sofre várias divisões celulares e estabelece-se em micro colônias (HARDOIM et al., 2008; LIU et al., 2017). Por fim, a bactéria endofítica pode alcançar sítios específicos de tecidos danificados da planta, os quais surgem naturalmente como resultado do crescimento vegetal, através dos pêlos radiculares e em junções epidérmicas ou ainda, via ferimentos (SPRENT & DEFARIA,1988). Dentro da planta, a colonização pode ser sistêmica pela migração através do sistema vascular e apoplasto ou local como em tecidos do córtex e xilema (HALLMANN et al., 1997). Em Gram-negativas, o antígeno-O da camada LPS pode contribuir para a colonização radicular, um processo dependente da espécie bacteriana envolvida.

Outra estrutura importante na colonização é o pillus do tipo IV, o qual é essencial para o estabelecimento de micro-colônias de *Azoarcus* nas raízes de gramíneas (DÖRR et al., 1998). Por isso, a colonização bem sucedida inclui genes envolvidos na quimiotaxia, formação de flagelos e pili, além de várias vias metabólicas e sistemas de transporte (COMPANT et al., 2010). A análise do genoma de *Klebsiella pneumoniae* apresentou características diazotróficas, anaeróbias facultativas e endofíticas, com a presença de genes envolvidos na degradação de carboidratos, incluindo compostos aromáticos e celulolíticos, traços importantes na ciclagem de nutrientes e carbono e sua habilidade para formar associações endofíticas (FOUNTS et al., 2008).

A colonização endofítica é possível pela grande diversidade de enzimas produzidas por seus representantes, tais como celulases e pectinases (HALLMAN et al., 1997), xilanases, liquenase, mananase (CHO et al., 2010; SINGH et al., 2017), além de outras enzimas hidrolíticas. Essa degradação enzimática tem sido observada no momento da colonização da epiderme radicular, mas não nos espaços intercelulares do córtex, mas muito pouco é conhecido sobre a regulação desses processos. Entretanto, sabe-se que a

liberação constitutiva de hidrolases não é desejada, uma vez que poderia resultar em patogenicidade da planta (HALLMAN et al., 1997). Os níveis de enzimas degradadoras da parede celular produzidas por bactérias colonizadoras das raízes diferenciam as endofíticas com baixos níveis, das patogênicas com níveis altos danosos (HARDOIM et al., 2008). Alguns flavonóides aumentam em até 100% o número de raízes laterais de *Arabidopsis Thaliana* colonizadas por *Herbaspirillum seropedicae* e *Azorhizobium caulinodans* e em *Rhizobium* esses compostos estão envolvidos em mecanismos de resistência sistêmica (ROSENBLUETH & MARTÍNEZ-ROMERO, 2006).

A planta quando em estresse utiliza a enzima fenilalanina amônia liase (PAL), responsável pela metabolização de fitoalexinas, a qual apresenta maior atividade nessas situações, produzindo ácido cinâmico, um precursor para a síntese de lignina e compostos aromáticos (BUCHANAN et al.; 2000). Em geral, essa cascata de reações em plantas é induzida por patógenos, mas é provável que micro-organismos endofíticos também desencadeiem esse processo.

3 BENEFÍCIOS DA UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

Bactérias endofíticas podem ser utilizadas como uma alternativa de menor impacto ambiental no controle da ferrugem do cafeeiro causada por *Hemileia vastatrix* (SILVA et al., 2008; MUTHUKUMAR et al., 2017; SILVA et al., 2019), uma vez que ao colonizarem as folhas impedem a germinação dos uredósporos pela secreção de substâncias antimicrobianas (SHIOMI et al., 2006). Dentre as espécies que apresentam melhor desempenho nesse tipo de controle estão: *Bacillus lentimorbus, Bacillus cereus, Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, e *Klebsiella pneumoniae* (SHIOMI et al., 2006). Como os micro-organismos patogênicos afetam a saúde da planta e constituem em grande ameaça a produção de alimentos bactérias endofíticas podem ser consideradas como estratégia interessante no controle biológico desses patógenos (HASEGAWA et al., 2006; HONG & PARK 2016). Elas podem ainda, produzir hormônios de crescimento tais como ácido indol-acético, citocininas, além de melhorar a absorção de nutrientes como fósforo e nitrogênio, sendo que essas bactérias regulam as qualidades nutricionais tais como razão carbono-nitrogênio (ZHANG et al., 2006). *Klebsiella pneumoniae*, por exemplo, é fixadora de nitrogênio atmosférico, uma característica comprovada através de análise genômica pela presença de um *regulon* envolvido na fixação desse elemento (FOUNTS et al., 2008). Entretanto, essa colonização não é dependente da habilidade da bactéria em fixar nitrogênio, uma vez que mutantes Nif– *Gluconacetobacter*

diazotrophicus ou *Herbaspirillum seropedicae* foram capazes exercê-la (ROSENBLUETH & MARTÍNEZ-ROMERO, 2006).

Muitas endofíticas dos gêneros *Pseudomonas, Burkholderia and Bacillus* são conhecidas por produzirem metabólitos secundários como antibióticos, compostos voláteis, antifúngicos, antivirais e inseticidas, entre outros. Elas são, portanto, fontes de novos produtos naturais, com potencial para utilização em biotecnologia. Além disso, bactérias endofíticas, pela infinita gama de compostos que podem degradar, são importantes em processos de biorremediação e melhoria da fitorremediação (RYAN et al., 2008; LIU et al., 2017). Assim, técnicas de engenharia genética têm sido utilizadas para aumentar o potencial de degradação de compostos xenobióticos por bactérias endofiticas associadas às raízes de plantas. Esses trabalhos demostram que essas bactérias melhoradas com a via de degradação adequada não só apenas protegem a planta contra o efeito fitotóxico do contaminante, mas também influenciam na degradação total do contaminante, reduzindo sua evapotranspiração para o ambiente (BARAC et al., 2004).

Em folhas, ramos, raízes e frutos de cafeeiro cultivados no Havai, Colômbia e México, foram isoladas bactérias endofíticas, sendo a maior quantidade dessas nas sementes (VEGA et al., 2005). Os autores constataram o predomínio de *Bacillus, Bulkholderia, Clavibacter, Pseudomonas, Escherichia, Micrococcus, Pantoea, Serratia* e *Stenotrophomonas*. Em frutos de café arábica, as ocorrências de *Staphylococcus simulans, Bacillus niacini, Pectobacterium carotovorum/carotovorum, Salmonella typhimurium, Enterobacter amnigenus, Brevibacterium epidermis/iodium*, já foram também demonstradas (CORDERO, 2008). Como na composição do mesocarpo mucilaginoso de frutos maduros de café estão os açúcares simples, polissacarídeos complexos, proteínas, lipídeos e minerais (DE CASTRO & MARRACCINI., 2006), eles são considerados um excelente meio de cultura para o crescimento e estabelecimento de diversos micro-organismos, sejam eles bactérias, fungos ou leveduras. Assim, tem-se estudado a relação dessa microbiota natural com o possível papel que ela exerce na produção de metabólitos secundários que interferem positiva ou negativamente na qualidade da bebida.

4 MÉTODOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE ENDOFÍTICOS

O critério para distinguir bactérias endofíticas verdadeiras requer isolamento do micro-organismo de uma superfície previamente esterilizada e também a visualização

microscópica destes micro-organismos dentro dos tecidos da planta (RUBY & RAGHUNATH., 2011; ANJUM & CHANDRA, 2015).

Um método bioquímico considerado como discriminador taxonômico para a identificação de espécies em comunidades microbianas é a análise de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMEs) (HILL et al., 2000; GONTIJO et al., 2018). Tal método consiste na esterificação dos lipídeos extraídos da amostra, seguida da separação e identificação por cromatografia gasosa, baseados nos tempos de retenção na coluna cromatográfica, comparados aos tempos de retenção dos padrões submetidos ao mesmo processo (KIRK et al., 2004). Ele tem sido utilizado para estudar a composição da comunidade microbiana e mudanças na população em razão de contaminantes químicos (SICILIANO & GERMIDA, 1998), bem como na identificação de isolados de bactérias em folhas, ramos, talos e raízes (VEGA et al., 2005) e também de endofíticas cultiváveis em frutos de café (CORDERO, 2008; MIGUEL et al., 2013).

Outra ferramenta frequentemente utilizada para se identificar isolados desconhecidos é o sequenciamento do gene rDNA 16S e subsequente comparação da sequência com as depositadas nos Bancos de dados, como o Genbank (National Center for Biotechnology Information) (TEMMERMAN et al., 2004). O gene rDNA 16S é alvo de primers para estudos da diversidade porque está presente em todos os organismos e pouco sujeito a transferência horizontal (KIRK et al., 2004). A sequência ainda contém regiões variáveis espécie-especifica, o que permite a identificação dos isolados bacterianos em nível de espécie. Assim, é o de escolha para a construção de primers, reação em cadeia de polimerase (PCR), sequenciamento e alinhamento de sequências (CAI et al., 2003). Com esse tipo de análise é possível conhecer os gêneros bacterianos em mais de 90 % dos casos e as espécies entre 65 a 83 % (JANDA & ABBOTT, 2007), e, quando o poder discriminatório não é suficiente, a análise filogenética exclui outros gêneros e espécies. Assim, os dados de sequenciamento são mais apurados em razão das relações filogenéticas disponíveis (MIGNARD & FLANDROIS, 2006). Como dificuldades encontradas listam o reconhecimento de novos táxons e a existência das poucas sequências depositadas nos bancos de dados (JANDA & ABBOTT, 2007). A maior limitação da técnica ocorre quando duas espécies bacterianas distintas compartilham sequência rDNA 16S muito similares (WOO et al., 2008).

O sequenciamento do gene rDNA 16S origina dados não ambíguos e reprodutíveis, mesmo para isolados raros (DRANCOURT et al., 2000), e tem se tornado o método de referência para a taxonomia e identificação bacterianas (MIGNARD &

FLANDROIS, 2006). O uso de sequências do rDNA 16S tem levado a reclassificação e renomeação de gêneros e espécies bacterianas, além de permitir a classificação de micro-organismos não cultivados e facilitar a descoberta e classificação de novas espécies (WOO et al., 2008).

Outro método para estudo da diversidade microbiana inclui a análise do perfil fisiológico das comunidades. Esse método é dependente de cultivo e tem a condição de determinar a capacidade do micro-organismo em utilizar diferentes fontes de carbono "in vitro". A metodologia é baseada no uso de microplacas contendo 190 fontes alternativas de carbono. Essas são importantes quando se avalia a diversidade metabólica potencial de comunidades microbianas em diferentes ambientes (KIRK et al., 2004; BOCHNER, 2009; AFZAL et al., 2019). Entretanto, atualmente, a abordagem polifásica é a de escolha (VANDAMME et al., 1996), por tornar as análises mais robustas pela adição à coerência morfológica e bioquímica das espécies, reforçadas por resultados de sequenciamento e reconstrução filogenética (STACKEBRANDT & EBERS, 2006). Ao contrário das endossimbioses ou sistemas patogênicos bem estudados, a base molecular das interações endofíticas ainda não é bem compreendida (HUREK & HUREK, 2011). Análises genômicas comparativas poderão fornecer uma melhor compreensão da dinâmica da comunidade, sinalização e funções em associações endófito- planta (HUREK & HUREK, 2011).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Bactérias endofíticas têm sido encontradas em várias plantas estudadas, onde colonizam os tecidos internos do seu hospedeiro. A maioria desses micro-organismos originam das raízes, entretanto podem ser transmitidos via ferimentos e aberturas naturais, ou penetram ativamente pela produção de enzimas hidrolíticas. Essa relação parece proporcionar outras vantagens, como proteção contra patógenos por indução dos mecanismos de defesa da planta aumento do rendimento das colheitas, fixação do nitrogênio atmosférico além da solubilização e assimilação de fosfato, promovendo o crescimento da planta. Além disso, são utilizadas na remoção de agentes tóxicos do solo.

A caracterização de bactérias endofíticas requer isolamento do micro-organismo de uma superfície previamente esterilizada, seguida por métodos culturais e moleculares, além de estudos de filogenia. Ainda, a análise dos genomas sequenciados e a caracterização dos genes desconhecidos e a identificação de genes expressos durante a colonização auxiliam a entender o processo de colonização e interação de bactérias

benéficas em plantas. Assim, os estudos dessas interações e sua função dentro do hospdeiro são importantes para abordar a relevância ecológica dos endofíticos.

REFERÊNCIAS

AFZAL, I.; SHINWARI, Z. K.; SIKANDAR, S.; SHAHZAD, S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. Microbiological research, v. 221, p. 36-49, 2019.

ANJUM, N.; CHANDRA, R. Endophytic bacteria: optimization of isolation procedure from various medicinal plants and their preliminary characterization. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, v. 8, n. 2, p. 233-238, 2015.

BACON, CW & HINTON, DM. Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility. In: GNANAMANICKAM, S. S. 1 ed. Plant-Associated Bacteria. Netherlands: Springer. 2007, p. 155-195.

BARAC T, TAGHAVI S, BORREMANS B, PROVOOST A, OEYEN L, COLPAERT, J. V.; VANGRONSVELD, J & VAN DER LELIEL, D. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water- soluble, volatile, organic pollutants. Nature Biotechnology. v. 22, p. 583–588, 2004.

BOCHNER, B. R. Global phenotypic characterization of bacteria. FEMS Microbiology Reviews, v. 33, v. 1, p.191–205, 2009.

BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W., and Jones, R. L. (eds.) (2000) Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Amer. Soc. Plant Physiologists, Rockville, MD, 2000.

CAI, H.; ARCHAMBAULT, M & PRESCOTT, J. F. 16S ribosomal RNA sequence–based identification of veterinary clinical bacteria. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v.15, n. 5, p. 465–469, 2003.

CHI, F; SHEN, SH; CHENG, HP; JING, YX; YANNI, YG; DAZZO, FB, Ascending migration of endophytic Rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. Appl. Environmental Microbiology, 71: 7271–7278, 2005.

CHO, S. H.; LEE, K. S.; SHIN, D. S.; HAN, J. H.; PARK, K. S.; LEE, C. H.; PARK, K. A.; KIMAN, S. B. Four new species of *Chryseobacterium* from the rhizosphere of coastal sand dune plants, *Chryseobacterium elymi* sp. nov., *Chryseobacterium hagamense* sp. nov., *Chryseobacterium lathyri* sp. nov. and *Chryseobacterium rhizosphaerae sp*. Systematic and Applied Microbiology, v. 33, n. 3, p. 122–127, 2010.

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLÉMENT, C & AIT BARKA, E. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. Applied and Environmental Microbiology, v. 71, n. 9, p. 4951–4959, 2005.

COMPANT, S; CLÉMENT, C; SESSITSCH, A, Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization, 42: 669-678, 2010.

CONTI, R. Diversidade e atividade antimicrobiana de microrganismos endofíticos da planta medicinal *Borreria verticillata* L. G. F. W. Meyer. 2007. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2007.

CORDERO, A. F. P. Diversidade de bactérias endofíticas em frutos de café. 2008. 78f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

DE CASTRO, R.D.; MARRACCINI, P. Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. Brazilian Journal of Plant Physiology, v.18, p.175-199. 2006.
DÖRR, J., T. HUREK, AND B. REINHOLD-HUREK. Type IV pili are involved in plant-microbe and fungus-microbe interactions. Molecular Microbiology. v. 30, p. 7-17, 1998.

DRANCOURT, M.; BOLLET, C.; CARLIOZ, A.; MARTELIN, R.; GAYRAL, J. P.; RAOULT. D. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. Journal of Clinical Microbiology, v. 38, n. 10, p. 3623–3630, 2000.

ELJOUNAIDI, K.; LEE, S. K.; BAE, H. Bacterial endophytes as potential biocontrol agents of vascular wilt diseases–review and future prospects. Biological Control, v. 103, p. 62-68, 2016.

FIRDOUS, J.; LATHIF, N. A.; MONA, R.; MUHAMAD, N. Endophytic bacteria and their potential application in agriculture: A review. Indian Journal of Agricultural Research, v. 53, n. 1, p. 1-7, 2019.

FIRÁKOVÁ, S, ŠTURDÍKOVÁ, M.; MÚČKOVÁ, M. Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. Biologia, v.62, n.3, p. 251-257, 2007.

FOUTS, D. E, TYLER, H. L, DEBOY, R. T.; DAUGHERTY, S.; REN, Q.; BADGER, J. H.; DURKIN, A. S.; HUOT, H.; SHRIVASTAVA, S.; KOTHARI, S.; DODSON, R. J.; MOHAOUD, Y.; KHOURI, H.; ROESCH, L. F. W.; KROGFELT, K. A.; STRUVE, C.; TRIPLETT, E. W & METHE, B. A. Complete genome sequence of the N2-fixing broad host range endophyte *Klebsiella pneumoniae* 342 and virulence predictions verified in mice. PLoS Genetics. v. 4, n. 7, p. 1-18, 2008.

GONTIJO, J. B.; ANDRADE, G. V. S.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Bioprospecting and selection of growth-promoting bacteria for Cymbidium sp. orchids. Scientia Agrícola, v. 75, n. 5, p. 368-374, 2018.

GOUVEIA, M. J.; ARAÚJO, R. S.; MELLO, M. R. F.; LEITE, T. C. C.; SENA, A. R. Isolamento e avaliação qualitativa de bactérias endofíticas e epfíticas quanto à habilidade

de utilizar ácido tânico. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 12, p. 95524-95533, 2020.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology, v.43, n.1, p.895-914. 1997.

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

HASEGAWA, S.; MEGURO, A.; SHIMIZU, M.; NISHIMURA, T & KUNOH, H. Endophytic Actinomycetes and their interactions with host plants. Actinomycetologica. v. 20, n. 2, p. 72-81, 2006.

HILL, G.T.; MITKOWSKI, A.; Aldrich-Wolfe, L.; EMELEA, L.R.; JURKONIE, D.D.; Ficke, A.; Maldonado-Ramireza, S.; LYNCHA, S.T & NELSON, E. B. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. Applied Soil Ecology. v. 15, p. 25–36, 2000.

HONG, C. E.; PARK, J. M. Endophytic bacteria as biocontrol agents against plant pathogens: current state-of-the-art. Plant Biotechnology Reports, v. 10, n. 6, p. 353-357, 2016.
HUREK, B. R; HUREK, T, Living inside plants: bacterial endophytes. Current Opinion in Plant Biology, 14:435–443, 2011.

JANDA, J. M & ABBOTT, S. L. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. Journal of Clinical Microbiology. v. 45, n. 9, p. 2761–2764, 2007.

JOO, H. S.; DEYRUP, S. T.; SHIM, S. H. Endophyte-produced antimicrobials: a review of potential lead compounds with a focus on quorum-sensing disruptors. Phytochemistry Reviews, p. 1-26, 2020.

KHAN, S. S.; VERMA, V.; RASOOL, S. Diversity and the role of endophytic bacteria: a review. Botanica Serbica, v. 44, n. 2, p. 103-120, 2020.

KIRK, J.; BEAUDETE, L.; HART, M.; MOUTOGLIS, P.; KLIROMONOS, J.; LEE, H & TREVORS, J. Methods of studying soil microbial diversity. Journal of Microbiological Methods, v. 58, n. 2, p. 169-188, 2004.

KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAÚJO, W. L.; MENDES, R.; GERALDI, I. O.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. Environmental Microbiology. v. 6, n. 12, p. 1244-1251, 2004.

LATA, R.; CHOWDHURY, S.; GOND, S. K.; WHITE, J. F. Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. Letters in applied microbiology, v. 66, n. 4, p. 268-276, 2018.

LIU, H.; CARVALHAIS, L. C.; CRAWFORD, M.; SINGH, E.; DENNIS, P. G.; PIETERSE, C. M.; SCHENK, P. M. Inner plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. Frontiers in microbiology, v. 8, p. 2552, 2017.

LIU, S. H.; ZENG, G. M.; NIU, Q. Y.; LIU, Y.; ZHOU, L.; JIANG, L. H.; CHENG, M. Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. Bioresource technology, v. 224, p. 25-33, 2017.

MAGNANI, G. S.; DIDONET, C. M.; CRUZ, L. M.; PICHETH, C. F., PEDROSA, F. O & SOUZA, E. M. Diversity of endophytic bacteria in Brazilian sugarcane. Journal Genetics and Molecular Research, v.9, n.1, p.250-258, 2010.

MIGNARD, J. P.; FLANDROIS, S. 16S rRNA sequencing in routine bacterial identification: A 30-month experiment. Journal of Microbiological Methods, v. 67, n. 3, p. 574–581, 2006.

MIGUEL, P. S. B.; DELVAUX, J. C.; OLIVEIRA, M. N. V.; MONTEIRO, L. C. P.; COSTA, M. D.; TOTOLA, M. R.; BORGES, A. C. Diversity of endophytic bacteria in the fruits of Coffea canephora. African Journal of Microbiology Research, v. 7, n. 7, p. 586-594, 2013.

MIGUEL, P. S. B.; OLIVEIRA, M. N. V.; DELVAUX, J. C.; JESUS, G. L.; BORGES, A. C.; TÓTOLA, M. R.; COSTA, M. D. Diversity and distribution of the endophytic bacterial community at different stages of Eucalyptus growth. Antonie van Leeuwenhoek, v. 109, n. 6, p. 755-771, 2016.

MIGUEL, P. S. B.; MIGUEL, F. B.; MOREIRA, B. C.; OLIVEIRA, M. N. V.; DELVAUX, J. C.; FREITAS, F. S.; COSTA, M. D. Diversity of the endophytic filamentous fungal leaf community at different development stages of eucalyptus. Journal of Forestry Research, v. 30, n. 3, p. 1093-1103, 2019.

MUTHUKUMAR, A.; UDHAYAKUMAR, R.; NAVEENKUMAR, R. Role of bacterial endophytes in plant disease control. In: Endophytes: Crop Productivity and Protection. Springer, Cham, 2017. p. 133-161.

PADDA, K. P.; PURI, A.; CHANWAY, C. Endophytic nitrogen fixation–a possible 'hidden'source of nitrogen for lodgepole pine trees growing at unreclaimed gravel mining sites. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 95, n. 11, p. fiz172, 2019.

ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. Molecular Plant-Microbe Interactions MPMI v. 19, n. 8, p. 827–837, 2006.

RYAN, R. P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D. J & DOWLING, D. N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. FEMS Microbiolology Letters. v. 278, n. 1, p. 1–9, 2008.

RUBY, J & Raghunath, M. A Review: Bacterial Endophytes and their Bioprospecting. Journal of Pharmacy Research, v. 4, n. 3, p. 795-799, 2011.

SHIOMI, H. F., SILVA, H. S. A.; MELO, I. N. S.; NUNES, F. V.; BETTIOL, W. Bioprospecting Endophytic Bacteria for Biological Control of Coffee leaf rust. Scientia Agricola, v.63, n.1, p.32-39, 2006.

SICILIANO, S. D., GERMIDA, J.J. Biolog analysis and fatty acid methyl ester profiles indicate that Pseudomonad inoculants that promote phytoremediation alter the root-associated microbial community of *Bromus biebersteinii*. Soil Biology and Biochemistry, v. 30, n. 13, p. 1717–1723, 1998.

SILVA, H. S. A.; BETTIOL, W.; TERRASAN, C. R. F.; TOZZI, J. P. L.; MELO, I. S NUNES, F. V. Microrganismos Endofíticos: potencial de uso como agentes de biocontrole da ferrugem do cafeeiro. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. n. 38, 2006, 25p.

SILVA, H. S. A.; TERRASAN, C. R. F.; TOZZI, J. P. L.; MELO, I. S.; BETTIOL, W. Bactérias endofíticas do cafeeiro e a indução de enzimas relacionadas com o controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*). Tropical Plant Pathology, v. 33, n. 1, p. 49-54, 2008.

SILVA, C. S.; ARAÚJO, R. G. V.; LIMA, J. R. B.; SANTOS, T. M. C.; NASCIMENTO, M. S.; MONTALDO, Y.; SILVA, J. M. Resistence induction in Brassica oleracea var. acephala to xanthomonas campestris pv. campestris and growth promotion by endophytic/bactéria Indução de resistência em Brassica oleracea var. acephala à Xantomonas campestris pv. campestris e promoção de crescimento por bactérias endofíticas. Brazilian Journal of Development, v. 5, n. 10, p. 22401-22414, 2019.

SINGH, M.; KUMAR, A.; SINGH, R.; PANDEY, K. D. Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. 3 Biotech, v. 7, n. 5, p. 315, 2017.

SPRENT, J. I.; DEFARIA, S. M. Mechanisms of infection of plants by nitrogen-fixing organisms. Plant and Soil, v. 110, n. 2, p. 157–165, 1988.

STACKEBRANDT, E.; EBERS, J. "Taxonomic parameters re-visited: tarnished gold standards," Microbiology Today, v.33, n. 4, p. 152-155, 2006.

TAGHAVI, S.; DER LELIE, D. V.; HOFFMAN, A.; ZHANG, Y. B.; WALLA, M. D.; VANGRONSVELD, J.; NEWMAN, N.; MONCHY, S. Genome Sequence of the Plant Growth Promoting Endophytic Bacterium *Enterobacter sp*. 638. PLoS Genetics. v. 6, n. 5, p. 1-15, 2010.

TEMMERMAN, R.; HUYS, G.; SWINGS, J. Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture independent methods. Trends in Food Science & Technology, v.15, n. 7, p.348–359, 2004.

VANDAMME, P.; POT, B.; GILLIS, M.; VOS, P.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. Polyphasic Taxonomy, a Consensus Approach to Bacterial Systematics. Microbiological Reviews, v. 60, n. 2, p. 407–438, 1996.

VAN DER LELIE, D.; TAGHAVI, S.; MONCHY, S.; SCHWENDER, J.; MILLER, L.; FERRIERI, R.; ROGERS, A.; WU, X.; ZHU, W.; WEYENS, N.; VANGRONSVELD, J.; NEWMAN, L. Poplar and its Bacterial Endophytes: Coexistence and Harmony. Critical Reviews in Plant Science, v. 28, n. 5, p. 346-358, 2009.

VEGA, F. E.; PAVA-RIPOLL, M.; POSADA, F & BUYER, J. S. Endophytic bacteria in *Coffea arabica* L. Journal Basic Microbiology, v 45, n. 5, p371–380, 2005.

XIE, H.; FENG, X.; WANG, M.; WANG, Y.; KUMAR AWASTHI, M.; XU, P. Implications of endophytic microbiota in Camellia sinensis: a review on current understanding and future insights. Bioengineered, v. 11, n. 1, p. 1001-1015, 2020.

WALIA, A.; GULERIA, S.; CHAUHAN, A.; MEHTA, P. Endophytic bacteria: role in phosphate solubilization. In: Endophytes: Crop productivity and protection. Springer, Cham, 2017. p. 61-93.

WOO, P. C. Y.; LAU, S. K. P.; TENG, J. L. L.; TSE, H.; YUEN, K. Y. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. Clinical Microbiology and Infection, v.14, n. 10, p. 908-934, 2008.

ZHANG, H.; SONG, Y. C.; TAN, R. X. Biology and chemistry of endophytes. Natural Product Reports. v. 23, n. 5, p. 753–771, 2006.