

Quorum sensing em sistemas agrícolas

Comportamento multicelular em procaríoto via comunicação intercelular

Norma Gouvêa Rumjanek

PhD, Química Farmacêutica, Pesquisadora
Embrapa Agrobiologia
norma@cnpab.embrapa.br

Mônica Cristina Cardoso da Fonseca

Dra., Fitotecnia, Analista ambiental, IBAMA
monica.fosenca@ibama.gov.br

Gustavo Ribeiro Xavier

Dr., Ciência do Solo, Pesquisador
Embrapa Agrobiologia
gustavo@cnpab.embrapa.br

Ilustrações cedidas pelos autores

Introdução

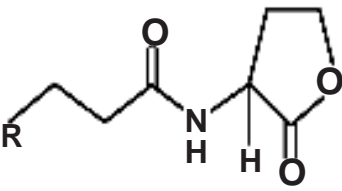
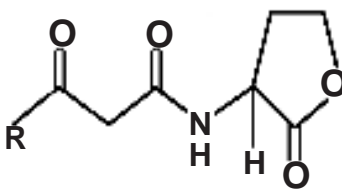
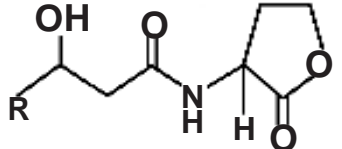
Bactérias tradicionalmente definidas como seres unicelulares de estrutura celular procarionte podem atuar de maneira multicelular quando um determinado nível populacional crítico é atingido. A percepção da densidade celular resulta de uma comunicação intercelular mediada pela secreção de sinais moleculares sintetizados pelas células individuais. Estas moléculas são detectadas por receptores específicos o que permite as células bacterianas “tomarem conhecimento” do tamanho da população através da concentração dos sinais, e quando o nível crítico é atingido elas passam a agir em grupo como um único organismo multicelular. Este nível crítico caracteriza, como no caso de uma assembléia, um “quorum” onde as ações passam a ser tomadas em conjunto.

O comportamento coletivo pode ser vantajoso, como por exemplo, a migração para ambientes mais satisfatórios com melhor oferta de nutrientes e, a adoção de novos modelos de crescimento, tais como, esporulação ou formação de biofilmes, que propiciam proteção contra efeitos deletérios do ambiente. Como os microrganismos apresentam uma diversidade metabólica e são capazes de ocupar todos os nichos onde a vida é termodinamicamente possível, as vantagens advindas da atuação de bactérias como organismos multicelulares interessam a diferentes áreas do conhecimento, entre elas, a medicina e a agronomia, onde a natureza do com-

portamento celular pode resultar na formação de simbioses e associações benéficas, ou adversas, causando estados patogênicos através da regulação de fenótipos específicos.

Os sinais moleculares, também chamados de auto-indutores ou feromônios, regulam genes específicos que caracterizam o comportamento multicelular propiciando desta maneira a exploração do ambiente de maneira muito mais eficiente do que seria possível a células individuais. Densidades populacionais muito baixas de estirpes patogênicas, por exemplo, teriam uma chance limitada de superar os sistemas de defesa de um hospedeiro (animal ou vegetal) e promover com sucesso um ataque a este organismo. Neste caso, um retardamento na expressão dos fatores de virulência pelo agente patogênico até o momento que fosse atingido um número suficiente de células pode ser uma estratégia altamente interessante, uma vez que o sistema de defesa do organismo só seria ativado quando a situação estivesse mais favorável ao agente patogênico. De modo similar, bactérias benéficas responsáveis pela fixação de nitrogênio podem empregar este mecanismo para otimizar a formação de nódulos nas raízes das plantas. Bactérias capazes de produzir substâncias antagonistas que atuam como agentes de biocontrole, matando ou inibindo a proliferação de microrganismos fitopatogênicos, também se beneficiam do mecanismo de percepção do “quorum”. Neste caso, as substâncias antagonistas são produzi-

Tabela 1: Estruturas de auto-indutores da classe dos ALHs encontrados em diversas espécies de bactérias.

Estrutura	Radical	Fórmula	Microrganismo
	CH ₃	C4-HSL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Aeromonas sp.</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₂	C6-HSL	<i>Chromobacterium violaceum</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₄	C8-HSL	<i>Burkholderia cepacia</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₆	C10-HSL	<i>Erwinia chrysanthemi</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₅ CHCH(CH ₂) ₃	7-cis-C14-HSL	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₂	3-oxo-C6-HSL	<i>Photobacterium fischeri</i> , <i>Yersinia sp.</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₄	3-oxo-C8-HSL	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₆	3-oxo-C10-HSL	<i>Vibrio anguillarum</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₈	3-oxo-C12-HSL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CH ₃	3-hidro-C4-HSL	<i>Vibrio harveyi</i> , <i>Xenorhabdus nematophilus</i>
	CH ₃ (CH ₂) ₅ CHCH(CH ₂) ₃	3-hidroxi-7-cis--C14-HSL	<i>Rhizobium leguminosarum</i>

Fonte: www.quorum-sensing.de/qsintro.html em 10/12/2002 (modificado).

das apenas quando uma densidade populacional crítica da bactéria é atingida reduzindo as chances de aparecimento de formas de resistência do patógeno o que dificultaria o controle destas populações.

“Quorum sensing”

“Quorum sensing” (QS) é o mecanismo de comunicação através do qual bactérias regulam a expressão de conjuntos de genes especializados em resposta à densidade celular (Cha et al., 1998). Hardman et al. (1998) referem-se a QS como um exemplo de comportamento multicelular em procaríotos que regula diversos processos fisiológicos, incluindo bioluminescência, biossíntese de antibióticos, transferência de plasmídeos por meio de conjugação e produção de fatores de virulência em patógenos de plantas e animais. A percepção do “quorum” é capaz, também, de promover a diferenciação multicelular, desenvolvimento de corpos de frutificação e esporulação, assim como a ativação de processos de metabolismo secundário. A formação de biofilmes

também tem sido considerada uma resposta ao mecanismo de QS. McLean e colaboradores (1997) detectaram a presença de sinais moleculares somente sobre extratos de rochas submersas onde havia a formação de biofilmes aquáticos. Nos extratos obtidos de rochas sem biofilmes estes sinalizadores estavam ausentes.

Os auto-indutores são moléculas pequenas produzidas pelas células bacterianas. Estas moléculas atravessam as células, algumas vezes por simples difusão, e se acumulam no ambiente em quantidade proporcional ao crescimento celular. Por meio do mecanismo de QS, a bactéria é capaz de detectar a concentração de auto-indutores, e desta maneira perceber o tamanho da população. A partir de uma determinada concentração limite dos auto-indutores, estes sinais servem de co-indutores e passam a regular a transcrição de genes-alvo sendo que os produtos de transcrição garantem, presumivelmente, alguma vantagem para a célula bacteriana nesta condição particular (Figura 1).

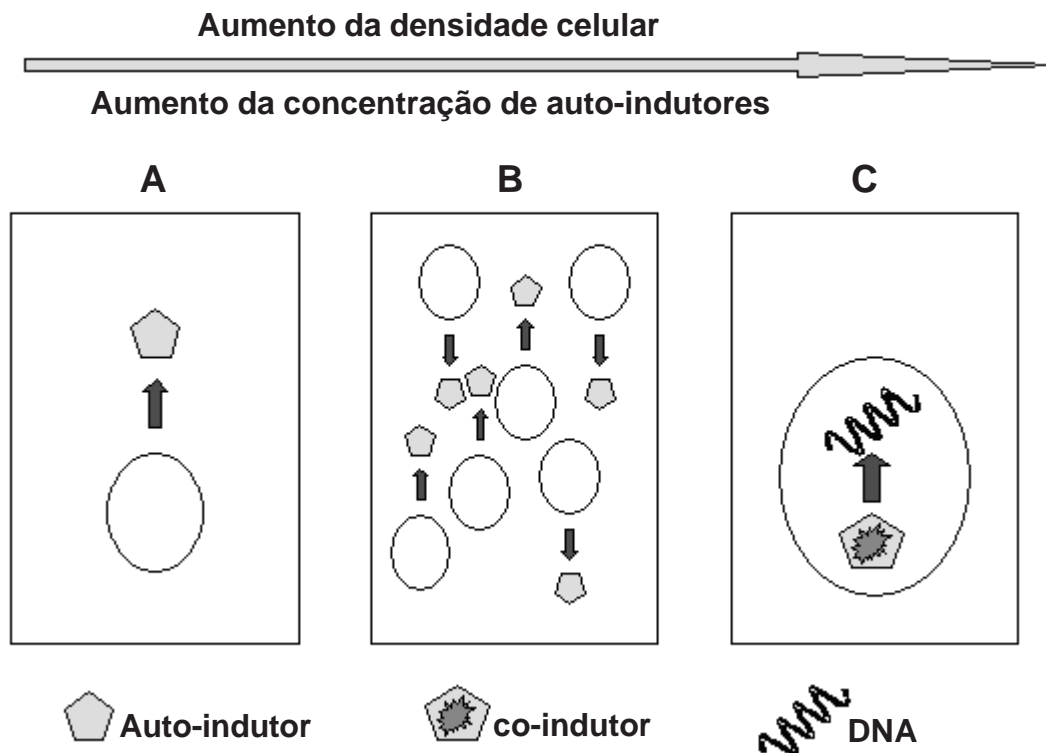
Estudos *in vitro* têm mostrado

que as bactérias utilizam uma grande variedade de sinalizadores, inclusive o estado nutricional e a densidade populacional, para perceber e responder ao meio biótico (Gray, 1997; Wirth, 2000).

Histórico

Os estudos sobre QS foram iniciados no fim dos anos 60. Kenneth H. Nealson e John Woodland Hastings e colaboradores (Nealson et al., 1970; Nealson, 1977) observaram uma característica peculiar na bactéria Gram-negativa, simbiótica, luminescente *Vibrio fischeri* (também citada como *Photobacterium fischeri*) que coloniza órgãos luminosos especializados de certos peixes e cefalópodos, como a lula (*Euprymna scolopes*). Esta colonização garante uma bioluminescência ao organismo e desempenha um papel na atração da presa ou na camuflagem. Esses pesquisadores descobriram que a bactéria *V. fischeri*, que coloniza a lula, é capaz de proporcionar invisibilidade ao seu hospedeiro. À noite, quando a lula se alimenta, a luminescência proveniente dos órgãos

Figura 1: Mecanismo de “quorum sensing” regulado pela secreção de auto-indutores sintetizados pela célula bacteriana (A) que a partir de uma concentração crítica (B) passam a atuar como co-indutores e promovem a transcrição de genes-alvo (C).



luminosos é dirigida para o fundo do mar e regulada de forma a simular a intensidade da luz da lua e/ou estrelas, impedindo desta forma a projeção de qualquer sombra o que poderia atrair predadores (Visick & McFall-Ngai, 2000) (Figura 2). A bactéria marinha existe naturalmente tanto no estado plântônico de vida livre quanto como simbiote (Ruby & Nealson, 1976, Ruby & McFall-Ngai, 1992), porém, a luminescência só é observada quando a bactéria coloniza os órgãos dos animais hospedeiros mencionados, não ocorrendo emissão de luz quando em vida livre. Do ponto de vista evolutivo parece ser coerente que a bactéria mantenha um controle rigoroso da bioluminescência, uma vez que o mecanismo através do qual a luz é produzida é altamente consumidor de energia.

Por outro lado, estudos realizados sob condições de cultivo em meio líquido mostraram que a produção de luz só é ativada na presença de um grande número de células presente (Greenberg, 1997). Inicialmente, sugeriu-se que no meio líquido deveria estar presente um inibidor da

luminescência que de alguma forma seria removido quando a população alcançasse um tamanho crítico (Kempner & Hanson, 1968). A explicação surgiu quando o cultivo foi realizado num meio pré-exposto à bactéria, o que resultou no aparecimento da luminescência mesmo sob baixa densidade celular. Posteriormente, demonstrou-se que a luminescência era iniciada não pela remoção de um inibidor, mas pelo acúmulo de uma molécula ativadora ou auto-indutora (Nealson et al., 1970; Eberhard, 1972). Esta molécula produzida e secretada pela bactéria ativava a luminescência quando uma concentração suficientemente alta era atingida. Desta forma, a bactéria é capaz de perceber a densidade celular através da detecção da concentração do auto-indutor.

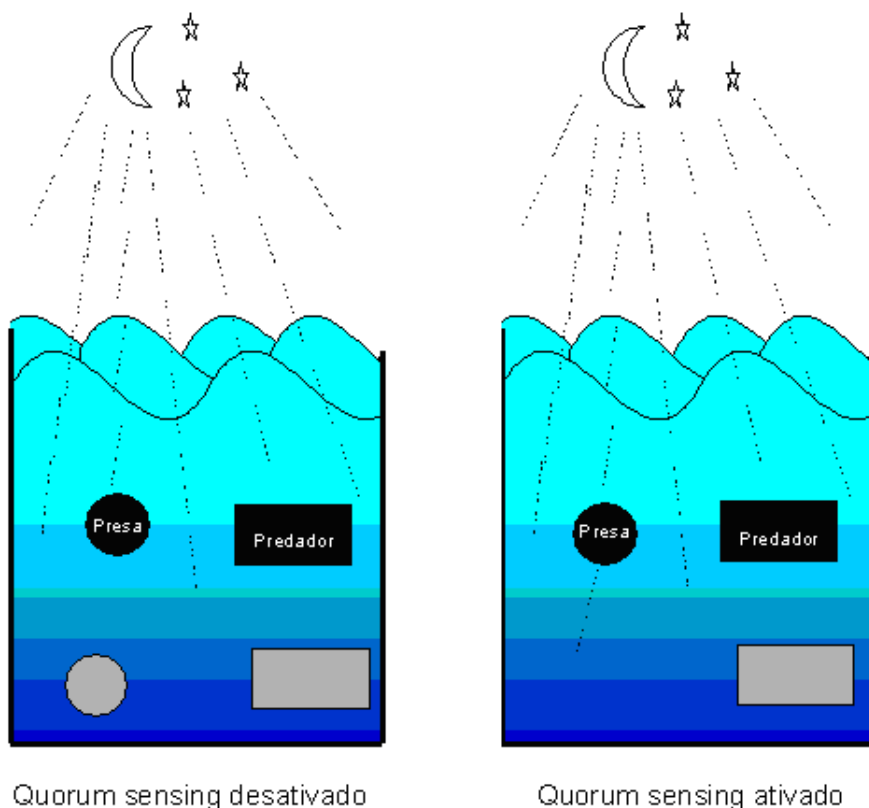
Auto-indutores em bactérias Gram-negativas

A molécula produzida por *V. fischeri* foi isolada, caracterizada e identificada como *N*-(3-oxohexanoil)-lactona homoserina (3-oxo-C6-LHS) pela primeira vez em 1981 por

Eberhard e colaboradores (Eberhard et al., 1981). As análises dos genes envolvidos no QS em *V. fischeri* foram iniciadas por Engebrecht et al. (1983) que demonstraram que a bactéria regula a expressão de genes codificados para bioluminescência em resposta à densidade da população, levando a um modelo básico de QS nesta bactéria que é atualmente um paradigma para outros sistemas de QS similares.

A pesquisa sobre a regulação da bioluminescência em *V. fischeri* levou a descoberta dos sistemas bacterianos de QS via *N*-ácil lactonas homoserinas (ALHs). A partir desta descoberta, a identificação do mecanismo de QS em diferentes grupos bacterianos passou a ser antecedida da identificação dos sinais químicos moleculares respectivos (Kaiser & Losick, 1993; Costerton et al., 1995; Kaprelyants & Kell, 1996). Estes sinais extracelulares são conhecidos genericamente como feromônios (Stephens, 1986; Kell et al., 1995; Moré et al., 1996; Hardman et al., 1998; Harris et al., 1998; Mãe et al., 2001), auto-indutores (Nealson, 1977; Meighen, 1991; Fuqua et al., 1996) ou auto-reguladores (Khokhlov, 1991).

Figura 2: Invisibilidade ou ausência de sombra conferida à presa (lula) através da ativação do mecanismo de “quorum sensing” que produz bioluminescência em *Vibrio fischeri*.



Fonte: www.quorum-sensing.de/qsintro.html em 10/12/2002 (modificado).

Os ALHs formam uma classe de moléculas sinalizadoras de QS geralmente encontrada em bactérias Gram-negativas que apresentam uma estrutura comum de aminoácidos modificados (lactonas homoserinas) com radicais substituintes de cadeias acil (Tabela 1).

No caso do *V. fischeri*, quando a população de bactérias atinge um determinado nível crítico, as moléculas do auto-indutor passam a interagir com proteínas chamadas LuxR, convertendo-as os fatores de transcrição ativos. É ativada então a transcrição do operon *lux*, cujo primeiro gene é o *luxI*. A partir daí, a proteína LuxI, codificada por este gene, cataliza a síntese de novas moléculas sinalizadoras ALHs (Dunlap & Greenberg, 1988; Fuqua et al., 1994; Fuqua et al., 1996). Sendo assim, a ativação por auto-indução resulta na produção de quantidades crescentes dos ativadores funcionais (co-indutores) e, concomitantemente,

a amplificação da transcrição do operon-alvo (Figura 3).

Este tipo de circuito regulatório mediado por ALHs e proteínas pertencentes às famílias LuxR e LuxI é comum a uma grande quantidade de bactérias Gram-negativas e, é capaz de atuar, também, como regulador da expressão de genes envolvidos em interações microrganismo-microrganismo e hospedeiro-microrganismo, sejam estas benéficas ou prejudiciais (Fuqua et al., 1996 e Swift et al., 1996).

No início dos anos 90, foram descobertas outras bactérias Gram-negativas que possuíam sistemas de QS regulando genes com diferentes funções (Throup et al., 1995; Eberl et al., 1996; McClean et al., 1997; Puskas et al., 1997; Swift et al., 1997). Muitos destes sistemas empregam ALHs, o que levou ao desenvolvimento de bio-sensores capazes de detectar estas moléculas sinalizadoras em outras

bactérias, como *Enterobacter*, *Hafnia*, *Rabnella* e *Serratia* (Swift et al., 1993; Winson, 1998). Desde então, este e, também, outros métodos têm sido usados para identificar um grande número de espécies que apresentam sistemas de QS. A Tabela 2 lista bactérias que possuem sistemas de QS baseados em moléculas ALHs e o fenótipo correspondente derivado da ativação do sistema.

Auto-indutores em bactérias Gram-positivas

As bactérias Gram-positivas se comunicam por meio de diferentes sinalizadores de QS. Muitas delas empregam peptídeos modificados pós-tradução obtidos a partir de precursores maiores. Ao contrário dos ALHs, estes peptídeos são geralmente secretados por transportadores dependentes de ATP. Alguns interagem com sensores de quinases ligados à membrana que transportam o sinal através da membrana, outros são transportados diretamente para dentro da célula por permeases de oligopeptídeos, onde então interagem com receptores intracelulares. Estes sistemas estão envolvidos na regulação de processos tão diversos como virulência em *Staphylococcus aureus*, competência para aquisição de DNA em *Bacillus subtilis* e *Streptococcus pneumoniae*, esporulação em *B. subtilis*, transferência de plasmídeo por conjugação em *Enterococcus faecalis*, e produção de bacteriocina em bactérias de ácido láctico (Kleerebezem et al., 1997; Lazizzera & Grossman, 1998; Kuipers et al., 1998; Mayville et al., 1999; Novick & Muir, 1999).

Uma segunda molécula sinalizadora de QS utilizada por bactérias Gram-positivas é a butirolactona, usada por várias espécies de *Streptomyces* para controlar a produção e resistência à antibiótico (Bibb, 1996) e síntese de micélio aéreo (Nodwell & Losick, 1998).

Comunicação entre diferentes espécies microbianas

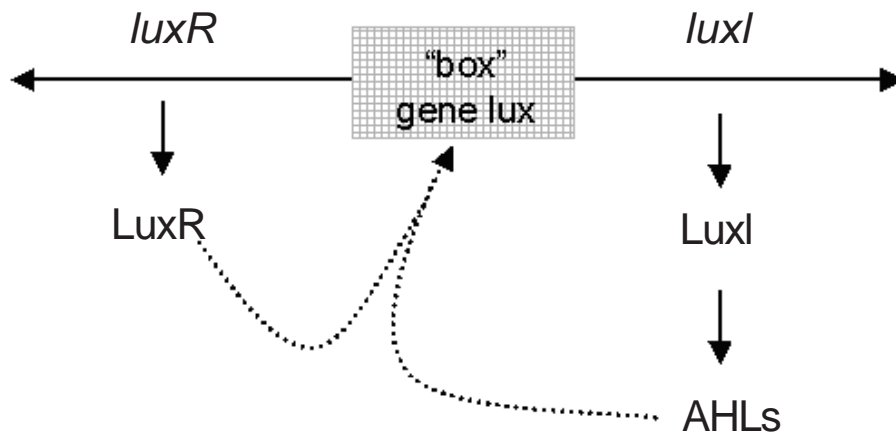
A maioria das bactérias que habitam água, solo, plantas e animais é



Tabela 2: Espécies bacterianas que possuem sistemas de QS análogos ao de *Vibrio fischeri*.

Bactéria	Proteínas homólogas a LuxR/I	Principal ALH	Fenótipo decorrente	Referência
<i>Aeromonas hydrophila</i>	AhyR, AhyI	C4-HSL	Protease extracelular, formação de biofilme	Swift et al., 1997; 1999b; 1999c; Lynch et al., 1999
<i>Aeromonas salmonicida</i>	AsaR, AsaI	C4-HSL	Protease extracelular	Swift et al., 1997
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	TraR, TraI	3-oxo-C8-HSL	Conjugação	Fuqua et al., 1994; Piper et al., 1999
<i>Burkholderia cepacia</i>	CepR, CepI	C8-HSL	Protease, sideróforo	Lewenza et al., 1999
<i>Chromobacterium violaceum</i>	CviR, CviI	C6-HSL	Antibióticos, violaceína, exoenzimas, cianeto	McClellan et al., 1997; Chernin et al., 1998
<i>Enterobacter agglomerans</i>	EagR, EagI	3-oxo-C6-HSL	Desconhecido	Swift et al., 1993
<i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i>	CarR, ExpRExpI (Carl)	3-oxo-C6-HSL	Antibiótico carbapenem, exoenzimas	Bainton et al., 1992; Swift et al., 1993; Pirhonen et al., 1993
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	ExpR, ExpI (EchR, EchI)	3-oxo-C6-HSL	Pectinases	Nasser et al., 1998
<i>Escherichia coli</i>	SdiA	Desconhecido	Divisão celular	Sitnikov et al., 1996
<i>Nitrosomas europaea</i>	Desconhecido	3-oxo-C6-HSL	Emergência da fase lag	Batchelor et al., 1997
<i>Obesumbacterium proteus</i>	OprR, OprI	3-oxo-C6-HSL	Desconhecido	Swift et al., 1999
<i>Pantoea stewartii</i>	EsaR, EsaI	3-oxo-C6-HSL	Exopolissacarídeo	Beck von Bodman & Farrand, 1995
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	LasR, LasI	3-oxo-C12-HSL	Exoenzimas, Xcp, formação de biofilme, RhlR, espaçamento célula a célula.	Chapon-Hervé et al., 1997; Gambello & Iglewski, 1991; Passador et al., 1993; Glessner et al., 1999
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	RhlR, RhlI (VsmR, VsmI)	C4-HSL	Exoenzimas, cianeto, RpoS, lectinas, pyocianina, ramnolipídeo, pili tipo 4	Latifi et al., 1995; 1996; Winson et al., 1995; Pearson et al., 1997; Glessner et al., 1999
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	PhzR, PhzI	C6-HSL	Antibiótico fenazina	Pierson III et al., 1994; Wood et al., 1997
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	PhzR, PhzI	Desconhecido	Antibiótico fenazina	Shaw et al., 1997
<i>Pseudomonas syringae pv. tabaci</i>	PsyR, PsyI	Desconhecido	Desconhecido	Swift et al., 1999
<i>Ralstonia solanacearum</i>	SolR, SolI	C8-HSL	Desconhecido	Flavier et al., 1997
<i>Rhizobium etli</i>	RaiR, RaiI	Desconhecido	Restrição do número de nódulos	Gray et al., 1996; Rosemeyer et al., 1998
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	RhiR	3-hidroxi-7-cis-C14--HSL	Nodulação, bacteriocina, sobrevivência na fase estacionária	Gray, 1997; Rodelas et al., 1999; Thorne & Williams, 1999
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	CerR, CerI	7-cis-C14-HSL	Escape na comunidade	Puskas et al., 1997
<i>Serratia liquefaciens</i>	SwrR, SwrI	C4-HSL	Adensamento, protease	Eberl et al., 1996; Givskov et al., 1997; Lindum et al., 1998
<i>Vibrio anguillarum</i>	VanR, VanI	3-oxo-C10-HSL	Desconhecido	Milton et al., 1997
<i>Vibrio fischeri</i>	LuxR, LuxI	3-oxo-C6-HSL	Bioluminescência	
<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	Desconhecido	3-hidroxi-C4-HSL ou um agonista	Virulência, lipase bacteriana	Dunphy et al., 1997
<i>Yersinia enterocolitica</i>	YenR, YenI	C6-HSL	Desconhecido	Throup et al., 1995
<i>Yersinia pestis</i>	YpeR, Ypel	Desconhecido	Desconhecido	Swift et al., 1999a; b
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	YpsR, YpsI	3-oxo-C6-HSL	Mobilidade, aglomeração	Atkinson et al., 1999
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	YtbR, YtbI	C8-HSL	Desconhecido	Atkinson et al., 1999
<i>Yersinia ruckeri</i>	YukR, YukI	Desconhecido	Desconhecido	Atkinson et al., 1999

Figura 3: “Quorum sensing” em *Vibrio fischeri*: Durante a transcrição do operon lux, a proteína LuxI é sintetizada, que por sua vez cataliza a síntese do auto-indutor ALH. O ALH quando atinge um nível crítico passa a atuar como co-indutor, interagindo com a proteína LuxR e ativando, num mecanismo de retro-alimentação positivo, a região promotora (box) do gene lux.



parte de comunidades complexas compostas por membros diversos, o que sugere a possibilidade de comunicação entre eles. A presença de algum tipo de comunicação pode propiciar que cada célula tome conhecimento do tamanho e composição destas comunidades e, dessa maneira, se comportar de modo que lhe seja mais vantajosa nesta situação.

Uma bactéria é capaz de avaliar a comunidade de microrganismos que a circunda de várias formas. Moléculas sinalizadoras produzidas por espécies diferentes não necessariamente são únicas, o que propicia à bactéria a possibilidade de detectar a presença de outras estirpes que imitam o seu “dialeto”. Além disso, enquanto algumas moléculas sinalizadoras só são reconhecidas por pouquíssimas espécies, outras são reconhecidas por várias espécies diferentes. Estas espécies que reconhecem uma maior variedade de moléculas sinalizadoras, tendem a apresentar, no entanto, uma resposta mais efetiva frente à molécula sintetizada pelos seus próprios genes.

A habilidade de comunicação entre diferentes espécies bacterianas apresenta ampla distribuição. Desde 1979, que Greenberg e colaboradores mostraram que 19 de 28 bactérias marinhas produziram fatores que induziram *V. harveyi* a gerar luz (Greenberg et al., 1979). Em *V. fischeri*,

moléculas sinalizadoras exógenas podem se ligar à LuxR e impedi-las de funcionar normalmente, mesmo em presença de suas moléculas sinalizadoras. Em princípio, os microrganismos poderiam manipular-se mutuamente através de interferências nos sistemas de QS uns dos outros.

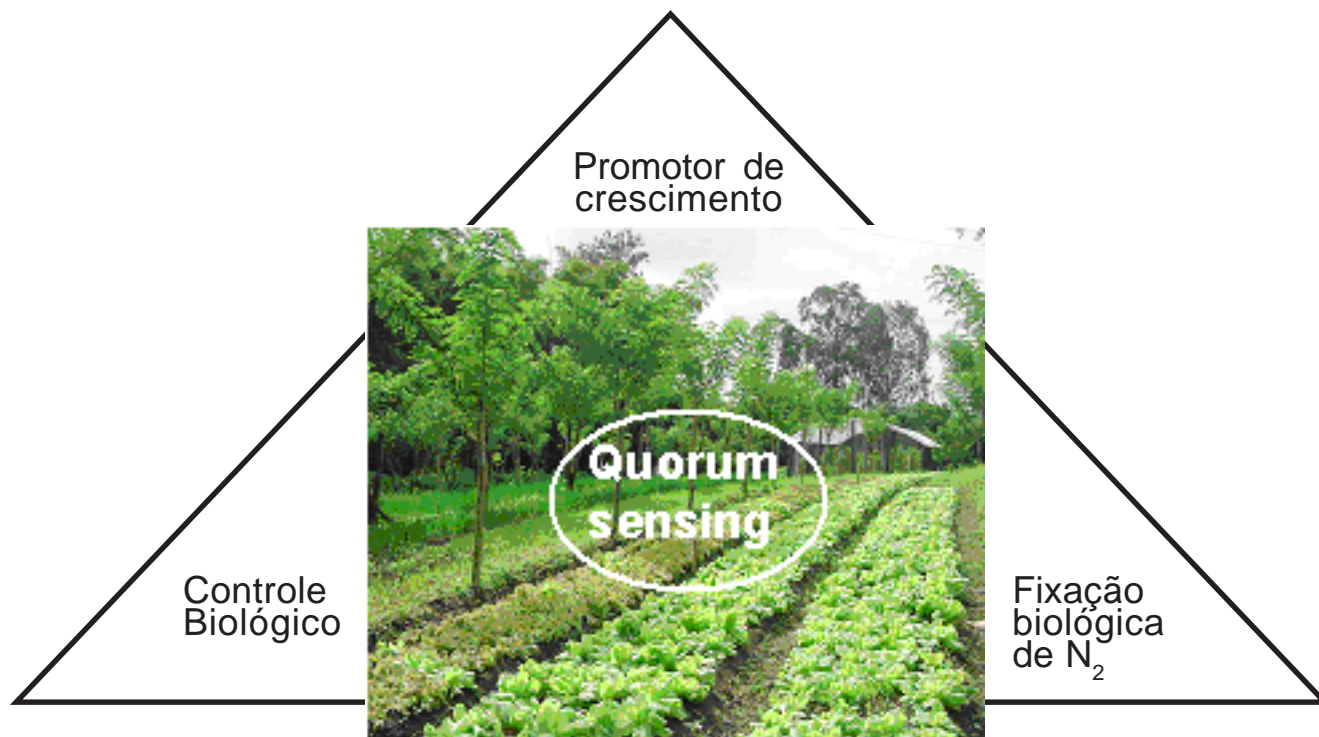
Certamente existem dificuldades para se determinar as condições de atuação do mecanismo de QS em condições naturais, porém em condições de laboratório, os resultados mostram que as bactérias podem ser confundidas reconhecendo auto-indutores produzidos por outras espécies. Pierson III & Pierson (1996) realizaram estudos com comunidades bacterianas que colonizam raízes de plantas de trigo com o objetivo de compreender se bactérias de uma espécie em condições naturais podem se comunicar com organismos não relacionados. Neste estudo, uma estirpe de *Pseudomonas aureofaciens* produtora de antibiótico foi geneticamente modificada de tal modo que a síntese de moléculas sinalizadoras não era mais observada, porém, o mutante manteve a capacidade de responder a sinais produzidos por outras bactérias. Além disso, foi inserido nessa estirpe um gene reporter que produz uma proteína facilmente detectável capaz de indicar a produção usual de antibiótico. Quando uma estirpe produtora

de moléculas sinalizadoras foi adicionada às raízes infectadas com a estirpe transformada incapaz de sintetizar o sinal, a produção da proteína marcadora aumentou, sugerindo que populações distintas de bactérias podem, de fato, se comunicar em situação real. Em outro estudo foram testadas cerca de 40 bactérias de raízes de trigo e, aproximadamente, um terço delas foi capaz de produzir um sinal reconhecível por *Pseudomonas aureofaciens* (Pierson et al., 1998).

Steidle et al. (2001) produziram estirpes capazes de monitorar ALHs de forma a poderem visualizar a comunicação entre populações bacterianas definidas na rizosfera de plantas de tomate crescidas axênicamente. Foi demonstrado que a comunidade bacteriana nativa que coloniza raízes de tomate cultivado em solo não-esterilizado produz moléculas sinalizadoras de QS do tipo ALH que são reconhecidas por diferentes espécies bacterianas. Estes resultados indicam que as ALHs têm um papel importante na comunicação entre espécies atuando como um sinal universal. No entanto, esta resposta parece ser limitada uma vez que a diversidade na cadeia acil (comprimento da cadeia, grau de oxidação e saturação) é capaz de conferir uma certa especificidade na comunicação. Parte da comunicação cruzada pode representar uma maneira pela qual as bactérias adquirem informação acerca da população total, permitindo uma resposta a competidores ou associados potenciais. Pierson III & Pierson (1996) também sugerem que o controle da expressão dos genes de outros organismos seria uma estratégia eficiente de competição.

Além deste tipo de comunicação cruzada via ALHs, foram descritos auto-indutores do tipo AI-2 em *Vibrio harveyi*, uma bactéria marinha bioluminescente na qual os genes de luminescência são regulados por QS. Ao contrário de *V. fischeri*, *V. harveyi* possui dois sistemas de QS, um deles empregando um tipo de ALH como sinalizador, 3-hidroxi-C4-LHS e, um segundo sistema baseado no acúmulo de uma molécula desconhecida denominada AI-2. Cada tipo de auto-indutor é detectado por proteínas sensoras

Figura 4: Importância do mecanismo de “quorum sensing” nas interações entre organismos em ambientes agrícolas complexos.



específicas, porém estas proteínas quando ativadas enviam informações para uma proteína integradora que é compartilhada entre os dois sistemas e que controla a emissão da luz. A habilidade de detectar não só o tamanho da população, mas, também, a presença de outras espécies permitem que *V. harveyi* responda de maneira diferenciada quer a espécie seja a única presente ou faça parte de uma comunidade multi-específica (Bassler et al., 1993).

O AI-2 tem sido encontrado num grande número de espécies bacterianas e por isto é considerado como um sinal de comunicação universal entre diferentes espécies. A sua estrutura cristalina foi desvendada e as evidências indicam que para torná-lo ativo é necessária a presença de boro, um elemento amplamente distribuído na biosfera e, apesar de ser importante para o desenvolvimento de inúmeros organismos, a sua função até então era muito pouco conhecida (Chen et al 2002).

Os dois sistemas de QS provavelmente atendem a diferentes objetivos, enquanto o sistema que percebe os indivíduos da mesma espécie numa população mista proporciona uma avaliação do tamanho da população, a presença de um segundo tipo de sinal

capaz de detectar a presença de outras espécies pode informar sobre a percentagem da espécie em relação aos outros microrganismos. Estas informações provavelmente permitem uma modulação fina do comportamento de uma determinada espécie frente às flutuações populacionais do seu habitat.

Por outro lado, o estudo dos auto-indutores do tipo AI-2 em diversas estirpes patogênicas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Vibrio cholerae* mostrou que os sistemas são regulados de maneira complexa e que condições ambientais podem influenciar a comunicação mediada pelos auto-indutores. Apesar disso, os genes responsáveis pela síntese de AI-2 são altamente homólogos estando presentes em várias espécies bacterianas, e, portanto, provavelmente codificam proteínas que deverão definir uma nova família de proteínas. Tem sido sugerido que o mecanismo de QS é determinante na transição do estado não patogênico para o patogênico quando ocorre a colonização do hospedeiro (Mok et al., 2003; Miller et al., 2004; Xavier & Bassler, no prelo).

A estratégia de controle de microrganismos através da interferência nos sistemas de QS não é restrita apenas a outros microrganismos. Estu-

dos têm mostrado que, pelo menos, uma espécie de alga marinha australiana (*Delisea pulchra*) é capaz de perturbar a comunicação entre os microrganismos. Estas algas, que são particularmente bem sucedidas defendendo-se contra colonização bacteriana, produzem substâncias inibidoras naturais do QS bacteriano, furanonas halogenadas (Givskov et al., 1996). Este tipo de descoberta revela uma possível fresta no sistema de defesa bacteriano. Manefield et al. (2001) observaram inibição da produção de celulase, protease e carbapenem (antibiótico) em *Erwinia carotovora* em decorrência da adição de furanonas halogenadas produzidas por algas.

A interferência de plantas em sistemas de QS bacterianos, também, já foi relatada. Byers et al. (2002) mostraram que *in vitro* as moléculas ALHs produzidas por *Erwinia carotovora* por exemplo, tornam-se instáveis em uma faixa de pH entre 7 e 8, sugerindo que a ativação da bomba de prótons observada em plantas em resposta ao ataque bacteriano, seria uma resposta defensiva do vegetal, com o intuito de alcalinizar o sítio de infecção (pH superior a 8,2) e, desta forma, inativar as moléculas sinalizadoras. Foi observada inibição de ALHs por exudatos produzidos por

plântulas de ervilha desse vegetal, embora os compostos responsáveis não tenham sido completamente identificados (Teplitski et al., 2000). Extratos de uva e morango, também, possuem capacidade de inibir ALHs de bactérias fitopatogênicas e epifíticas habitantes da rizosfera (Fray, 2002). Em alguns casos, é possível que os sinalizadores de densidade populacional possam ser modulados ou superados por fatores como tensão de oxigênio, esgotamento de nutrientes, limitação de ferro ou repressão de catabólito. Estes fatores podem ser indiretamente alterados pelas substâncias produzidas por plantas.

Evolução dos genes envolvidos com o mecanismo de QS

A presença de auto-indutores associados ao mecanismo de QS é comum a diversos grupos filogenéticos, encontrando-se nos genomas bacterianos já seqüenciados uma alta similaridade com os genes que caracterizam a resposta de QS. Dois grupos principais de proteínas podem ser considerados: (1) LuxI/R presente em bactérias Gram-negativas, a LuxI é catalisadora da síntese de auto-indutores do tipo AHLs que são detectados por proteínas do tipo LuxR e, por sua vez ativam a transcrição dos genes-alvo, e (2) LuxS que sintetiza o AI-2, um diester furanosil borato descoberto inicialmente em *Vibrio harveyi* (Federle & Bassler, 2003).

As árvores filogenéticas obtidas a partir dos genes que codificam o LuxS e daqueles que codificam as duas famílias de LuxI/R mostram um alto grau de concordância com a árvore de RNA ribossomal que caracteriza a relação entre os diferentes taxa. Estes resultados sugerem que os sistemas QS estão presentes de maneira contínua durante a evolução de grupos, tais como as divisões de Proteobacteria e de Firmicutes (Lerat & Moran, 2004).

A análise filogenética dos genes indutores ou receptores de LuxI/R compreendem duas famílias de proteína sem homologia entre elas, uma delas restrita a γ -Proteobacteria e a outra, que apresenta distribuição mais ampla. Os genes que codificam as

proteínas LuxI/R parecem ter evoluídos juntos existindo poucas evidências de troca de material por transferência lateral, exceto em algumas linhagens de γ -Proteobacteria. A transferência lateral, no entanto, parece ser mais comum nos genes que codificam o LuxS em Firmicutes.

QS em microrganismos de importância agrícola

A presença dos sistemas de QS são comuns como mecanismo de regulação de genes entre bactérias Gram-negativas que se associam a plantas. De acordo com Cha et al. (1998) a maioria das bactérias associativas a plantas produzem AHLs, especialmente quase todos os isolados de *Agrobacterium*, *Rhizobium* e *Pantoea*, além de cerca de metade daqueles de *Erwinia* e *Pseudomonas*. Membros do gênero *Rhizobium* mostraram a maior diversidade de sinalizadores, alguns produzindo apenas um tipo de molécula, enquanto outros produziram até 7 sinalizadores detectáveis. Por outro lado, poucos isolados de *Xanthomonas* foram capazes de produzir sinais detectáveis.

Num levantamento realizado por Steidle et al. (2001) com mais de 300 estirpes isoladas da rizosfera de tomate, 12% apresentaram sinal positivo para AHL, ao passo que Pierson et al. (1998) observaram 8% a partir de um estudo com 700 estirpes associadas a raízes de trigo. Em um outro estudo foi observada uma maior proporção de bactérias com essa característica, de 137 estirpes de diferentes espécies de *Pseudomonas* patogênicas do solo e associadas às plantas, cerca de 40% apresentaram capacidade de produção de AHL (Elasri et al., 2001). O mais interessante, segundo os autores, foi a observação de que bactérias associativas produziram AHL com maior frequência do que as estirpes patogênicas do solo, sugerindo que a proximidade da bactéria com a planta hospedeira aumenta a probabilidade de produzir AHL. Esses resultados abrem novas perspectivas para a compreensão da comunicação entre bactérias que estão sob influência do sistema radicular, e que participam de diferentes mecanismos de regulação

de populações de microrganismos do solo.

A maioria das bactérias que empregam sistemas de QS associam-se com animais ou plantas e se beneficiam deste processo, porém, nem sempre o organismo hospedeiro é beneficiado, como em *V. fischeri*, citado anteriormente. *Pseudomonas aeruginosa*, por exemplo, uma bactéria oportunista patogênica a plantas e animais, utiliza sistemas de QS via ALHs. Neste modelo, QS é utilizado para a maturação de biofilmes e para determinar a expressão da virulência, sendo que circuitos múltiplos de QS capazes de controlar a expressão de dezenas de genes específicos relacionados com a virulência já foram descritos (Parsek & Greenberg, 2000). Nesta espécie, um terceiro auto-indutor, designado PQS (*P*seudomonas *Q*uinolone *S*ignal) também foi identificado (Pesci et al., 1999).

Pseudomonas aeruginosa apresenta a capacidade de produzir pioverdininas, que são sideróforos e, como tais, tem a capacidade de quelar Fe. Embora esse elemento seja abundante em solos aerados (1 - 6%), sua disponibilidade depende do pH e da solubilidade dos óxidos de Fe. À medida que o pH do solo aumenta, a disponibilidade de Fe diminui e os sideróforos se tornam mais efetivos (Zago et al., 2000). Dessa forma, esses compostos tem importância em relação a disponibilidade desse elemento para os seres vivos.

Stintzi et al. (1998) foram os pioneiros ao observar o efeito de QS sobre sideróforos, estudando o gene *lasR*, que regula, em parte, a densidade celular dessa bactéria. Através da utilização de mutantes *lasR* nulos e defeituosos, esses autores observaram uma redução de até 2 vezes na produção do sideróforo.

Além da produção dos sideróforos, a produção de antibiótico também é regulada por sistemas QS. A expressão do operon de biossíntese do antibiótico fenazina produzido em *Pseudomonas aureofaciens*, um agente de biocontrole do fungo *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* que causa a doença "take-all" em trigo, é controlada por uma ALH (HLH - N-hexanoil lactona homoserina) que atua

como molécula sinalizadora na rizosfera de trigo (Wood et al., 1997). Além de atuar como agente de biocontrole, a fenazina também aumenta a sobrevivência da bactéria propiciando uma vantagem competitiva frente aos outros microrganismos presentes na rizosfera de trigo.

A caracterização de sistemas QS tem utilizado tradicionalmente estirpes do gênero *Pseudomonas* como modelo, reconhecidamente por representar um grupo com capacidade patogênica e com uma variedade de rotas metabólicas. No entanto, outras bactérias associativas tem sido estudadas, como no caso de *Agrobacterium tumefaciens* através da transferência conjugativa de plasmídeos. O plasmídeo Ti dessa bactéria fitopatogênica capaz de causar tumores em plantas, é controlado por um sistema hierárquico onde as opinas, substratos produzidos pelos tumores, induzem um sistema de QS que envolve o ativador de transcrição TraR. Esse ativador requer um fator de conjugação como co-indutor para ativar a expressão do gene *tra*, que é um homólogo de *luxR*. Assim, os dois sistemas reguladores estão relacionados e as duas proteínas ativadoras apresentam similaridades, sistema cofactor lux e autoindutores que substituirão o fator de conjugação na ativação dos genes *tra* no plasmídeo Ti (Piper et al., 1993; Fuqua & Winans, 1994; Moré et al., 1996).

Em *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*, uma outra bactéria fitopatogênica, responsável pela indução de doenças como podridão mole em plantas, a produção de enzimas extracelulares (isoenzimas de pectato liase, celulase, poligalacturonase e protease) que degradam componentes da parede celular vegetal é regulada por QS. Provavelmente a produção destas enzimas por um número pequeno de células não teria efeito no tecido das plantas que responderia ativando os seus mecanismos de defesa (Pirhonen et al., 1993). Liu et al. (1998) relatam que esta bactéria produz sinalizadores tipo ALH que controlam via QS a produção das enzimas extracelulares mencionadas e do indutor de reações de hipersensibilidade (HarpinEcc). Em

outra espécie também fitopatogênica, *E. chrysanthemi*, foi verificada a produção de 3 tipos de ALHs o que sugere a existência de um sistema regulatório hierárquico complexo de QS (Nasser et al., 1998).

Em adição aos AHLs, outras moléculas sinalizadoras vêm sendo descobertas como responsáveis pelo QS. Por exemplo, *Ralstonia solanacearum*, também uma bactéria fitopatogênica, produz uma substância (ácido metil-ester-3-hidroxi-palmítico) que em conjunto com os AHLs regulam a virulência (Flavier et al., 1997). Já para *Xanthomonas campestris* tem sido observada a produção de um fator extracelular difuso (DSF) que não tem sido caracterizado como um AHL propriamente dito, mas, que induz um princípio semelhante ao QS (Barber et al., 1997).

Além dos efeitos negativos observados nos organismos hospedeiros, mais recentemente tem sido observado efeito de sistemas de QS nas interações de protocooperação, que envolvem benefícios mútuos entre os organismos. Uma das simbioses mais estudadas é a que se estabelece entre leguminosas e bactérias do grupo rizóbio capazes de reduzir o nitrogênio atmosférico (N₂), processo biológico reconhecido como Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), capaz de reduzir a necessidade de adubação nitrogenada nas culturas como resultado da inoculação com bactérias eficientes e competitivas. Esse processo é dependente de uma rede de sinais moleculares entre o hospedeiro e o microssimbionte, cujos mecanismos de QS têm sido mencionados como papel chave (Loh & Stacey, 2003; Marketon et al., 2003).

Diferentes parâmetros relacionado com a FBN, tais como eficiência da nodulação, desempenho simbiótico e produção de exopolissacarídeos são controlados por mecanismos de QS. Nesse grupo de microrganismos, a espécie *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* é a melhor caracterizada (vide revisão de Wisniewski-Dye & Downie, 2002), com vários sistemas já identificados: rai, rhi, cin e tra (Cubo et al., 1992; Wisniewski-Dye et al., 2002; Wilkinson et al., 2003). No entanto, ainda há pouca informação sobre o

papel desses sistemas no ciclo de vida desses microrganismos (González & Marketon, 2003).

Estudos têm sido realizados para outras espécies do grupo rizóbio, como para *Rhizobium etli* (Mendoza et al., 2004), *Sinorhizobium meliloti* (Chen et al., 2003; Hoang et al., 2004) e *Mesorhizobium huakuii* (Zhu et al., 2003).

No caso de *Bradyrhizobium japonicum*, também pertencente ao grupo rizóbio, estruturas definidas como CDF designadas como bradioxetinas foram identificadas (Loh et al., 2002; Loh & Stacey, 2003). Estas moléculas apresentam estrutura similar a certos antibióticos e sideróforos e encontram-se ativas, também, em outros membros de α -proteobactéria, sugerindo que esses compostos podem desempenhar um papel não somente na simbiose com rizóbio, mas em outras interações de bactérias com plantas e animais (González & Marketon, 2003).

Chin-A-Woeng et al. (1998), Delany et al. (2000) e Lithgow et al. (2000) realizaram a análise detalhada do controle baseado em QS em três espécies de bactérias, uma espécie usada como biofertilizante, *Rhizobium leguminosarum* e duas empregadas como agentes de biocontrole de doenças de plantas, *Pseudomonas chlororaphis*, PCL1391, e *P. fluorescens*, F117. Foram encontrados sistemas de QS nas 3 espécies, sendo que, em *R. leguminosarum*, quatro sistemas de QS interligados foram observados. As análises de efeitos de mutações nos sistemas de controle gênico via QS de *R. leguminosarum* revelaram que características como nodulação da leguminosa, sobrevivência da bactéria, transferência horizontal de genes e habilidade de inibir crescimento de outros rizóbios foram influenciadas por QS. Em ambas as espécies de *Pseudomonas*, observou-se que a produção do antibiótico antifúngico é controlada por QS. Em *P. chlororaphis*, o sistema de QS controla a produção de fenazina-1-carboxamida, uma substância capaz de inibir o crescimento do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Chin-A-Woeng et al., 2001).

Já em *P. fluorescens*, o sistema de QS demonstrou afetar a regulação do metabólito antifúngico 2,4 diacetil floroglucinol. Comparações entre os metabólitos de QS produzidos pelas 3 espécies demonstraram que estas bactérias possuem potencial para regular-se mutuamente através da comunicação cruzada na rizosfera. Por outro lado, elas também têm potencial para ativar a expressão gênica em fitopatógenos como sub-espécies de *Agrobacterium* e *Erwinia*. Bachofen & Schenk (1998) relataram que sistemas de QS são comumente encontrados em diversas bactérias de solo. Algumas destas bactérias, inclusive, possuem potencial para utilizar as moléculas sinalizadoras de QS como substrato de crescimento. Os sistemas de bioensaios estabelecidos por Chin-A-Woeng et al. (1998) mostraram-se sensíveis e satisfatórios como forma de medição da comunicação entre bactérias da rizosfera. As análises de sistemas regulatórios baseados em QS em ambientes de solo artificial revelaram que sinalizadores de QS produzidos por *R. leguminosarum* podem afetar positivamente a transferência de genes entre bactérias do solo de diferentes gêneros, permitindo a comunicação cruzada dependente de QS entre diferentes espécies de bactéria *in vivo*.

Esses relatos têm demonstrado que características essenciais para o sucesso de interações benéficas entre bactérias do solo e raízes de plantas podem ser responsivas a sistemas de QS. No sentido de impulsionar as pesquisas nessa área, o Consórcio Europeu sobre "Comunicação na rizosfera" financiado pelo programa EU BIOTECH da Comunidade Européia, vem investigando até que ponto rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) usam QS baseado em ALH de modo a regular características fisiológicas importantes e qual o grau de comunicação cruzada de RPCPs com fitopatógenos. As vias dos sinalizadores identificadas até o momento envolvem um número de genes regulatórios incrivelmente reduzido. Esta simplicidade poderá vir a facilitar sua exploração no desenvolvimento de melhores estratégias agrícolas e de seleção de estirpes de bactérias para

uso como biofertilizantes e biocontrole.

Aplicação biotecnológica de QS

A descoberta da diversidade de microrganismos que usam QS cria um alvo atrativo para a sua aplicação biotecnológica na agricultura. O estudo dos sistemas de QS, além de fornecer detalhes fundamentais a cerca dos mecanismos de parasitismo e simbiose, pode permitir meios inovadores para o controle de infecções em plantas e animais. De La Cruz (2001) defende que uma das metas de trabalho a longo prazo é a inibição dos sistemas de QS em patógenos de animais e plantas de forma a facilitar o controle destas populações. Para tanto, a autora relata evidências bioquímicas e moleculares que sugerem que *Bacillus cereus*, UW85 tem capacidade de inibir o sistema de QS em *Chromobacterium violaceum*, CV026, através da inativação enzimática da molécula auto-indutora.

Do mesmo modo, Dong et al. (2000) descobriram um gene em *Bacillus* sp., 240B1, que codifica uma enzima inativadora de ALHs. A expressão desse gene em uma estirpe de *Erwinia carotovora* transformada levou à redução significativa da liberação de ALHs, diminuição das atividades de enzima pectinolítica extracelular e atenuação da patogenicidade em batata, beringela, repolho, aipo, cenoura, couve-flor e tabaco.

Alternativamente, a produção de moléculas sinalizadoras pela própria planta aumenta o potencial de uso biotecnológico visando o controle de doenças e a maximização das interações benéficas de modo a otimizar a produtividade agrícola. Nesse contexto, tem sido estudada a obtenção de plantas geneticamente modificadas com a habilidade de produzir moléculas bacterianas sinalizadoras de QS, com o objetivo de desenvolver formas inovadoras para controle de doenças e manipulação de interações planta-microrganismo (Fray et al., 1999; Mãe et al., 2001). Já foram desenvolvidas plantas transgênicas de tabaco produtoras de altos níveis de ALHs ou que podem degradar ALHs produzidas por bactérias (Fray, 2002).

Ainda neste sentido, Dong et al. (2001) relataram que plantas expressando a enzima ALH lactonase isolada de *Bacillus* sp. inutilizaram as moléculas sinalizadoras de QS de *Erwinia carotovora* e mostraram resistência significativamente aumentada ao fitopatógeno. Os autores consideram promissor o uso de sinalizadores de QS como alvos moleculares para controle de doenças, ampliando as atuais formas de prevenção de infecções bacterianas.

Além de material geneticamente modificado, o manejo agrícola utilizado pode alterar a intensidade de resposta dos sistemas de QS. No manejo convencional, onde a monocultura e a aplicação de agroquímicos são recomendadas, não raro observam-se alterações nas populações microbianas que tendem a se tornar menos diversas e mais reduzidas. Nesta situação a possibilidade de uma população de fitopatógeno se tornar prevalente através da utilização de sinais de auto-indutores deve ser facilitada uma vez que a ocorrência de competidores é reduzida.

Por outro lado, a retomada de um equilíbrio dinâmico preconizado com as novas formas de manejo agrícola, através de implementação de práticas alternativas ao modelo convencional (manejo orgânico e suas variáveis), onde a ênfase é na introdução de policultivos e de práticas rotacionais e de consorciação, na integração de plantas e animais e na racionalização do uso de insumos orgânicos, favorece a diversificação dos organismos e, como consequência, a competição, o controle e a regulação dos fitopatógenos. Nesses ambientes, os organismos benéficos e prejudiciais convivem mutuamente não se observando incidências severas de doenças responsáveis por sintomas que acarretam em danos econômicos. É possível que a presença de uma diversidade alta de organismos dificulte o estabelecimento das populações de patógenos, de tal modo que o nível crítico que permite a expressão da virulência dificilmente é alcançado.

Paralelamente, a utilização de uma agricultura menos impactante, através da adoção de sistemas complexos, a evolução do conhecimento científico

tem apontado, também, para a necessidade de se obter uma visão holística do processo biológico baseada nas interações entre os indivíduos e destes com o meio ambiente. Ao contrário, resultados obtidos de estudos reducionistas apresentam limitações principalmente quando se visa a obtenção de produtos biológicos eficientes, que para serem introduzidos com sucesso devem ser capazes de competir com a biota do solo e aquela associada ao tecido vegetal e sobreviver sob diferentes condições edafoclimáticas.

Estudos que visam aprofundar os conhecimentos de QS nestes ambientes serão uma contribuição para o entendimento da regulação de populações microbianas em comunidades complexas, tais como os consórcios microbianos que têm recebido atenção especial recentemente. Além disso, a compreensão não só da comunicação célula a célula que ocorre entre membros de mesma espécie, mas também da comunicação cruzada com bactérias de outros gêneros e outros organismos, podem propiciar a otimização de características positivas de RPCPs. Desse modo, os conhecimentos dos sistemas de QS abrem grandes perspectivas para aplicação no ambiente agrícola visando a maior eficiência de inoculantes e de agentes de controle biológico (Figura 4).

Referências

1. ATKINSON, S.; THROUP, J. P.; STEWART, G. S.; WILLIAMS, P. A hierarchical quorum-sensing system in *Yersinia pseudotuberculosis* is involved in the regulation of motility and clumping. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 33, p. 1267-1277, 1999.
2. BACHOFEN, R.; SCHENK, A. Quorum sensing autoinducers: do they play a role in natural microbial habitats? **Microbiological Research**, v. 153, p. 61-63, 1998.
3. BAINTON, N. J.; STEAD, P.; CHHABRA, S. R.; BYCROFT, B. W.; SALMOND, G. P. C.; STEWART, G. S. A. B.; WILLIAMS, P. *N*-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone regulates carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora*. **Biochemical Journal**, Londres, v. 288, p. 997-1004, 1992.
4. BARBER, C. E.; TANG, J. L.; FEND, J. X.; PAN, M. Q.; WILSON, T. J. G.; SLATER, M.; DOW, J. M.; WILLIAMS, P.; DANIELS, M. J. A novel regulatory system required for pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is mediated by a small diffusible signal molecule. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 24, p. 555-566, 1997.
5. BASSLER, B. L.; WRIGHT, M.; SHOWALTER, R. E.; SILVERMAN, M. R. Intercellular signalling in *Vibrio parvulus*: sequence and function of genes regulating expression of luminescence. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 9, p. 773-786, 1993.
6. BATCHELOR, S. E.; COOPER, M.; CHHABRA, S. R.; GLOVER, L. A.; STEWART, G. S.; WILLIAMS, P.; PROSSER, J. I. Cell density-regulated recovery of starved biofilm populations of ammonia-oxidizing bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, p. 2281-2286, 1997.
7. BECK VON BODMAN, S.; FARRAND, S. K. Capsular polysaccharide biosynthesis and pathogenicity in *Erwinia stewartii* require induction by an *N*-acylhomoserine lactone autoinducer. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 177, p. 5000-5008, 1995.
8. BIBB, M. Colworth Prize Lecture. The regulation of antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2). **Microbiology**, New York, v. 142, p. 1335-1344, 1996.
9. BYERS, J. T.; LUCAS, C.; SALMOND, G. P. C.; WELCH, M. Nonenzymatic turnover of an *Erwinia carotovora* quorum-sensing signaling molecule. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 184, p. 1163-1171, 2002.
10. CHA, C.; GAO, P.; CHEN, Y. C.; SHAW, P. D.; FARRAND, S. K. Production of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals by Gram-negative plant-associated bacteria. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v. 11, p. 1119-1129, 1998.
11. CHAPON-HERVÉ, V.; AKRIM, M.; LATIFI, A.; WILLIAMS, P.; LAZDUNSKI, A.; BALLY, M. Regulation of the *xcp* secretion pathway by multiple quorum-sensing modulons in *Pseudomonas aeruginosa*. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 24(6): p. 1169-1178, 1997.
12. CHEN, H.; TEPLITSKI, M.; ROBINSON, J. B.; ROLFE, B. G.; BAUER, W. D. Proteomic analysis of wild-type sinorhizobium meliloti responses to *n*-acyl homoserine lactone quorum-sensing signals and the transition to stationary phase. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 185, p. 5029-5036, 2003.
13. CHEN, X.; SCHAUDER, S.; PELEZER, I.; BASSLER, B. L.; HUGHSON, F. M.; POTIER, N.; VAN DORSSELAER, A. Structural identification of bacterial quorum sensing signal containing boron. **Nature**, Londres, v. 415, p. 545-549, 2002.
14. CHERNIN, L. S.; WINSON, M. K.; THOMPSON, J. M.; HARAN, S.; BYCROFT, B. W.; CHET, I.; WILLIAMS, P.; STEWART, G. S. A. B. Chitinolytic activity in *Chromobacterium violaceum*: substrate analysis and regulation by quorum sensing. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 180, p. 4435-4441, 1998.
15. CHIN-A-WOENG, T. F. C.; BLOEMBERG, G. V.; BIJ, A. J. van der; DRIFT, K. M. G. M. van der; SCHRIJPEMA, J.; KROON, B.; SCHEFFER, R. J.; KEEL, C.; BAKKER, P. A. H. M.; TICHY, H. V.; BRUIJN, F. J. de; THOMAS-OATES, J. E.; LUGTENBERG, B. J. J. Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v. 11, p. 1069-1077, 1998.
16. CHIN-A-WOENG, T. F. C.; BROEK, D. van der; VOER, G. de;

- DRIFT, K. M. van der; TUINMAN, S.; THOMAS-OATES, J. E.; LUGTENBERG, B. J.; BLOEMBERG, G. V. Phenazine-1-carboxamide production in the biocontrol strain *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is regulated by multiple factors secreted into the growth medium. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v. 14 (8), p. 969-979, 2001.
17. COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBBER, D. R.; LAPPINSCOTT, H. M. Microbial biofilms. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 49, p. 711-745, 1995.
18. CUBO, M. T.; ECONOMOU, A.; MURPHY, G.; JOHNSTON, A. W.; DOWNIE, J. A. Molecular characterization and regulation of the rhizosphere-expressed genes *rbiABC* that can influence nodulation by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 174, p. 4026-4035, 1992.
19. DE LA CRUZ, J. A. Quorum quenching by *Bacillus cereus* UW85. Summer Research Programs. University of Wisconsin. Madison, 2001, 13p. (acessado em 20/06/2004, www.wisc.edu/McNair/pdfs/sum01/QQpaper.pdf).
20. DELANY, I.; SHEEHAN, M. M.; FENTON, A.; BARDIN, S.; AARONS, S.; O'GARA, F. Regulation of production of the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol in *Pseudomonas fluorescens* F113: genetic analysis of *pblF* as a transcriptional repressor. **Microbiology**, New York, v. 146, p. 537-546, 2000.
21. DONG, Y. H.; XU, J. L.; LI, X. Z.; ZHANG, L. H. *AiiA* a novel enzyme inactivates acyl-homoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 97, p. 3526-3531, 2000.
22. DONG, Y. H.; WANG, L. H.; XU, J. L.; ZHANG, H. B.; ZHANG, X. F.; ZHANG, L. H. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an *N*-acyl homoserine lactonase. **Nature**, Londres, v. 411, p. 813-817, 2001.
23. DUNLAP, P. V.; GREENBERG, E. P. Control of *Vibrio fischeri* lux gene transcription by a cyclic AMP receptor protein-luxR protein regulatory circuit. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 170 (9), p. 4040-4046, 1988.
24. DUNPHY, G.; MIYAMOTO, C.; MEIGHEN, E. A homoserine lactone autoinducer regulates virulence of an insect-pathogenic bacterium, *Xenorhabdus nematophilus* (Enterobacteriaceae). **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 179, p. 5288-5291, 1997.
25. EBERHARD, A. Inhibition and activation of bacterial luciferase synthesis. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 109, p. 1101-1105, 1972.
26. EBERHARD, A.; BURLINGAME, A. L.; EBERHARD, C.; KENYON, G. L.; NEALSON, K. H.; OPPENHEIMER, N. J. Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. **Biochemistry**, Washington, v. 20, p. 2444-2449, 1981.
27. EBERL, L.; WINSON, M. K.; STERNBERG, C.; STEWART, G. S. A. B.; CHRISTIANSEN, G.; CHHABRA, S. R.; BYCROFT, B.; WILLIAMS, P.; MOLIN, S.; GIVSKOV, M. Involvement of *N*-acyl-L-homoserine lactone autoinducers in controlling the multicellular behavior of *Serratia liquefaciens*. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 20, p. 127-136, 1996.
28. ELASRI, M.; DELORME, S.; LEMANCEAU, P.; STEWART, G.; LAUE, B.; GLICKMANN, E.; OGER, P. M.; DESSAUX, Y. Acyl-Homoserine lactone production is more common among plant-associated *Pseudomonas* spp. than among soilborne *Pseudomonas* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 1198-1209, 2001.
29. ENGEBRECHT, J.; NEALSON, K. H.; SILVERMAN, M. Bacterial bioluminescence: isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri*. **Cell**, Cambridge, v. 32, p. 773-781, 1983.
30. FEDERLE, M. J.; BASSLER, B. L. Interspecies communication in bacteria. **Clin. Invest.** v. 112, p. 1291-1299, 2003.
31. FLAVIER, A. B.; GANOVARAEVA, L. M.; SCHELL, M. A.; DENNY, T. P. Hierarchical autoinduction in *Ralstonia solanacearum*: control of acyl-homoserine lactone production by a novel autoregulatory system responsive to 3-hydroxypalmitic acid methyl ester. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 179, p. 7089-7097, 1997.
32. FLAVIER, A. B.; CLOUGH, S. J.; SCHELL, M. A.; DENNY, T. P. Identification of 3-hydroxypalmitic acid methyl ester as a novel autoregulator controlling virulence in *Ralstonia solanacearum*. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 26, p. 251-259, 1997.
33. FRAY, R. G. Altering plant-microbe interaction through artificially manipulating bacterial quorum sensing. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 245-253, 2002.
34. FRAY, R. G.; THROUP, J. P.; DAYKIN, M.; WALLACE, A.; WILLIAMS, P.; STEWART, G. S.; GRIERSON, D. Plants genetically modified to produce *N*-acylhomoserine lactones communicate with bacteria. **Nature Biotechnology**, New York, v. 17 (10), p. 1017-1020, 1999.
35. FUQUA, C.; WINANS, S. C. A. LuxR-LuxI type regulatory system activates *Agrobacterium* Ti plasmid conjugal transfer in the presence of a plant tumor metabolite. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 176 (10), p. 2796-2806, 1994.
36. FUQUA, W. C.; WINANS, S. C.; GREENBERG, E. P. Consensus in bacterial ecosystems: The LuxR-LuxI family of Quorum-Sensing transcriptional regulators. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 50, p. 727-751, 1996.
37. FUQUA, W. C.; WINANS, S. C.;

- GREENBERG, E. P. Quorum sensing in bacteria: The *LuxR-LuxI* family of cell density-responsive transcriptional regulators. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 176 (2), p. 269-275, 1994.
38. FUQUA, W.C.; WINANS, S.C.. A LuxR-LuxI type regulatory system activates *Agrobacterium* Ti plasmid conjugal transfer in the presence of a plant tumor metabolite. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 176 (10), p. 2796-2806, 1994.
39. GAMBELLO, M.J.; IGLEWSKI, B.H. Cloning and characterization of the *Pseudomonas aeruginosa lasR* gene: a transcriptional activator of elastase expression. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 173, p. 3000-3009, 1991.
40. GIVSKOV, M.; EBERL, L.; MOLIN, S. Control of exoenzyme production, motility and cell differentiation in *Serratia liquefaciens*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 148, p. 115-122, 1997.
41. GIVSKOV, M.; NYS, R. de; MANEFIELD, M.; GRAM, L.; MAXIMILIEN, R.; EBERL, L.; MOLIN, S.; STEINBERG, P. D.; KJELLEBERG, S. Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 178 (22), p. 6618-6622, 1996.
42. GLESSNER, A.; SMITH, R. S.; IGLEWSKI, B. H.; ROBINSON, J. B. Roles of *Pseudomonas aeruginosa las* and *rhl* Quorum-Sensing Systems in Control of Twitching Motility. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 181, p. 1623-1629, 1999.
43. GONZÁLEZ, J. E.; MARKETON, M.M., Quorum sensing in nitrogen-fixing rhizobia. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67(4), p. 574-592, 2003.
44. GRAY, K. M. Intercellular communication and group behavior in bacteria. **Trends in Microbiology**, Londres, v. 5, p. 184-188, 1997.
45. GRAY, K. M.; PEARSON, J. P.; DOWNIE, J. A.; BOBOYE, B. E.; GREENBERG, E. P. Cell-to-cell signaling in the symbiotic nitrogen-fixing bacterium *Rhizobium leguminosarum*: autoinduction of a stationary phase and rhizosphere-expressed genes **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 178, p. 372-376, 1996.
46. GREENBERG, E. P. 1997. Quorum sensing in Gram-negative bacteria. **ASM News**, Washington, v. 63, p. 371-377, 1997.
47. GREENBERG, E. P.; HASTINGS, J. W.; ULITZER, S. Induction of luciferase synthesis in *Benkeea harveyi* by other marine bacteria. **Archives of Microbiology**, New York, v. 120, p. 87-91, 1979.
48. HARDMAN, A. M.; STEWART, G. S.; WILLIAMS, P. 1998. Quorum sensing and the cell-cell communication dependent regulation of gene expression in pathogenic and non-pathogenic bacteria, **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, Dordrecht, v. 74 (4), p. 199-210, 1998.
49. HARRIS, S. J.; SHIH, Y. L.; BENTLEY, S. D.; SALMOND, G. P. C. The *hexA* gene of *Erwinia carotovora* encodes a *LysR* homologue and regulates motility and the expression of multiple virulence determinants. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 28 (4), p. 705-717, 1998.
50. HOANG, H. H.; BECKER, A.; GONZALEZ, J. E. The LuxR homolog ExpR, in combination with the Sin quorum sensing system, plays a central role in *Sinorhizobium meliloti* gene expression. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 186, p. 5460-5472, 2004.
51. KAISER, D.; LOSICK, R. How and why bacteria talk to each other. **Cell**, Cambridge, v. 73, p. 873-885, 1993.
52. KAPRELYANTS, A.S.; KELL, D.B. Do bacteria need to communicate with each other for growth? **Trends in Microbiology**, Londres, v. 4, p. 237-242, 1996.
53. KELL, D.B.; KAPRELYANTS, A.S.; GRAFEN, A. Pheromones, social behavior and the functions of secondary metabolism in bacteria. **Trends Ecol. Evol.**, v. 10, p. 126-129, 1995.
54. KEMPNER, E. S.; HANSON, F. E. Aspects of light production by *Photobacterium fischeri*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 95 (3), p. 975-979, 1968.
55. KHOKHLOV, A.S. (1991) Microbial Autoregulators. Harwood Academic Publishers, Philadelphia.
56. KLEEREBEZEM, M.; BEERTHUYZEN, M. M.; VAUGHAN, E. E.; VOS, W. M. de; KUIPERS, O. P. Controlled gene expression systems for lactic acid bacteria: transferable nisin-inducible expression cassettes for *Lactococcus*, *Leuconostoc*, and *Lactobacillus* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, p. 4581-4584, 1997.
57. KUIPERS, E. J.; ISRAEL, D. A.; KUSTERS, J. G.; BLASER, M. J. Evidence for a conjugation-like mechanism of DNA transfer in *Helicobacter pylori*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 180, p. 2901-2905, 1998.
58. LATIFI, A.; FOGLINO, M.; TANAKA, K.; WILLIAMS, P.; LAZDUNSKI, A. A hierarchical quorum-sensing cascade in *Pseudomonas aeruginosa* links the transcriptional activators *LasR* and *RhlR* (*VsmR*) to expression of the stationary phase sigma factor *RpoS*. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 21 (6), p. 1137-1146, 1996.
59. LATIFI, A.; WINSON, M. K.; FOGLINO, M.; BYCROFT, B. W.; STEWART, G. S.; LAZDUNSKI, A.; WILLIAMS, P. Multiple homologues of *LuxR* and *LuxI* control expression of the virulence determinants and secondary metabolites through quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 17 (2), p. 333-343, 1995.
60. LAZAZZERA, B. A.; GROSSMAN, A. D. The ins and outs of peptide signaling. **Trends in Microbiology**, Londres, v. 6 (7), p. 288-294, 1998.
61. LERAT, E.; MORAN, N.A. The

- evolutionary history of quorum-sensing systems in bacteria. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 21(5), p. 903-913, 2004.
62. LEWENZA, S.; CONWAY, B.; GREENBERG, E. P.; SOKOL, P. A. Quorum Sensing in *Burkholderia cepacia*: Identification of the *LuxRI* Homologs *CepRI*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 181 (3), p. 748-756, 1999.
 63. LINDUM, P. W.; ANTHONI, U.; CHRISTOPHERSEN, C.; EBERL, L.; MOLIN, S.; GIVSKOV, M. *N*-Acyl-L-Homoserine Lactone Autoinducers Control Production of an Extracellular Lipopeptide Biosurfactant Required for Swarming Motility of *Serratia liquefaciens* MG1. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 180, p. 6384-6388, 1998.
 64. LITHGOW, J. K.; WILKINSON, A.; HARDMAN, A.; RODELAS, B.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; WILLIAMS, P.; DOWNIE, J. A. The regulatory locus *cinRI* in *Rhizobium leguminosarum* controls a network of quorum sensing loci. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 37, p. 81-97, 2000.
 65. LIU, Y.; CUI, Y.; MUKHERJEE, A.; CHATTERJEE, A. K. Characterization of a novel RNA regulator of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* that controls production of extracellular enzymes and secondary metabolites. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 29, p. 219-234, 1998.
 66. LOH, J.; CARLSON, R. W.; YORK, W. S.; STACEY, G. Bradyoxetin, a unique chemical signal involved in symbiotic gene regulation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 99, p. 14446-14451, 2002.
 67. LOH, J.; STACEY, G. Nodulation gene regulation in *Bradyrhizobium japonicum*: a unique integration of global regulatory circuits. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 10-17, 2003.
 68. MÅE, A.; MONTESANO, M.; KOIV, V.; PALVA, E. T. Transgenic plants producing the bacterial pheromone *N*-acyl-homoserine lactone exhibit enhanced resistance to the bacterial phytopathogen *Erwinia carotovora*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v. 14 (9), p. 1035-1042, 2001.
 69. MANEFIELD, M.; WELCH, M.; GIVSKOV, M.; SALMOND, G. P.; KJELLEBERG, S. Halogenated furanones from the red alga, *Delisea pulchra*, inhibit carbapenem antibiotic synthesis and exoenzyme virulence factor production in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 205 (1): 131-138, 2001.
 70. MARKETON, M. M.; GLENN, S. A.; EBERHARD, A.; GONZÁLEZ, J. E. Quorum sensing controls exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 185, p. 325-331, 2003.
 71. MAYVILLE, P.; JI, G.; BEAVIS, R.; YANG, H.; GÖGER, M.; NOVICK, R. P.; MUIR, T. W. Structure-activity analysis of synthetic autoinducing thiolactone peptides from *Staphylococcus aureus* responsible for virulence. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 96 (4), p. 1218-1223, 1999.
 72. MCCLEAN, K. H.; WINSON, M. K.; FISH, L.; TAYLOR, A.; CHHABRA, S. R.; CAMARA, M.; DAYKIN, M.; LAMB, J. H.; SWIFT, S.; BYCROFT, B. W.; STEWART, G. S. A. B. 1997. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of *N*-acylhomoserine lactones. **Microbiology**, New York, v. 143, p. 3703-3771, 1997.
 73. MEIGHEN, E. A. Molecular biology of bacterial bioluminescence. **Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 55, p. 123-142, 1991.
 74. MENDOZA, D. P.; FERRERAS, A. D.; SOTO, M. S.; OLIVARES, J. M. J.; BROM, S.; GIRARD, L.; CERVERA, J. A. H.; SANJUAN, J. Identification of functional mob regions in *Rhizobium etli*: evidence for self-transmissibility of the symbiotic plasmid pRetCFN42d. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 186, p. 5753-5761, 2004.
 75. MILLER, S. T.; XAVIER, K. B.; CAMPAGNA, S. R.; TAGA, M. E.; SEMMELHACK, M. F.; BASSLER, B. L.; HUGHSON, F. M., 2004. *Salmonella typhimurium* recognizes a chemically distinct form of the bacterial quorum sensing signal AI-2. **Molecular Cell**, v. 15, p. 677-687, 2004.
 76. MILTON, D. L.; HARDMAN, A.; CAMARA, M.; CHHABRA, S. R.; BYCROFT, B. W.; STEWART, G. S.; WILLIAMS, P. Quorum sensing in *Vibrio anguillarum*: characterization of the *vanI/vanR* locus and identification of the autoinducer *N*-(3-oxodecanoyl)-L-homoserine lactone. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 179, p. 3004-3012, 1997.
 77. MOK, K. C.; WINGREEN, N. S.; BASSLER, B. L. *Vibrio harveyi* quorum sensing: a coincidence detector for two autoinducers controls gene expression. **EMBO Journal**, Oxford, v. 22 (4), p. 870-881, 2003.
 78. MORÉ, M. I.; FINGER, L. D.; STRYKER, J. L.; FUQUA, C.; EBERHARD, A.; WINANS, S. C. Enzymatic synthesis of a quorum-sensing autoinducer through the use of defined substrates. **Science**, Washington, v. 272, p. 1655-1658, 1996.
 79. NASSER, W.; BOUILLANT, M. L.; SALMOND, G.; REVERCHON, S. Characterization of the *Erwinia chrysanthemi* *expI-expR* locus directing the synthesis of two *N*-acyl-homoserine lactone signal molecules. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 29, p. 1391-1405, 1998.
 80. NEALSON, K. H.; PLATT, T.; HASTINGS, J. W. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 104, p. 313-322, 1970.
 81. NEALSON, K. H. Autoinduction of bacterial luciferase: occurrence, mechanism and significance.

- Archives of Microbiology**, New York, v. 112, p. 73-79, 1977.
82. NODWELL, J. R.; LOSICK, R. Purification of an extracellular signaling molecule involved in production of aerial mycelium by *Streptomyces coelicolor*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 180, p. 1334-1337, 1998.
 83. NOVICK, R. P.; MUIR, T. W. Virulence gene regulation by peptides in *Staphylococci* and other Gram-positive bacteria. **Current Opinion in Microbiology**, v. 2 (1), p. 40-45, 1999.
 84. PARSEK, M. R.; GREENBERG, E. P. Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 97 (16), p. 8789-8793, 2000.
 85. PASSADOR, L.; COOK, J. M.; GAMBELLO, M. J.; RUST, L.; IGLEWSKI, B. H. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. **Science, Washington**, v. 260, p. 1127-1130, 1993.
 86. PEARSON, J. P.; PESCI, E. C.; IGLEWSKI, B. H. Roles of *Pseudomonas aeruginosa las* and *rhl* quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 179, p. 5756-5767, 1997.
 87. PESCI, E. C.; MILBANK, J. B.; PEARSON, J. P.; MCKNIGHT, S.; KENDE, A. S.; GREENBERG, E. P.; IGLEWSKI, B. H. Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 96, p. 11229-11234, 1999.
 88. PIERSON III, L. S. ; PIERSON, E. A. Phenazine antibiotic production in *Pseudomonas aureofaciens*: Role in rhizosphere ecology and pathogen suppression. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 136 (2), p. 101-108, 1996.
 89. PIERSON III, L. S.; KEPPELNE, V. D.; WOOD, D. W. Phenazine antibiotic biosynthesis in *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 is regulated by *PhzR* in response to cell density. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 176, p. 3966-3974, 1994.
 90. PIERSON, E. A.; WOOD, D. W.; CANNON, J. A.; BLACHERE, F. M.; PIERSON III, L. S. Interpopulation signaling via *N*-acyl-homoserine lactones among bacteria in the wheat rhizosphere. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v. 11, p. 1078-1084, 1998.
 91. PIPER, K. R.; BODMAN, S. B. VON ; FARRAN, S. K. Conjugation factor of *Agrobacterium tumefaciens* regulates Ti plasmid transfer by autoinduction. **Nature**, Londres, v. 362, p. 448-450, 1993.
 92. PIRHONEN, M.; FLEGO, D.; HEIKINHEIMO, R.; PALVA, E. T. A small diffusible signal molecule is responsible for the global control of virulence and exoenzyme production in the plant pathogen *Erwinia carotovora*. **EMBO Journal**, Oxford, v. 12, p. 2467-2476, 1993.
 93. PUSKAS, A.; GREENBERG, E. P.; KAPLAN, S.; SCHAEFER, A. L. A quorum-sensing system in the free-living photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides*. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 179, p. 7530-7537, 1997.
 94. RODELAS, B.; LITHGOW, J. K.; WISNIEWSKI-DYE, F.; HARDMAN, A.; WILKINSON, A.; ECONOMOU, A.; WILLIAMS, P.; DOWNIE, J. A. Analysis of quorum-sensing-dependent control of rhizosphere-expressed (*rbi*) genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 181, p. 3816-3823, 1999.
 95. ROSEMEYER, V.; MICHIELS, J.; VERRETH, C.; VANDERLEYDEN, J. *luxI* and *luxR*-homologous genes of *Rhizobium etli* CNPAF512 contribute to synthesis of autoinducer molecules and nodulation of *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 180, p. 815-821, 1998.
 96. RUBY, E. G.; MCFALL-NGAI, M. J. A squid that glows in the night: development of an animal-bacterial mutualism. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 174, p. 4865-4870, 1992.
 97. RUBY, E. G.; NEALSON, K. H. Symbiotic association of *Photobacterium fischeri* with the marine luminous fish *Monocentris japonica*: a model of symbiosis based on bacterial studies. **The Biological Bulletin**, Woods Hole, v. 151 (3), p. 574-586, 1976.
 98. SHAW, P. D.; GAO, P.; DALY, S. L.; CHA, C.; CRONAN, J.; RINEHART, K. L.; FARRAND, S. K. Detecting and characterizing *N*-acyl-homoserine lactone signal molecules by thin-layer chromatography. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 94, p. 6036-6041, 1997.
 99. SITNIKOV, D. M.; SCHINELLER, J. B.; BALDWIN, T. O. Control of cell division in *Escherichia coli*: Regulation of transcription of *ftsQA* involves both *rpoS* and *SdiA*-mediated autoinduction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 93, p. 336-341, 1996.
 100. STEIDLE, A.; SIGL, K.; SCHUHEGGER, R.; IHRING, A.; SCHMID, M.; GANTNER, S.; STOFFELS, M.; RIEDEL, K.; GIVSKOV, M.; HARTMANN, A.; LANGEBAEDEL, C.; EBERL, L. Visualization of *N*-Acyl-homoserine lactone-mediated cell-cell communication between bacteria colonizing the tomato rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 5761-770, 2001.
 101. STEPHENS, K. Pheromones among the prokaryotes. **CRC Crit Rev Microbiol**, v. 13, p. 309-334, 1986.
 102. STINTZI, A.; EVANS, K.; MEYER, J. M. ; POOLE, K. Quorum sensing and siderophore biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: *lasR/lasI* mutants exhibit reduced pyoverdinin biosynthesis. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 166, p. 341-345, 1998.
 103. SWIFT, S.; WINSON, M. K.; CHAN, P. F.; BAINTON, N. J.; BIR-

- DSALL, M.; REEVES, P.J.; REES, C.E.D.; CHHABRA, S.R.; HILL, P.J.; THROUP, J.P.; BYCROFT, B.W.; SALMOND, G.P.C.; WILLIAMS, P.; STEWART, G.S.A.B. A novel strategy for the isolation of *luxI* homologues: Evidence for the widespread distribution of a *LuxR:LuxI* superfamily in enteric bacteria. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 10, p. 511-520, 1993.
104. SWIFT, S.; KARLYSHEV, A. V.; FISH, L.; DURANT, E. L.; WINSON, M. K.; CHHABRA, S. R.; WILLIAMS, P.; MACINTYRE, S.; STEWART, G. S. A. B. Quorum sensing in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida*: Identification of the *LuxRI* homologs *AbyRI* and *AsaRI* and their cognate *N*-acylhomoserine lactone signal molecules. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 179, p. 5271-5281, 1997.
105. SWIFT, S.; LYNCH, M. J.; FISH, L.; KIRKE, D. F.; TOMÁS, J. M.; STEWART, G. S. A. B.; WILLIAMS, P. Quorum Sensing-Dependent Regulation and Blockade of Exoprotease Production in *Aeromonas hydrophila*. **Infection and Immunity**, Washington, D.C., v. 67, p. 5192-5199, 1999b.
106. SWIFT, S.; THROUP, J. P.; WILLIAMS, P.; SALMOND, G. P. C.; STEWART, G. S. A. B. Quorum sensing: A population-density component in the determination of bacterial phenotype. **Trends in Biochemical Sciences**, Londres, v. 21, p. 214-219, 1996.
107. SWIFT, S.; WILLIAMS, P.; STEWART, G. S. A. B. *N*-acylhomoserine lactones and quorum sensing in proteobacteria. In: **Cell-cell signalling in bacteria**. Dunny, G.M. and Winans, S.C. (eds) American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1999a. p.291-313.
108. TEPLITSKI, M.; ROBINSON, J. B.; BAUER, W. D. Plants secrete substances that mimic bacterial *N*-Acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviors in associated bacteria. **The American Phytopathological Society**, v. 13, p. 637-648, 2000.
109. THORNE, S. H.; WILLIAMS, H. D. Cell density-dependent starvation survival of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*: Identification of the role of an *N*-Acyl homoserine lactone in adaptation to stationary-phase survival. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 181, p. 981-990, 1999.
110. THROUP, J. P.; CAMARA, M.; BRIGGS, G. S.; WINSON, M. K.; CHHABRA, S. R.; BYCROFT, B. W.; WILLIAMS, P.; STEWART, G. S. A. B. Characterisation of the *yenI/yenR* locus from *Yersinia enterocolitica* mediating the synthesis of two *N*-acylhomoserine lactone signal molecules. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 17, p. 345-356, 1995.
111. VISICK, K. L.; MCFALL-NGAI, M. J. An exclusive contract: specificity in the *Vibrio fischeri-Eu-pynnasclopes* partnership. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 182, p. 1779-1787, 2000.
112. WILKINSON, A.; DANINO, V.; WISNIEWSKI-DYE, F.; LITHGOW, J. K.; DOWNIE, J. A. *N*-Acyl-homoserine lactone inhibition of rhizobial growth is mediated by two quorum-sensing genes that regulate plasmid transfer. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 184, p. 4510-4519, 2002.
113. WINSON, M. K.; CAMARA, M.; LATIFI, A.; FOGLINO, M.; CHHABRA, S. R.; DAYKIN, M.; BALLY, M.; CHAPON, V.; SALMOND, G. P.; BYCROFT, B. W.; LAZDUNSKI, A.; STEWART, G. S. A. B.; WILLIAMS, P. Multiple *N*-acyl-L-homoserine lactone signal molecules regulate production of virulence determinants and secondary metabolites in *Pseudomonas aeruginosa*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 92 (20), p. 9427-9431, 1995.
114. WINSON, M. K.; SWIFT, S.; FISH, L.; THROUP, J. P.; JORGENSEN, F.; CHHABRA, S. R.; BYCROFT, B. W.; WILLIAMS, P.; STEWART, G. S. A. B. Construction and analysis of *luxCDABE*-based plasmid sensors for investigating *N*-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 163, p. 185-192, 1998.
115. WIRTH, R. Sex pheromones and gene transfer in *Enterococcus faecalis*. **Research in Microbiology**, Amsterdam, v. 151, p. 493-496, 2000.
116. WISNIEWSKI-DYE, F.; JONES, J.; CHHABRA, S. R.; DOWNIE, J. A. *RaiIR* genes are part of a quorum-sensing network controlled by *cinI* and *cinR* in *Rhizobium leguminosarum*. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 1184:1597-1606, 2002.
117. WISNIEWSKI-DYE, F.; DOWNIE, J. A. Quorum-sensing in *Rhizobium*. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, Dordrecht, v. 81, p. 397-407, 2002.
118. WOOD, D. W.; GONG, F.; DAYKIN, M. M.; WILLIAMS, P.; PIERSON III, L. S. *N*-acyl-homoserine lactone-mediated regulation of phenazine gene expression by *Pseudomonas aerofaciens* 30-84 in the wheat rhizosphere. **Journal of Bacteriology, Washington**, v. 179, p. 7663-7670, 1997.
119. XAVIER, K. B.; BASSLER, B. L. Regulation of uptake and processing of the quorum sensing autoinducer AI-2 in *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology, Washington**, no prelo.
120. ZAGO, V.C.P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N.G. *Pseudomonas* spp. Fluorescentes – Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 32p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 127).
121. ZHU, J.; CHAI, Y.; ZHONG, Z.; LI, S.; WINANS, S. C. Agrobacterium bioassay strain for ultrasensitive detection of *n*-acylhomoserine lactone-type quorum-sensing molecules: detection of autoinducers in *Mesorhizobium huakuii*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 6949-6953, 2003.