

MECANISMOS MOLECULARES DE RESPOSTA A CÁDMIO E ZINCO NA
BACTÉRIA PROMOTORA DO CRESCIMENTO VEGETAL *Gluconacetobacter*
diazotrophicus PAL5

JÚLIA ROSA MOREIRA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
ABRIL – 2022

MECANISMOS MOLECULARES DE RESPOSTA A CÁDMIO E ZINCO NA
BACTÉRIA PROMOTORA DO CRESCIMENTO VEGETAL *Gluconacetobacter*
diazotrophicus PAL5

JÚLIA ROSA MOREIRA

“Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia Vegetal.”

Orientador: Prof. Gonçalo Apolinário de Souza Filho

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
ABRIL – 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

M838 Moreira, Julia Rosa.

MECANISMOS MOLECULARES DE RESPOSTA A CÁDMIO E ZINCO NA BACTÉRIA
PROMOTORA DO CRESCIMENTO VEGETAL *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5 / Julia Rosa
Moreira. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

137 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2022.
Orientador: Goncalo Apolinario de Souza Filho.

1. Metais pesados. 2. Genética reversa. 3. Proteômica. 4. Biotecnologia. 5. PGPB. I.
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 660.6

MECANISMOS MOLECULARES DE RESPOSTA A CÁDMIO E ZINCO
NA BACTÉRIA PROMOTORA DO CRESCIMENTO VEGETAL
Gluconacetobacter diazotrophicus PAL5

JÚLIA ROSA MOREIRA

"Tese apresentada ao centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia Vegetal."

Aprovada em 28 de abril de 2022.

Comissão Examinadora:

Dra. Aline Chaves Intorne (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) - IFRJ

Dr. Diogo de Abreu Meireles (D.Sc., Ciências Biológicas-Bioquímica) - UENF

Dra. Regina Lúcia Baldini (D.Sc., Ciências Biológicas-Bioquímica) - USP

Dr. Gonçalo Apolinário de Souza Filho (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) - UENF
(Orientador)

*À minha mãe, Armando
Ao meu pai, Donizete,
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, por todo esforço, dedicação e amor incondicional, e por sempre acreditar em mim. Serei eternamente grata.

Ao meu pai, que independente de qualquer percalço, sempre foi meu grande incentivador.

Ao meu irmão, demais familiares e amigos, por sempre desejarem o melhor a mim.

Ao Genesis pelo companheirismo, compreensão e carinho.

Ao Leandro pela amizade e por me recepcionar em Campos.

Aos companheiros de moradia Carol, Elis, Léo, Mariana, Sara e agregadas (os) por terem deixado tudo mais leve, ao compartilharmos momentos incríveis e inesquecíveis.

Ao meu orientador, professor Gonçalo Apolinário, pela excelente orientação, compreensão e ensinamentos.

Aos colegas que conheci no Laboratório de Biotecnologia: Ana Luiza, Bárbarah, Clara, Daniel, Danielle, Fabiano, Kariny, Mariana, Patrícia, Rafael, Renato, Tamires, Vivian e Walaci, que se tornaram amigos queridos. Obrigada por toda ajuda, paciência, ensinamentos e momentos de alegria. Um agradecimento especial a Mariana e Fabiano por estarem sempre dispostos a colaborar de maneira assídua com todo o grupo.

Ao professor Vanildo Silveira e membros de sua equipe, em especial a Ellen, Felipe, Lucas e Vitor, pela parceria e aprendizado.

À equipe técnica e funcionários terceirizados, em especial a Telma, Dona Carla e Dona Cida, por serem extremamente prestativas e queridas.

Às professoras Aline Intorne e Regina Baldini e ao professor Diogo Meireles por aceitarem participar da minha banca de defesa do doutorado e pelas contribuições.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e coordenação do Programa de Biotecnologia Vegetal pela recepção, qualidade de ensino, pesquisa e estrutura.

Aos ex-coordenadores, professores Gonçalo Apolinário, Thiago Venâncio e Fábio Olivares, a atual coordenadora, professora Claudete Santa-Catarina, aos demais professores e secretária Margareth Paes, do Programa de Biotecnologia Vegetal, pelo empenho e dedicação.

A UENF, FAPERJ, CNPq, Capes, Finep e INCT pelo apoio financeiro.

A todos que contribuíram de alguma forma para execução deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Resposta bacteriana ao estresse por metais.....	2
1.2 <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> como modelo de estudo das respostas bacterianas a condições desafiadoras de metais tóxicos	4
1.3 Referências	7
2. CAPÍTULO 1: Papel essencial de proteínas extracitoplasmáticas na resistência de <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> a cádmio.....	11
2.1 Resumo.....	12
2.2 Introdução	13
2.3 Materiais e métodos.....	15
2.3.1 Cepas bacterianas, meio e condições de crescimento.....	15
2.3.2 Ensaio de estresse de cádmio	15
2.3.3 Análise microscópica.....	16
2.3.4 Extração de proteínas.....	16
2.3.5 Digestão de proteínas e análise de espectrometria de massa.....	16
2.3.6 Análises de dados de proteômica.....	17
2.3.7 Análise de genética reversa	17
2.4 Resultados.....	18
2.4.1 Cd afeta o desempenho de crescimento de <i>G. diazotrophicus</i>	18
2.4.2 Análise proteômica da resposta de <i>G. diazotrophicus</i> ao Cd.....	20
2.4.3 Proteínas extracitoplasmáticas são reduzidas em resposta ao Cd.....	21
2.4.4 Principais grupos de proteínas regulados em <i>G. diazotrophicus</i> em resposta ao Cd.....	22
2.4.5 A análise de mutagênese Tn5 revelou o papel essencial de proteínas específicas na resistência de <i>G. diazotrophicus</i> sob estresse por Cd.....	25
2.2 Discussão.....	27
2.6 Referências	31
3. CAPÍTULO 2: Análise de genética reversa e proteômica comparativa revelam mecanismos essenciais para a resistência ao zinco em <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAL5.....	35
3.1 Resumo.....	36
3.2 Introdução	37
3.3 Material e métodos	39
3.3.1 Cepas bacterianas	39
3.3.2 Ensaio de estresse de zinco	39
3.3.3 Análise de microscopia	39

3.3.4 Extração de proteínas, digestão e análise de espectrometria de massa	40
3.3.5 Análises de dados proteômicos	40
3.3.6 Análise de genética reversa.....	41
3.4 Resultados.....	42
3.4.1 O excesso de Zn afeta o crescimento de <i>G. diazotrophicus</i>	42
3.4.2 Análise proteômica da resposta de <i>G. diazotrophicus</i> ao Zn	43
3.4.3 Perfil proteico de compartimentos celulares durante a resposta de <i>G. diazotrophicus</i> ao Zn	44
3.4.4 Principais grupos proteicos regulados em <i>G. diazotrophicus</i> em resposta ao Zn.....	45
3.4.5 Análise de genética reversa revelou o papel essencial de proteínas específicas na resistência de <i>G. diazotrophicus</i> sob estresse de Zn.....	48
3.5 Discussão.....	50
3.6 Referências	55
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
5. MATERIAL SUPLEMENTAR.....	60
5.1 Material suplementar Capítulo 1	60
5.2 Material suplementar Capítulo 2	93

RESUMO

As bactérias estão presentes em ambientes de características distintas. Mudanças em seus habitats podem causar distúrbios metabólicos, como redução da taxa de crescimento, fase de latência prolongada e até morte. Por isso, as bactérias desenvolveram uma série de estratégias para sobreviverem as mudanças ambientais. Com a acentuada atividade mineradora e práticas agrícolas, que utilizam matéria-prima contendo metais pesados, a alta concentração de íons metálicos nos solos é um grave problema ambiental. Nesse sentido, a sobrevivência das bactérias nesses locais depende de mecanismos de resistência. A compreensão desse processo é relevante para a sua aplicação biotecnológica. A bactéria promotora do crescimento vegetal, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, se destaca por resistir a estresses ambientais. No entanto, os mecanismos associados a resistência a metais pesados ainda precisam ser melhor elucidados. Assim, o presente trabalho teve como objetivo investigar os mecanismos moleculares de resposta a cádmio (Cd) e zinco (Zn) em *G. diazotrophicus* PAL5. Para isso, os agentes estressores cádmio ($CdCl_2 \cdot H_2O$) e zinco ($ZnCl_2$) foram utilizados na avaliação das respostas celulares de *G. diazotrophicus* por meio de viabilidade celular, proteômica comparativa e mutagênese. As análises proteômicas de células bacterianas expostas ao Cd apresentadas no Capítulo 1 revelaram a regulação das vias de absorção de nutrientes, sistemas de bombas de efluxo, resposta ao estresse oxidativo e controle de qualidade de proteínas. A análise de genética reversa mostrou que a mutação nos genes *tbdR*, relacionado a absorção de nutrientes, *czcC*, componente da bomba de efluxo CzcCBA e *ggt*, resposta ao estresse oxidativo, aumentou severamente a sensibilidade dos mutantes. As proteínas que codificam esses genes pertencem a membrana externa e periplasma, reforçando a essencialidade das respostas nos compartimentos extracitoplasmáticos para a resistência a estresses. A exposição das células bacterianas ao Zn apresentada no Capítulo 2 revelou por meio das análises proteômicas que as vias moleculares relacionadas ao metabolismo de açúcar, metabolismo do envelope celular, sistemas de bombas de efluxo, absorção de nutrientes, controle de qualidade de proteínas e resposta ao estresse oxidativo foram regulados. A mutagênese revelou que os mutantes *pgl::Tn5* (metabolismo de açúcar), *tbdR::Tn5* (absorção de nutrientes), *accC::Tn5* (metabolismo do envelope celular), *czcC::Tn5* (bomba de efluxo), *clpx::Tn5* e *degP::Tn5* (controle de qualidade de proteína), e *ggt::Tn5* (resposta a estresse oxidativo), tornaram-se extremamente sensíveis ao serem expostos ao Zn. Este trabalho é o primeiro a demonstrar a relevância da proteína Pgl para a resistência de bactérias ao estresse por Zn. Uma análise conjunta dos resultados mostrou que *G. diazotrophicus* PAL5 possui mecanismos

específicos e comuns para a resposta aos estresses por Zn e Cd, que podem ser explorados biotecnologicamente. Dessa forma, os resultados abrem perspectivas para melhorias na agricultura e indústria, através dos mecanismos moleculares de resistência a metais pesados que foram elucidados.

Palavras-chave: metais pesados; genética reversa; proteômica; biotecnologia, PGPB

ABSTRACT

Bacteria are present in environments with different characteristics. Changes in their habitats can cause metabolic disturbances such as reduced growth rate, prolonged latency phase and even death. Thus, bacteria have developed a series of strategies to survive environmental changes. With the accentuated mining activity and agricultural practices, which use raw material containing heavy metals, the high concentration of metal ions in soils is a serious environmental problem. Therefore, the survival of bacteria in these places depends on resistance mechanisms. Understanding this process is relevant to its biotechnological application. The plant growth-promoting bacterium, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, stands out for resisting environmental stresses. However, the mechanisms associated with resistance to heavy metals still need to be better elucidated. Thus, the present work aimed to investigate the molecular mechanisms of response to cadmium (Cd) and zinc (Zn) in *G. diazotrophicus* PAL5. For this, the stressors cadmium ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) and zinc (ZnCl_2) were used to evaluate the cellular responses of *G. diazotrophicus* through cell viability, comparative proteomics and mutagenesis. Proteomic analyzes of bacterial cells exposed to Cd presented in Chapter 1 revealed the regulation of nutrient absorption pathways, efflux pump systems, oxidative stress response, and protein quality control. Reverse genetic analysis showed that the mutation in the genes *tbdR*, related to nutrient uptake, *czcC*, component of the efflux pump CzcCBA, and *ggt*, response to oxidative stress, severely increased the sensitivity of the mutants. The proteins that encode these genes belong to the outer membrane and periplasm, reinforcing the essentiality of responses in extracytoplasmic compartments for resistance to stress. The exposure of bacterial cells to Zn presented in Chapter 2 revealed through proteomic analysis that the molecular pathways related to sugar metabolism, cell envelope metabolism, efflux pump systems, nutrient absorption, protein quality control and response to oxidative stress were regulated. Mutagenesis revealed that the mutants *pgl*::Tn5 (sugar metabolism), *tbdR*::Tn5 (nutrient uptake), *accC*::Tn5 (cell envelope metabolism), *czcC*::Tn5 (efflux pump), *clpX*::Tn5 and *degP*::Tn5 (protein quality control), and *ggt*::Tn5 (response to oxidative stress), became extremely sensitive when exposed to Zn. This work is the first to demonstrate the relevance of the Pgl protein to the resistance of bacteria to Zn stress. A joint analysis of the results showed that *G. diazotrophicus* PAL5 has specific and common mechanisms for the response to Zn and Cd stresses, which can be biotechnologically exploited. Thus, the results open perspectives for

improvements in agriculture and industry, through the molecular mechanisms of resistance to heavy metals that have been elucidated.

Keywords: heavy metals; reverse genetics; proteomics; biotechnology, PGPB

1. INTRODUÇÃO

Muitos microrganismos demonstram resistência a condições ambientais adversas. Dentre eles, as bactérias ocupam uma ampla gama de nichos ecológicos na Terra, que variam de temperaturas extremamente baixas em oceanos a fontes hidrotermais (Persat et al., 2015). A resistência bacteriana a condições ambientais desafiadoras está associada a mecanismos moleculares e genes de resistência, selecionados para atenuar os efeitos que comprometem a viabilidade celular (Guan et al., 2017). Tais características são potenciais ferramentas para a aplicação biotecnológica, sendo úteis para diversos setores, como à agricultura, indústrias farmacêuticas e alimentícias.

A contaminação dos solos por metais pesados, em concentrações acima dos níveis regulatórios, atinge 5 milhoes de áreas em todo mundo, sendo um grave problema ambiental mundial (Lim et al., 2019; Zhang et al., 2011). Tais contaminações surgem devido, principalmente, a atividades de mineração e a processos agrícolas que utilizam esses elementos junto a matérias-primas para a produção de insumos. Nesse sentido, os metais pesados se tornam um desafio para a sobrevivência de bactérias que possuem funções biológicas no solo, como, fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, produção de hormônios vegetais e controlar ou inibir a atividade de fitopatógenos (Nies et al., 1999). Embora os metais pesados não sejam biodegradáveis, sendo prejudiciais para o ciclo de vida dos microorganismos presentes no ambiente, muitas bactérias se adaptaram à presença dos íons metálicos em seus habitats (Tchounwou et al., 2014).

As bactérias necessitam de alguns metais para suas atividades metabólicas. Dentre esses, o cálcio, cobalto, cromo, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, sódio, níquel e zinco têm papel fundamental na fisiologia das células. Esses metais atuam como micronutrientes, centros redox para metaloproteínas, transporte de elétrons e cofatores para proteínas (Bruins et al., 2000). No entanto, podem ser tóxicos para as células quando em concentrações elevadas (Nies, 1999). Outros metais como cádmio, prata, chumbo, mercúrio, ouro, arsênico e alumínio, não possuem funções biológicas determinadas, e são potencialmente tóxicos para microorganismos mesmo em baixas concentrações (Bruins et al., 2000). Assim, metais essenciais e não essenciais concentrações tóxicas podem danificar a célula (Figura 1) (Amaro et al., 2021).

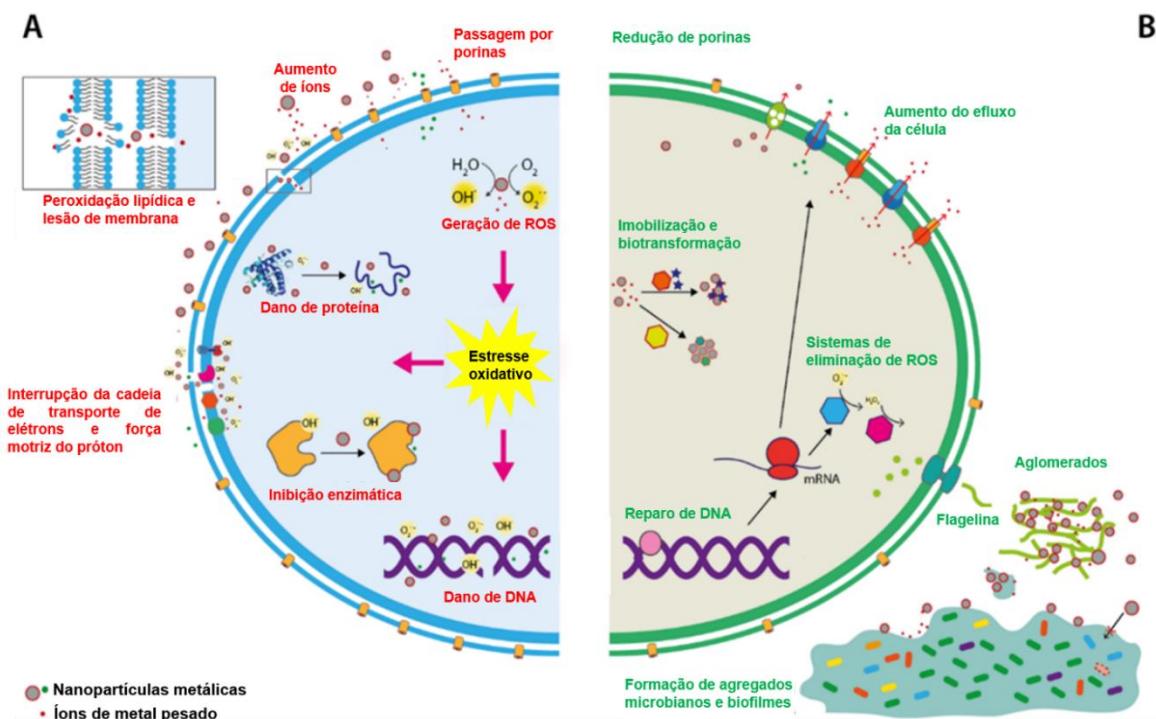


Figura 1- Efeitos de íons metálicos e nanopartículas metálicas (A) e mecanismos gerais de resistência descritos em bactérias (B) (Adaptado de Amaro et al., 2021).

As bactérias possuem mecanismos que modulam os níveis essenciais de íons metálicos e tóxicos à célula. Portanto, estes processos são descritos como fundamentais para a homeostase celular da bactéria em tais ambientes (Figura 1).

1.1 Resposta bacteriana ao estresse por metais

Ambientes contendo metais tóxicos e altas concentrações de metais geram respostas nas bactérias que envolvem tanto o sequestro para dentro da célula quanto a exportação do excesso dos íons metálicos (Chandrangsu et al., 2017). Distúrbios na homeostase dos íons metálicos podem produzir efeitos tóxicos na viabilidade celular, em decorrências de alterações das propriedades fisiológicas, estruturais e bioquímicas da bactéria (Mathivanan et al., 2021).

Como observado na Figura 1, a toxicidade de metais pesados envolve vários processos, incluindo a inativação de enzimas essenciais, desregulação do balanço iônico, danos na estrutura de DNA e proteínas, além de reagir como catalisadores redox na produção de espécies reativas de oxigênio, do inglês *reactive oxygen species* (ROS) (Gauthier et al., 2014). O resultante desequilíbrio na produção de ROS tem como consequência o estresse oxidativo na célula.

Os mecanismos de resistência bacteriana aos íons de metais tóxico dependem de fatores que influenciam a ativação da resposta. Dentre eles, a localização de genes de resistência na bactéria, se está localizado no cromossomo, plasmídeo ou transposon, o papel do íon metálico no metabolismo celular e o tipo de transporte do íon para dentro da célula, são os mais relevantes (Bruins et al., 2000). No entanto, alguns mecanismos de resistência aos metais tóxicos são gerais entre as bactérias, como, barreira extracelular, transporte ativo de íons metálicos (efluxo), sequestro extracelular e intracelular e redução de íons metálicos (Figura 1) (Bruins et al., 2000; Choudhury e Srivastava, 2001).

As barreiras extracelulares podem impedir a entrada de íons metálicos na célula (Bruins et al., 2000; Choudhury e Srivastava, 2001). Em *Pseudomonas aeruginosa* foi observado que os polímeros extracelulares do biofilme acumularam íons de cobre, chumbo e zinco, protegendo a célula em tais condições (Teitzel et al., 2003). A síntese de expolissacarídeos (EPS) também é uma defesa celular, sendo aumentada em situações de extresses (Ianieva, 2009).

Os sistemas de transporte por efluxo de íons metálicos representam a maior categoria de mecanismos de resistência a metais em bactérias (Ianieva, 2009). Metais não essenciais normalmente entram na célula através de sistemas convencionais de transporte de nutrientes, mas são exportados rapidamente. Os sistemas de efluxo possuem proteínas pertencentes a três famílias: CDF (facilitador de difusão de cátions), ATPases do tipo P e RND (resistência, nodulação, divisão celular) (Srivastava et al., 2013). As ATPases do tipo P transferem predominantemente íons metálicos com alta afinidade para grupos sulfidrila (Cu^+ / Ag^+ , Zn^{2+} / Cd^{2+} / Pb^{2+}), enquanto as proteínas CDF interagem especificamente com íons de metais divalentes (Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} e Fe^{2+}). As duas famílias transportam substratos específicos da membrana plasmática para o periplasma em bactérias Gram-negativas (Nies et al., 2003). O sistema de efluxo multidrogas do tipo RND transportam cátions do periplasma através da membrana plasmática e são exclusivos de bactérias Gram-negativas (Nies et al., 2003). Em procariotos, é estudado, principalmente, a resistência a antibióticos e detoxificação de intermediários metabólicos e compostos tóxicos (Nishino et al., 2007; Poole, 2007).

Sequestro extracelular é o acúmulo de íons metálicos por componentes celulares no periplasma, na membrana externa ou precipitação de íons metálicos como compostos insolúveis. Algumas bactérias utilizam o sistema de efluxo e exportam os íons metálicos do citoplasma para o periplasma ou membrana externa, e assim, são precipitados (Ianieva et al., 2009). Por outro lado, o sequestro intracelular é a precipitação de íons metálicos no

citoplasma por vários compostos presentes nesse compartimento da célula, como metalotioneína, proteína rica em cisteína (Waldron et al., 2009). Em células de *Pseudomonas putida* foi observada a capacidade de sequestro de íons de cobre, cádmio e zinco com a ajuda de proteínas de baixo peso molecular ricas em cisteína (Ianieva et al., 2009).

As bactérias também podem resistir aos efeitos dos metais tóxicos através da redução de íons metálicos e metaloides. Eles podem ser usados por algumas bactérias como doadores ou aceptores de elétrons para geração de energia. Os metais oxidados podem servir como acceptor terminal de elétrons durante a respiração anaeróbica de bactérias. Trabalhos mostram que a redução enzimática de íons metálicos de mercúrio e cromo resultaria na formação de substâncias menos tóxicas desses metais (Barkay et al., 2003; Viti e Giovannetti et al., 2003).

Embora as bactérias possuam mecanismos gerais de resposta a metais pesados, existem particularidades associadas a resposta para cada elemento. Da mesma forma, existem especificidades de resposta em algumas bactérias que se destacam como altamente resistentes a metais pesados.

1.2 *Gluconacetobacter diazotrophicus* como modelo de estudo das respostas bacterianas a condições desafiadoras de metais tóxicos

G. diazotrophicus é uma bactéria Gram-negativa, diazotrófica, endofítica e aeróbica obrigatória (Cavalcante e Döbereiner, 1988; Gillis et al., 1989). Ela foi isolada primeiramente de raízes e colmos de cana-de-açúcar (Cavalcante e Döbereiner, 1988). No entanto, estudos mostram sua eficiência em colonizar outras espécies de importância econômica, como milho, trigo, feijão (Cocking et al., 2006; Luna et al., 2010).

G. diazotrophicus é caracterizada pela capacidade de promoção de crescimento vegetal, PGPB, do inglês *Plant Growth Promoting Bacteria*. Isso se deve a sua eficiência na fixação de nitrogênio, produção de hormônios e sideróforos, e solubilização de nutrientes (Saravanan et al., 2008; Pedraza, 2008; Rodrigues et al., 2016). Além disso, *G. diazotrophicus* é capaz de sobreviver em ambientes com altas concentrações de açúcar e metais tóxicos (Leandro et al., 2021a; Leandro et al., 2021b; Leandro et al., 2021c; Intorne et al., 2012). Portanto, é uma bactéria com potencial de aplicabilidade biotecnológica, incluindo a identificação de novos genes e mecanismos de resistência a estresses.

O sequenciamento do genoma de *G. diazotrophicus* e, posteriormente, estudos moleculares relacionados a mecanismos de respostas a metais revelaram genes de resistência

da bactéria (Bertalan et al., 2009). Intorne et al., (2012) mostraram que o gene *czcA*, componente do operon *czcCBARS*, é essencial para a resistência aos metais, zinco, cádmio e cobalto, em *G. diazotrophicus* PAL5. Sob estresse por metal, a manutenção da homeostase celular bacteriana ocorre através do efluxo do excesso de cátions intracelulares, mediado por transportadores, tais como a bomba de efluxo CBA (Figura 2). O gene *czcC* codifica uma proteína que também integra a bomba, que é essencial para a resistência a cádmio, confirmando a relevância do determinante *czc* (Moreira et al., 2022).

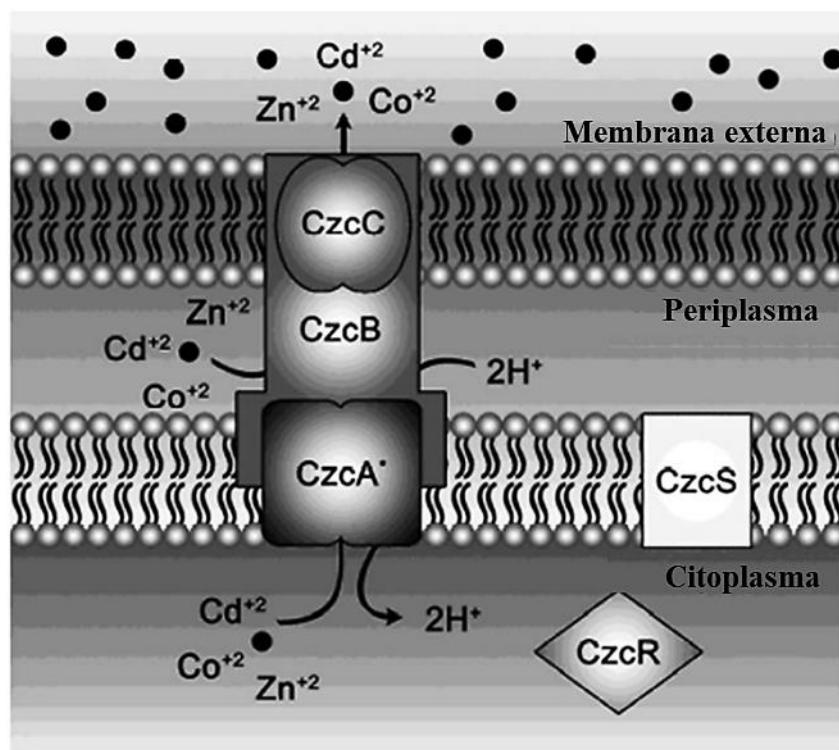


Figura 2- Modelo de resistência ao cádmio, cobalto e zinco em *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 mediado pelos transportadores CBA, que atuam na destoxificação de moléculas tóxicas. (Adaptado de Intorne et al., 2012).

Para aprofundar o conhecimento acerca da resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse por metais, é necessário que estudos moleculares sejam realizados. Embora existam trabalhos com outras espécies de bactérias mostrando de forma mais abrangente as respostas moleculares na resistência a metais pesados, para *G. diazotrophicus* a compreensão dos mecanismos utilizados ainda é restrita. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo mostrar os mecanismos moleculares regulados por *G. diazotrophicus* em resposta aos metais pesados, cádmio e zinco, que são considerados prejudiciais ao meio ambiente em concentrações diferentes. Nesse sentido, a resistência bacteriana a metais pesados é relevante para aplicação biotecnológica.

Os agentes estressores cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e zinco (ZnCl_2) foram utilizados para avaliar as respostas celulares de *G. diazotrophicus* PAL5 por meio de análises de proteômica comparativa e genética reversa. Com os resultados foi possível obter dois capítulos independentes, sendo que o primeiro capítulo é referente a tradução do artigo *Essential role of extracytoplasmic proteins in the resistance of Gluconacetobacter diazotrophicus to cadmium*, publicado na revista *Research in Microbiology*, e o segundo capítulo refere-se à tradução do artigo que está em fase de submissão.

1.3 Referências

- Amaro F, Morón A, Díaz S, Martín-González A, Gutérrez JC. Metallic Nanoparticles—Friends or Foes in the Battle against Antibiotic-Resistant Bacteria? *Microorganisms* 2021;9:364. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020364>.
- Barkay T, Miller SM, Summers AO. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiol Rev* 2003;27:355–384. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00046-9](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00046-9).
- Bertalan M, Albano R, de Pádua V, Rouws L, Rojas C, Hemerly A, Teixeira K, Schwab S, Araujo J, Oliveira A, França L, Magalhães V, Alquéres S, Cardoso A, Almeida W, Loureiro M, Nogueira E, Cidade D, Oliveira D, Simão T, Macedo J, Valadão A, Dreschsel M, Freitas F, Vidal M, Guedes H, Rodrigues E, Meneses C, Brioso P, Pozzer L, Figueiredo D, Montano H, Junior J, de Souza FG, Martin Quintana Flores V, Ferreira B, Branco A, Gonzalez P, Guillobel H, Lemos M, Seibel L, Macedo J, Alves-Ferreira M, Sachetto-Martins G, Coelho A, Santos E, Amaral G, Neves A, Pacheco A, Carvalho D, Lery L, Bisch P, Rössle SC, Ürményi T, Rael Pereira A, Silva R, Rondinelli E, von Krüger W, Martins O, Baldani J, Ferreira PC (2009) Complete genome sequence of the sugarcane nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *BMC Genomics* 2009;10:450. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-450>.
- Bruins MR, Kapil S, Oehme FW. Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000;45:198–207. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1860>.
- Cavalcante VA, Döbereiner J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant Soil* 1988;108:23–31. <https://doi.org/10.1007/BF02370096>.
- Chandrangs P, Christopher Rensing C, Helmann JD. Metal Homeostasis and Resistance in Bacteria. *Nat Rev Microbiol* 2017;15: 338–350. <https://doi:10.1038/nrmicro.2017.15>.
- Choudhury R, Srivastava S. Zinc resistance mechanisms in bacteria. *Curr Sci* 2001;81:768–775.
- Cocking EC, Stone PJ, Davey MR. Intracellular colonization of roots of *Arabidopsis* and crop plants by *Gluconacetobacter diazotrophicus*. In *Vitro Cell Dev Biol-Plant* 2006;42:74–82. <https://doi.org/10.1079/IVP2005716>.
- Gauthier PT, Norwood WP, Prepas EE, Pyle GG. Metal-PAH mixtures in the aquatic environment: A review of co-toxic mechanisms leading to more-than-additive outcomes. *Aquat Toxicol* 2014;154:253–269. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.05.026>.

- Gillis M, Kersters K, Hoste B, Janssens D, Kroppenstedt RM, Stephan MP, Teixeira KRS, Dobereiner J, De Ley J. *Acetobacter diazotrophicus* sp. nov., a nitrogen-fixing acetic acid bacterium associated with sugarcane. *Int J Syst Bacteriol* 1989;39:361-364. <https://doi.org/10.1099/00207713-39-3-361>.
- Guan N, Jianghua Li, Shin HD, Du G, Chen J, Liu L, Chen J, Liu L. Microbial response to environmental stresses: from fundamental mechanisms to practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 2017;101:3991–4008. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8264-y>.
- Ianieva O. Mechanisms of bacteria resistance to heavy metals. *Mikrobiol Z* 2009;71:54-65.
- Intorne AC, de Oliveira MVV, Pereira LM, de Souza Filho GA. Essential role of the czc determinant for cadmium, cobalt and zinc resistance in *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Int Microbiol* 2012;2:69-78. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.160>.
- Leandro MR, Andrade LF, Vespoli LS, Soares FS, Moreira JR, Pimentel VR, et al. Combination of osmotic stress and sugar stress response mechanisms is essential for *Gluconacetobacter diazotrophicus* tolerance to high sucrose environments. *Appl Microbiol Biotechnol* 2021c. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11590-7>.
- Leandro MR, Andrade LL, Vespoli LS, Moreira JR., Pimentel, VR., Soares, FS., et al. Comparative proteomics reveals essential mechanisms for osmotolerance in *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Res Microbiol* 2021a. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2020.09.005>.
- Leandro MR, Vespoli LS, Andrade LF, Soares FS, Boechat AL, Pimentel VR, et al. DegP protease is essential for tolerance to salt stress in the plant growth-promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Microbiol Res* 2021b. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126654>.
- Lim S, Jung JH, Blanchard L, De Groot A. Conservation and diversity of radiation and oxidative stress resistance mechanisms in *Deinococcus* species. *FEMS Microbiol Rev* 2019;43:19–52. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy037>.
- Luna MF, Galar ML, Aprea J, Molinari ML, Boiardi J. Colonization of sorghum and wheat by seed inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Biotechnol Lett* 2010;32:1071–1076. <http://doi.org/10.1007/s10529-010-0256-2>.
- Mathivanan K, Jayaraman UC, Vinothkanna A, Yin H, Liu X, Mengade D. Bacterial adaptive strategies to cope with metal toxicity in the contaminated environment – A

- review. Ecotoxicol Environ Saf 2021;226. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112863>.
- Moreira JR, Leandro MR, Vespoli LS, Andrade LF, Pimentel VR, Soares FS, et al. Essential role of extracytoplasmic proteins in the resistance of *Gluconacetobacter diazotrophicus* to cadmium. Res Microbiol 2022;173. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.103922>.
- Nies DH. Microbial heavy-metal resistance. Appl Microbiol Biotechnol 1999;51:730-750. <https://doi.org/10.1007/s002530051457>.
- Nies, DH. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. FEMS Microbiol Rev 2003;27:313–339. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00048-2](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00048-2).
- Nishino K, Nikaido E, Yamaguchi A. Regulation of multidrug efflux systems involved in multidrug and metal resistance of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. J Bacteriol 2007;189:9066-9075. <https://doi.org/10.1128/JB.01045-07>.
- Pedraza RO. Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria. Int J Food Microbiol 2008;30:25–35. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.079>.
- Persat A, Nadell CD, Kim MK, Ingremoine F, Siryaporn A, Drescher K, et al. The Mechanical World of Bacteria. Cell 2015;161. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.005>.
- Poole, K. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. Ann Med 2007;39:162-176. <https://doi.org/10.1080/07853890701195262>.
- Rodrigues EP, Soares CP, Galvão PG, Imada EL, Simões-Araújo JL, Rouws LFM, Oliveira ALM, Vidal MS, Baldani J. Identification of Genes Involved in Indole-3-Acetic Acid Biosynthesis by *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 Strain Using Transposon Mutagenesis. Front Microbiol 2016;7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01572>.
- Saravanan VS, Madhaiyan M, Osborne J, Thangaraju M, As TM. Ecological occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* members: their possible role in plant growth promotion. Microb Ecol 2008;55:130-40. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9258-6>.
- Srivastava P, Kowshik M. Mechanisms of Metal Resistance and Homeostasis in Haloarchaea Archaea:2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/732864>.
- Tchounwou P, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy Metals Toxicity and the Environment. NIH 2012;101:133–164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6.

Teitzel G.M. Parsek M.R. Heavy metal resistance of biofilm and planctonic *Pseudomonas aeruginosa*. Appl Environ Microbiol 2003;69:2313-2320.
<https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.2313-2320.2003>.

Viti C., Pace A., Giovannetti L. Characterization of Cr (VI)-resistant bacteria isolated from chromium-contaminated soil by tannery activity. Curr Microbiol 2003;46:1-5.
<http://doi.org/10.1007/s00284-002-3800-z>.

Waldron KJ, Rutherford JC, Ford D, Robinson NJ. Metalloproteins and metal sensing. Nature 2009;460:823-30. <https://doi.org/10.1038/nature08300>.

Zhang WJ, Jiang FB, Ou JF. Global pesticide consumption and pollution: With China as a focus. Proc. Int. Acad 2011;2:125–144.

2. CAPÍTULO 1

**PAPEL ESSENCIAL DE PROTEÍNAS EXTRACITOPLASMÁTICAS NA
RESISTÊNCIA DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* A CÁDMIO**

2.1 Resumo

O cádmio (Cd) é um metal pesado encontrado em solos agrícolas, por estar presente em diversos fertilizantes e pesticidas. O aumento da concentração de Cd nos solos tem sido observado em áreas cultivadas, afetando animais, plantas e microrganismos. *G. diazotrophicus* é uma bactéria promotora de crescimento vegetal capaz de sobreviver em condições ambientais adversas. Aqui, investigamos os principais mecanismos envolvidos com a resistência de *G. diazotrophicus* ao Cd. As análises proteômicas revelaram que as principais vias reguladas em resposta ao Cd são a captação de nutrientes, bombas de efluxo multidrogas, resposta ao estresse oxidativo e sistema de controle de qualidade de proteínas. Proteínas extracitoplasmáticas relacionadas a bombas de efluxo multidrogas foram aumentadas, enquanto várias proteínas relacionadas à absorção de nutrientes foram reduzidas. A relevância dessas vias para a resistência bacteriana ao Cd foi investigada por análise genética reversa usando mutantes defectivos para absorção de nutrientes (*tdbr*, *ompW* e *oprB*), efluxo multidrogas (*czcC*), resposta ao estresse oxidativo (*ggt*) e sistema de controle de qualidade de proteínas (*clpX*). Nossos dados demonstraram o papel essencial dos genes *tdbR* e *czcC* para resistência ao Cd em *G. diazotrophicus*. Esses resultados contribuem para uma melhor compreensão dos mecanismos de resistência ao Cd em *G. diazotrophicus*, esclarecendo as respostas associadas aos compartimentos extracitoplasmáticos.

Palavras-chave: bactérias promotoras de crescimento vegetal; metal pesado; absorção de nutrientes; bomba de efluxo; proteoma; mutagênese

2.2 Introdução

A contaminação do solo causa prejuízos econômicos estimados em mais de 10 bilhões de dólares por ano em todo o mundo. Os metais pesados são responsáveis por contaminar mais de 5 milhões de áreas em todo o mundo (He et al., 2015). Dentre os impactos ambientais gerados por metais pesados, a atividade microbiana do solo é um dos mais afetados (Chu, 2018). O excesso de metais prejudica a morfologia, o metabolismo e o crescimento dos microrganismos e compromete as interações com outros componentes do meio ambiente (Giller et al, 1998; McGrath, 1995).

O Cd é um metal pesado tóxico ao meio ambiente e aos organismos, mesmo em baixas concentrações (Zhengwei et al., 2005). O Cd é encontrado em grandes áreas agrícolas por estar presente em fertilizantes e pesticidas. Portanto, o aumento da concentração de Cd nos solos tem sido observado em diversas áreas cultivadas (Roberts, 2014). O dano causado pelo cádmio às células está relacionado principalmente à sua capacidade de perturbar a homeostase de metais essenciais, causando disfunções nos processos celulares (Ammendola et al., 2014; Cuypers et al., 2010).

Muitas espécies de bactérias desenvolveram estratégias para sobreviver em ambientes contendo metais pesados (Nies, 1999). Entre os mecanismos de resistência estão a resposta ao estresse oxidativo, a exclusão do metal para fora da célula por meio de bombas de efluxo, o sequestro intra e extracelular do metal por ligação a proteínas, a desintoxicação por enzimas, a diminuição da sensibilidade das células alvos para íons metálicos e exclusão de agentes tóxicos por barreiras de permeabilidade (Abbas et al., 2018; Bruins et al., 2000).

Vários mecanismos de resistência bacteriana ao metal pesado estão associados a mudanças rápidas no envelope celular (Dam et al., 2018, Hews et al., 2019). Em bactérias Gram-negativas, o envelope compreende uma membrana interna, periplasma e uma membrana externa (Silhavy et al., 2010). Além da barreira física, no envelope celular também contém proteínas envolvidas na proteção da célula contra estresses, com destaque para os transportadores e bombas de efluxo (Silhavy et al., 2010, Alvarez-Ortega et al., 2013). Assim, proteínas extracitoplasmáticas estão relacionadas à resposta bacteriana a metais pesados.

Entre os mecanismos citoplasmáticos de resistência bacteriana ao estresse por Cd estão as proteínas antioxidantes, que reduzem os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Cuypers et al., 2010; Fanous et al., 2008). Além disso, a ativação de chaperonas e proteases também são componentes citoplasmáticos importantes da resistência ao cádmio (Cuypers et al., 2010).

G. diazotrophicus é uma PGPB que coloniza endofíticamente várias espécies de plantas, incluindo cana-de-açúcar, batata-doce, abacaxi, café, cenoura, rabanete, beterraba e arabadopsis (Cavalcante e Döbereiner, 1988; Baldani e Baldani, 2005; Saravanan et al., 2008; Rangel et al., 2016). O efeito da inoculação de *G. diazotrophicus* na promoção do crescimento de plantas de interesse agronômico indica seu potencial para uso como bioinoculante. Entre as características benéficas desta bactéria estão a fixação de nitrogênio, produção de hormônios e sideróforos, solubilização de nutrientes e controle de fitopatógenos (Glick, 2012).

A resistência de *G. diazotrophicus* a estresses ambientais, como estresse osmótico induzido por alta concentração de sacarose, PEG e salinidade, e estresse por metais pesados, foi relatada anteriormente (Leandro et al., 2021a; Leandro et al., 2021b; Leandro et al., 2021c; Intorne et al., 2012). Estudos sobre a resistência de *G. diazotrophicus* a metais pesados revelaram o papel essencial do gene *czcA* na resposta ao cádmio, zinco (Zn) e cobalto (Co), que é, componente do operon *czcCBARS*, envolvido no efluxo de metal (Intorne et al., 2012). Dentre os metais pesados, o cádmio destaca-se como um potente estressor para as bactérias, exigindo um conjunto de mecanismos de resposta/resistência (Shamim et al., 2014). Apesar de vários estudos abordando as respostas de estresses ambientais, os mecanismos gerais ativados durante a exposição ao cádmio permanecem pouco compreendidos. Portanto, a análise da resposta proteômica, integrada ao uso de abordagens de genética reversa, pode revelar os mecanismos essenciais de resposta/resistência ao Cd presentes em *G. diazotrophicus*.

O presente trabalho teve como objetivo investigar os mecanismos moleculares envolvidos com a resposta/resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse por Cd. Foram estudados os efeitos do Cd no crescimento, viabilidade celular e no perfil proteico. As principais vias proteicas reguladas foram identificadas por análises proteômicas comparativas. A relevância de tais vias para a resistência bacteriana ao Cd foi confirmada por meio de genética reversa utilizando mutantes de inserção de *G. diazotrophicus*. Os resultados permitiram identificar genes essenciais para resistência ao Cd em *G. diazotrophicus*.

2.3 Materiais e métodos

2.3.1 Cepas bacterianas, meio e condições de crescimento

A cepa selvagem de *G. diazotrophicus* PAL5 foi obtida da coleção de culturas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF, Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil). Mutantes de inserção de *G. diazotrophicus* PAL5, defectivos para a produção das proteínas receptor dependente de TonB (*tbdR*), OmpW (*ompW*), OprB (*oprB*), CzcC (*czcC*), Ggt (*ggt*) e ClpX (*clpX*) foram obtidos da coleção de mutantes de *G. diazotrophicus* PAL5 do Laboratório de Biotecnologia- UENF (Intorne et al., 2009). Os mutantes foram gerados com o kit de inserção EZ-Tn5 <R6K_y/KAN-2>Tnp (Epicentre, Madison, WI, EUA). As culturas de estoque de *G. diazotrophicus* selvagem e mutantes de inserção foram cultivadas a partir de uma única colônia em meio DYGS (1 L: 2 g de glicose; 2 g de extrato de levedura; 1,5 g de peptona; 1,3 g de ácido glutâmico; 500 mg de K₂HPO₄; 500 mg de MgSO₄.7H₂O; pH 6,0) sob 30 °C e 250 rpm min⁻¹ de agitação. Em seguida, 750 µL de cada cultura foram transferidos para microtubos (1,5 mL) e adicionado 250 µL de glicerol (85%). Para armazenamento, os microtubos foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80 °C.

2.3.2 Ensaio de estresse de cádmio

Os ensaios de estresse foram realizados conforme descrito por (De Oliveira et al., 2016) com algumas modificações. A solução estoque de cádmio (CdCl₂.H₂O, M.W. 201,33, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) foi preparada usando o dobro da concentração final e filtrada. Em frascos Erlenmeyer (250 mL), 5 mL de estoque de células *G. diazotrophicus* PAL5 do tipo selvagem foram inoculados em 45 mL de meio DYGS. Os frascos foram mantidos sob agitação constante (250 rpm min⁻¹, 30°C) até atingir DO_{600nm} 1,0. As culturas foram centrifugadas a 10.000 g a 25°C por 15 min. Estes foram ressuspensos com um meio DYGS duplo fresco. 25 mL de cultura com DO_{600nm} ajustado para 0,2 foram misturados em frascos Erlenmeyer com volumes iguais da solução estoque de CdCl₂.H₂O. Os frascos foram mantidos sob agitação constante (250 rpm min⁻¹, 30°C). Após 12 horas, foi realizada a leitura de DO_{600nm}, e 2 mL de cada cultura foram separados para análise microscópica. Os dados foram analisados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de

probabilidade. As análises foram realizadas com o software GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA).

2.3.3 Análise microscópica

A análise de viabilidade celular foi realizada conforme descrito por (Leandro et al., 2021a; Leandro et al., 2021b). *G. diazotrophicus* PAL5 selvagem foi submetido a diferentes concentrações de CdCl₂.H₂O, 0,04; 0,08; 0,12; 0,16; e 0,2 mM. O Live / Dead Bacterial Viability Kit (BacLightTM, Thermo Fisher Scientific, EUA) foi usado para corar as células lavadas para análise de viabilidade celular seguindo as recomendações do fabricante e observado ao microscópio (Carl Zeiss Axion Imager A.2 Microscope). As células vivas foram coradas em fluorescência verde, enquanto as células mortas foram coradas em fluorescência vermelha. As lâminas foram separadas em seis campos para contagem de células bacterianas vivas e mortas para cada tratamento. As análises foram realizadas com o software GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA).

2.3.4 Extração de proteínas

Para a preparação do extrato protéico, foram utilizadas três amostras biológicas diferentes de células de *G. diazotrophicus*, expostas e não expostas (controle) a 0,12 mM de CdCl₂.H₂O durante 12 horas. A extração de proteínas de todas as amostras foi realizada conforme descrito anteriormente por (Passamani et al., 2018). A concentração de proteína de cada amostra foi estimada usando o Quant Kit 2-D (Kit Quant 2-D - GE Healthcare Life Sciences).

2.3.5 Digestão de proteínas e análise de espectrometria de massa

As digestões de proteínas foram realizadas conforme descrito por Passamani et al., 2018 com algumas modificações. Um µg de peptídeo/amostra foi usado para análise de espectrometria de massa. O espectrômetro de massa Q-TOF SYNAPT G2-Si HDMS (Waters, Milford, CT, EUA) com um UPLC nanoAcquity conectado foi usado para a análise ESI-LC-MS/MS. A aquisição do espectro de massa foi realizada usando o software MassLynx v4.0.

2.3.6 Análises de dados de proteômica

A busca em banco de dados e o processamento espectral foram feitos conforme descrito anteriormente por Passamani et al., 2018. Os softwares utilizados foram ProteinLynx Global Server (PLGS; versão 3.0.2) (Waters, Milford, CT, EUA) e ISOQuant (Distler et al., 2016; Distler et al., 2014). O processamento espectral nos softwares PLGS e ISOQUANT foi realizado com as configurações descritas anteriormente (Leandro et al., 2021a; Leandro et al., 2021b). O processamento dos dados proteômicos utilizou o banco de dados de proteomas *G. diazotrophicus* RIOGENE (www.uniprot.org/proteomes/UP000001176).

Após a análise dos dados no ISOQuant, apenas as proteínas presentes ou ausentes (para proteínas únicas) em todas as três réplicas biológicas foram consideradas na análise de abundância diferencial. O teste t de Student (bicaudal) foi utilizado para análise dos dados. Proteínas com valores de $p < 0,05$ foram consideradas acumuladas para cima se a mudança de dobra (FC) fosse maior que 1,5 e acumuladas para baixo se a FC fosse menor que 0,667.

Para predição da localização subcelular (membrana externa, periplasma, membrana citoplasmática, citoplasma ou extracelular) de proteínas acumuladas diferencialmente identificadas na proteômica, foi utilizado o software PSORTB (<https://www.psort.org/psortb/>).

2.3.7 Análise de genética reversa

As análises de genética reversa foram realizadas conforme descrito por (Leandro et al., 2021a; Leandro et al., 2021b). Para isso, 5 mL de células estoque de *G. diazotrophicus* PAL5 de tipo selvagem e mutantes de inserção foram inoculados em 45 mL de meio LGI (1L: 5 g de sacarose; 0,2 g de K₂HPO₄; 0,6 g de KH₂PO₄; 0,2 g de MgSO₄.7H₂O; 0,02 g CaCl₂.2H₂O; 0,002 g Na₂MoO₄.2H₂O; 0,01 g FeCl₃; pH 6,0) (Cavalcante e Döbereiner, 1988) em frascos de Erlenmeyer (250 mL). As culturas foram cultivadas sob agitação constante (250 rpm min⁻¹, 30°C) até atingirem DO600nm de 1,0. As culturas foram preparadas em microplacas de 96 poços contendo meio sólido LGI suplementado com CdCl₂.H₂O (0, 0,01, 0,03 e 0,035 mM) e inoculados usando um replicador de 96 pinos (Boekel, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, EUA). As placas foram mantidas a 30°C por cinco dias e então avaliadas. Este experimento foi repetido pelo menos três vezes.

2.4 Resultados

2.4.1 Cd afeta o desempenho de crescimento de *G. diazotrophicus*

Com o objetivo de avaliar o efeito do Cd sobre *G. diazotrophicus*, CdCl₂.H₂O foi adicionado a culturas líquidas em concentrações variando de 0,04 a 0,2 mM, e o crescimento bacteriano foi comparado com bactérias cultivadas na ausência de estresse. O metal afetou o crescimento bacteriano, mesmo na concentração mais baixa testada (0,04 mM de CdCl₂.H₂O), onde o crescimento foi inibido em aproximadamente 34% e atingiu aproximadamente 70% em 0,2 mM CdCl₂.H₂O (Fig. 1A).

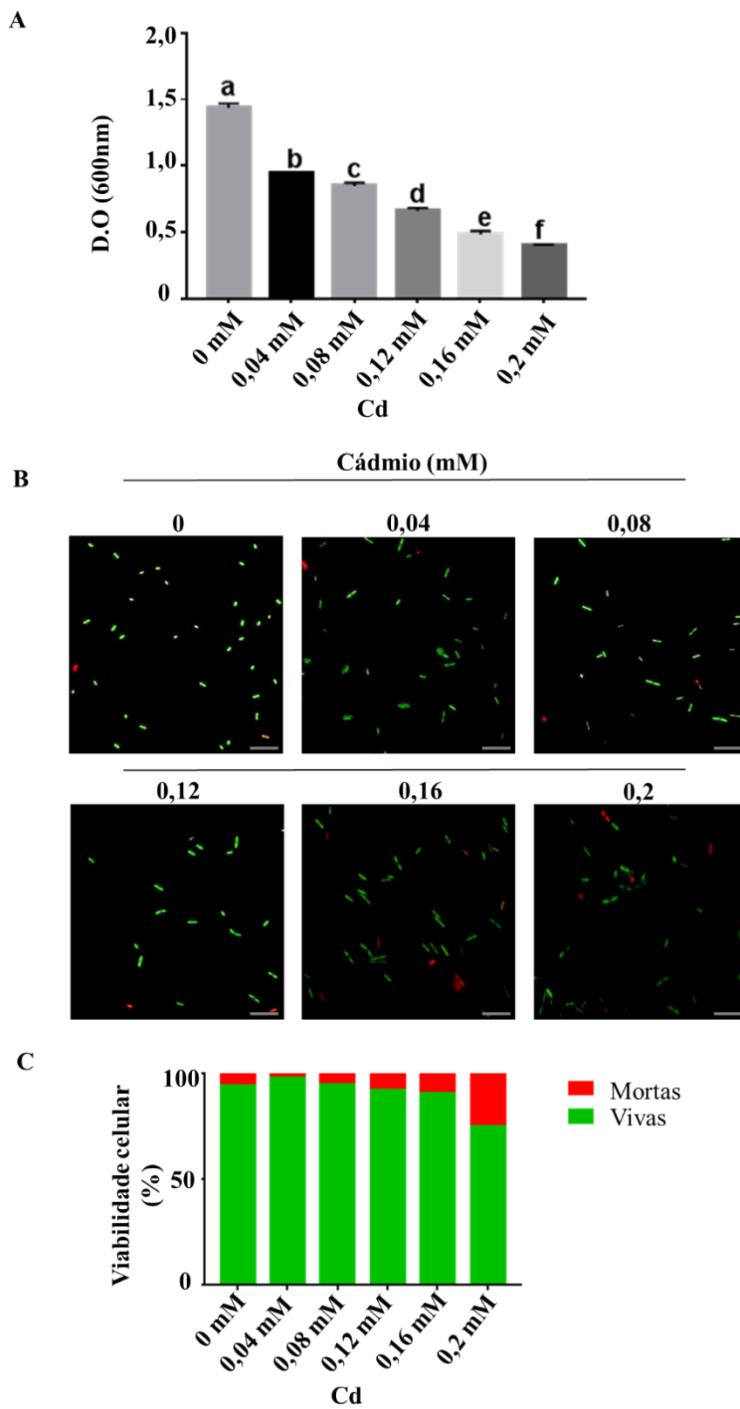


Figura 1- O cádmio afeta o crescimento e a viabilidade celular de *G. diazotrophicus*. *G. diazotrophicus* foi cultivada por 12 h em meio líquido suplementado com diferentes concentrações de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, e seu desempenho de crescimento (a) e viabilidade celular foram analisados (b, c). As médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Unidade: $5 \mu\text{M}$.

Os efeitos do Cd na viabilidade celular de *G. diazotrophicus* foram analisados por microscopia de epifluorescência. Após 12 horas de crescimento bacteriano, não foram observadas diferenças estatísticas na viabilidade celular entre o controle e as concentrações de 0,04, 0,08, 0,12 e 0,16 mM de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Fig. S1). No entanto, sob 0,2 mM de

$\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a viabilidade celular diminuiu, onde a proporção de células vivas foi reduzida para 75% (Fig. 1B; Fig. 1C).

O estresse por cádmio promoveu uma redução substancial no crescimento bacteriano, mas causou um efeito menor na viabilidade celular. Esses resultados sugerem a ativação de mecanismos de resistência para manter a viabilidade celular nessas circunstâncias. Portanto, a concentração de 0,12 mM de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, onde o crescimento bacteriano foi inibido em aproximadamente 50%, foi escolhida para análise proteômica subsequente.

2.4.2 Análise proteômica da resposta de *G. diazotrophicus* ao Cd

Com o objetivo de investigar os processos moleculares regulados durante a resposta de *G. diazotrophicus* ao Cd, foram realizadas análises proteômicas comparativas por ESI-LC-MS/MS em amostras bacterianas cultivadas em condição controle e tratadas com 0,12 mM de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Um total de 722 proteínas foram identificadas (cerca de 18% da capacidade total de codificação do genoma de *G. diazotrophicus*) (Tabela S1) (Fig. 2A). Entre essas proteínas, 274 (38%) foram acumuladas diferencialmente, 85 aumentadas e 164 reduzidas (Fig. 2B). Duas proteínas, uma *Hsp20 family protein* (A9HGX4) e uma *TolC family protein* - CzcC (A9HG75), foram observadas exclusivamente em células de *G. diazotrophicus* expostas a $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Tabela S1). Além disso, uma proteína não caracterizada (A9H730), uma *sell repeat family protein* (A9HE44), uma *pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta-* PdhB(A9HHP7), uma *chemotaxis protein-CheD* (A9HHG6), uma *peptidylprolyl isomerase-* SurA (A9H1L4) e uma *helix-turn-helix domain-containing protein* (A9HFD0) foram observadas apenas em *G. diazotrophicus* não exposto a $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Tabela S1).

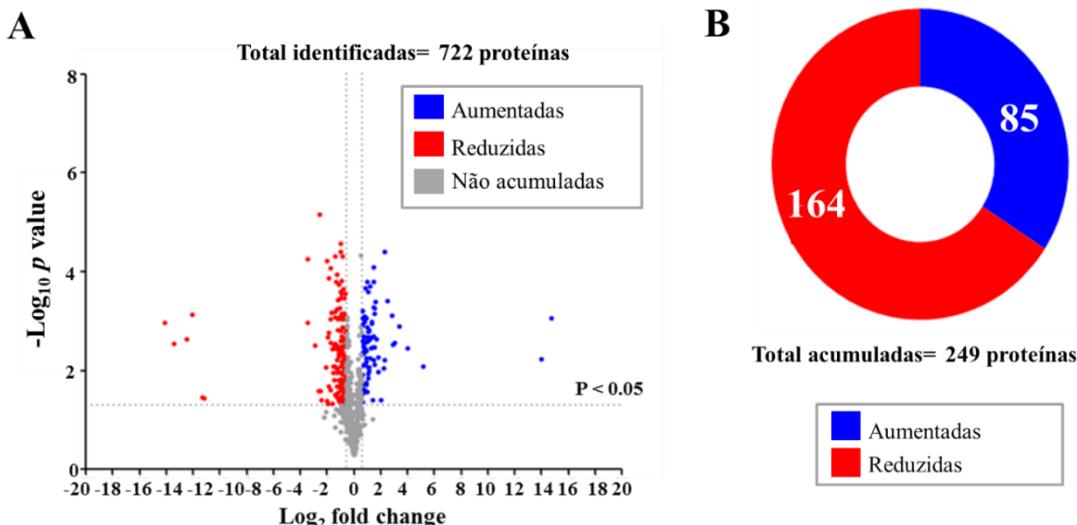


Figura 2- Alterações induzidas por cádmio no perfil proteômico de *G. diazotrophicus*. O gráfico de *volcano plot* de todas as proteínas identificadas (a) e a representação gráfica do número de proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) aumentadas e reduzidas (b). As manchas representam a abundância diferencial (\log_2 fold change) de proteínas identificadas em função de significância estatística ($-\log_{10} p$ value). As manchas vermelhas e azuis representam DAPs reduzidas e aumentadas, respectivamente, e as manchas cinzas representam proteínas não acumuladas.

2.4.3 Proteínas extracitoplasmáticas são reduzidas em resposta ao Cd

Com o objetivo de avaliar os efeitos do Cd no perfil proteico de diferentes compartimentos celulares, foi prevista a localização de proteínas reguladas utilizando a ferramenta PSORT. No compartimento do citoplasma, o número de proteínas aumentadas e reduzidas foi semelhante (Fig. 3; Tabela S2). No entanto, nos compartimentos extracitoplasmáticos, as proteínas reguladas foram predominantemente reduzidas, com ênfase nas proteínas do periplasma e membrana externa (Fig. 3; Tabela S2). Além disso, uma proteína extracelular foi reduzida (Fig. 3; Tabela S2).

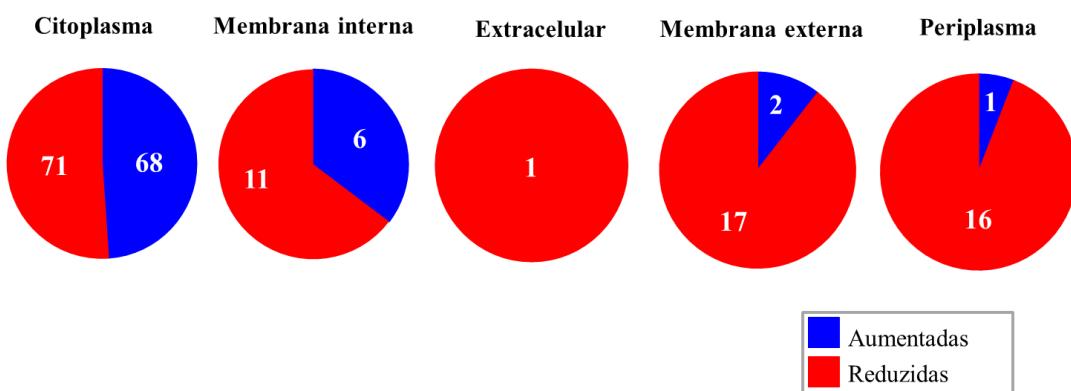


Figura 3- O estresse por cádmio acumulou diferencialmente o perfil proteico em compartimentos celulares de *G. diazotrophicus*. Os DAPs identificados foram classificados pela localização subcelular prevista (citoplasma, membrana interna, extracelular, membrana externa e periplasma) com a ferramenta PSORT. Pontos vermelhos e azuis representam DAPs reduzidas e aumentadas, respectivamente.

2.4.4 Principais grupos de proteínas regulados em *G. diazotrophicus* em resposta ao Cd

Nossas análises proteômicas revelaram a regulação de proteínas potencialmente envolvidas na proteção de células de *G. diazotrophicus* contra a toxicidade do cádmio. Essas proteínas foram classificadas em grupos funcionais de acordo com seu principal papel biológico descrito na literatura. Os principais grupos de proteínas observados foram relacionados à absorção de nutrientes, sistemas de bomba de efluxo, resposta ao estresse oxidativo e controle de qualidade da proteína. Tais grupos de proteínas são descritos abaixo.

2.4.4.1 Absorção de nutrientes

Dezesseis proteínas associadas à absorção de nutrientes foram reduzidas (Tabela 1). Nove delas são proteínas de membrana externa, incluindo duas *TonB-dependent siderophore receptor* (A9HEU6 e A9H7L3), seis *TonB-dependent receptor-TbdRs* (A9HNM4, A9H7M7, A9H7L9, A9HE38, A9HFL0 e A9HDZ9) e uma *OmpW protein Family-OmpW* (A9HED6). Além disso, uma *iron ABC transporter substrate-binding protein* também foi reduzida (A9HK76). Seis transportadores relacionados à absorção de açúcar também foram reduzidos em células de *G. diazotrophicus* expostas ao Cd: duas *carbohydrate porin-OprB* (A9HAM5 e A9HPF6), uma *d-ribose-binding periplasmic protein-RbsB* (A9HPK6) e três *sugar ABC transporter substrate-binding protein* (A9HPB9, A9H577 e A9HPE1).

Tabela 1- Principais grupos de proteínas regulados por células de *G. diazotrophicus* expostas ao cádmio

Principais grupos	Acesso	Descrição	Localização prevista	Fold Change
Absorção de nutrientes	A9HNM4	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	Membrana externa	0,09
	A9H7M7	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	Membrana externa	0,13
	A9H7L9	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	Membrana externa	0,24
	A9HE38	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	Membrana externa	0,51
	A9HFL0	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	Membrana externa	0,52
	A9HDZ9	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	Membrana externa	0,57
	A9HEU6	<i>TonB-dependent siderophore receptor</i> (GDI1338)	Membrana externa	0,17
	A9H7L3	<i>TonB-dependent siderophore receptor</i> (GDI3713)	Membrana externa	0,26
	A9HED6	<i>OmpW protein family</i> (OmpW)	Membrana externa	0,41
	A9HK76	<i>Iron ABC transporter substrate-binding protein</i> (GDI2062)	Periplasma	0,38
Sistemas de bombas de efluxo	A9HAM5	<i>Carbohydrate porin</i> (OprB)	Membrana externa	0,63
	A9HPF6	<i>Carbohydrate porin</i> (OprB)	Membrana externa	0,67
	A9HPK6	<i>D-ribose-binding periplasmic protein</i> (RbsB)	Periplasma	0,61
	A9HPB9	<i>D-ribose-binding periplasmic protein</i> (RbsB)	Periplasma	0,62
	A9H577	<i>Sugar ABC transporter substrate-binding protein</i> (GDI0354)	Periplasma	0,32
	A9HPE1	<i>Sugar ABC transporter substrate-binding protein</i> (GDI2634)	Periplasma	0,52
	A9HEF9	<i>Efflux RND transporter periplasmic adaptor subunit</i> (AcrA)	Periplasma	2,47
Resposta a estresse oxidativo	A9HEG4	<i>Efflux transporter outer membrane subunit</i> (OprM)	Membrana externa	2,84
	A9HG75	<i>TolC family protein</i> (CzcC)	Membrana externa	Unique_Cd
	A9HJR4	<i>Gamma-glutamyltransferase</i> (GgT)	Periplasma	0,62
	A9H4A8	<i>Gamma-glutamyltransferase</i> (GgT)	Periplasma	0,49
	A9H3W7	<i>Peroxiredoxin</i> (Prx)	Periplasma	0,66
	A9HKB6	<i>Glutathione peroxidase</i> (GpX)	Periplasma	0,57
Controle de qualidade de proteínas	A9H732	<i>Deferoxochelatase/peroxidase</i> (EfeB)	Periplasma	0,26
	A9HA92	<i>Thioredoxin</i> (TrxA)	Citoplasma	1,66
	A9HRV3	<i>ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX</i> (ClpX)	Citoplasma	1,67
	A9HRV4	<i>ATP-dependent Clp endopeptidase proteolytic subunit ClpP</i> (ClpP)	Citoplasma	2,05
	A9HH31	<i>ATP-dependent chaperone</i> (ClpB)	Citoplasma	5,57
Controle de qualidade de proteínas	A9HB14	<i>ATP-dependent metallopeptidase FtsH/Yme1/Tma family protein</i> (FtsH)	Membrana interna	2,75
	A9HPH9	<i>Co-chaperone GroES</i> (GroES)	Citoplasma	4,00
	A9HEA3	<i>Molecular chaperone DnaK</i> (DnaK)	Citoplasma	1,91
	A9HEA1	<i>Molecular chaperone DnaJ</i> (DnaJ)	Citoplasma	2,18
	A9HHR8	<i>Hsp20 family protein</i>	Citoplasma	35,77
	A9HCX4	<i>Hsp20 family protein</i>	Citoplasma	Unique_Cd

Esses resultados indicam que o estresse por Cd induz a diminuição dos sistemas de absorção de nutrientes em *G. diazotrophicus*.

2.4.4.2. Sistemas de bombas de efluxo

Três proteínas do sistema de efluxo multidrogas, envolvidas com o efluxo de substâncias nocivas, também foram reguladas pelo estresse Cd (Tabela 1). Dois componentes do canal da membrana externa do sistema tripartido de bombas de efluxo foram aumentados: CzcC (A9HG75) e OprM (A9HEG4). AcrA (A9HEF9), uma proteína de fusão de membrana de sistemas de bomba de efluxo, também foi aumentada. Esses resultados indicam que, sob estresse por Cd, *G. diazotrophicus* ativa sistemas de efluxo multidrogas para transportar agentes tóxicos para fora da célula.

2.4.4.3 Resposta ao estresse oxidativo

Seis proteínas relacionadas à resposta ao estresse oxidativo foram reguladas (Tabela 1). Entre estes, dois *gamma-glutamyltransferase-Ggt* (A9H4A8 e A9HJR4) e uma *glutathione peroxidase-Gpx* (A9HKB6), associados ao metabolismo da glutationa, foram reduzidas. Três proteínas envolvidas com o controle do ambiente redox celular foram reguladas. Entre estas, duas foram reduzidas: *peroxiredoxin -Prx* (A9H3W7) e *deferrochelatase/peroxidase -Efeb* (A9H732) (Tabela 1). Uma *thioredoxin-TrxA* (A9HA92) foi aumentada.

2.4.4.4 Controle de qualidade de proteínas

Nove proteínas associadas a sistemas de controle de qualidade de proteínas também foram reguladas em nossas análises proteômicas (Tabela 1). Entre estas, três proteínas que previnem o acúmulo de proteínas desdobladas foram aumentadas: *ATP-dependent Clp endopeptidase proteolytic subunit ClpP - ClpP* (A9HRV4), *ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX- ClpX* (A9HRV3) e *FtsH* (membrana -protease AAA ancorada em bactéria) (A9HB14). Além disso, seis proteínas com atividades de chaperona foram aumentadas: *ATP-dependent chaperone -ClpB* (A9HH31), *GroES* (A9HH9), *DnaK* (A9HEA3), *DnaJ* (A9HEA1) e duas *Hsp20* (A9HHR8 e A9HCX4).

2.4.5 A análise de mutagênese Tn5 revelou o papel essencial de proteínas específicas na resistência de *G. diazotrophicus* sob estresse por Cd

A relevância dos grupos proteicos regulados para resistência ao estresse Cd foi investigada por genética reversa, usando mutantes de inserção. Desta forma, o crescimento de cepas mutantes de *G. diazotrophicus* defeituosas para genes relacionados à absorção de nutrientes (*tdbc*, *ompW* e *oprB*), bombas de efluxo (*czcC*), resposta ao estresse oxidativo (*ggt*) e controle de qualidade proteica (*clpX*) foram comparadas com a cepa selvagem, sob diferentes concentrações de CdCl₂.H₂O.

Todas as cepas mutantes testadas mostraram sensibilidade aumentada ao estresse de Cd em comparação com a cepa do tipo selvagem (Fig. 4). Entre esses, os mutantes dos genes *tdbc*, *czcC* e *ggt* foram os mais sensíveis ao Cd. Os mutantes *tdbc* e *czcC* foram drasticamente afetados e mostraram inibição do crescimento mesmo na concentração mais baixa de CdCl₂.H₂O testada. Esses resultados destacam o papel essencial das vias relacionadas à absorção de nutrientes e efluxo de compostos tóxicos para a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse por Cd.

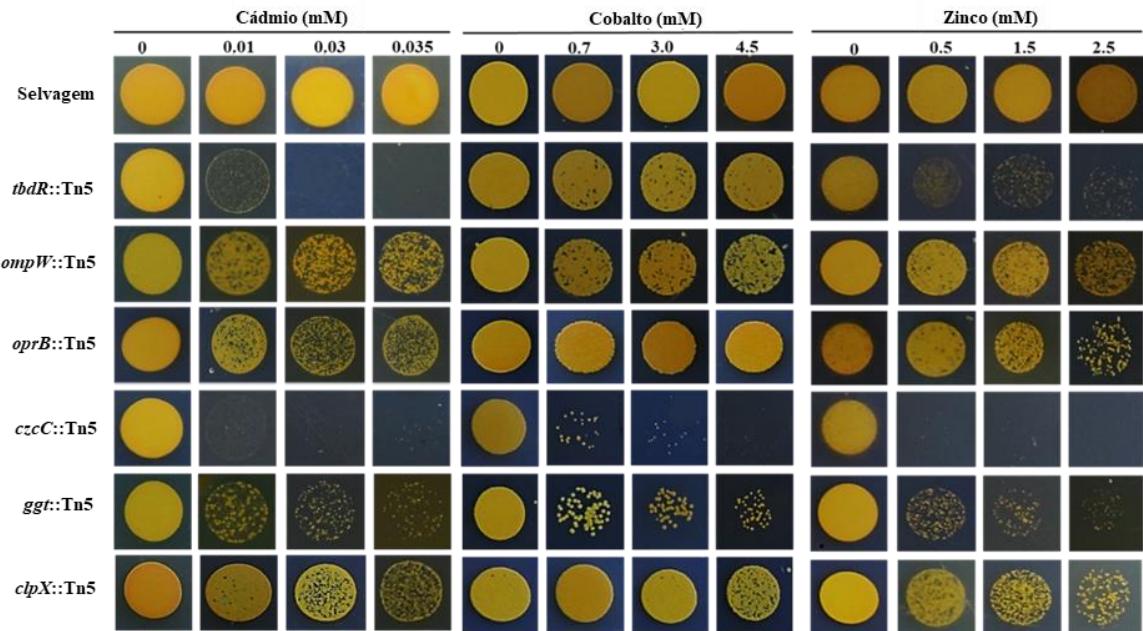


Figura 4- A análise de mutagênese Tn5 revelou genes essenciais para resistência ao cádmio, zinco e cobalto em *G. diazotrophicus*. Mutantes de inserção de *G. diazotrophicus* defectivos na produção de seis proteínas reguladas em nossa análise proteômica foram selecionados para realizar o ensaio de resistência ao estresse por metais. Os resultados foram registrados após cinco dias de exposição ao Cd, Zn e Co.

A relevância das mutações para resistência ao Cd sugeriu analisar suas respostas a outros metais. Na Figura 4 foi possível observar o comportamento dos mutantes em diferentes concentrações de Co e Zn em relação à linhagem selvagem. Mutantes dos genes *czcC* e *ggt* foram sensíveis ao Co e Zn, semelhante ao encontrado para o Cd. O mutante *tbdR* foi resistente ao Co, mas apresentou maior sensibilidade ao Cd e Zn. Além disso, os mutantes *ompW*, *oprB* e *clpX* foram mais sensíveis ao Zn quando comparados ao Cd e Co. Embora os mutantes sejam afetados por Cd, Co e Zn, os resultados sugerem que cada metal promove respostas específicas em *G. diazotrophicus*.

2.2 Discussão

G. diazotrophicus PAL5 é uma PGPB também caracterizada por sua resistência a estresses ambientais. O presente estudo revelou mecanismos moleculares críticos envolvidos com a resistência desta bactéria ao Cd. O estresse promoveu forte redução no crescimento bacteriano, mas causou pouco efeito na viabilidade celular, indicando a ativação de mecanismos de resistência em tais circunstâncias. Análises proteômicas e genéticas reversas permitiram identificar mecanismos essenciais de resistência ao estresse por Cd. Dentre eles, o conjunto de proteínas relacionadas à absorção de nutrientes, bombas de efluxo, resposta ao estresse oxidativo e controle de qualidade das proteínas apresentaram maior relevância.

Em bactérias Gram-negativas, compartimentos extracitoplasmáticos desencadeiam respostas de estresse para manter a homeostase celular (Mitchell e Silhavy, 2019). A exposição de bactérias Gram-negativas a antibióticos promove a regulação negativa das proteínas da membrana externa (Lin et al., 2010). Em *Escherichia coli*, a exposição a níveis tóxicos de metais leva à ativação de componentes proteicos do envelope celular na resposta ao estresse (Kershaw e Brown et al., 2005; Wang e Fierke, 2013). Nossa análise destacou a regulação de proteínas associadas a compartimentos extracitoplasmáticos (periplasma, membrana externa e extracelular). Entre 37 proteínas reguladas, 34 foram reduzidas e apenas três foram aumentadas. A maioria das proteínas reduzidas está relacionada à absorção de nutrientes, enquanto as proteínas aumentadas estão associadas a várias bombas de efluxo de drogas. Juntamente com os dados de genética reversa, essas análises revelaram a importância da regulação de proteínas extracitoplasmáticas como mecanismo de resistência ao Cd em *G. diazotrophicus*.

As proteínas associadas à absorção de nutrientes, TbdR, OmpW, RbsB, OprB e transportador ABC de açúcar e ferro, foram reduzidas em resposta ao Cd. As bactérias utilizam estratégias para diminuir a fluidez da membrana, bem como para reduzir as proteínas porinas, reduzindo a entrada de agentes tóxicos na célula (Murínová e Decová, 2014). Por outro lado, moléculas benéficas, como ferro e açúcar, também são impedidas de serem transportadas (Yoon et al., 2015). A regulação dos mecanismos relacionados à absorção de nutrientes durante a resposta ao estresse osmótico em *G. diazotrophicus* (Leandro et al., 2021a) indica a relevância desse grupo de proteínas como mecanismo de defesa frente a desafios ambientais. A análise genética reversa mostrou que a ausência dos genes *ompW*, *oprB* e *tldr* afetam a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse por Cd. Entre eles, a mutação no gene *tldr* afetou drasticamente a resistência da bactéria. Entre as proteínas de membrana reguladas em resposta ao Cd, 13 também são reguladas pelo

estresse osmótico, como mostrado anteriormente por (Leandro et al., 2021a), incluindo dois receptores sideróforos dependentes de TonB, cinco TbdRs, um transportador ABC de ferro ligado ao substrato, dois OprB, um RbsB e três proteínas de ligação ao substrato do transportador ABC de açúcar. O gene *tbdr* é essencial para a homeostase bacteriana durante o estresse osmótico (Leandro et al., 2021a). Embora TbdR tenha sido reduzida pelo Cd, a sensibilidade aumentada revelada por seu mutante defectivo destaca a importância da absorção de nutrientes para a resistência de *G. diazotrophicus* ao Cd.

As proteínas AcrA, OprM e CzcC, associadas ao efluxo de compostos tóxicos, foram as únicas proteínas de membrana externa aumentadas em nossas análises proteômicas. As bombas de efluxo atuam na resistência a metais em várias espécies de bactérias (Aendekerk et al., 2002; Nishino et al., 2007). Na bactéria endofítica *Burkholderia cenocepacia*, as bombas de efluxo AcrA e OprM são mecanismos essenciais para a resistência bacteriana ao Cd (Wang et al., 2019). No presente estudo, o nocaute do gene *czcC* afetou drasticamente a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse por Cd. *CzcC* é um componente de proteína da membrana externa da bomba CzcCBA (Koronakis et al., 2000). A ação desta bomba promove a exclusão de compostos tóxicos, utilizando a força motriz dos prótons (Intorne et al., 2012). O *czcC* é o primeiro gene do operon *czc* de *G. diazotrophicus*. Portanto, a interrupção desse gene potencialmente inativa todo o operon. A relevância do determinante *czc* para a resistência de *G. diazotrophicus* a metais pesados foi demonstrada em trabalho anterior, onde a interrupção do gene *czcA*, o terceiro gene do operon causou a sensibilidade de *G. diazotrophicus* ao Cd, Co e Zn (Intorne et al., 2012). Esses resultados destacam a importância da via *czc* para a resistência dessa bactéria ao Cd. Além disso, confirma o papel essencial das bombas de efluxo multidrogas para a resistência de *G. diazotrophicus* ao Cd.

Várias proteínas envolvidas com a resposta ao estresse oxidativo foram reguladas na presença de Cd. A tiorredoxina TrxA foi aumentada e atua como antioxidante, facilitando a redução de dissulfetos de proteínas (Arnér et al., 2000). Em *Bacillus subtilis*, a proteína TrxA é essencial para a sobrevivência bacteriana sob estresse oxidativo (Smits et al., 2005). As proteínas Ggt, Gpx, Prx e EfeB, associadas à resposta ao estresse oxidativo, foram reduzidas. Entre essas, as três peroxidases, Gpx, Prx e EfeB, desempenham um papel crítico na proteção dos componentes celulares do estresse oxidativo (Lim et al., 2019; Rhee et al., 2012). Embora essas proteínas sejam essenciais para minimizar o dano oxidativo, o estresse prolongado pode causar sua redução (Henkler et al., 2010; Fanous et al., 2008; Ercal et al., 2001; Khan et al., 2014). Ggt é uma componente do metabolismo da glutationa

(Bachhawat et al., 2018). Tal molécula é essencial para os mecanismos antioxidantes de muitas bactérias (Masip et al., 2006). Nossa análise, usando mutantes defectivos, mostrou que a ausência do gene *ggt* afetou a resistência de *G. diazotrophicus* ao Cd. Portanto, a via da glutationa é essencial para a resistência a esse estresse em *G. diazotrophicus*.

Os componentes proteicos do sistema de controle de qualidade de proteínas foram regulados em nossas análises proteômicas. As proteínas FtsH, ClpP, ClpX, ClpB, DnaK, DnaJ, GroES e Hps20 foram aumentadas. Entre estas, as chaperonas moleculares ClpB, DnaK, DnaJ, GroES e Hsp20, protegem a célula contra condições estressantes (Fanous et al., 2008; Roy et al., 2019). O acúmulo de chaperonas é um importante mecanismo de resistência bacteriana ao Cd (Khan et al., 2014; Zhai et al., 2017). A protease FtsH degrada proteínas mal dobradas, e sua presença também pode estar relacionada à resistência ao estresse (Narberhaus et al., 2009). Em *E. coli* sob estresse oxidativo, o gene SoxS, que regula parte da resposta, é expresso, mas é rapidamente degradado pela proteína FtsH (Griffith et al., 2004). As proteases dependentes de ATP do citoplasma, ClpP e ClpX, também estão envolvidas na resistência a estresses, incluindo Cd (Zhengwei et al., 2005; Fanous et al., 2008; Lo et al., 2019; Malik e Brotz-Oesterhelt, 2017). As proteases são necessárias para a reciclagem convencional de proteínas, incluindo aquelas danificadas por interações com metais tóxicos (Manara et al., 2012). Em linha com os resultados da análise proteômica, nossos ensaios de genética reversa demonstraram que o nocaute do gene *clpX* aumentou a sensibilidade de *G. diazotrophicus* ao estresse por Cd, revelando a relevância desse mecanismo para a resistência bacteriana.

Os efeitos de Cd, Zn e Co em mutantes defectivos selecionados de *G. diazotrophicus* evidenciaram vias moleculares comuns e específicas para a resistência a metais. Os genes *czcC* e *ggt*, respectivamente, associados ao efluxo de metais e proteção celular contra o estresse oxidativo são essenciais para a resistência de *G. diazotrophicus* ao Cd, Co e Zn. No entanto, a via de absorção de nutrientes não foi essencial para a resistência da bactéria ao cobalto. Além disso, o nocaute dos genes *oprB* e *clpX* aumentou a sensibilidade de *G. diazotrophicus* ao Zn.

A Fig. 5 mostra as principais vias reguladas reveladas pela análise proteômica. Adicionalmente, destacamos as proteínas identificadas como essenciais para a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse Cd, como demonstrado pelos ensaios de mutagênese. O modelo propõe que *G. diazotrophicus* use bombas de efluxo de drogas para limitar o acúmulo de Cd no citoplasma. *G. diazotrophicus* também previne a entrada de substâncias tóxicas ao diminuir proteínas extracitoplasmáticas relacionadas à absorção de nutrientes. A

regulação de proteínas envolvidas na defesa contra o estresse oxidativo também é um mecanismo ativado por *G. diazotrophicus* em resposta ao Cd. Além disso, o acúmulo de componentes dos sistemas de controle de qualidade das proteínas pode levar à degradação das proteínas mal dobradas danificadas pelo estresse.

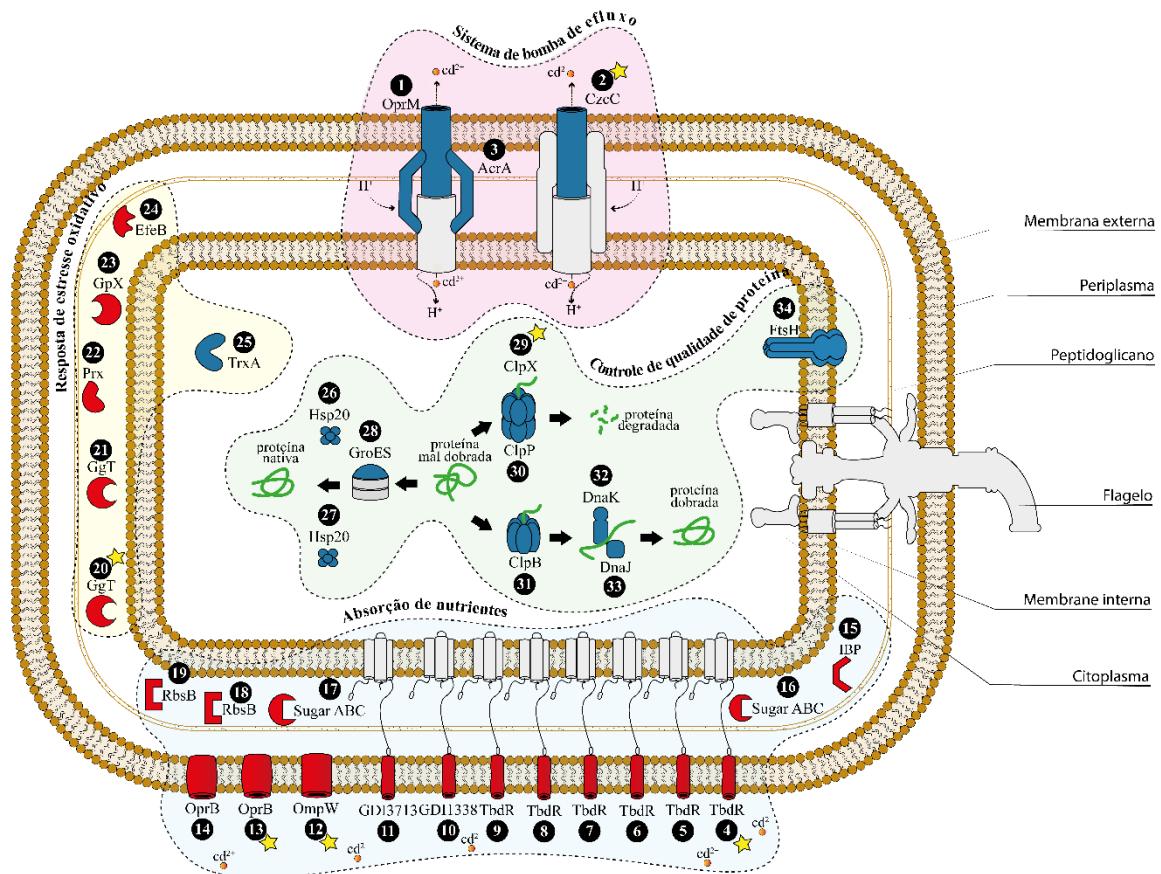


Figura 5- Ilustração esquemática das principais respostas de *G. diazotrophicus* ao cádmio. Os símbolos em azul e vermelho representam proteínas classificadas como aumentadas e reduzidas, respectivamente. Os símbolos cinza representam proteínas não acumuladas. As estrelas amarelas indicam proteínas das quais os mutantes foram obtidos. Informações detalhadas sobre cada proteína neste esquema são fornecidas na Tabela de Informações de Apoio S3.

Este estudo demonstrou os processos moleculares envolvidos com a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse por Cd. Embora não tenham sido identificados novos mecanismos de resistência, o presente trabalho revelou quais componentes do repertório de resposta ocorrem nesta bactéria. Proteínas extracitoplasmáticas, com ênfase na captação de nutrientes e bombas de efluxo multidrogas, são essenciais para a resistência dessa bactéria. Nossos resultados fornecem uma visão sobre a resposta integrada de diferentes grupos de proteínas durante a exposição ao estresse por Cd. Estudos futuros aprofundarão o conhecimento sobre a resistência de bactérias endofíticas a metais e o papel de tais mecanismos na interação bacteriana com plantas cultivadas em solos contaminados.

2.6 Referências

- Abbas SZ, Rafatullah M, Hossain K, Ismail N, Tajarudin HA, Abdul Khalil H PS. A review on mechanism and future perspectives of cadmium-resistant bacteria. *Int J Environ Sci Technol* 2018;15:243–262. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1400-5>.
- Aendekerk S, Ghysels B, Cornelis P, Baysse C. Characterization of a new efflux pump, MexGHI-OpmD, from *Pseudomonas aeruginosa* that confers resistance to vanadium. *Microbiology* 2002;148:2371–2381. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-8-2371>.
- Alvarez-Ortega C, Olivares J, Martínez JL. RND multidrug efflux pumps: what are they good for? *Front Microbiol* 2013;4:1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00007>.
- Ammendola S, Cerasi M, Battistoni A. Deregulation of transition metals homeostasis is a key feature of cadmium toxicity in *Salmonella*. *Biometals* 2014;27:703–714. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9763-2>.
- Arnér ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur J Biochem* 2000;267:6102–6109. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01701.x>.
- Bachhawat AK, Yadav S. The glutathione cycle: glutathione metabolism beyond the c-glutamyl cycle. *IUBMB Life* 2018;70:585–592. <https://doi.org/10.1002/iub.1756>.
- Baldani JI, Baldani VLD. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. *An Acad Bras Ciênc* 2005;77:549–579. <https://doi.org/10.1590/s0001-37652005000300014>.
- Bruins MR, Kapil S, Oehme FW. Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000;45:198–207. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1860>.
- Cavalcante VA, Döbereiner J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant Soil* 1988;108:23–31. <https://doi.org/10.1007/BF02370096>.
- Chu, D. Effects of heavy metals on soil microbial community. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 2018;113. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/113/1/012009>.
- Cuypers A, Plusquin M, Remans T, Jozafczak M, Keunen E, Gielen, et al. Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometals* 2010;23:927–940. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9329-x>.
- Dam S, Pages JM, Masi M. Stress responses, outer membrane permeability control and antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae*. *Microbiol* 2018;164:260–267. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000613>.
- De Oliveira MVV, Intorne AC, Vespoli LS, Madureira HC, Leandro MR, Pereira TNS, et al. Differential effects of salinity and osmotic stress on the plant growth-promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Arch Microbiol* 2016;198:287–94. <https://doi.org/10.1007/s00203-015-1176-2>.
- Distler U, Kuharev J, Navarro P, Levin Y, Schild H, Tenzer S. Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics. *Nat Methods* 2014;11:167–70. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2767>.
- Distler U, Kuharev J, Navarro P, Tenzer S. Label-free quantification in ion mobility-enhanced data-independent acquisition proteomics. *Nat Protoc* 2016;11:795–812. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.042>.

- Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metal and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem* 2001;1:529–539. <https://doi.org/10.2174/1568026013394831>.
- Fanous A, Weiss W, Görg A, Jacob F, Parlar H. A proteome analysis of the cadmium and mercury response in *Corynebacterium glutamicum*. *Proteomics* 2008;8:4976-4986. <https://doi.org/10.1002/pmic.200800165>.
- Giller KE, Witter E, McGrath SP. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review. *Soil Biol Biochem* 1998;30:1389-1414. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00270-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00270-8).
- Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>.
- Griffith KL, Shah IM, Wolf Jr RE. Proteolytic degradation of *Escherichia coli* transcription activators SoxS and MarA as the mechanism for reversing the induction of the superoxide (SoxRS) and multiple antibiotic resistance (Mar) regulons. *Mol Microbiol* 2004;51:1801-1816. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03952.x>.
- He Z, Shentu J, Yang X, Baligar VC, Zhang T, Stoffella PJ. Heavy metal contamination of soils: sources, indicators, and assessment. *J Environ Indic* 2015;9:17-18.
- Henkler F, Brinkmann J, Luch A. The role of oxidative stress in carcinogenesis induced by metals and xenobiotics. *Cancers* 2010;2:376–396. <https://doi.org/10.3390/cancers2020376>.
- Hews CL, Cho T, Rowley G, Raivio TL. Maintaining integrity under stress: envelope stress response regulation of pathogenesis in Gram-negative bacteria. *Front Cell Infect Microbiol* 2019;9:1-25. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00313>.
- Intorne AC, de Oliveira MVV, Lima ML, da Silva JF, Olivares FL, de Souza Filho, GA. Identification and characterization of *Gluconacetobacter diazotrophicus* mutants defective in the solubilization of phosphorus and zinc. *Arch Microbiol* 2009;191:477-483. <https://doi.org/10.1007/s00203-009-0472-0>.
- Intorne AC, de Oliveira MVV, Pereira LM, de Souza Filho GA. Essential role of the czc determinant for cadmium, cobalt and zinc resistance in *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Int Microbiol* 2012;2:69-78. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.160>.
- Kershaw CJ, Brown NL, Constantnidou C, Patel MD, Hobman JL. The expression profile of *Escherichia coli* K-12 in response to minimal, optimal and excess copper concentrations. *Microbiol* 2005;161:1187-1198. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27650-0>.
- Khan AL, Ullah I, Hussain J, Kang SM, Al-Harrasi A, Al-Rawahi A, et al. Regulations of essential amino acids and proteomics of bacterial endophytes *Sphingomonas sp.* Lk11 during cadmium uptake. *Environ Toxicol* 2014;31:887-896. <https://doi.org/10.1002/tox.22100>.
- Koronakis V, Sharff A, Koronakis E, Luisi B, Hughes C. Crystal structure of the bacterial membrane protein TolC central to multidrug eflux and protein export. *Nature* 2000;405:914-919. <https://doi.org/10.1038/35016007>.
- Leandro MR, Andrade LF, Vespoli LS, Soares FS, Moreira JR, Pimentel VR, et al. Combination of osmotic stress and sugar stress response mechanisms is essential for *Gluconacetobacter diazotrophicus* tolerance to high-sucrose environments. *Appl Microbiol Biotechnol* 2021. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11590-7>.

- Leandro MR, Andrade LL, Vespoli LS, Moreira JR., Pimentel, VR., Soares, FS., et al. Comparative proteomics reveals essential mechanisms for osmotolerance in *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Res Microbiol 2021. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2020.09.005>.
- Leandro MR, Vespoli LS, Andrade LF, Soares FS, Boechat AL, Pimentel VR, et al. DegP protease is essential for tolerance to salt stress in the plant growth-promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. Microbiol Res 2021. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126654>.
- Lim S, Jung JH, Blanchard L, De Groot A. Conservation and diversity of radiation and oxidative stress resistance mechanisms in *Deinococcus* species. FEMS Microbiol Rev 2019;43:19–52. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy037>.
- Lin XM, Yang JN, Peng XX, Li H. A novel negative regulation mechanism of bacterial outer membrane proteins in response to antibiotic resistance. J Proteome Res 2010;9:5952–5959. <https://doi.org/10.1021/pr100740w>.
- Lo HH, Liao CT, Li CE, Chiang YC, Hsiao YM. The *clpX* gene plays an important role in bacterial attachment, stress tolerance, and virulence in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Arch Microbiol 2019;202:597–607. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01772-3>.
- Malik IT, Brotz-Oesterhelt H. Conformational control of the bacterial Clp protease by natural product antibiotics. Nat Prod Rep 2017;34:815-831. <https://doi.org/10.1039/c6np00125d>.
- Manara A, DalCorso G, Baliardini C, Farinati S, Cecconi D, Furini A. *Pseudomonas putida* response to cadmium: changes in membrane and cytosolic proteomes. J Proteome Res 2012;11:4169-4179. <https://dx.doi.org/10.1021/pr300281f>.
- Masip L, Veeravalli K, Georgiou G. The many faces of glutathione in bacteria. Antioxid Redox Signal 2006;8:753–762. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.753>.
- McGrath SP, Chaudri AM, Giller KE. Long-term effects of land application of sewage sludge: soils, microorganisms and plants. J Ind Microbiol 1995;14:94–104. <https://doi.org/10.1007/BF01569890>.
- Mitchell AM, Silhavy TJ. Envelope stress responses: balancing damage repair and toxicity. Nat Rev Microbiol 2019;17:417-28. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0199-0>.
- Murínová S, Decová K. Response mechanisms of bacterial degraders to environmental contaminants on the level of cell walls and cytoplasmic membrane. Int J Microbiol 2014; 16 pages. <https://dx.doi.org/10.1155/2014/873081>.
- Narberhaus F, Obrist M, Fuhrer F, Langklotz, S. Degradation of cytoplasmic substrates by FtsH, a membrane-anchored protease with many talents. Res Microbiol 2009;160; 652-659. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2009.08.011>.
- Nies DH. Microbial heavy-metal resistance. Appl Microbiol Biotechnol 1999;51:730-750. <https://doi.org/10.1007/s002530051457>.
- Nishino K, Nikaido E, Yamaguchi A. Regulation of multidrug efflux systems involved in multidrug and metal resistance of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. J Bacteriol. 2007;189:9066-9075. <https://doi.org/10.1128/JB.01045-07>.
- Passamani LZ, Bertolazi AA, Ramos AC, Santa-Catarina C, Thelen JJ, Silveira V. Embryogenic competence acquisition in sugar cane allus is associated with differential

- H+-pump abundance and activity. *J Proteome Res* 2018;17:2767–79. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00213>.
- Rangel de Souza ALS, de Souza SA, de Oliveira MVV, Ferraz TM, Figueiredo FAMMA, da Silva ND, Rangel PL, Panisset CRS, Olivares FL, Campostrini E, de Souza G. Endophytic colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and its effect on plant growth promotion, plant physiology, and activation of plant defense. *Plant and Soil* 2016;399(1-2):257-270. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2672-5>.
- Rhee SG, Woo HA, Kil IS, Bae SH. Peroxiredoxin functions as a peroxidase and a regulator and sensor of local peroxides. *J Biol Chem* 2012;287:4403-4410. <https://doi.org/10.1074/jbc.R111.283432>.
- Robertson TL. Cadmium and phosphorous fertilizers: the issues and the science. *Procedia Eng* 2014;83:52–59. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2014.09.012>.
- Roy S, Zhu Y, Ma J, Roy AC, Zhang Y, Zhong X, et al. Role of ClpX and ClpP in *Streptococcus suis* serotype 2 stress tolerance and virulence. *Microbiol Res* 2019;223–225:99–109. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.04.003>.
- Saravanan VS, Madhaiyan M, Osborne J, Thangaraju M, As TM. Ecological occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* members: their possible role in plant growth promotion. *Microb Ecol* 2008;55:130-40. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9258-6>.
- Shamim S, Rehman A, Qazi MH. Cadmium-resistance mechanism in the bacteria *Cupriavidus metallidurans* CH34 and *Pseudomonas putida* mt2. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2014;67(2):149-57. doi: 10.1007/s00244-014-0009-7.
- Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010;2. <https://dx.doi.org/10.1101%2Fcshperspect.a000414>.
- Smits WK, Dubois JYF, Bron S, Dijl JMV, Kuipers OP. Tricksy business: transcriptome analysis reveals the involvement of thioredoxin A in redox homeostasis, oxidative stress, sulfur metabolism, and cellular differentiation in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* 2005;187:3921-3930. <https://doi.org/10.1128/JB.187.12.3921-3930.2005>.
- Wang D, Fierke CA. The BaeSR regulon is involved in defense against zinc toxicity in *E. coli*. *Metalomics* 2013;5:372-383. <https://doi.org/10.1039/c3mt20217h>.
- Wang X, Zhang X, Liu X, Huang Z, Niu S, Xu T, et al. Physiological, biochemical and proteomic insight into integrated strategies of an endophytic bacterium *Burkholderia cenocepacia* strain YG-3 response to cadmium stress. *Metalomics* 2019;11:1254-1264. <http://doi.org/10.1039/c9mt00054b>.
- Yoon Y, Lee H, Lee S, Kim S, Choi KH. Membrane fluidity-related adaptive response mechanisms of foodborne bacterial pathogens under environmental stresses. *Food Res Int* 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.016>.
- Zhai Q, Xiao Y, Zhao J, Tian F, Zhang H, Narbad A., et al. Identification of key proteins and pathways in cadmium tolerance of *Lactobacillus plantarum* strains by proteomic analysis. *Nature* 2017;7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01180-x>.
- Zhengwei Z, Fang W, Lee HY, Yang Z. Responses of *Azorhizobium caulinodans* to cadmium stress. *FEMS Microbiol Ecol* 2005;54:455–461. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.05.006>.

3. CAPÍTULO 2

**ANÁLISE DE GENÉTICA REVERSA E PROTEÔMICA COMPARATIVA
REVELAM MECANISMOS ESSENCIAIS PARA A RESISTÊNCIA AO ZINCO
EM *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5**

3.1 Resumo

O zinco (Zn) é um metal essencial para o metabolismo de bactérias, mas em altas concentrações pode ser tóxico para as células. *G. diazotrophicus* é uma bactéria Gram-negativa caracterizada por promover o crescimento vegetal. Além disso, tem a capacidade de sobreviver em condições desafiadoras, como o estresse por metal. No entanto, os mecanismos que controlam a resistência a metais necessitam ser melhor explorados. No presente trabalho, investigamos os principais mecanismos moleculares envolvidos na resistência de *G. diazotrophicus* PAL5 ao Zn. Análises proteômicas comparativas foram realizadas para investigar as vias moleculares e as proteínas essenciais foram analisadas através de mutagênese. As principais vias moleculares identificadas pela proteômica foram relacionadas ao metabolismo de açúcar, metabolismo do envelope celular, sistema de bomba de efluxo, absorção de nutrientes, controle de qualidade de proteínas e resposta ao estresse oxidativo. A mutagênese revelou que a ausência dos genes *pgl* (metabolismo do açúcar), *accC* (metabolismo do envelope celular), *tbdR* (absorção de nutrientes), *czcC* (bomba de efluxo), *clpX* e *degP* (controle de qualidade de proteína), e *ggt* (resposta ao estresse oxidativo) aumenta a sensibilidade dos mutantes de *G. diazotrophicus* a zinco. Nossos resultados identificaram mecanismos moleculares essenciais para a resistência ao Zn em *G. diazotrophicus*, esclarecendo o papel essencial da via das pentoses fosfato.

Palavras-chave: mutagênese; proteoma; bactérias promotoras de crescimento vegetal; metal tóxico; via das pentoses fosfato.

3.2 Introdução

G. diazotrophicus é uma bactéria Gram-negativa, endofítica e PGPB (Cavalcante e Döbereiner, 1988; Saravanan et al., 2008). Ela foi isolada primeiramente em cana-de-açúcar, mas possui capacidade de colonizar outras espécies vegetais, como batata-doce, abacaxi, café, cenoura, rabanete, beterraba, *Arabidopsis* (Cavalcante e Döbereiner, 1988; Baldani et al., 2005; Rangel de Souza et al., 2016). A sua habilidade de promover crescimento vegetal se deve a características benéficas, como fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, controle de fitopatógenos e produção de hormônios e sideróforos (Glick, 2012). Diante disso, o uso de *G. diazotrophicus* como bioinoculante é uma alternativa promissora para amenizar a utilização excessiva de fertilizantes químicos, que possuem altos custos, podem causar danos ambientais, e para a saúde animal e humana (Adesemoye et al., 2009).

O desempenho de uma PGPB depende também da sua capacidade de resistir a estresses ambientais. Trabalhos anteriores mostram vias moleculares e genes essenciais para a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse salino, osmótico e por metais pesados (Intorne et al., 2012; Leandro et al., 2021a; Leandro et al., 2021b; Leandro et al., 2021c; Moreira et al., 2022). Dentre os metais, o Zn é um micronutriente que exerce funções importantes na célula de bactérias, atuando como cofator enzimático e na manutenção da estrutura de proteínas (Blencowe et al., 2003). No entanto, Zn pode ser tóxico em concentrações mais elevadas (Barceloux 1999; Choudhury and Srivastava 2001). Além das fontes naturais, muitas atividades antrópicas aumentam os níveis de Zn do solo. Dentre elas, a mineração, fundição e fertilizantes são os principais contribuintes (Dumoulin et al., 2017).

O excesso de Zn pode provocar danos oxidativos, aumentando os níveis de radicais reativos, consequentemente, inibindo os processos bacterianos (Harbison-Pric et al., 2020). O zinco é conhecido por ser um potente inibidor dos sistemas respiratórios de transporte de elétrons de bactérias (Choudhury and Srivastava 2001). Além disso, o excesso de íons de zinco compromete a função de outros metais essenciais para a célula e a atividade enzimática bacteriana (McDevitt et al., 2011; Xu et al., 2019).

As bactérias utilizam mecanismos regulatórios que permitem que as células retenham quantidades essenciais de zinco (Choudhury and Srivastava, 2001). No entanto, quando as concentrações tóxicas se acumulam nas células bacterianas mecanismos são utilizados para superar a toxicidade de zinco. Dentre eles está o efluxo ativo executado pelas bombas RND, por exemplo CzcCBA, ATPases do tipo P do tipo CadA e ZntA e facilitadores de difusão de cátions do tipo CzcD, além do acúmulo extracelular, sequestro por metalotioneínas e sequestro intracelular dos íons metálicos (Intorne et al., 2012; Upadhyay

and Srivastava 2014). A modificação da parede celular e a bioprecipitação são outros mecanismos empregados pelas células bacterianas para reduzir o efeito tóxico (Upadhyay and Srivastava 2014). Além disso, como consequência do excesso de íons de Zn, a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) é aumentada ativando respostas que amenizam os danos oxidativos (Harbison-Pric et al., 2020).

Para a manutenção do estado redox celular de bactérias, um dos mecanismos utilizados pela célula são os sistemas antioxidantes que utilizam o cofator fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH) (Grant, 2008). O NADPH fornece o potencial redutor para a maioria das enzimas reguladoras antioxidantes e redox, como glutationa e tioredoxina, essenciais para o controle da homeostase redox celular (Holmgren, 1989). As células aumentam a taxa de redução de NADP^+ para NADPH quando o fluxo glicolítico é redirecionado para a via das pentoses fosfato (PP), que é uma das principais fontes de produção do cofator (Ralser et al., 2007; Rui et al., 2010; Luche et al., 2015; Christodoulou et al., 2018). A proteína Pgl da via oxidativa das PP se mostrou relevante para a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse osmótico e excesso de açúcar (Thomason et al., 2004; Leandro et al., 2021c). No entanto, nenhum trabalho mostra a relevância dessa proteína na resistência bacteriana a metais pesados.

Embora vários trabalhos mostrem os mecanismos gerais utilizados por bactérias para sobreviver a ambientes com altas concentrações de íons de Zn, uma investigação mais profunda precisa ser realizada para detalhar as estratégias específicas. Diante disso, o conjunto de abordagens proteômicas e genômicas podem revelar os mecanismos utilizados por *G. diazotrophicus* para resistir ao estresse gerado pelo excesso de Zn.

O objetivo do presente trabalho foi investigar os mecanismos moleculares envolvidos na resistência/resposta de *G. diazotrophicus* ao excesso de Zn. Foram avaliados os efeitos do estresse por Zn sobre o crescimento e viabilidade celular. Além disso, através de análises de proteômica comparativa e genética reversa foi possível identificar grupos proteicos e genes essenciais para a resistência da bactéria ao metal testado.

3.3 Material e métodos

3.3.1 Cepas bacterianas

G. diazotrophicus PAL5 selvagem foi obtida na coleção de culturas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF, Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil). Os mutantes de *G. diazotrophicus* PAL5 defectivos para a produção das proteínas Zwf (*zwf*), Pgl (*pgl*), AccC (*accC*), receptor dependente de TonB (*tbdR*), CzcC (*czcC*), ClpX (*clpX*), DegP (*degP*) e Ggt (*ggt*), foram obtidos da coleção de mutantes de inserção de *G. diazotrophicus* PAL5 Tn5 do Laboratório de Biotecnologia- UENF (Intorne et al. 2009). As culturas estoques foram preparadas e armazenadas conforme descrito anteriormente (Oliveira et al. 2016; Leandro et al. 2021a, b).

3.3.2 Ensaio de estresse de zinco

Os ensaios de estresse foram realizados conforme descrito por (Oliveira et al. 2016; Leandro et al. 2021a, b). A solução estoque de zinco ($ZnCl_2$, M.W. 136,30, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) foi preparada e filtrada. Cinco concentrações de $ZnCl_2$ (2,5 mM, 3,0 mM, 3,5 mM e 4,5 mM) foram utilizadas e solubilizadas em meio DYGS (1 L:2 g de glicose; 2 g de extrato de levedura; 1,5 g de peptona; 1,3 g de ácido glutâmico; 500 mg de K_2HPO_4 ; 500 mg de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; pH 6,0). As células de *G. diazotrophicus* PAL5 selvagem foram inoculadas com meio DYGS. Após 12 horas, foi realizada a análise do crescimento bacteriano (OD_{600nm}), e 2 mL de cada cultura foram separados para análise microscópica. Os dados foram analisados pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

3.3.3 Análise de microscopia

A análise de viabilidade celular foi realizada conforme descrito anteriormente (Leandro et al. 2021a, b). O Live/Dead Bacterial Viability Kit (BacLight™, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) foi utilizado e observado ao microscópio Carl Zeiss Axion Imager A.2 Microscope (Zeiss, Jena, Alemanha).

3.3.4 Extração de proteínas, digestão e análise de espectrometria de massa

Três amostras biológicas diferentes de células de *G. diazotrophicus* expostas e não expostas (controle) a 3,5 mM de ZnCl₂ durante 12 horas foram utilizadas para a preparação do extrato protéico. A extração de proteínas de todas as amostras foi realizada conforme descrito anteriormente por (Passamani et al., 2018). A concentração de proteína de cada amostra foi estimada usando o Quant Kit 2-D (Kit Quant 2-D - GE Healthcare Life Sciences).

As digestões de proteínas foram realizadas conforme descrito por (Passamani et al., 2018) com algumas modificações. Um µg de peptídeo/amostra foi usado para análise de espectrometria de massa. O espectrômetro de massa Q-TOF SYNAPT G2-Si HDMS (Waters, Milford, CT, EUA) com um UPLC nanoAcquity conectado foi usado para a análise ESI-LC-MS/MS. A aquisição do espectro de massa foi realizada usando o software MassLynx v4.0.

3.3.5 Análises de dados proteômicos

O processamento espectral e a busca no banco de dados foram realizados utilizando o software ProteinLynx Global Server (PLGS; versão 3.0.2, fornecido pela Waters Corporation) e ISOQuant (Distler et al. 2014). O processamento espectral nos softwares PLGS e ISOQUANT foi realizado com as configurações descritas anteriormente (Leandro et al. 2021a). Os dados de proteômica foram processados contra o banco de dados de proteomas de *G. diazotrophicus* RIOGENE (www.uniprot.org/proteomes/UP000001176).

A quantificação da análise comparativa foi realizada com o software ISOQuant com configurações e algoritmos descritos anteriormente (Distler et al. 2016, 2014; Leandro et al. 2021a, b). Após a análise dos dados no ISOQuant, apenas as proteínas presentes ou ausentes (para proteínas únicas) em todas as três réplicas biológicas foram consideradas na análise de abundância diferencial.

Os dados foram analisados usando o teste t de Student (bicaudal), e as proteínas reguladas diferencialmente (DAPs) ($p < 0,05$) foram consideradas reguladas positivamente se a mudança de dobra (FC) fosse maior que 1,5 e reguladas negativamente se a FC fosse menor que 0,667.

Para predição da localização subcelular (membrana externa, periplasma, membrana citoplasmática, citoplasma ou extracelular) de proteínas acumuladas diferencialmente identificadas na proteômica, foi utilizado o software PSORTB (<https://www.psort.org/psortb/>).

3.3.6 Análise de genética reversa

A análise de genética reversa foi realizada conforme descrito anteriormente (Leandro et al. 2021a, b). Os mutantes de inserção e *G. diazotrophicus* PAL5 de tipo selvagem foram inoculados em meio sólido LGI (1 L:5 g de sacarose; 0,2 g de K₂HPO₄; 0,6 g de KH₂PO₄; 0,2 g de MgSO₄.7H₂O; 0,02 g de CaCl₂.2H₂O; 0,002 g de Na₂MoO₄.2H₂O; 0,01 g FeCl₃; pH 6,0) (Cavalcante e Dobereiner 1988) suplementado com diferentes concentrações de ZnCl₂ (0, 0,5, 1,5, 2,5 mM) e inoculado usando um replicador de 96 pinos (Boekel, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, EUA). Após 5 dias os resultados foram registrados.

3.4 Resultados

3.4.1 O excesso de Zn afeta o crescimento de *G. diazotrophicus*

Com o objetivo de avaliar o efeito do Zn sobre o crescimento e viabilidade celular de *G. diazotrophicus*, ZnCl₂ foi adicionado a culturas líquidas em concentrações de 2,5, 3,0, 3,5 e 4,5 mM e comparado ao de bactérias cultivadas na ausência de estresse. O metal prejudicou o crescimento bacteriano em todas as concentrações testadas, variando de 51% de inibição na concentração de 2,5 mM a 88% em 4,5 mM de ZnCl₂ (Fig. 1A).

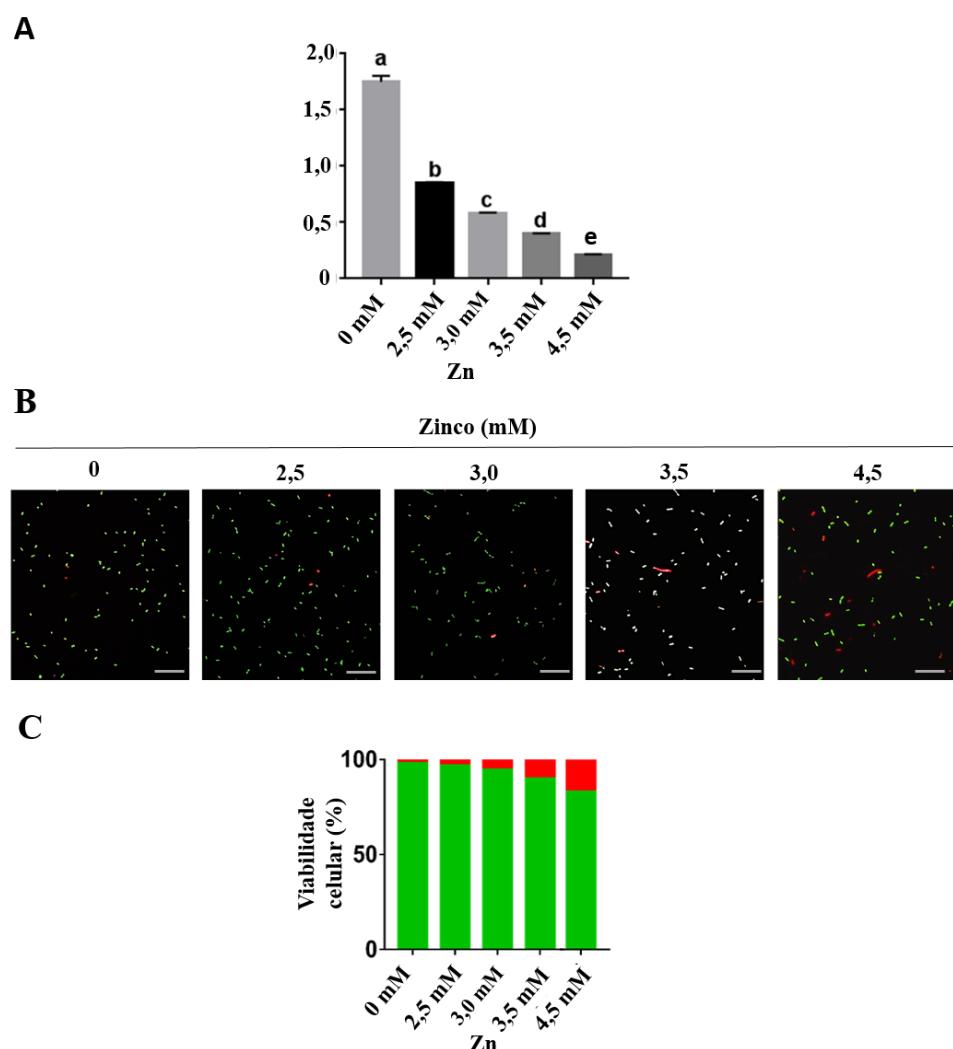


Figura 1- O zinco afeta o crescimento e a viabilidade celular de *G. diazotrophicus*. *G. diazotrophicus* foi cultivada por 12 h em meio líquido suplementado com diferentes concentrações de ZnCl₂, e seu desempenho de crescimento (a) e viabilidade celular foram analisados (b, c). As médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Unidade: 5 μ M

A análise por microscopia de epifluorescência mostrou que o Zn reduziu a viabilidade celular das células de *G. diazotrophicus* em concentrações superiores a 3,0 mM

de ZnCl₂, atingindo aproximadamente 20% de células mortas sob 4,5 mM (Fig. 1B; Fig. 1C).

O excesso por zinco promoveu um menor efeito na viabilidade celular, mas inibiu o crescimento bacteriano, mesmo em baixas concentrações de ZnCl₂. Esses resultados sugerem a ativação de mecanismos de resistência para manter a viabilidade celular nessas circunstâncias. Portanto, a concentração de 3,5 mM de ZnCl₂, onde o crescimento bacteriano foi inibido em 77% com baixa taxa de morte celular, foi escolhida para análise proteômica subsequente.

3.4.2 Análise proteômica da resposta de *G. diazotrophicus* ao Zn

Para investigar os processos moleculares regulados durante a resposta de *G. diazotrophicus* ao Zn, análises proteômicas comparativas foram realizadas em amostras bacterianas cultivadas na ausência e presença de 3,5 mM de ZnCl₂. Um total de 723 proteínas foram identificadas nas análises (Tabela S1). Dentre essas proteínas, 303 (~42%) foram diferencialmente acumuladas, sendo 169 reduzidas e 134 aumentadas (Fig. 2A; Fig. 2B). Uma proteína hipotética (A9HSC1) foi observada exclusivamente em células de *G. diazotrophicus* não expostas a ZnCl₂ (Tabela S1). Cinco proteínas, *elongation factor P* (EFP), *TolC family protein-CzcC* (A9HG75), *Hsp20 family protein* (A9HCX4), *lipoyl synthase* (A9HJB7) e *LPS export ABC transporter permeasse- LptF* (A9H8U7), foram observadas apenas em células de *G. diazotrophicus* expostas a ZnCl₂ (Tabela S1).

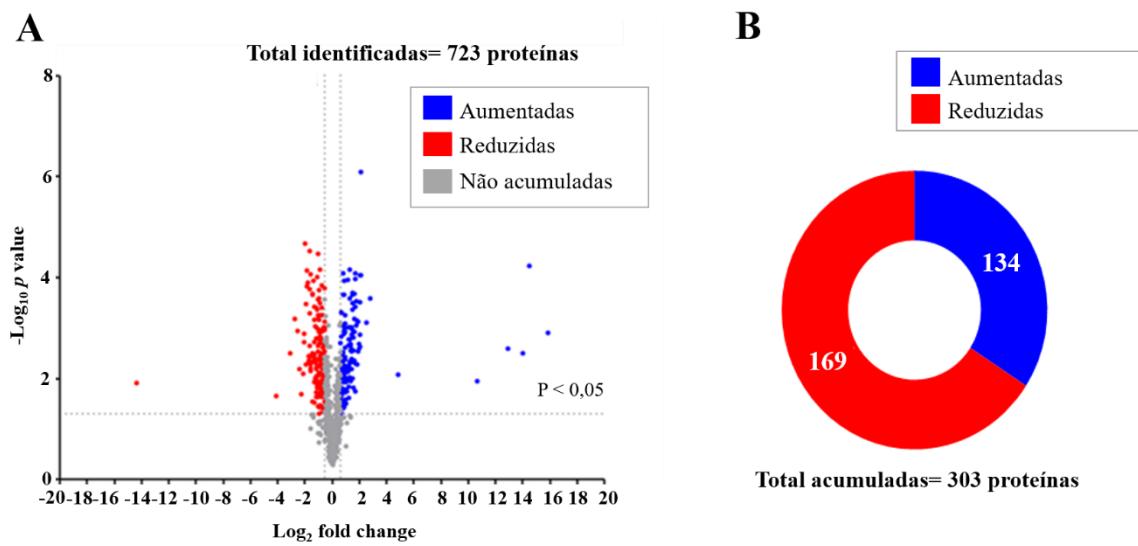


Figura 2- Alterações induzidas por zinco no perfil proteômico de *G. diazotrophicus*. O gráfico do *volcano plot* de todas as proteínas identificadas (a) e a representação gráfica do número de proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) aumentadas e reduzidas (b). As manchas representam a abundância diferencial (\log_2 fold change) de proteínas identificadas em função de significância estatística ($-\log_{10}p$ value). As manchas vermelhas e azuis representam DAPs reduzidas e aumentadas, respectivamente, e as manchas cinzas representam proteínas não acumuladas.

3.4.3 Perfil proteico de compartimentos celulares durante a resposta de *G. diazotrophicus* ao Zn

A localização das 303 proteínas reguladas em diferentes compartimentos celulares foi prevista usando a ferramenta PSORT. No compartimento do citoplasma, o número de proteínas aumentadas foi superior ao de reduzidas (Fig. 3; Tabela S2). A proporção de proteínas aumentadas e reduzidas da membrana interna foi relativamente semelhante (Fig. 3; Tabela S2). No entanto, as proteínas do periplasma e membrana externa foram predominantemente reduzidas, com duas proteínas de membrana externa aumentadas, *peptidylprolyl isomerase* (A9H1L4) e *TolC family protein-CzcC* (A9HG75) (Fig. 3; Tabela S2). Além disso, foi observada duas proteínas extracelulares, *sell repeat family protein* (A9HE44) e *nucleoside-diphosphate kinase* (NDK), respectivamente, reduzidas e aumentadas (Fig. 3; Tabela S2).

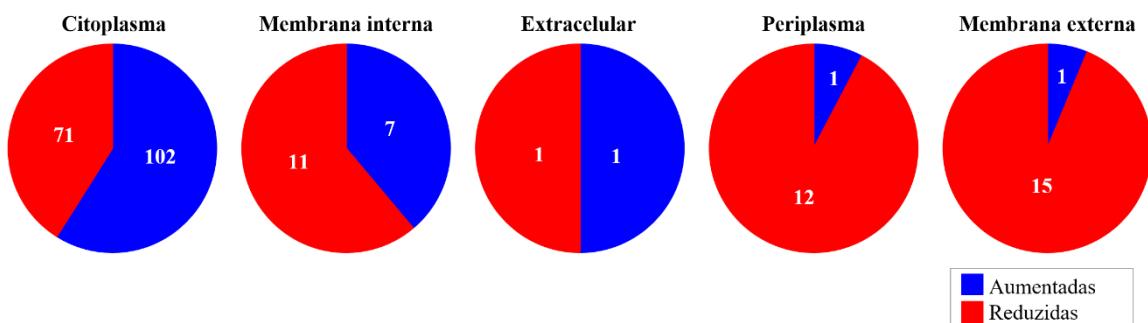


Figura 3- O estresse por zinco acumulou diferencialmente o perfil proteico em compartimentos celulares de *G. diazotrophicus*. Os DAPs identificados foram classificados pela localização subcelular prevista (citoplasma, membrana interna, extracelular, periplasma e membrana externa) com a ferramenta PSORT. Pontos vermelhos e azuis representam DAPs reduzidas e aumentadas, respectivamente.

3.4.4 Principais grupos proteicos regulados em *G. diazotrophicus* em resposta ao Zn

Com as análises proteômicas foi possível identificar proteínas potencialmente envolvidas na proteção de células de *G. diazotrophicus* contra os excessos de Zn. Essas proteínas foram classificadas e agrupadas de acordo com a sua principal função biológica descrita na literatura. Os principais grupos de proteínas observados foram relacionados ao metabolismo do açúcar, absorção de nutrientes, metabolismo do envelope celular, sistemas de bomba de efluxo, resposta ao estresse oxidativo e controle de qualidade de proteína. Tais grupos de proteínas são descritos abaixo.

3.4.4.1 Metabolismo do açúcar

Sete proteínas envolvidas no metabolismo do açúcar foram reguladas em resposta ao zinco (Tabela 1). Dentre essas, duas proteínas pertencentes ao complexo da piruvato desidrogenases foram aumentadas: *pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta*- PdhB (A9HJA9) e *acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex*- PdhC (A9HJB2). Quatro proteínas componentes do catabolismo da glicose (via das PP) foram reguladas. Dentre essas, *glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase-Zwf* (A9H326), *transketolase- TktA* (A9H317) e *bifunctional transaldolase/phosoglucone isomerase-Tal/Pgi* (A9H320) foram aumentadas, e *6-phosphogluconolactonase-Pgl* (A9HJ42) foi reduzida. Além disso, uma proteína, *aldehyde dehydrogenase-AldA* (A9H4V7), que participa da via de duas etapas de oxidação do etanol foi reduzida. Esses resultados indicam que *G. diazotrophicus* intensifica o metabolismo do açúcar, aumentando a produção de NADPH pela via das PP.

Tabela 1- Principais grupos de proteínas regulados por células de *G. diazotrophicus* expostas ao zinco

Principais grupos	Acesso	Descrição	Fold Change
Metabolismo do açúcar	A9HJA9	<i>Pyruvate dehydrogenase EI component subunit beta</i> (PdhB)	2,43
	A9HJB2	<i>Acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex</i> (PdhC)	2,97
	A9H326	<i>Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase</i> (Zwf)	1,55
	A9H317	<i>Transketolase</i> (TktA)	1,93
	A9H320	<i>Bifunctional transaldolase/phosogluucose isomerase</i> (Tal/Pgi)	2,51
	A9HJ42	<i>6-phosphogluconolactonase</i> (Pgl)	0,66
Absorção de nutrientes	A9H4V7	<i>Aldehyde dehydrogenase</i> (AldA)	0,56
	A9HNP0	<i>D-xylene ABC transporter substrate-binding protein</i> (XylF)	0,51
	A9H577	<i>Sugar ABC transporter substrate-binding protein</i>	0,33
	A9HPB9	<i>Sugar ABC transporter substrate-binding protein</i>	0,66
	A9HPC7	<i>Sugar ABC transporter substrate-binding protein</i>	0,24
	A9HPE1	<i>Sugar ABC transporter substrate-binding protein</i>	0,36
	A9HPK6	<i>D-ribose-binding periplasmic protein</i> (RbsB)	0,63
	A9HPF6	<i>Carbohydrate porin</i> (OprB)	0,50
	A9HK76	<i>Iron ABC transporter substrate-binding protein</i>	0,31
	A9HNM4	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	0,14
	A9H7L9	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	0,48
	A9H7M7	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	0,12
	A9HDZ9	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	0,44
	A9HE38	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	0,52
Metabolismo do envelope celular	A9HH16	<i>TonB-dependent receptor</i> (TbdR)	0,19
	A9HEU6	<i>TonB-dependent siderophore receptor</i>	0,32
	A9H7L3	<i>TonB-dependent siderophore receptor</i>	0,23
	A9HEX0	<i>Biotin carboxylase protein</i> (AccC)	1,91
	A9H2M9	<i>Putative 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase</i> (FabG)	2,82
	A9H986	<i>Membrane integrity-associated transporter subunit</i> (PqiC)	0,59
Sistemas de bombas de efluxo	A9HMV6	<i>Polysaccharide export protein</i> (CtrA)	0,56
	A9HE46	<i>Acetyl-CoA C-acyl-transferase</i> (FadA)	0,59
	A9HG75	<i>TolC family protein</i> (CzcC)	Unique_Zn
	A9H3U0	<i>Efflux transporter outer membrane subunit</i>	0,63
Controle de qualidade de proteína	A9H3F7	<i>Efflux transporter outer membrane subunit</i>	0,58
	A9H9Q6	<i>Efflux transporter outer membrane subunit</i>	0,49
	A9HRV3	<i>ATP-dependent specificity component of the Clp protease</i> (ClpX)	1,82
	A9H199	<i>ATP-dependent protease ATPase subunit</i> (HslU)	1,69
	A9HRV4	<i>ATP-dependent Clp endopeptidase proteolytic subunit</i> (ClpP)	2,43
	A9HLJ9	<i>Chaperone protein</i> (HtpG)	1,85

continuação...

Principais grupos	Acesso	Descrição	Fold Change
Controle de qualidade de proteína	A9HEA3	<i>Molecular chaperone DnaK</i> (DnaK)	1,77
	A9HCX4	<i>Hsp20 family protein</i>	Unique_Zn
	A9HHR8	<i>Hsp20 family protein</i>	27,93
	A9HH31	<i>ATP-dependent chaperone</i> (ClpB)	3,88
	A9HEA5	<i>Nucleotide exchange factor</i> (GrpE)	3,32
	A9HEK6	<i>Periplasmic serine endoprotease</i> (DegP)	0,58
Resposta a estresse oxidativo	A9HBK9	<i>Periplasmic serine endoprotease</i> (DegQ)	0,44
	A9HJR4	<i>Gamma-glutamyltransferase</i> (Ggt)	0,49
	A9HM18	<i>Gamma-glutamyltransferase</i> (Ggt)	0,51
	A9H1G0	<i>Hydroxyacylglutathione hydrolase</i> (GloB)	0,59
	A9HKB6	<i>Glutathione peroxidase</i> (Gpx)	0,60
	A9H3W7	<i>Alkyl hydroperoxide reductase</i> (Prx)	0,56
	A9HA92	<i>Thioredoxin</i> (TrxA)	2,19
	A9HSA0	<i>LLM class flavin-dependent oxidoreductase</i>	2,26

3.4.4.2 Absorção de nutrientes

Dentre as proteínas reduzidas, 16 estão associadas a absorção de nutrientes (Tabela 1). Entre essas, sete estão envolvidas com absorção de açúcar (A9HNP0, A9H577, A9HPB9, A9HPC7, A9HPE1, A9HPK6 e A9HPF6), uma *iron ABC transporter substrate-binding protein* (A9HK76) e oito são dependentes de receptores TonB- TBDRs (A9HNM4, A9H7L9, A9H7M7, A9HDZ9, A9HE38, A9HH16, A9HEU6 e A9H7L3). Esses resultados indicam que *G. diazotrophicus* induz a diminuição dos sistemas de absorção de nutrientes em resposta ao estresse.

3.4.4.3 Metabolismo do envelope celular

Cinco proteínas envolvidas no metabolismo do envelope celular também foram reguladas em nossas análises proteômicas (Tabela 1). Entre essas, *biotin carboxylase protein- AccC* (A9HEX0) e *3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase-FabG* (A9H2M9) envolvidas na biossíntese de novo de ácidos graxos foram aumentadas. A proteína *acetyl-CoA C-acyl-transferase- FadA* (A9HE46), componente da via de oxidação de ácidos graxos, foi reduzida. Além disso, duas proteínas envolvidas com a exportação de lipídios e lipossacarídeos capsulares, respectivamente, *membrane integrity-associated transporter subunit- PqiC* (A9H986) e *polysaccharide export protein- CtrA* (A9HMV6), foram reduzidas. Esses resultados revelam que *G. diazotrophicus* promove respostas no ajuste dos componentes do envelope celular em resposta ao excesso de zinco.

3.4.4.4 Sistema de bomba de efluxo

Quatro proteínas de membrana externa do sistema de efluxo multidrogas, envolvidas com o efluxo de substâncias nocivas foram reguladas pelo estresse Zn (Tabela 1). A proteína *TolC family protein-CzcC* (A9HG75) foi aumentada e três *efflux transporter outer membrane subunit* (A9H3U0, A9H3F7 e A9H9Q6) foram reduzidas.

3.4.4.5 Controle de qualidade de proteína

Onze proteínas associadas a sistemas de controle de qualidade de proteínas foram reguladas em nossas análises proteômicas (Tabela 1). Entre estas, nove foram aumentadas: *ATP-dependent specificity component of the Clp protease-ClpX* (A9HRV3), *ATP-dependent protease ATPase subunit-HslU* (A9H199) e *ATP-dependent Clp endopeptidase proteolytic subunit-ClpP* (A9HRV4) que previnem acúmulo de proteínas desdobradas; e *chaperone protein-HtpG* (A9HLJ9), *molecular chaperone DnaK -DnaK* (A9HEA3), Hsp20 (A9HCX4 e A9HHR8), *ATP-dependent chaperone-ClpB* (A9HH31) e *nucleotide exchange factor-GrpE* (A9HEA5) com atividades chaperonas. Além disso, duas proteases periplasmáticas foram reduzidas: *DegP* (A9HEK6) e *DegQ* (A9HBK9).

3.4.4.6. Resposta a estresse oxidativo

Quatro proteínas de resposta ao estresse oxidativo associadas ao metabolismo da glutationa foram reduzidas: duas *gamma-glutamiltransferase-Ggt* (A9HJR4 e A9HM18), uma *hydroxyacylglutathione hydrolase-GloB* (A9H1G0) e uma *glutathione peroxidase-Gpx* (A9HKB6) (Tabela 1). Além disso, três proteínas envolvidas com o controle do ambiente redox celular foram reguladas. Entre estes, uma *alkyl hydroperoxide reductase-Prx* (A9H3W7) foi reduzida; e duas aumentadas: *thioredoxin-TrxA* (A9HA92) e *LLM class flavin-dependent oxidoreductase* (A9HSA0) (Tabela 1).

3.4.5 Análise de genética reversa revelou o papel essencial de proteínas específicas na resistência de *G. diazotrophicus* sob estresse de Zn

A relevância das seis vias funcionais que se mostraram reguladas nas análises proteômicas foi avaliada quanto a resistência da bactéria ao estresse por zinco. Para tanto, foram identificadas cepas defectivas para genes de tais vias, a partir de uma biblioteca de

mutantes de inserção de *G. diazotrophicus*. Assim, as cepas de *G. diazotrophicus*, defectivas para genes envolvidos no metabolismo de açúcar (*zwf*::Tn5, *pgl*::Tn5), metabolismo do envelope celular (*accC*::Tn5), absorção de nutrientes (*tbdR*::Tn5), bombas de efluxo (*czcC*::Tn5), controle de qualidade de proteína (*clpX*::Tn5 e *degP*::Tn5) e resposta a estresse oxidativo (*ggt*::Tn5), foram comparadas a cepa selvagem em diferentes concentrações de ZnCl₂ (Fig. 4).

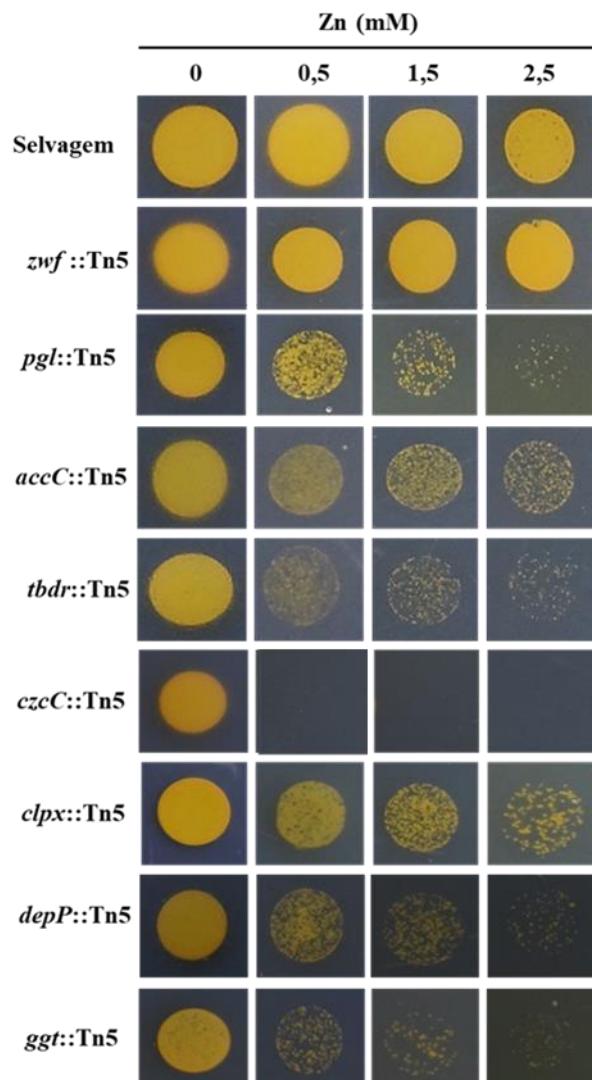


Figura 4- A análise de mutagênese Tn5 revelou genes essenciais para resistência ao zinco em *G. diazotrophicus*. Mutantes de inserção de *G. diazotrophicus* defectivos na produção de oito proteínas reguladas em nossa análise proteômica foram selecionados para realizar o ensaio de resistência ao estresse por metais. Os resultados foram registrados após cinco dias de exposição ao Zn.

O mutante *zwf*::Tn5 não apresentou aumento de sensibilidade sob nenhuma concentração de ZnCl₂. No entanto, os demais mutantes foram afetados desde a concentração mais baixa de ZnCl₂ testada. Esses resultados confirmam que as vias funcionais reguladas na proteômica são importantes para a resistência de *G. diazotrophicus* ao zinco.

3.5 Discussão

O presente estudo revelou mecanismos moleculares envolvidos na resistência de *G. diazotrophicus* a estresse por zinco. Nossas análises proteômicas e genética reversa elucidaram a participação de grupos proteicos do metabolismo de açúcar, metabolismo absorção de nutrientes, metabolismo do envelope celular, sistemas de bombas de efluxo, controle de qualidade de proteína e resposta a estresse oxidativo na resistência da bactéria ao zinco.

As análises proteômicas da resposta de *G. diazotrophicus* ao estresse por zinco mostraram a regulação de proteínas envolvidas no metabolismo de açúcar. Das proteínas reguladas, Pgl, participante chave da via oxidativa das PP (thomason et al., 2004) foi a única reduzida. Nossa análise genética reversa mostrou que o gene *pgl* foi essencial para a resistência da bactéria ao estresse. Em *Listeria monocytogenes* a ausência do gene *pgl* causou aumento da sensibilidade do mutante ao estresse oxidativo (Crimmins et al., 2009). Embora a proteína Pgl tenha sido reduzida pelo estresse por Zn em nossas análises proteômicas, a sensibilidade aumentada pela ausência do gene destaca a importância da via das PP para a resistência de *G. diazotrophicus* ao metal. Esse trabalho é o primeiro a mostrar a relevância da proteína Pgl como mecanismos de resistência de bactérias ao Zn.

A bactéria Gram-positiva *Bacillus subtilis* quando exposta a nanopartículas de Zn teve seu metabolismo central redirecionado para a via PP, protegendo a célula contra o estresse oxidativo através da produção de NADPH (Luche et al., 2015). A proteína Zwf que é intermediária a glicólise e a fase oxidativa da via das PP (Saavedra e Sesma, 2005) foi aumentada em nossa análise proteômica. No entanto, a análise de genética reversa mostrou que a mutação no gene *zwf* não afeta a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse nas condições testadas. Esses resultados destacam a relevância da produção de NADPH para amenizar os danos do estresse oxidativo em *G. diazotrophicus* causados pelo excesso de Zn.

Proteínas envolvidas na absorção de nutrientes foram reduzidas nas análises proteômicas. A diminuição de proteínas de absorção e transporte de ferro e açúcar (porinas) na membrana externa é uma estratégia de *G. diazotrophicus* para impedir a entrada de substâncias nocivas, como metais tóxicos, altas concentrações de açúcares e sais (Murínová S and Decová, 2014; Leandro et al., 2021a; Leandro et al., 2021b; Moreira et al., 2022). Para avaliar o papel das porinas na resistência a metais pesados, mutantes de *E. coli* sem esses poros exibiram baixos níveis de íons de prata (Ag) dentro da célula (Ianieva et al., 2009). Nossa análise genética reversa mostrou que a ausência do gene *tbdr* afeta a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse por Zn. Trabalhos anteriores mostram que o gene *tbdr* também é

essencial para a resistência de *G. diazotrophicus* ao cádmio e estresses osmóticos (Moreira et al., 2022; Leandro et al., 2021a; Leandro et al., 2021b).

Proteínas envolvidas no metabolismo da parede celular foram reguladas por *G. diazotrophicus* em resposta ao zinco. As proteínas de membrana externa, PqiC e CtrA, envolvidas na exportação de lipídios e lipopolissacarídeos, respectivamente, foram reduzidas. Em condições de estresse os canais responsáveis pelo transporte de substâncias essenciais para a homeostase da célula, diminuem a fluidez dificultando a entrada de agentes tóxicos (Leandro et al., 2021a; Ekiert et al., 2017). A proteína FadA, componente da via de oxidação de ácidos graxos, foi reduzida. Enquanto, AccC e FabG, responsáveis pela biossíntese de novo de ácidos graxos, foram aumentadas. O aumento dos níveis de ácidos graxos saturados reduz a fluidez da membrana (Yoon et al., 2015). Para evitar a entrada de substâncias tóxicas, a redução da fluidez da membrana é uma estratégia bacteriana em condições de estresse. A análise de genética reversa mostrou que a ausência do gene *accC* afetou a resistência de *G. diazotrophicus* ao zinco. Esses resultados indicam que a diminuição da fluidez da membrana é um mecanismo essencial de resistência de *G. diazotrophicus* ao zinco.

CzcC foi a única proteína de membrana externa aumentada em nossas análises proteômicas. A importância da bomba de efluxo CzcCBA para a resistência de bactérias a metais tem sido reportada em diversos estudos (Intorne et al., 2012; Stahl et al., 2015; Ducret et al., 2020; Moreira et al., 2022). A mutação no gene *czcC* através da análise de genética reversa afetou drasticamente a resistência de *G. diazotrophicus* em diferentes concentrações de zinco. Esses resultados reforçam a relevância da bomba de efluxo CzcCBA para a resistência de *G. diazotrophicus* ao zinco.

Proteínas envolvidas no sistema de controle de qualidade de proteínas foram reguladas em nossas análises proteômicas. O dobramento incorreto e acúmulo de proteínas são consequências de condições de estresse, como por Zn (Schramm et al., 2020). As chaperonas moleculares HtpG, DnaK, Hsp20, ClpB, GrpE foram aumentadas. Além disso, as proteases ClpX, HslU e ClpP também foram aumentadas. O acúmulo de chaperonas e proteases é um mecanismo essencial para a resistência bacteriana a metais (Dahl et al., 2015; Moreira et al., 2022). A ausência do gene *clpX* de *G. diazotrophicus* mostrou que, em maiores concentrações de Zn, a sensibilidade da bactéria aumenta, revelando a importância do controle de qualidade de proteínas a resistência ao estresse. No entanto, as proteases DegP e DegQ foram reduzidas. Leandro et al., (2021b) mostraram que DegP é essencial para a resistência de *G. diazotrophicus* ao estresse salino. Além disso, DegP e DegQ podem

degradar proteínas desdobradas, ou dobradas incorretamente, que se acumulam no periplasma após condições de estresse (Kolmar et al., 1996; Zhang et al., 2019; Leandro et al., 2020). Sob condições de choque térmico, a protease DegP foi essencial para as células de *E. coli* manterem a integridade da membrana (Zhang et al., 2019). Nossa análise de genética reversa mostrou que a ausência do gene *degP* afetou drasticamente a sensibilidade de *G. diazotrophicus* ao zinco. Esses resultados reforçam a importância do controle de qualidade de proteínas como estratégia da bactéria de resistir ao estresse ocasionado por Zn.

As análises protêomicas mostraram a regulação de proteínas de resposta ao estresse oxidativo. O acúmulo de ERO é uma consequência dos efeitos do excesso de zinco, através da perturbação do status redox intracelular da bactéria (Xu et al., 2019; Harbison-Price et al., 2020). Prx importante proteína do componente celular do estresse oxidativo (Rhee et al., 2012) foi reduzida. Além disso, GloB, Gpx e Ggt, componentes do metabolismo da glutationa, principal molécula antioxidante de muitas bactérias (Bacchawat et al., 2018), também foram reduzidas. A ausência do gene *ggt* mostrou, através da genética reversa, o aumento da sensibilidade de *G. diazotrophicus* ao Zn. Esse resultado também sugere a essencialidade das defesas oxidativas da bactéria ao zinco. Moreira et al., (2022) mostrou a importância do gene *ggt* para a resistência de *G. diazotrophicus* ao cádmio e que o estresse prolongado pode causar redução de proteínas de resposta ao estresse oxidativo. Além disso, TrxA foi aumentada, a proteína se mostrou essencial para a sobrevivência de bactérias em condições de estresse oxidativo (Smits et al., 2005).

As principais vias moleculares reguladas em nossa análise proteômica, e as proteínas reveladas como essenciais para a resistência a zinco em *G. diazotrophicus*, através de análise de genética reversa, foram resumidas na Fig. 5. O modelo propõe que *G. diazotrophicus* elimine o excesso de íons tóxicos para fora da célula por meio das bombas de efluxo. A diminuição da permeabilidade da membrana é ajustada tanto pela diminuição de porinas, como pela produção de ácidos graxos, prevenindo a entrada de substâncias tóxicas na célula. Além disso, proteínas de resposta ao estresse oxidativo são reguladas para amenizar os danos das ROS. A ativação do sistema de controle de qualidade de proteínas é uma estratégia para degradar ou dobrar corretamente proteínas mal dobradas devido aos efeitos do estresse. *G. diazotrophicus* ativa a via das PP reduzindo NADP⁺ a NAPDH que contribui para as defesas celulares contra o estresse oxidativo gerados por íons de Zn.

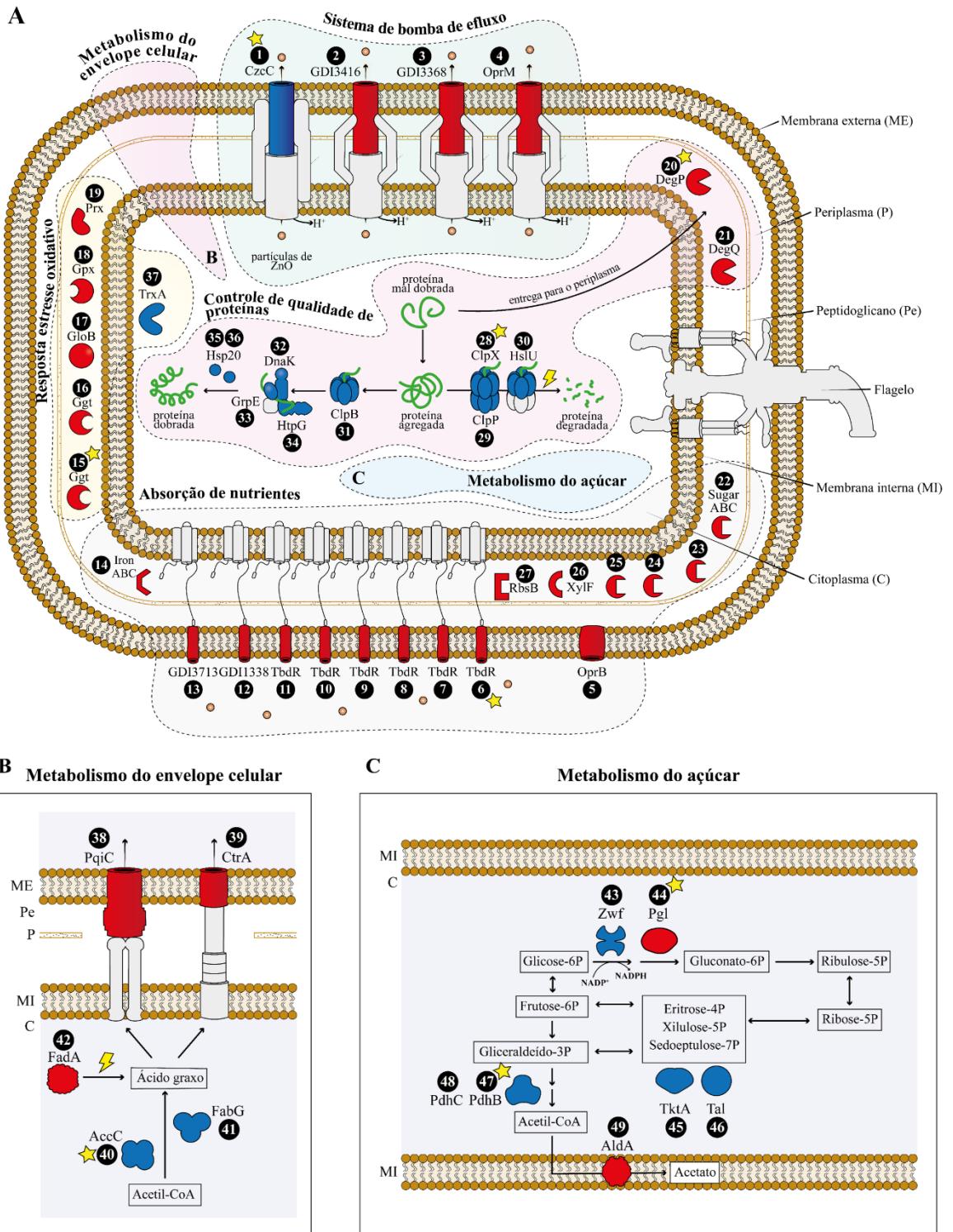


Figura 5- Ilustração esquemática das principais respostas de *G. diazotrophicus* ao zinco. Os símbolos em azul e vermelho representam proteínas classificadas como aumentadas e reduzidas, respectivamente. Os símbolos cinza representam proteínas não acumuladas. As estrelas amarelas indicam proteínas das quais os mutantes foram obtidos. Informações detalhadas sobre cada proteína neste esquema são fornecidas na Tabela de Informações de Apoio S3.

O presente estudo demonstrou os mecanismos moleculares de resistência/resposta de *G. diazotrophicus* ao estresse por Cd, com ênfase na via das PP para o metabolismo de açúcar. Nossos resultados contribuirão para melhor o entendimento da resistência de

bactérias promotoras do crescimento vegetal a metais e lança perspectivas para interação bactéria-planta em solos contaminados por metais tóxicos. Esse trabalho é o primeiro a mostrar que Pgl é essencial para resistência de bactérias ao estresse por Zn.

3.6 Referências

- Adesemoye, AO, Torbert, HA, Kloepper, JW. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb Ecol* 2009;58:921–929. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9531-y>.
- Bachhawat AK, Yadav S. The glutathione cycle: glutathione metabolism beyond the c-glutamyl cycle. *IUBMB Life* 2018;70:585–592. <https://doi.org/10.1002/iub.1756>.
- Bachhawat AK, Yadav S. The glutathione cycle: glutathione metabolism beyond the c-glutamyl cycle. *IUBMB Life* 2018;70:585–592. <https://doi.org/10.1002/iub.1756>.
- Baldani JI, Baldani VLD. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. *An Acad Bras Ciênc* 2005;77:549–579. <https://doi.org/10.1590/s0001-37652005000300014>.
- Barceloux DG. Zinc. *J Toxicol Clin Toxicol* 1999;37:279–292. <https://doi.org/10.1081/clt-100102426>.
- Blencowe DK, Morby AP. Zn(II) metabolism in prokaryotes. *FEMS Microbiol Rev* 2003;27:291–311. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00041-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00041-X).
- Cavalcante VA, Döbereiner J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant Soil* 1988;108:23–31. <https://doi.org/10.1007/BF02370096>.
- Choudhury R, Srivastava S. Zinc resistance mechanisms in bacteria. *Curr Sci* 2001;81:768–775. *Curr sci*:2001:18.
- Christodoulou D, Link H, Fuhrer T, Kochanowski K, Gerosa L, Sauer U. Reserve Flux Capacity in the Pentose Phosphate Pathway Enables *Escherichia coli*'s Rapid Response to Oxidative Stress. *Cell Syst* 2018;6:569–578. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.04.009>.
- Crimmins GT, Schelle MW, Herskovits AA, Ni PP, Kline BC, Meyer-Morse N, Iavarone AT, Portnoy DA. *Listeria monocytogenes* 6-Phosphogluconolactonase Mutants Induce Increased Activation of a Host Cytosolic Surveillance Pathway. *ASM* 2009;77:3014–3022. <https://doi.org/10.1128/IAI.01511-08>.
- Dahl JU, Gray MJ, Jakob U. Protein Quality Control under Oxidative Stress Conditions. *J Mol Biol* 2015;427:1549–1563. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2015.02.014>.
- De Oliveira MVV, Intorne AC, Vespoli LS, Madureira HC, Leandro MR, Pereira TNS, et al. Differential effects of salinity and osmotic stress on the plant growth-promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Arch Microbiol* 2016;198:287–94. <https://doi.org/10.1007/s00203-015-1176-2>.
- Distler U, Kuharev J, Navarro P, Levin Y, Schild H, Tenzer S. Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics. *Nat Methods* 2014;11:167–70. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2767>.
- Ducret V, Gonzalez MR, Leoni S, Valentini M, Perron K. The CzcCBA Efflux System Requires the CadA P-Type ATPase for Timely Expression Upon Zinc Excess in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol* 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00911>.
- Dumoulin D, Billon G, Proix N, Frérot H, Pauwels M, Saumitou-Laprade P. Impact of a zinc processing factory on surrounding surficial soil contamination. *J Geochem Explor* 2017;172:142–150. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.10.005>.

- Ekiert DC, Bhabha G, Isom GL, Greenan G, Ovchinnikov S, Henderson IR, et al. Architectures of Lipid Transport Systems for the Bacterial Outer Membrane. *Cell* 2017;169:273-285. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.03.019>.
- Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>.
- Grant, C.M. Metabolic reconfiguration is a regulated response to oxidative stress. *J Biol* 2008;7. <https://doi.org/10.1186/jbiol63>.
- Harbison-Price N, Ferguson AS, Heikal A, Taiaroa G, Hards K, Nakatani Y. Multiple Bactericidal Mechanisms of the Zinc Ionophore PBT2. *ASM* 2020;5. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00157-20>.
- Intorne AC, de Oliveira MVV, Lima ML, da Silva JF, Olivares FL, de Souza Filho, GA. Identification and characterization of *Gluconacetobacter diazotrophicus* mutants defective in the solubilization of phosphorus and zinc. *Arch Microbiol* 2009;191:477-483. <https://doi.org/10.1007/s00203-009-0472-0>.
- Intorne AC, de Oliveira MVV, Pereira LM, de Souza Filho GA. Essential role of the czc determinant for cadmium, cobalt and zinc resistance in *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Int Microbiol* 2012;2:69-78. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.160>.
- Kolmar H, Waller PRH, Sauer RT. The DegP and DegQ Periplasmic Endoproteases of *Escherichia coli*: Specificity for Cleavage Sites and Substrate Conformation. *J Bacteriol Res* 1996;178:3925-3929. <http://doi.org/10.1128/jb.178.20.5925-5929.1996>.
- Leandro MR, Andrade LF, Vespoli LS, Soares FS, Moreira JR, Pimentel VR, et al. Combination of osmotic stress and sugar stress response mechanisms is essential for *Gluconacetobacter diazotrophicus* tolerance to high sucrose environments. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 2021c. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11590-7>.
- Leandro MR, Andrade LL, Vespoli LS, Moreira JR., Pimentel, VR., Soares, FS., et al. Comparative proteomics reveals essential mechanisms for osmotolerance in *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Res Microbiol* 2021a. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2020.09.005>.
- Leandro MR, Vespoli LS, Andrade LF, Soares FS, Boechat AL, Pimentel VR, et al. DegP protease is essential for tolerance to salt stress in the plant growth-promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Microbiol Res* 2021b. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126654>.
- Luche S, Eymard-Venain E, Diemer H, Dorsselaer AV, Rabilloud T, Lelong C. Zinc oxide induces the stringent response and major reorientations in the central metabolism of *Bacillus subtilis*. *J Proteom* 2016;135:170-180. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.07.018>.
- McDevitt CA, Ogunniyi AD, Valkov E, Lawrence MC, Kobe B, McEwan AG et al. A Molecular Mechanism for Bacterial Susceptibility to Zinc. *Plos Pathog* 2011;7. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002357>.
- Moreira JR, Leandro MR, Vespoli LS, Andrade LF, Pimentel VR, Soares FS, et al. Essential role of extracytoplasmic proteins in the resistance of *Gluconacetobacter diazotrophicus* to cádmium. *Res Microbiol* 2022;173. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.103922>.

- Murínová S, Decová K. Response mechanisms of bacterial degraders to environmental contaminants on the level of cell walls and cytoplasmic membrane. *Int J Microbiol* 2014;16 pages. <https://dx.doi.org/10.1155/2014/873081>.
- Passamani LZ, Bertolazi AA, Ramos AC, Santa-Catarina C, Thelen JJ, Silveira V. Embryogenic competence acquisition in sugar cane allus is associated with differential H⁺-pump abundance and activity. *J Proteome Res* 2018;17:2767–79. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00213>.
- Ralser M, Wamelink MM, Kowald A, Gerisch B, Heeren G, Struys EA, Klipp E, Jakobs C, Breitenbach M, Lehrach H, et al. Dynamic rerouting of the carbohydrate flux is key to counteracting oxidative stress. *J Biol* 2007;6. <https://doi.org/10.1186/jbiol61>.
- Rhee SG, Woo HA, Kil IS, Bae SH. Peroxiredoxin functions as a peroxidase and a regulator and sensor of local peroxides. *J Biol Chem* 2012;287:4403-4410. <https://doi.org/10.1074/jbc.R111.283432>.
- Rui B, Shen T, Zhou H, Liu J, Chen J, Pan X, Liu H, Wu J, Zheng H, Shi Y. A systematic investigation of *Escherichia coli* central carbon metabolism in response to superoxide stress. *BMC Syst Biol* 2010;4. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-4-122>.
- Saravanan VS, Madhaiyan M, Osborne J, Thangaraju M, As TM. Ecological occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* members: their possible role in plant growth promotion. *Microb Ecol* 2008;55:130-40. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9258-6>.
- Schramm FD, Schroeder K, Jonas K. Protein aggregation in bactéria. *FEMS Microbiol Rev* 2020;44:54-72. <http://doi.org/10.1093/femsre/fuz026>.
- Smits WK, Dubois JYF, Bron S, Dijl JMV, Kuipers OP. Tricksy business: transcriptome analysis reveals the involvement of thioredoxin A in redox homeostasis, oxidative stress, sulfur metabolism, and cellular differentiation in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* 2005;187:3921-3930. <https://doi.org/10.1128/JB.187.12.3921-3930.2005>.
- Sthl A, Pletzer D, Mehmood A, Ullrich MS. *Marinobacter adhaerens* HP15 harbors two CzcCBA efflux pumps involved in zinc detoxification. *Anton Leeuw Int J G* 2015;108:649-658. <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0520-5>.
- Thomason LC, Court DL, Datta AR, Khanna R, Rosner JL. Identification of the *Escherichia coli* K-12 ybhE Gene as *pgl*, Encoding 6-Phosphogluconolactonase. *J Bacteriol Res* 2004;186:8248-8253. <https://doi.org/10.1128/JB.186.24.8248-8253.2004>.
- Upadhyay A, Srivastava S. Mechanism of zinc resistance in a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. *World J Microbiol Biotechnol* 2014;30:2273-2282. <https://doi.org/10.1007/s11274-014-1648-6>.
- Xu Z, Wang P, Wang H, Yu ZH, Au-Yeung HY, Hirayama T et al. Zinc excess increases cellular demand for iron and decreases tolerance to copper in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 2019;45:16978-16991. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010023>.
- Yoon Y, Lee H, Lee S, Kim S, Choi KH. Membrane fluidity-related adaptive response mechanisms of foodborne bacterial pathogens under environmental stresses. *Food Res Int*. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.016>.
- Zhang, S., Cheng, Y., Ma, J., Wang, Y., Chang, Z., Fu, X. DegP degrades a wide range of substrate proteins in *Escherichia coli* under stress conditions. *Biochem J* 2019;23:3549–3564. <https://doi.org/10.1042/BCJ20190446>.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo do presente trabalho foi investigar os mecanismos moleculares da resposta de *G. diazotrophicus* a metais tóxicos. Foi possível observar que embora os metais cádmio e zinco geram algumas respostas semelhantes na bactéria, existem particularidades para cada condição estressante (Figura 3). Dentre todas as 249 e 303 proteínas reguladas nos estresses cádmio e zinco, respectivamente, nas análises proteômicas, 152 são sobrepostas. Em relação aos grupos funcionais destacados pelas análises protêomicas, o de absorção de nutrientes, sistemas de bomba de efluxo, resposta ao estresse oxidativo e controle de qualidade de proteínas tiveram proteínas sobrepostas em ambos os estresses. No entanto, algumas proteínas desses grupos foram específicas a cada um dos metais. Os grupos funcionais de metabolismo de açúcar e metabolismo do envelope celular foram exclusivos da resposta de *G. diazotrophicus* ao zinco. Isso demonstra que em condições contendo zinco a bactéria utiliza outros mecanismos de resistência quando comparado aos de cádmio. O que sugere que o estresse por zinco promova a reorientação do metabolismo central pela via oxidativa das PP para proteger a célula através da produção de NADPH. Além disso, a biossíntese de ácidos graxos promove a redução da fluidez da membrana, sendo uma estratégia bacteriana em condições de estresse por zinco para evitar a entrada de substâncias tóxicas.

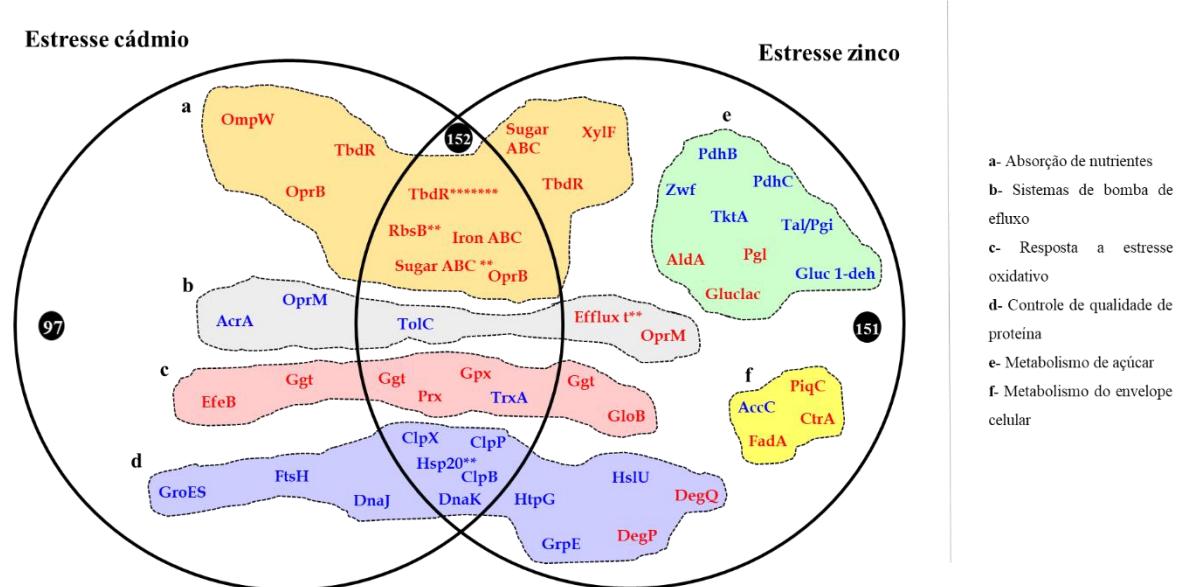


Figura 3 - Visão geral das respostas moleculares de *G. diazotrophicus* a metais. Diagrama de Venn de proteínas aumentadas (azul) e reduzidas (vermelho) em resposta ao estresse por cádmio e zinco. Os números dentro dos círculos pretos indicam o número de proteínas reguladas no geral. Proteínas dentro de formas pontilhadas compõem vias funcionais destacadas em nossas análises protêomicas. As letras (a, b, c, d, e, f) indicam grupos funcionais diferentes representados pela variação de cores. Os asteriscos indicam o número de proteínas homólogas reguladas.

Foi observada a especificidade e sobreposição das proteínas destacadas em nossas análises proteômicas em resposta ao estresse pelos metais (Tabela 1). CzcC foi a única proteína relacionada ao sistema de bomba de efluxo que foi comum aos dois metais. Análise de genética reversa mostrou que o gene *czcC* é essencial para a resistência em ambos os estresses. Além disso, TbdR envolvida na absorção de nutriente e Ggt da resposta ao estresse oxidativo foram comuns em resposta aos metais e a ausência desses genes mostrou a essencialidade na resistência da bactéria. A proteína ClpX relacionada ao controle de qualidade de proteína também foi comum e essencial à resposta da bactéria aos estresses. Os genes *pgl*, *accC* e *degP*, respectivamente relacionados, ao metabolismo de açúcar, metabolismo do envelope celular e controle de qualidade de proteína, são exclusivos e essenciais para a resistência da bactéria ao zinco. Por outro lado, os genes *ompW* e *oprB* envolvidos na absorção de nutrientes são exclusivos e relevantes para a resistência da bactéria ao cádmio. Esses resultados sugerem que a essencialidade de um gene para a resistência aos metais depende da condição do estresse que a bactéria é desafiada.

O presente trabalho elucida mecanismos moleculares de *G. diazotrophicus* que são específicos e comuns para cada condição de metal analisada. Nesse sentido, nossos resultados mostram genes essenciais para a resistência de *G. diazotrophicus* a ambientes contendo metais, o que abre perspectiva para a utilização desses genes em outras espécies com o intuito de aumentar a resistência a estresses. Além disso, é uma alternativa para melhorar a eficiência da *G. diazotrophicus* como inoculante de plantas e para remediar áreas contaminadas com metais.

Tabela 1- Respostas dos mutantes silenciados nas vias destacadas em nossas análises proteômicas aos estresses por cádmio e zinco foram comparadas.

	<i>tbdR</i>	<i>ompW</i>	<i>oprB</i>	<i>czcC</i>	<i>ggt</i>	<i>clpX</i>	<i>zwf</i>	<i>pgl</i>	<i>accC</i>	<i>degP</i>
Estresse por cádmio	1	1	1	1	1	1	2	3	3	3
Estresse por zinco	1	3	3	1	1	1	2	1	1	1

1- essencial; 2- não essencial; 3- não regulada na proteômica

5. MATERIAL SUPLEMENTAR

5.1 Material suplementar Capítulo 1

Table S1- Proteínas identificadas durante a resposta de *G. diazotrophicus* ao Cd

Descrição	Acesso	Controle 1	Controle 2	Controle 3	Cd 1	Cd 2	Cd 3	Test t	Média controle	Média Cd	Fold change	TAG
Ribose-phosphate pyrophosphokinase	A9HBZ3	8609	8399	12522	13289	14113	18068	0,0283	9843	15157	1,53982	UP
Phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase	A9HJV0	22826	26713	30350	34886	47862	41288	0,0192	26629	41345	1,55262	UP
3.3.7	A9HL34	10772	10260	8883	14493	16996	15169	0,0025	9972	15553	1,5597	UP
Putative NAD dependent epimerase	A9H2U3	11301	11954	10121	16044	18043	18165	0,0012	11125	17417	1,56555	UP
Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase	A9HEE4	12580	13784	16634	19769	25856	21997	0,0119	14333	22541	1,57268	UP
Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+))	ILVC	16598	14772	17550	26449	25191	25439	0,0012	16307	25693	1,57562	UP
Protein GrpE	A9HEA5	4139	3355	2091	5030	4808	5270	0,0422	3195	5036	1,57606	UP
Glycine cleavage system H protein	A9HM50	32559	35915	38457	56866	57752	54294	0,0006	35643	56304	1,57964	UP
Succinate dehydrogenase flavoprotein subunit	A9HFD7	23554	27479	28660	41854	42315	42492	0,0044	26564	42220	1,58937	UP
NADH dehydrogenase/NAD(P)H nitroreductase rutE	A9HFB0	13119	13565	14593	22261	23070	20558	0,0009	13759	21963	1,59625	UP
Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	A9H326	10967	10536	17231	17767	21641	22975	0,0235	12911	20794	1,61056	UP
Amidophosphoribosyltransferase	A9H4K2	6451	7173	7802	9291	12879	12551	0,0243	7142	11574	1,62056	UP
Putative phosphate acetyltransferase	A9HL01	7460	8205	8420	11201	15551	12317	0,0279	8028	13023	1,62219	UP
Arginine--tRNA ligase	A9HLH8	3830	4573	5147	6728	7180	8254	0,0045	4516	7387	1,63568	UP
Dihydrolipoyl dehydrogenase	A9HJB6	19980	19413	24826	33278	38503	34366	0,002	21406	35383	1,65289	UP
Thioredoxin	A9HA92	51664	42177	57928	92150	81258	78227	0,003	50590	83879	1,65802	UP
Ribosome-binding ATPase YchF	A9HC06	5767	4196	7675	10051	9192	10052	0,0259	5879	9765	1,66092	UP
D-2-hydroxyacid dehydrogenase	A9HDT4	145460	139892	137947	219273	247562	236613	0,0025	141100	234483	1,66182	UP
Transaldolase	A9H320	62010	65585	88416	112655	120773	125874	0,0078	72004	119767	1,66335	UP
ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX	CLPX	13230	14936	18605	23185	27297	27414	0,0041	15591	25966	1,66547	UP

Dihydroxy-acid dehydratase	A9HA40	10442	10676	14018	17779	20690	20360	0,0034	11712	19609	1,67427	UP
Biotin synthase	BIOB	13120	12747	15514	22926	24523	22946	0,0008	13794	23465	1,70112	UP
Methylenetetrahydrofolate reductase	A9HNY2	9063	7460	8029	14128	14569	13843	0,001	8184	14180	1,73266	UP
Transcription termination factor Rho	A9HE94	14514	14509	15083	21689	24540	30324	0,0251	14702	25517	1,73563	UP
Chemoreceptor mcpA (Methyl-accepting chemotaxis protein)	A9HHE0	15031	14084	17325	24858	27479	29012	0,001	15480	27116	1,75175	UP
Argininosuccinate lyase	ARLY	4348	2130	4430	5659	6657	6815	0,0247	3636	6377	1,7538	UP
Elongation factor Ts	A9HRQ5	56384	56537	59512	100707	112094	92068	0,0073	57478	101623	1,76804	UP
2,3,4,5-tetrahydropyridine-2,6-dicarboxylate N-succinyltransferase	N-A9HKR5	14947	17059	17903	30120	27986	30214	0,0002	16636	29440	1,76961	UP
Conserved protein	A9H3Z0	7426	5287	7135	12119	12608	11673	0,0036	6616	12133	1,83401	UP
Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	A9HID1	40263	54101	51612	78712	100724	91963	0,0041	48659	90466	1,8592	UP
Probable cytosol aminopeptidase	A9H1J4	13235	13845	15901	32553	24622	23966	0,0177	14327	27047	1,88783	UP
Chaperone protein DnaK	DNAK	114282	131533	152910	230578	265832	265232	0,0009	132908	253881	1,91019	UP
Elongation factor G	A9HS02	23498	25488	26959	46614	40794	57669	0,0193	25315	48359	1,91031	UP
Isocitrate dehydrogenase (NAD(+))	A9HQJ1	45043	55209	67660	105436	109892	107541	0,0065	55971	107623	1,92285	UP
Carbamoyl-phosphate synthase large chain	A9H1P7	3737	4514	5366	7650	10079	8525	0,0056	4539	8751	1,9281	UP
Polyribonucleotide nucleotidyltransferase	PNP	17139	20369	24376	37921	39824	42584	0,0013	20628	40110	1,94442	UP
Conserved protein	A9HS32	7955	6336	3862	14973	9317	11110	0,0273	6051	11800	1,95025	UP
Malate dehydrogenase (Oxaloacetate-decarboxylating) (NADP(+))	A9HH05	3050	3713	4746	8077	8091	6960	0,0021	3837	7710	2,0095	UP
Peptide deformylase	A9HS47	9204	8448	8112	18193	16496	17104	0,0002	8588	17264	2,01027	UP
5-methyltetrahydropteroylglutamate--homocysteine methyltransferase	A9HNX4	15877	12033	19386	31827	29529	34251	0,0026	15765	31869	2,02149	UP
Putative rod shape-determining protein mreB	A9HM98	10509	19636	17984	25729	36286	36537	0,0114	16043	32851	2,04764	UP
ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit	A9HRV4	60818	67368	65744	142089	122633	133933	0,0017	64644	132885	2,05565	UP
Glutaredoxin	A9HJG8	157016	160166	159172	333467	364012	285952	0,0087	158785	327810	2,06449	UP
Conserved protein	A9HM79	76339	81812	92699	166575	185783	167149	0,0003	83617	173169	2,07098	UP
ATP-dependent protease subunit HslV	A9H1A3	18337	26935	22884	37668	48048	56120	0,0141	22719	47279	2,08104	UP
GTP-binding protein TypA/BipA	A9H9C1	6618	8057	9562	18133	14363	20338	0,0087	8079	17611	2,17992	UP
Chaperone protein DnaJ	DNAJ	11358	8061	5408	15122	21817	17297	0,0103	8276	18079	2,18456	UP
Aconitate hydratase	A9HEZ2	73576	83098	92909	184135	182950	182920	0,0015	83194	183335	2,2037	UP

Cold-shock DEAD box protein A homolog	A9HRW6	5282	5022	6044	10800	12650	12817	0,0016	5449	12089	2,21854	UP
Acireductone dioxygenase	MTND	8210	5554	5274	13608	15181	13801	0,0024	6346	14196	2,23705	UP
Aspartate-tRNA(Asp/Asn) ligase	A9HLJ4	3881	3294	3959	8382	7394	9598	0,0056	3711	8458	2,27884	UP
4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase	A9HS93	12046	13347	11824	27077	28313	30037	0,0002	12406	28476	2,29537	UP
FeS assembly protein SufB	A9HRY9	1913	3041	2819	5844	6244	5765	0,0022	2591	5951	2,29724	UP
Adenylyl-sulfate kinase	A9H0W3	3297	6166	5551	11303	10912	13096	0,0022	5005	11770	2,35187	UP
Putative serine acetyltransferase	A9HMC8	8931	8517	9115	19299	22327	23016	0,0035	8854	21547	2,43354	UP
Efflux transporter, RND family, MFP subunit	A9HEF9	45327	47522	49549	110597	115613	125194	0,001	47466	117135	2,46777	UP
Putative short-chain dehydrogenase	A9HLW8	48098	50066	50084	118979	132901	124845	0,0011	49416	125575	2,54117	UP
Sec-independent protein translocase protein TatA	TATA	31663	3941	12566	48684	48962	27353	0,0397	16057	41666	2,59494	UP
Putative oxidoreductase	A9H878	5474	5539	5659	13256	15799	15295	0,0034	5557	14783	2,66017	UP
Heat-inducible transcription repressor HrcA	A9HF56	3497	3804	6758	9950	13582	14579	0,0062	4686	12704	2,71081	UP
Putative cysteine desulfurization protein sufE	A9H196	9805	11057	8716	26574	25392	28425	8E-05	9859	26797	2,71795	UP
ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH	A9HB14	10323	8676	12962	28230	30336	29493	0,0005	10654	29353	2,7552	UP
Probable malate:quinone oxidoreductase	A9HKZ6	3858	4479	5459	12782	14055	12261	0,0002	4598	13032	2,83406	UP
Putative Outer membrane protein oprM	A9HEG4	17193	21855	22946	51329	64681	59753	0,002	20665	58588	2,83516	UP
Thioredoxin protein	A9H2A4	43919	50946	45550	109651	144176	144940	0,0077	46805	132922	2,83991	UP
Peptidase protein, modulator of DNA gyrase	A9HEU1	9066	15805	24430	43981	43162	53310	0,0034	16434	46818	2,84891	UP
ATP-dependent protease ATPase subunit HslU	A9H199	9179	11518	11519	28744	33711	32531	0,0006	10739	31662	2,94843	UP
Putative aldo-keto reductase	A9HQR7	9309	10697	10787	28163	30180	32479	0,0007	10264	30274	2,94943	UP
Phosphomethylpyrimidine synthase	A9H8N9	2447	3579	4479	9956	11209	11347	0,0004	3502	10837	3,09484	UP
Chaperone protein HtpG	A9HLJ9	18729	22017	27619	68650	63888	81978	0,0023	22788	71505	3,13784	UP
Riboflavin biosynthesis protein RibD	A9HDG2	4786	5988	3671	12526	18590	18878	0,0105	4815	16665	3,46089	UP
Flavin oxidoreductase	A9H2N2	53884	57604	55400	167872	206749	217130	0,0054	55629	197250	3,5458	UP
10 kDa chaperonin	A9HPH9	4256	3077	2503	15655	16690	7042	0,0402	3279	13129	4,00452	UP
Peroxidase	A9HPI6	8169	15087	3908	54372	33165	39972	0,0088	9055	42503	4,69408	UP
Luciferase-like monooxygenase	A9HSA0	4649	4649	4799	20727	21385	27229	0,0062	4699	23113	4,91878	UP
6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase	A9HDF5	21158	14280	23741	91584	103261	99088	4E-05	19726	97978	4,96688	UP
Chaperone clpB	A9HH31	2424	2397	6177	17810	21599	21829	0,0004	3666	20412	5,56804	UP

Putative polyketide synthase	A9H221	5577	6477	6641	41183	47201	44685	0,0008	6232	44356	7,11789	UP
Riboflavin synthase alpha chain	A9HDG0	2938	2620	3280	21970	18850	24060	0,0029	2946	21627	7,34103	UP
Multifunctional fusion protein	A9HDF8	4764	4556	5558	35583	39639	44941	0,0027	4959	40055	8,07696	UP
Oxidoreductase (Aldo/keto reductase) protein	A9H614	6864	7623	8110	70965	79947	83501	0,0013	7532	78138	10,3735	UP
Putative 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9H2M9	37917	49622	55042	642289	850479	745617	0,0035	47527	746128	15,699	UP
Heat shock protein Hsp20	A9HHR8	2595	2057	2085	100304	72721	67923	0,0081	2246	80316	35,7676	UP
Heat shock protein Hsp20	A9HCX4	-	-	-	19173	16032	13039	-	-	16081	-	Única_Cd
Putative type I secretion outer membrane protein, TolC	A9HG75	-	-	-	25712	29693	27996	-	-	27800	-	Única_Cd
Uncharacterized protein	A9H730	19130	18262	16298	-	-	-	-	17896	-	-	Única_Controle
Uncharacterized protein	A9HE44	12174	12092	9567	-	-	-	-	11278	-	-	Única_Controle
Putative pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	A9HHP7	6077	4901	6040	-	-	-	-	5673	-	-	Única_Controle
Probable chemoreceptor glutamine deamidase CheD	A9HHG6	4023	4530	4062	-	-	-	-	4205	-	-	Única_Controle
Chaperone SurA	A9H1L4	3821	2688	1299	-	-	-	-	2603	-	-	Única_Controle
Putative transcriptional Regulator	A9HFD0	3571	2118	1312	-	-	-	-	2334	-	-	Única_Controle
Putative TonB-dependent receptor	A9HNM4	24442	22826	21073	2198	1978	2052	0,0011	22780	2076	0,09113	DOWN
Uncharacterized protein	A9HJX9	64462	63714	60334	6571	6030	4960	5E-05	62837	5854	0,09316	DOWN
Putative tonB-dependent receptor protein	A9H7M7	70008	75655	59369	8975	9789	8911	0,0032	68344	9225	0,13498	DOWN
30S ribosomal protein S5	RS5	114046	120388	58165	13878	20022	14104	0,0264	97533	16001	0,16406	DOWN
Putative tonB-dependent receptor	A9HEU6	176534	177967	165345	22152	32567	35049	7E-06	173282	29923	0,17268	DOWN
50S ribosomal protein L23	RL23	74767	72653	37044	9759	13503	8939	0,0259	61488	10733	0,17456	DOWN
Uncharacterized protein	A9HH94	22659	16870	8931	4020	2349	2842	0,0396	16153	3070	0,19008	DOWN
TonB-dependent receptor	A9H7L9	15796	16109	11362	3746	3429	3038	0,0087	14422	3404	0,23605	DOWN
Rieske (2Fe-2S) domain protein	A9HL46	52493	51942	21936	8420	15312	7720	0,0406	42124	10484	0,24888	DOWN
30S ribosomal protein S3	RS3	18930	20195	19547	4575	6098	4129	6E-05	19557	4934	0,25228	DOWN
Putative TonB-dependent receptor	A9H7L3	37198	38857	32330	9532	9935	8712	0,0021	36128	9393	0,25999	DOWN
Uncharacterized protein	A9H732	14873	10318	5914	3533	1723	2921	0,0462	10368	2725	0,26287	DOWN
Uncharacterized protein	A9HSC1	18903	27821	16833	5159	6314	5413	0,0213	21185	5629	0,26568	DOWN
Uncharacterized protein	A9H6W8	11608	9174	10964	3455	2371	2832	0,0017	10582	2886	0,27272	DOWN
Phosphoenolpyruvate carboxykinase (ATP)	A9H8M9	19526	20140	21814	6333	5359	5143	0,0001	20494	5611	0,27382	DOWN

Phosphoadenosine phosphosulfate reductase	A9H0V9	17500	22040	21219	5054	7978	5065	0,0009	20253	6032	0,29783	DOWN
Conserved protein	A9HF41	19042	21484	19811	5409	7109	5690	9E-05	20112	6069	0,30177	DOWN
50S ribosomal protein L16	RL16	41939	52063	28369	10486	14354	12237	0,0252	40790	12359	0,30299	DOWN
Histone family protein DNA-binding protein	A9HP12	17375	21824	19940	5440	6701	5833	0,0027	19713	5991	0,30393	DOWN
Putative L-asparaginase II protein	A9HE73	39122	47655	43310	10933	19046	10662	0,0007	43362	13547	0,31241	DOWN
Putative chemotaxis protein cheY	A9HHE7	26230	18310	11502	5198	5913	6981	0,0474	18681	6031	0,32283	DOWN
Putative periplasmic binding proteins	A9H577	100633	117826	128612	33412	40868	38154	0,0037	115691	37478	0,32395	DOWN
Lipase protein	A9HBK6	44314	52465	64945	15637	19567	20500	0,0112	53908	18568	0,34444	DOWN
Inositol-3-phosphate synthase	A9H8S7	96427	103423	130032	34116	39788	40348	0,0084	109960	38084	0,34634	DOWN
Quinolinate synthase A	A9H8C0	36295	52219	53602	15907	17220	17205	0,0154	47372	16778	0,35417	DOWN
Methylamine dehydrogenase heavy chain	A9H2X8	19912	23838	22972	7653	8036	8189	0,0031	22240	7960	0,35789	DOWN
LexA repressor	LEXA	12585	12818	8769	4142	5437	3101	0,0084	11391	4227	0,37105	DOWN
Cof-like hydrolase	A9H329	8875	8859	7870	2327	3306	3965	0,0006	8535	3199	0,3748	DOWN
Periplasmic binding protein	A9HK76	44992	49484	46380	17987	17577	17272	0,0008	46952	17612	0,37511	DOWN
Glutamine amidotransferase of anthranilate synthase	A9HJ94	15851	15258	16327	5680	5478	6857	5E-05	15812	6005	0,37979	DOWN
50S ribosomal protein L3	RL3	67758	68823	52667	22147	33403	16449	0,0028	63083	24000	0,38045	DOWN
3-isopropylmalate dehydratase small subunit	LEUD	9212	6626	5032	3407	2243	2328	0,0305	6957	2659	0,38222	DOWN
Choloylglycine hydrolase	A9H2I4	11018	12383	12026	5206	4273	4872	0,0002	11809	4784	0,40509	DOWN
OmpW family protein	A9HED6	75033	69171	41203	3746	34103	37503	0,0352	61802	25117	0,40641	DOWN
Putative fumarylacetoacetate (FAA) hydrolase protein	A9HCF1	6765	8350	9680	1924	4254	3977	0,0063	8265	3385	0,40957	DOWN
Putative inositol-1-monophosphatase	A9HLR6	6443	4761	6018	2038	1981	3074	0,0037	5741	2364	0,41187	DOWN
Outer membrane protein assembly factor BamD	A9H0L0	22571	24765	22397	11097	9103	8603	0,0001	23244	9601	0,41304	DOWN
Exodeoxyribonuclease III Xth	A9HIE6	25084	23783	15826	8825	7826	10162	0,0213	21564	8938	0,41447	DOWN
Putative haloacid dehalogenase-like hydrolase	A9HBE7	29526	32248	35315	10862	15209	14496	0,0006	32363	13522	0,41783	DOWN
NADH-quinone oxidoreductase chain E	A9HRT6	23242	23258	17455	8983	9324	8535	0,0111	21318	8948	0,41972	DOWN
Uncharacterized protein	A9HRF9	9388	10486	12840	4342	4260	5149	0,0095	10905	4584	0,42032	DOWN
Putative sulfotransferase	A9HQQ2	22083	18922	12646	9159	6797	6996	0,0288	17883	7650	0,4278	DOWN
Peptidoglycan-associated protein	A9HB05	503849	524654	435663	174375	228518	228431	0,0009	488055	210442	0,43118	DOWN
4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase	ISPE	27854	27400	30227	10109	12935	14299	0,0004	28494	12448	0,43686	DOWN

Indole-3-glycerol phosphate synthase	A9HJA0	18708	19022	22524	8004	8962	9467	0,0032	20084	8811	0,43869	DOWN
Putative conjugal transfer	A9HSY7	27372	26993	22842	13517	8086	12433	0,0015	25736	11345	0,44084	DOWN
Acetate kinase	A9HGX6	16717	16225	18208	6791	8035	8154	0,0002	17050	7660	0,44926	DOWN
Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha	A9HRF1	45185	34982	31497	16355	18766	15105	0,0156	37221	16742	0,44979	DOWN
Uncharacterized protein	A9HSZ4	49654	47849	39934	22402	19786	19709	0,0046	45812	20632	0,45036	DOWN
Putative two component response regulator	A9HH92	10462	9958	9128	3814	3112	6392	0,0105	9849	4440	0,45075	DOWN
Export-related chaperone CsaA	A9H0Q7	15106	10026	8919	4872	5005	5586	0,0405	11350	5154	0,45412	DOWN
Type II and III secretion system protein	A9HHL5	24145	24812	20076	10104	11424	10665	0,0052	23011	10731	0,46634	DOWN
Uncharacterized protein	A9HF96	24308	18617	13296	11527	7353	7790	0,037	18740	8890	0,47439	DOWN
50S ribosomal protein L24	RL24	19543	12818	16822	8472	9114	5959	0,0155	16394	7848	0,47874	DOWN
Glycosyl transferase	A9HH55	59916	66509	57954	24248	32338	32553	0,0005	61460	29713	0,48346	DOWN
Putative amidohydrolase	A9HMC5	29463	27622	32385	11469	15940	15891	0,0008	29823	14434	0,48397	DOWN
Uncharacterized protein	A9GZV1	17969	15847	10248	8627	6461	6451	0,0357	14688	7180	0,48883	DOWN
Uncharacterized protein	A9HI41	13383	10707	8687	6035	5159	4925	0,024	10926	5373	0,49177	DOWN
Putative gamma-glutamyltranspeptidase	A9H4A8	17424	18016	18439	8509	8939	9133	3E-05	17959	8860	0,49335	DOWN
Uncharacterized protein	A9HHE4	10757	9116	8672	4234	4916	4968	0,0048	9515	4706	0,49457	DOWN
Molybdopterin binding domain	A9HL54	20948	29413	28759	13042	13268	12890	0,0196	26373	13067	0,49545	DOWN
Putative molybdopterin biosynthesis protein moeA	A9HJ67	12248	13123	14587	5389	5359	9110	0,0084	13319	6619	0,49697	DOWN
PEBP family protein	A9HBI3	41209	40146	36852	15355	18935	24577	0,0039	39403	19622	0,498	DOWN
Uncharacterized protein	A9HAF1	17359	17752	19959	8558	9664	9242	0,0016	18356	9155	0,49871	DOWN
30S ribosomal protein S11	RS11	11034	15214	10868	7243	5796	5540	0,0181	12372	6193	0,50057	DOWN
UDP-3-O-acetylglucosamine N-acetyltransferase	A9HKU5	20490	19824	18312	8758	11270	9347	0,0003	19542	9792	0,50108	DOWN
Electron transfer flavoprotein alpha subunit	A9HEE9	90715	68652	87353	24386	59881	40447	0,0184	82240	41571	0,50549	DOWN
Conserved protein	A9H282	17111	16593	17841	8159	8568	9405	4E-05	17181	8711	0,50697	DOWN
Uncharacterized protein	A9HJK6	17995	18510	12520	4245	11209	9478	0,0239	16342	8311	0,50857	DOWN
Cell division protein FtsZ	A9HOK4	38113	36047	41762	20912	19647	18587	0,0016	38641	19715	0,51022	DOWN
Uncharacterized protein	A9HKE4	16455	17919	16441	8468	9190	8288	0,0003	16938	8649	0,51059	DOWN
Putative tonB-dependent receptor	A9HE38	181137	205378	182718	89697	104517	97531	0,0008	189744	97248	0,51252	DOWN
2-nitropropane dioxygenase	A9HF38	6749	7248	8257	4126	3992	3340	0,0026	7418	3819	0,51484	DOWN

Lytic murein transglycosylase	A9HI90	8207	5871	5194	3785	2895	3263	0,0335	6424	3314	0,51587	DOWN
Extracellular solute-binding protein family 1	A9HPE1	183473	200657	183022	105484	74281	113592	0,0036	189051	97786	0,51725	DOWN
Guanylate kinase	A9HDA8	14822	14067	11946	7913	8047	5222	0,0033	13612	7061	0,51872	DOWN
Metal-dependent carboxypeptidase	A9HKD9	8296	8686	9081	4372	4463	4747	0,0003	8688	4527	0,52113	DOWN
TonB-dependent receptor	A9HFL0	17700	15976	13330	8712	7792	8040	0,0117	15669	8182	0,52215	DOWN
Conserved protein	A9HIX3	76019	86333	81999	49447	36929	41693	0,0007	81450	42690	0,52412	DOWN
Carboxymethylenebutenolidase	A9H121	12733	14837	16235	7327	8631	7014	0,0048	14602	7657	0,52441	DOWN
Putative pyruvate dehydrogenase E2 component	A9HHP4	19975	23106	25187	12441	11465	12038	0,0083	22756	11981	0,5265	DOWN
Periplasmic serine endoprotease DegP-like	A9HBK9	32052	34132	31449	17977	16286	17214	0,0002	32544	17159	0,52725	DOWN
CRISPR-associated protein Cas5 family	A9HLC6	12021	7980	7971	4620	4916	5260	0,0401	9324	4932	0,52897	DOWN
Acyl-[acyl-carrier-protein]-UDP-N-acetylglucosamine O-acyltransferase	A9HKU0	23449	25757	24707	11174	14939	13002	0,0009	24638	13038	0,52919	DOWN
Flagellar L-ring protein	A9HHH1	10667	13859	14970	6316	7862	6729	0,0147	13166	6969	0,52933	DOWN
Cysteine synthase	A9HAE5	49819	55636	47781	25882	27345	27929	0,0033	51079	27052	0,52962	DOWN
Uncharacterized protein	A9HJS1	22991	20807	24413	10931	11776	13506	0,0009	22737	12071	0,53091	DOWN
2-isopropylmalate synthase	A9HMA2	26219	31438	31191	13593	17380	16278	0,002	29616	15750	0,53182	DOWN
Hopanoid biosynthesis associated radical SAM protein HpnH	A9HAA5	14672	17159	12903	6198	7892	9830	0,0068	14911	7974	0,53474	DOWN
Peptide methionine sulfoxide reductase MsrA	A9HI15	62830	50887	35328	32521	22710	25009	0,0441	49682	26746	0,53835	DOWN
Putative autotransporter protein	A9H4L1	21419	23089	19561	12052	10971	11754	0,0032	21356	11592	0,54281	DOWN
Putative serine carboxypeptidase	A9HS00	11293	14184	13657	7404	6571	7269	0,0078	13045	7081	0,54286	DOWN
Surface antigen protein	A9HAP4	76394	86198	72435	57817	24062	45730	0,0262	78342	42536	0,54295	DOWN
Putative ribonuclease D	A9HKL8	11492	11674	12264	7311	5171	6865	0,0041	11810	6449	0,54605	DOWN
UDP-N-acetyl muramoyl-L-alanyl-D-glutamate--2,6-diaminopimelate ligase	A9H0H5	6816	7854	7851	3736	4368	4324	0,0013	7507	4143	0,55186	DOWN
Uncharacterized protein	A9H6W0	31348	33217	31578	16844	19035	17257	5E-05	32048	17712	0,55267	DOWN
Uncharacterized protein	A9HIF7	7044	9041	8541	5495	4754	3367	0,0066	8209	4539	0,55288	DOWN
Uncharacterized protein	A9H4N6	7302	7881	8477	5166	4005	3995	0,0013	7886	4388	0,55646	DOWN
Phosphoglycerate mutase	A9HBZ6	33907	48659	42799	13391	26397	31326	0,0303	41789	23705	0,56725	DOWN
Putative TonB-dependent receptor	A9HDZ9	13217	11674	9688	6465	7642	5734	0,0114	11526	6614	0,57379	DOWN
Carboxy-terminal protease protein	A9H3A3	83503	82590	72937	45700	46390	45369	0,0047	79677	45820	0,57507	DOWN

Glutathione peroxidase	A9HKB6	22392	16994	14209	12735	7810	10289	0,0333	17865	10278	0,57532	DOWN
NADH-quinone oxidoreductase subunit C	A9HRU1	26955	28749	23630	13865	17735	14103	0,0025	26445	15234	0,57609	DOWN
Dipeptidyl-peptidase	A9H090	78086	77075	77184	46757	44056	43207	0,0002	77448	44674	0,57682	DOWN
Putative L-amino-acid oxidase	A9HN63	19512	26148	21260	12690	12042	14083	0,0166	22307	12938	0,58002	DOWN
Alkyl hydroperoxide reductase/ Thiol specific antioxidant/ Mal allergen	A9HFH9	16090	14522	11612	5203	10842	8526	0,0256	14075	8190	0,5819	DOWN
Peptidase	A9HEL6	42341	35454	37784	20644	23941	22677	0,0032	38527	22421	0,58196	DOWN
Alpha/beta hydrolase, chloride peroxidase	A9H000	45036	50386	45339	28661	25452	27860	0,0009	46920	27324	0,58236	DOWN
Oxidoreductase	A9HAF3	122064	141397	87709	52514	78152	74098	0,0352	117057	68255	0,58309	DOWN
Conserved protein	A9HS96	25780	38152	33915	18130	22702	16316	0,0225	32616	19049	0,58405	DOWN
Phenylalanine-tRNA ligase alpha subunit	SYFA	16308	15513	13396	9751	8658	8042	0,0034	15072	8817	0,58497	DOWN
Pyrrolo-quinoline quinone	A9H134	62593	71129	56418	32877	40139	38644	0,0061	63380	37220	0,58725	DOWN
Aldehyde dehydrogenase protein	A9H192	10238	11653	9039	5736	6433	6072	0,0121	10310	6080	0,58975	DOWN
Cold shock-like protein cspE	A9HIW8	146595	131939	90755	58393	80530	79852	0,0392	123096	72925	0,59242	DOWN
Uncharacterized protein	A9HCT2	70659	73712	43692	39563	44217	27751	0,049	62688	37177	0,59306	DOWN
Bifunctional protein GlmU	GLMU	6158	6059	6538	4312	3037	3778	0,0058	6252	3709	0,59326	DOWN
Insulinase protein	A9H438	22749	29788	26934	15812	14046	17308	0,01	26490	15722	0,5935	DOWN
Aldose 1-epimerase	A9HBF6	24210	17635	18313	13830	10957	10964	0,0213	20053	11917	0,59429	DOWN
6-phosphogluconolactonase	A9H335	68174	85098	55606	27748	43072	53442	0,0344	69626	41421	0,5949	DOWN
Succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit	A9HFD5	16529	15004	10524	7076	9073	9062	0,0377	14019	8404	0,59946	DOWN
Putative extracellular solute-binding protein, PotD/PotF family	A9HGR9	8431	10839	8274	5521	4936	6057	0,017	9181	5504	0,59951	DOWN
Octanoyltransferase	LIPB	9343	9741	11530	5668	7507	5263	0,0068	10205	6146	0,60227	DOWN
Aldehyde Dehydrogenase	A9H4V7	119347	135092	133563	71523	83319	79854	0,0009	129334	78232	0,60488	DOWN
Flagellar motor switch protein FliN	A9HHD1	56008	55985	59962	31583	38493	34894	0,0007	57319	34990	0,61045	DOWN
tRNA pseudouridine synthase B	TRUB	19412	24666	22973	11729	13280	16012	0,0066	22351	13674	0,61178	DOWN
D-ribose-binding periplasmic protein	A9HPK6	204671	226866	218241	123005	140066	134605	0,0003	216593	132559	0,61202	DOWN
DSBA oxidoreductase	A9HIK8	57450	42232	36092	29893	22130	31533	0,0471	45258	27852	0,61541	DOWN
Putative gamma-glutamyltranspeptidase	A9HJR4	21120	22054	24803	12576	14219	15120	0,0022	22659	13972	0,61662	DOWN
Flagellar P-ring protein	A9HH48	10264	12389	11993	7434	7221	6728	0,0071	11549	7128	0,61719	DOWN
Conseved protein	A9H247	9352	10748	11711	6181	7734	5830	0,0059	10604	6582	0,62071	DOWN

Periplasmic binding protein/LacI transcriptional regulator	A9HPB9	243558	266109	261095	150778	167279	162408	0,0003	256921	160155	0,62336	DOWN
30S ribosomal protein S9	A9H812	138299	127397	114897	64916	92473	79963	0,0055	126865	79117	0,62364	DOWN
Bifunctional NAD(P)H-hydrate repair enzyme	A9HRW0	7106	8304	9767	5696	5177	4899	0,0227	8392	5257	0,62642	DOWN
Putative membrane protein	A9H806	21713	23131	20414	12540	15582	12807	0,0017	21753	13643	0,62718	DOWN
Putative outer membrane protein	A9H6D3	3750	4556	3644	2122	2789	2596	0,0086	3983	2502	0,62817	DOWN
dCTP deaminase	A9HFN2	29274	31645	34151	17653	20277	21795	0,0017	31690	19908	0,62822	DOWN
Porin	A9HAM5	17221	17455	14947	11314	9651	10271	0,0027	16541	10412	0,62947	DOWN
Uridylate kinase	A9HKW8	52587	59911	66620	35202	36835	40917	0,0099	59706	37652	0,63062	DOWN
Glucokinase protein	A9HIS0	61499	66642	73657	39864	44527	42927	0,0056	67266	42439	0,63092	DOWN
ABC transporter related	A9HPE7	63165	71626	76433	45533	46392	41501	0,0063	70408	44475	0,63168	DOWN
Putative metallopeptidase	A9HRE6	31273	33830	29976	20370	19284	20561	0,0025	31693	20072	0,63332	DOWN
Conserved protein	A9HSH2	84762	65236	71649	39054	51077	51172	0,0115	73882	47101	0,63751	DOWN
Coenzyme PQQ synthesis protein B	PQQB	14838	15736	14222	12093	9506	6990	0,0284	14932	9529	0,6382	DOWN
Putative flavin reductase	A9HE57	17779	13867	13422	9191	8124	11487	0,0192	15023	9600	0,63906	DOWN
Putative polysaccharide export protein	A9HMV6	50976	53726	52640	31046	36368	33941	0,0008	52447	33785	0,64417	DOWN
NADP oxidoreductase coenzyme F420-dependent	A9HL93	31484	39635	37175	23990	26754	19445	0,0087	36098	23396	0,64814	DOWN
GTP cyclohydrolase 1	A9HAP7	12140	11520	9169	8800	6722	5806	0,0195	10943	7109	0,64969	DOWN
Nitrilase/cyanide hydratase	A9GZH7	26791	27824	27903	16818	16535	20571	0,0066	27506	17975	0,65348	DOWN
Outer membrane protein assembly factor BamA	A9HKV0	37699	40176	31518	26671	19366	25514	0,0109	36464	23850	0,65407	DOWN
Protein-L-isoaspartate O-methyltransferase	A9HI07	116628	133150	121899	74891	86187	82552	0,0015	123892	81210	0,65549	DOWN
Alkyl hydroperoxide reductase/ Thiol specific antioxidant/ Mal allergen	A9H3W7	71116	61226	53035	48471	34967	38451	0,0179	61792	40629	0,65752	DOWN
Maf-like protein GDI1438	A9HFL9	4537	4421	3208	3077	2295	2628	0,031	4055	2667	0,65752	DOWN
Enoyl-CoA hydratase/isomerase	A9HE55	24400	25743	27484	15215	20383	15682	0,0087	25876	17094	0,6606	DOWN
Adenylate kinase	KAD	76103	64572	52564	51480	37075	39445	0,0324	64413	42667	0,6624	DOWN
NADH-quinone oxidoreductase subunit B 2	NUOB2	35542	38701	41423	25466	23015	28149	0,0024	38556	25543	0,66251	DOWN
dTDP-4-dehydrorhamnose reductase	A9H3H6	6915	6214	5364	3843	4488	3951	0,0143	6164	4094	0,66415	DOWN
Porin	A9HPF6	29752	33953	27743	20258	18250	22312	0,0068	30483	20273	0,66507	DOWN
Molybdopterin biosynthesis protein moeB	A9HEI1	8093	9309	10774	6596	7282	4899	0,0205	9392	6259	0,66644	DOWN
Uncharacterized protein	A9HBZ1	15848	17034	16777	9266	12114	11802	0,0078	16553	11061	0,6682	UNCHANGED

3-mercaptopyruvate sulfurtransferase	A9HJI4	25617	27370	29243	17550	18381	19192	0,0028	27410	18374	0,67035	UNCHANGED
Putative transporter protein	A9H3U2	8246	9316	7578	6185	5239	5479	0,008	8380	5634	0,67232	UNCHANGED
Conjugal transfer	A9HT68	87689	111018	100484	65327	69444	66769	0,0184	99730	67180	0,67361	UNCHANGED
Conserved protein	A9HFQ7	44145	47357	47239	24546	36277	32654	0,0198	46247	31159	0,67375	UNCHANGED
6-phosphogluconate dehydrogenase NAD-binding	A9HL10	15292	14465	12860	7922	12420	8429	0,0319	14205	9590	0,67511	UNCHANGED
50S ribosomal protein L1	RL1	91176	76830	94342	66533	48488	62890	0,0109	87449	59304	0,67815	UNCHANGED
2-octaprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase	A9HMD1	7113	9246	10584	5319	6231	6762	0,0442	8981	6104	0,67965	UNCHANGED
TonB-dependent receptor	A9H932	63727	65905	53074	37238	46767	40228	0,0098	60902	41411	0,67996	UNCHANGED
Polyphenol oxidase	A9HBY8	20030	20171	19530	13479	14693	12557	0,0028	19910	13576	0,68189	UNCHANGED
Oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase	A9HK65	22536	23239	19947	14986	14447	15384	0,0074	21907	14939	0,68192	UNCHANGED
Conserved protein	A9HAR7	21065	22605	21714	11229	18393	15145	0,037	21795	14922	0,68467	UNCHANGED
Phosphate-binding protein PstS	A9H9X2	69914	74043	66754	45934	48558	49777	0,0012	70237	48090	0,68468	UNCHANGED
Putative outer membrane protein	A9HQ6	24991	26854	26429	15512	20615	17622	0,0102	26091	17916	0,68667	UNCHANGED
Pyridine nucleotide-disulphide oxidoreductase	A9HDE6	63667	81275	80307	49501	51321	53985	0,0242	75083	51602	0,68727	UNCHANGED
Conserved protein	A9HHA4	82806	111755	116001	65079	73664	75114	0,0401	103521	71285	0,68861	UNCHANGED
Tol-Pal system protein TolB	A9HB04	133077	155911	131872	86572	108198	95092	0,0067	140287	96620	0,68874	UNCHANGED
Cold-shock DNA-binding domain protein	A9HK34	24738	23370	20714	14772	19534	13135	0,022	22941	15814	0,68932	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase zinc-binding domain protein	A9HNN4	26611	27190	28280	17671	20328	18599	0,0008	27360	18866	0,68954	UNCHANGED
Glucans biosynthesis protein G	A9HBM4	37955	45547	43462	28282	28022	31270	0,0078	42321	29191	0,68976	UNCHANGED
HAD-superfamily hydrolase, subfamily IA, variant 3	A9HDX4	12541	16254	16572	10528	10737	10066	0,0328	15122	10444	0,69062	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HMQ3	91271	98269	101151	60229	72721	68057	0,0018	96897	67002	0,69148	UNCHANGED
3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase CysQ	A9H1J6	18669	23744	20368	12013	18972	12565	0,0425	20927	14517	0,69369	UNCHANGED
Fucose operon fucU protein	A9HPM0	11020	11220	14309	7827	9153	8376	0,0295	12183	8452	0,69373	UNCHANGED
Threonylcarbamoyl-AMP synthase	A9H1J9	13263	12523	12370	8022	9653	8814	0,0022	12719	8830	0,69424	UNCHANGED
Phosphoglucomutase	A9HSH5	56823	66318	74841	46327	42700	49042	0,0245	65994	46023	0,69738	UNCHANGED
Serine protease	A9HEK6	135716	134287	127746	84511	98087	95154	0,0013	132583	92584	0,69831	UNCHANGED
Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	A9HFF9	38102	40652	38365	29661	26561	25892	0,0009	39040	27371	0,70111	UNCHANGED
Putative D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	A9HFV9	25809	21357	19189	15050	16043	15480	0,0372	22118	15524	0,70187	UNCHANGED
Fructose-1,6-bisphosphatase	A9HCQ2	146205	175677	151903	100868	116919	115018	0,009	157929	110935	0,70244	UNCHANGED

Uncharacterized protein	A9HRD5	40761	49897	46601	29909	30722	35797	0,0088	45753	32143	0,70253	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase GroES domain protein	A9H073	15631	16913	17728	11342	12283	11889	0,0034	16757	11838	0,70643	UNCHANGED
Fructose-bisphosphate aldolase class 1	A9H6A5	105416	117919	89873	77445	68823	75981	0,0266	104403	74083	0,70959	UNCHANGED
30S ribosomal protein S8	RS8	144767	142244	146597	105444	112161	92091	0,0082	144536	103232	0,71423	UNCHANGED
Putative dihydro-orotase protein	A9GZR4	17985	21164	23210	14208	15257	15139	0,0271	20786	14868	0,71529	UNCHANGED
Inorganic pyrophosphatase	A9H4G5	311708	283766	306750	201024	246886	199363	0,008	300741	215758	0,71742	UNCHANGED
Amidinotransferase	A9HNM6	9826	10788	12362	7616	8506	7659	0,0197	10992	7927	0,72114	UNCHANGED
Conserved protein	A9H314	33483	36376	38183	26440	26450	25244	0,0064	36014	26045	0,72319	UNCHANGED
Gamma-glutamyltranspeptidase	A9HM18	53129	53163	55000	34880	44617	37166	0,0162	53764	38888	0,7233	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HHW9	28801	35947	32331	25174	19235	25816	0,0191	32359	23408	0,72338	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HK68	11531	14183	13418	8703	10885	8747	0,0142	13044	9445	0,72411	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H9H3	17037	19965	15431	12224	13427	12524	0,0306	17478	12725	0,72808	UNCHANGED
Chemotaxis response regulator protein-glutamate methyltransferase	A9HHG0	30284	32312	33856	20386	26335	23599	0,0094	32151	23440	0,72907	UNCHANGED
Transcription termination/antitermination protein NusG	A9H988	62414	62811	54562	42592	48253	40954	0,0055	59929	43933	0,73308	UNCHANGED
Triosephosphate isomerase	TPIS	47151	54989	47708	33677	41117	35160	0,0089	49950	36651	0,73376	UNCHANGED
NADP-dependent L-serine/L-allo-threonine dehydrogenase	A9H4E8	88475	100775	88398	55860	77234	72087	0,0214	92549	68394	0,739	UNCHANGED
TonB-dependent Receptor protein	A9HFV5	217120	245544	205459	167591	160253	165974	0,0178	222708	164606	0,73911	UNCHANGED
Bacteriocin protein	A9H5P1	39974	45566	39666	30891	30700	30975	0,0147	41736	30855	0,7393	UNCHANGED
Ubiquinol oxidase subunit 2	A9HK01	99440	85757	91249	59660	72494	73125	0,0082	92149	68426	0,74256	UNCHANGED
S-adenosylmethionine synthase	METK	47837	51931	52851	36323	31997	45140	0,0311	50873	37820	0,74343	UNCHANGED
Adenosylhomocysteinase	A9HFJ7	14164	16076	17728	11046	11160	13558	0,0195	15989	11921	0,74558	UNCHANGED
Ribokinase	A9H0C5	10231	13179	11475	8230	9807	8145	0,0278	11628	8728	0,75056	UNCHANGED
Argininosuccinate synthase	ASSY	48362	54230	56280	39308	40547	40209	0,0148	52957	40022	0,75573	UNCHANGED
Putative glycyl aminopeptidase	A9HN12	40604	49146	44902	31265	36732	34430	0,0141	44884	34143	0,76068	UNCHANGED
Alpha-ribazole phosphatase	A9HH08	15734	15633	12988	11917	9283	12630	0,031	14785	11276	0,76268	UNCHANGED
Outer membrane protein	A9H3F7	11181	13561	14652	8806	11494	9871	0,04	13131	10057	0,76587	UNCHANGED
Ribosome maturation factor RimP	RIMP	35457	33567	32209	26309	26604	24990	0,0026	33744	25968	0,76955	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HT76	91057	89581	101939	67354	71313	79498	0,0078	94192	72722	0,77206	UNCHANGED

4

Putative CinA-like	A9HJD6	12582	11809	14423	9749	11281	9057	0,0236	12938	10029	0,77516	UNCHANGED
Electron transfer flavoprotein subunit beta	A9HEE6	67416	74070	74374	54275	54324	58738	0,0032	71953	55779	0,77521	UNCHANGED
Ferredoxin--NADP reductase	FENR	25432	28965	29538	18915	21974	24793	0,025	27979	21894	0,78254	UNCHANGED
Aminopeptidase	A9HFU5	66754	76078	79030	46103	63577	64132	0,0481	73954	57937	0,78342	UNCHANGED
Two-component response regulator	A9HFR4	22261	24473	21151	17404	17949	18014	0,0171	22628	17789	0,78614	UNCHANGED
MltA domain protein	A9HK87	6520	7113	7687	5621	5351	5891	0,0157	7106	5621	0,79098	UNCHANGED
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	A9HIQ1	159157	171750	146171	119611	131371	128470	0,0154	159026	126484	0,79537	UNCHANGED
Acetyl-coenzyme A carboxyl transferase subunit alpha	ACCA	69397	69111	74048	49372	63025	57381	0,0269	70852	56593	0,79875	UNCHANGED
Gluconate 2-dehydrogenase (Acceptor)	A9HK15	165447	159447	143438	126756	119798	127670	0,0145	156110	124741	0,79906	UNCHANGED
Putative 6-phosphogluconolactonase	A9HJ42	19500	22673	18812	16264	16653	16051	0,0374	20328	16322	0,80294	UNCHANGED
Ubiquinone/menaquinone biosynthesis C-methyltransferase UbiE	A9HI27	43846	49405	50409	37430	37681	40309	0,0142	47887	38473	0,80343	UNCHANGED
Outer membrane efflux protein	A9H3U0	6858	6876	8351	5272	6660	5907	0,0467	7362	5946	0,80772	UNCHANGED
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase	A9HHX8	23520	21077	18466	17680	16103	17253	0,0497	21021	17012	0,80931	UNCHANGED
Preprotein translocase, SecG subunit	A9HJ83	22680	22637	20427	16651	18289	18365	0,0066	21915	17768	0,81079	UNCHANGED
ATP phosphoribosyltransferase regulatory subunit	A9HLQ2	21867	22688	19902	14986	18212	19116	0,0317	21486	17438	0,81161	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H8H8	120700	137805	135211	103623	120849	95619	0,0306	131238	106697	0,813	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase	A9HBQ8	4376	4784	4035	3456	3799	3513	0,0229	4398	3589	0,81598	UNCHANGED
Trehalose 6-phosphate phosphatase	A9HBU3	27159	32031	31518	26431	24467	23544	0,0259	30236	24814	0,82068	UNCHANGED
Putative ABC transporter ATP-binding protein in rpoN region	A9HKM9	21705	21383	22370	15841	19330	18567	0,0287	21820	17913	0,82095	UNCHANGED
Ornithine carbamoyltransferase	A9HFT5	23031	26289	28474	20926	20733	22336	0,0446	25931	21332	0,82262	UNCHANGED
Aminotransferase	A9HSE9	58839	67541	69613	53981	50276	57058	0,0257	65331	53772	0,82306	UNCHANGED
FAD linked oxidase domain protein	A9H1K4	20915	21557	25100	17923	20080	17739	0,0368	22524	18581	0,82492	UNCHANGED
Serine--tRNA ligase	SYS	29186	28850	30028	25228	22109	25366	0,0153	29355	24234	0,82556	UNCHANGED
Carbamoyl-phosphate synthase small chain	A9H1P4	29867	27936	26682	22974	23117	23863	0,0134	28162	23318	0,82801	UNCHANGED
Biopolymer transport exbB protein	A9HF70	135831	139947	122821	115497	102654	112975	0,0143	132866	110375	0,83073	UNCHANGED
PrkA serine protein kinase	A9HIB1	20845	25036	21787	17453	19069	19994	0,0399	22556	18838	0,83519	UNCHANGED
50S ribosomal protein L5	A9H3M8	134719	144915	148715	121510	122960	113845	0,0067	142783	119439	0,8365	UNCHANGED
Putative penicillin-binding protein	A9H435	21476	22312	22846	17317	21112	18345	0,044	22211	18925	0,85204	UNCHANGED

Secretion protein, HlyD-family	A9HA48	14723	14776	13682	12505	12191	12274	0,0112	14394	12324	0,85619	UNCHANGED
Orotidine 5'-phosphate decarboxylase	A9HES3	12248	12417	12433	9993	11229	10541	0,0176	12366	10588	0,85619	UNCHANGED
Bifunctional enzyme IspD/IspF	A9HLU2	26769	29383	30875	23285	26586	25032	0,0304	29009	24968	0,86068	UNCHANGED
Carbonic anhydrase	A9HL77	63585	61556	66481	49896	58734	57287	0,0344	63874	55306	0,86586	UNCHANGED
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	A9HM29	335233	369225	386251	302809	343485	319420	0,0491	363570	321904	0,8854	UNCHANGED
Delta-aminolevulinic acid dehydratase	A9HRP9	22581	21960	23152	18196	20825	20997	0,0458	22565	20006	0,88662	UNCHANGED
Multidrug resistance protein A	A9H3B5	15843	17999	17287	15241	15519	14705	0,0412	17043	15155	0,88923	UNCHANGED
Histidinol-phosphate aminotransferase	HIS8	15675	16978	17335	14094	15731	15094	0,0359	16663	14973	0,89861	UNCHANGED
CRISPR-associated protein, Cse4 family	A9HLC8	20936	20842	20483	19389	18076	18961	0,0133	20754	18809	0,90628	UNCHANGED
Peptide chain release factor 2	A9HF65	17762	19155	18425	16769	17128	17420	0,0305	18447	17106	0,92727	UNCHANGED
30S ribosomal protein S1	A9H459	99843	104173	109190	110610	115493	113561	0,0312	104402	113221	1,08447	UNCHANGED
GMP synthase [glutamine-hydrolyzing]	A9H085	8606	8214	7598	9188	9035	8676	0,0437	8139	8967	1,10168	UNCHANGED
Alkyl hydroperoxide reductase/ Thiol specific antioxidant/ Mal allergen	A9H8D6	292221	333980	296753	374121	323192	355082	0,0484	307652	350798	1,14025	UNCHANGED
Isochorismatase hydrolase	A9H559	5072	4959	5589	5672	6136	6141	0,0189	5207	5983	1,14909	UNCHANGED
Putative dehydrogenase	A9HQE8	22190	23939	26303	26619	29004	30470	0,025	24144	28698	1,18859	UNCHANGED
DEAD/DEAH box helicase domain protein	A9H0S9	18069	20317	20688	21000	25668	23684	0,0451	19691	23451	1,19092	UNCHANGED
Conserved protein	A9HBW8	10512	11241	12864	12792	13900	14538	0,0342	11539	13743	1,19101	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HCR3	13318	16686	13928	18037	17720	17389	0,0465	14644	17715	1,20975	UNCHANGED
Chaperone protein dnaJ	A9HAH3	67333	66865	67474	78312	85377	81069	0,0096	67224	81586	1,21364	UNCHANGED
Phosphoribosylglycinamide formyltransferase	A9HJV2	8081	8373	8549	9459	11069	9979	0,0257	8334	10169	1,22016	UNCHANGED
Acetylglutamate kinase	ARGB	25394	25562	26446	30755	33621	31385	0,0058	25801	31920	1,23719	UNCHANGED
NADH dehydrogenase (Ubiquinone)	A9HKL6	24255	25638	27331	29735	34082	32806	0,0093	25741	32208	1,25119	UNCHANGED
Dihydroorotate dehydrogenase (quinone)	A9HBE5	22540	21341	23851	25496	29706	29950	0,0191	22577	28384	1,2572	UNCHANGED
Phosphoribosylformylglycinamide synthase subunit PurS	A9HJF5	49425	52797	45294	54332	65442	66156	0,029	49172	61977	1,26041	UNCHANGED
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(P)+]	A9HKA6	6447	6001	5402	6847	8322	7410	0,0229	5950	7526	1,26497	UNCHANGED
Acetoin(Diacetyl) reductase	A9HHS9	21128	20464	20466	24922	27997	25633	0,0112	20686	26184	1,26577	UNCHANGED
Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH]	A9H0U5	17956	17267	21232	21920	24410	25647	0,0175	18818	23992	1,27495	UNCHANGED
Ubiquinone biosynthesis O-methyltransferase	A9HJ43	24111	24663	29456	33934	31748	34152	0,0174	26077	33278	1,27615	UNCHANGED
Aminotransferase	A9H801	6626	7854	7880	9588	9142	9938	0,0097	7453	9556	1,28213	UNCHANGED

▼

Inositol-1-monophosphatase	A9H6E0	19456	21410	23731	25914	29456	27794	0,0097	21532	27721	1,28742	UNCHANGED
50S ribosomal protein L6	RL6	48133	47840	35443	61306	56868	52738	0,0336	43805	56971	1,30054	UNCHANGED
Cysteine desulfurase	A9HRY2	34035	36404	37932	44246	51857	45389	0,0134	36123	47164	1,30563	UNCHANGED
Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	AHPD	69381	73435	63941	94930	90920	88635	0,002	68919	91495	1,32757	UNCHANGED
Enolase-phosphatase E1	MTNC	12014	11704	11480	14320	16063	16694	0,0131	11733	15692	1,33749	UNCHANGED
Gamma-glutamyl phosphate reductase	A9HC10	7281	6037	6536	8703	8176	9696	0,0095	6618	8858	1,33852	UNCHANGED
D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	A9HIU7	3511	4064	5099	5737	4817	6479	0,0478	4224	5678	1,344	UNCHANGED
Glycine cleavage system aminomethyltransferase T	A9HM51	43029	45847	53379	64104	64071	63357	0,0165	47418	63844	1,3464	UNCHANGED
Signal recognition particle receptor FtsY	A9HM31	8950	7461	9510	10339	12789	11858	0,0168	8640	11662	1,34977	UNCHANGED
Glycine-tRNA ligase beta subunit	A9HM86	5929	7757	8645	8576	10940	11220	0,0365	7444	10245	1,37633	UNCHANGED
Transcriptional regulator protein	A9HF00	9340	10568	13316	14708	14731	16640	0,0236	11074	15360	1,38696	UNCHANGED
Aspartate-semialdehyde dehydrogenase	A9HFE5	25680	34167	35359	37029	48849	46210	0,0303	31735	44029	1,38739	UNCHANGED
Cysteine synthase	A9HFX5	26862	29269	28300	33009	40311	43831	0,0348	28144	39050	1,38753	UNCHANGED
Ferrochelatase	A9HEQ4	13989	14469	18339	18165	22726	24219	0,03	15599	21703	1,39133	UNCHANGED
Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase	A9HRE1	39262	38944	43864	53244	64467	53189	0,0171	40690	56967	1,40002	UNCHANGED
Methionyl-tRNA formyltransferase	FMT	11469	10022	10790	16081	15488	13786	0,0048	10760	15118	1,405	UNCHANGED
ABC transporter ATP-binding protein	A9H4G2	6623	7681	8536	11563	9074	11525	0,0211	7613	10721	1,40813	UNCHANGED
Hydroxyacylglutathione hydrolase	A9H1G0	11976	15343	14295	17408	19785	21584	0,0116	13871	19592	1,41242	UNCHANGED
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9HIY5	69346	59540	70264	85304	105720	90868	0,0133	66384	93964	1,41547	UNCHANGED
ATP synthase subunit delta	ATPD	13594	12134	13667	21418	16096	18314	0,0297	13132	18610	1,41716	UNCHANGED
N5-carboxyaminoimidazole ribonucleotide mutase	A9HHQ7	9258	9400	8903	13471	12890	12986	5E-05	9187	13116	1,42763	UNCHANGED
Putative short-chain dehydrogenase	A9HAC6	11479	11189	12117	18572	16127	15047	0,017	11595	16582	1,43012	UNCHANGED
Transcription termination/antitermination protein NusA	A9HF12	8862	9698	13348	13719	15127	17050	0,0284	10636	15299	1,43839	UNCHANGED
aldehyde dehydrogenase	A9HB30	4103	4168	4499	5304	7061	6036	0,0297	4256	6134	1,44103	UNCHANGED
Fumarate hydratase class I	A9HBG7	13311	11610	18183	17194	24074	20873	0,043	14368	20714	1,44163	UNCHANGED
Putative 2-nitropropane dioxygenase	A9HJ45	5298	4679	5487	7328	7758	7261	0,0013	5155	7449	1,44513	UNCHANGED
FeS assembly protein SufC	A9HRY6	37856	40127	48226	52517	68271	62886	0,0162	42070	61225	1,45532	UNCHANGED
Acetylornithine aminotransferase	A9HFT8	45543	55045	53764	64853	83968	79018	0,016	51451	75946	1,47609	UNCHANGED
Glucose-1-phosphate thymidyltransferase	A9HH12	7929	9581	13574	14126	14773	17060	0,0391	10361	15320	1,47856	UNCHANGED

▼

Phenylalanine--tRNA ligase beta subunit	A9H165	11674	12878	14254	18065	20053	19432	0,0017	12935	19183	1,48305	UNCHANGED
Ribose-5-phosphate isomerase A	A9H338	31768	22597	33239	39182	45550	45916	0,0145	29201	43549	1,49136	UNCHANGED
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	A9HJA9	30019	29955	45947	48808	55387	54285	0,0332	35307	52827	1,4962	UNCHANGED
60 kDa chaperonin 2	CH602	27400	25993	27733	36430	39539	45608	0,0168	27042	40525	1,4986	UNCHANGED
D-xylose ABC transporter, periplasmic substrate-binding protein	A9HNP0	185027	196528	224659	125545	171372	177072	0,0501	202071	157996	0,78188	UNCHANGED
Threonine synthase	A9HKE7	30677	25149	23041	19406	20172	19661	0,0507	26289	19747	0,75114	UNCHANGED
Multifunctional fusion protein	A9H0J6	27667	29142	15262	8187	14965	14278	0,0513	24024	12477	0,51936	UNCHANGED
Peptidase U62 modulator of DNA gyrase	A9HKF2	16651	19487	22611	16221	13322	15719	0,0516	19583	15088	0,77044	UNCHANGED
Nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase	A9H8C5	41380	25880	39989	49198	51905	45618	0,0519	35750	48907	1,36802	UNCHANGED
Cytokinin riboside 5'-monophosphate phosphoribohydrolase	A9HEM3	39915	50112	41632	30851	38519	37381	0,0544	43887	35584	0,81082	UNCHANGED
Putative xanthine dehydrogenase iron-sulfur-binding subunit	A9H189	12378	11566	15326	6586	12078	6511	0,0548	13090	8392	0,64108	UNCHANGED
50S ribosomal protein L10	RL10	77027	81104	82432	85385	95175	105355	0,0553	80187	95305	1,18853	UNCHANGED
Conserved protein	A9HRX3	10449	8035	5295	5233	4749	2543	0,0556	7926	4175	0,52675	UNCHANGED
D-amino acid dehydrogenase	A9HMX8	31463	34023	39799	37709	44594	42789	0,0557	35095	41697	1,18812	UNCHANGED
UDP-N-acetylglucosamine--N-acetylmuramyl-(pentapeptide) pyrophosphoryl-undecaprenol N-acetylglucosamine transferase	A9H0J0	5546	5603	5713	2092	4598	4024	0,0567	5621	3571	0,63541	UNCHANGED
50S ribosomal protein L11	RL11	56612	64562	46641	46899	42405	39696	0,0578	55938	43000	0,76871	UNCHANGED
Beta-lactamase-like protein	A9HC31	9457	6387	6328	13814	9522	9608	0,0582	7390	10981	1,48587	UNCHANGED
ATP synthase epsilon chain	ATPE	34886	35739	40751	39263	46712	42466	0,0583	37125	42813	1,15321	UNCHANGED
Nitrogen regulatory protein P-II	A9HMD4	56927	52446	40988	43419	34767	37242	0,0588	50121	38476	0,76767	UNCHANGED
Lysine--tRNA ligase	A9HK29	5625	7029	7516	7661	8624	8027	0,0597	6723	8104	1,20539	UNCHANGED
Transcriptional regulator, CarD family	A9HIN7	29563	28257	12620	8793	11047	8414	0,0599	23480	9418	0,4011	UNCHANGED
Putative Aldose 1-epimerase	A9HDX0	12493	14793	14086	8357	12745	11040	0,061	13791	10714	0,77689	UNCHANGED
Dehydrogenase	A9H159	10974	11116	9928	11328	13963	12273	0,0616	10672	12521	1,17326	UNCHANGED
Putative endoribonuclease protein	A9HN59	6087	4223	3610	3579	2359	2631	0,0617	4640	2856	0,61554	UNCHANGED
ATP synthase subunit alpha	ATPA	114074	119500	150042	142307	164571	157270	0,062	127872	154716	1,20993	UNCHANGED
Phosphoribosylformylglycinamide subunit PurQ synthase	A9HJG0	22591	18120	20700	12059	10855	19400	0,0623	20470	14105	0,68903	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H3D7	40252	27250	19972	16549	12410	14197	0,0626	29158	14385	0,49336	UNCHANGED

4

ROS/MUCR transcriptional regulator protein	A9HFC1	2922	3491	2383	3730	3797	3706	0,0627	2932	3744	1,277	UNCHANGED
Lipoprotein SmpA/OmlA family	A9HS35	34300	32171	35366	21778	9788	28735	0,0628	33946	20100	0,59212	UNCHANGED
Putative rare lipoprotein A	A9HI92	18617	19833	8655	5226	5120	11498	0,0632	15702	7281	0,46372	UNCHANGED
OmpA/MotB domain protein	A9GZP4	26320	28523	51490	15412	14629	15116	0,0633	35444	15052	0,42468	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HBG4	15134	13848	14698	12039	14226	12940	0,0647	14560	13069	0,89755	UNCHANGED
Outer membrane protein	A9HA51	12991	15730	15758	16059	17158	17614	0,0665	14826	16943	1,1428	UNCHANGED
Putative amine oxidase	A9HGY5	4554	6780	6631	4131	4723	4036	0,0667	5988	4297	0,71751	UNCHANGED
Uracil phosphoribosyltransferase	A9H391	5551	5260	4359	4018	4144	4524	0,0668	5057	4228	0,83622	UNCHANGED
Dihydrolipoyl dehydrogenase	A9HFH1	33850	46865	52712	48251	72876	82416	0,0672	44476	67848	1,5255	UNCHANGED
N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase	A9HLR0	34597	38255	43371	28773	35949	32977	0,0682	38741	32566	0,84062	UNCHANGED
3-isopropylmalate dehydratase large subunit	A9HS56	22707	9022	32658	5860	5605	3578	0,0684	21462	5014	0,23363	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HPC7	8972	10978	10554	7744	8931	9407	0,0684	10168	8694	0,85503	UNCHANGED
Quinone oxidoreductase	A9H7Y9	10668	14229	12523	9648	11161	9655	0,0694	12473	10154	0,81409	UNCHANGED
ATP synthase subunit beta	ATPB	59088	64999	97842	96849	90435	117890	0,0699	73976	101725	1,3751	UNCHANGED
Conservev protein	A9GZU8	65479	47308	30963	26277	23139	23635	0,0703	47917	24350	0,50818	UNCHANGED
Putative nitroreductase family protein	A9GZY4	29209	12363	28303	12241	13306	7432	0,0717	23292	10993	0,47196	UNCHANGED
Putative phosphoserine aminotransferase	A9HLQ7	4961	5712	6731	6415	7496	6923	0,0723	5802	6945	1,19703	UNCHANGED
NADPH dehydrogenase	A9H535	18861	19331	16928	14265	14290	18112	0,0732	18373	15555	0,84664	UNCHANGED
Phosphate import ATP-binding protein PstB	A9H9W2	8609	9163	10705	7660	8125	8562	0,0734	9492	8116	0,85496	UNCHANGED
Outer membrane protein	A9HKU8	5687	2815	4700	3066	2759	1839	0,0735	4401	2555	0,5805	UNCHANGED
Transcription elongation factor GreA	A9H1Q0	41393	32353	20706	14920	11350	26768	0,0736	31484	17679	0,56153	UNCHANGED
50S ribosomal protein L7/L12	RL7	108883	74418	73271	106433	167250	111455	0,074	85524	128379	1,50109	UNCHANGED
Riboflavin biosynthesis protein	A9H8G8	7651	7891	8813	4808	7915	5321	0,0745	8118	6014	0,74088	UNCHANGED
Conserved protein	A9HHR5	23135	24908	14468	18841	10252	10383	0,0749	20837	13159	0,63151	UNCHANGED
Putative regulatory protein	A9HF98	23080	26269	25689	26078	27449	27896	0,0752	25013	27141	1,08509	UNCHANGED
Pyruvate kinase	A9HEH3	84052	99133	113660	109747	115208	142017	0,0757	98948	122324	1,23624	UNCHANGED
Putative N-carbamoyl-L-amino acid amidohydrolase	A9HJT7	11283	8837	11145	7330	8844	9594	0,0769	10422	8589	0,8242	UNCHANGED
Lipoprotein-releasing system ATP-binding protein LolD	A9HRR2	4344	3531	2055	2333	1514	1760	0,0769	3310	1869	0,5647	UNCHANGED
Peptidase protein	A9HET1	16450	22174	22165	24494	25511	23061	0,077	20263	24355	1,20194	UNCHANGED

▼

Putative chemotaxis protein cheA	A9HHF0	4202	4553	6415	5757	7250	6608	0,0776	5056	6538	1,29304	UNCHANGED
Mammalian cell entry related domain protein	A9H983	9558	10663	10760	8870	9897	9603	0,0776	10327	9457	0,9157	UNCHANGED
30S ribosomal protein S6	RS6	9769	6426	11205	9726	15194	13938	0,078	9133	12953	1,41818	UNCHANGED
50S ribosomal protein L15	RL15	19601	17783	15793	18888	32975	36386	0,078	17726	29416	1,65953	UNCHANGED
RNA-binding protein Hfq	HFQ	59734	46262	29665	37089	14351	26381	0,0785	45220	25940	0,57364	UNCHANGED
Glycerol kinase	A9HHY3	134031	165589	198606	109213	138668	132195	0,0785	166075	126692	0,76286	UNCHANGED
UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	A9HJ15	133062	124797	123781	129743	147447	137101	0,0789	127213	138097	1,08556	UNCHANGED
Glycine dehydrogenase (decarboxylating)	A9HM48	2821	3377	4086	3759	4254	5275	0,0803	3428	4429	1,29202	UNCHANGED
Signal peptidase I	A9H4M0	18372	15332	12675	19435	19015	18600	0,0803	15460	19017	1,23008	UNCHANGED
NADH-quinone oxidoreductase subunit I	A9HRS9	17328	13350	5158	3789	3673	5203	0,0808	11945	4222	0,3534	UNCHANGED
Conserved protein	A9H137	9942	5585	5682	3968	5568	2763	0,0825	7069	4100	0,57992	UNCHANGED
Hopanoid-associated sugar epimerase	A9HGZ6	33081	42795	38710	42229	43500	46169	0,083	38195	43966	1,15108	UNCHANGED
Tryptophan--tRNA ligase	A9HIP8	10972	13891	12366	10406	10602	10900	0,0833	12410	10636	0,85705	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H8I6	17680	16700	13643	15276	11997	12784	0,0842	16008	13352	0,83413	UNCHANGED
Inositol-1-monophosphatase	A9HRD4	36538	36904	33418	24569	31176	34035	0,0845	35620	29927	0,84017	UNCHANGED
Orotate phosphoribosyltransferase	A9HII0	41504	44115	52608	23434	26622	45771	0,0846	46076	31942	0,69325	UNCHANGED
NAD(P)H dehydrogenase (quinone)	NQOR	30143	35241	39629	24046	34021	26871	0,0867	35004	28313	0,80884	UNCHANGED
Geranyltransterase	A9HIR3	23230	21358	19022	23633	22768	24503	0,0868	21204	23635	1,11464	UNCHANGED
PKHD-type hydroxylase GDI1238/Gdia_1949	Y1238	93875	98885	47438	46805	45965	45514	0,0869	80066	46095	0,57571	UNCHANGED
4-hydroxythreonine-4-phosphate dehydrogenase	A9HET4	14191	15068	13428	18019	24676	16027	0,087	14229	19574	1,37564	UNCHANGED
Putative iron-sulfur assembly protein	A9HLI4	40400	31055	22968	39220	40452	44924	0,0875	31474	41532	1,31955	UNCHANGED
33 kDa chaperonin	A9HFT1	3098	3082	2537	2629	2312	2661	0,0876	2905	2534	0,87213	UNCHANGED
NADPH-dependent 7-cyano-7-deazaguanine reductase	A9H9B4	9949	9694	7557	8325	4333	7303	0,0884	9067	6654	0,73386	UNCHANGED
Translation initiation factor IF-3	A9HFP7	21360	25135	3952	2894	4788	2923	0,0888	16816	3535	0,21022	UNCHANGED
Uroporphyrinogen decarboxylase	DCUP	22556	19738	19856	21331	24862	28952	0,089	20716	25048	1,20911	UNCHANGED
Ferredoxin--NADP reductase	A9HLF6	21711	19908	14465	15517	13964	13638	0,0896	18695	14373	0,76882	UNCHANGED
RNA-metabolising metallo-beta-lactamase protein	A9HRR8	77941	88341	91661	98855	173002	118761	0,0902	85981	130206	1,51436	UNCHANGED
Acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex	A9HJB2	13092	14596	21786	19127	20863	26288	0,0911	16492	22093	1,33964	UNCHANGED
Lipoprotein	A9HPJ3	41207	49304	47894	39030	44081	40662	0,0923	46135	41258	0,89428	UNCHANGED

▼

Ribosomal RNA large subunit methyltransferase E	A9HIS5	17923	17650	10686	12217	10645	9754	0,0938	15419	10872	0,70507	UNCHANGED
Gluconate 5-dehydrogenase	A9H995	92132	102390	110671	76056	102292	75201	0,094	101731	84516	0,83078	UNCHANGED
Putative nitrogen fixation protein	A9HFA7	33528	36549	33295	34612	110846	133101	0,0946	34457	92853	2,69473	UNCHANGED
Endoribonuclease L-PSP	A9HBS7	44553	28180	28212	21861	23382	23945	0,0951	33649	23063	0,68541	UNCHANGED
Aminotransferase	A9HSE7	6997	7308	7002	5591	6704	6799	0,0958	7103	6365	0,89611	UNCHANGED
Putative 2Fe-2S ferredoxin	A9HMI7	53565	82962	78097	62584	50148	50519	0,0959	71541	54417	0,76064	UNCHANGED
Acetoin reductase	A9HPB2	1994	6061	3922	6365	5294	6924	0,0965	3992	6194	1,5516	UNCHANGED
Putative cytochrome c551 peroxidase	A9HK81	15285	15345	17372	15806	20092	21005	0,0985	16001	18967	1,18541	UNCHANGED
Transcriptional regulator, IclR family/regucalcin	A9HL52	22928	26391	26507	18837	23909	23687	0,1027	25275	22144	0,87612	UNCHANGED
Protein TolR	A9HAZ8	45143	38374	28927	27023	27334	32711	0,1032	37482	29023	0,77432	UNCHANGED
Branched-chain-amino-acid aminotransferase	A9HNB7	50225	58028	46670	45379	44551	46676	0,1036	51641	45535	0,88176	UNCHANGED
Aminotransferase	A9HCQ6	15760	17980	17718	17027	19664	20732	0,1073	17153	19141	1,11593	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H3X9	54134	37791	32582	32274	32380	25663	0,1074	41502	30106	0,7254	UNCHANGED
50S ribosomal protein L4	RL4	94571	79566	42699	43969	43823	46885	0,1086	72279	44892	0,6211	UNCHANGED
Putative chemotaxis protein cheY	A9HHG3	64079	35967	39523	31214	32098	29228	0,1086	46523	30847	0,66304	UNCHANGED
Putative ribitol 2-dehydrogenase	A9HPG2	99157	117956	106953	57331	104275	89969	0,1087	108022	83858	0,77631	UNCHANGED
Electron transport protein SCO1/SenC	A9H4T2	26274	25837	57891	13773	18593	22455	0,1105	36667	18274	0,49836	UNCHANGED
Tryptophan synthase beta chain	A9HE87	16162	17083	22191	19384	21713	25612	0,1118	18479	22236	1,20333	UNCHANGED
Conserved protein	A9H9B9	35416	15625	37549	12399	19536	20909	0,1119	29530	17615	0,59649	UNCHANGED
ATP-dependent dethiobiotin synthetase BioD	A9HJ62	4674	7219	5526	3981	5165	4479	0,114	5806	4542	0,78219	UNCHANGED
Molybdenum cofactor biosynthesis protein B	A9HAM8	26942	29071	23366	26340	22423	18355	0,1153	26459	22372	0,84554	UNCHANGED
Putative lipoprotein vacJ	A9HBF3	16144	17029	15636	14739	16250	12776	0,1155	16269	14588	0,89667	UNCHANGED
Signal recognition particle protein	A9HS68	24167	28972	28439	29675	37983	28683	0,1174	27193	32114	1,18098	UNCHANGED
Putative Ubiquinol-cytochrome c reductase	A9H861	33326	34814	29932	33112	39624	35479	0,1174	32691	36072	1,10343	UNCHANGED
4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase (flavodoxin)	ISPG	5465	6762	8621	7320	9537	8696	0,121	6949	8517	1,22564	UNCHANGED
Folate-binding protein YgfZ	A9H151	6626	7122	22429	19984	20543	20987	0,1224	12059	20505	1,70037	UNCHANGED
Methionine-tRNA ligase	A9HIA3	3710	5237	5293	5652	5180	5877	0,1247	4747	5570	1,17333	UNCHANGED
ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit	A9HCR1	64102	57721	58166	57922	98603	79562	0,1252	59996	78696	1,31168	UNCHANGED
Phosphoglucomutase/phosphomannomutase alpha/beta/alpha domain I	A9H070	71095	67967	73192	55827	72415	60688	0,1255	70751	62977	0,89011	UNCHANGED

▼

Histidine--tRNA ligase	SYH	7509	9325	9330	8399	11483	10948	0,1259	8721	10277	1,17835	UNCHANGED
Putative 2-keto-4-pentenoate hydratase-like	A9HDT5	29606	36098	34893	33569	38805	38864	0,1269	33532	37080	1,10578	UNCHANGED
Outer membrane protein	OMPC	225447	385767	344657	153154	288322	261225	0,1276	318624	234234	0,73514	UNCHANGED
PRC-barrel protein	A9HNW8	56948	55524	51446	67650	56679	56727	0,1278	54639	60352	1,10455	UNCHANGED
Succinate-semialdehyde dehydrogenase	A9H549	41792	45665	54130	39408	42195	42988	0,1282	47196	41530	0,87997	UNCHANGED
Putative peroxiredoxin osmC	A9H0U0	15147	16826	26911	14065	14367	13189	0,1285	19628	13874	0,70682	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H4L3	6249	3469	3509	3514	2744	2733	0,1306	4409	2997	0,67975	UNCHANGED
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9HRE0	52463	52708	54440	59342	73147	53552	0,134	53203	62014	1,16559	UNCHANGED
Conserved protein	A9HBT6	15193	13879	16334	7673	14662	13389	0,1344	15135	11908	0,78678	UNCHANGED
Single-stranded DNA-binding protein	A9HM62	12248	11786	5450	13497	13351	12488	0,1359	9828	13112	1,33413	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H3Z8	5511	3528	4524	9737	5766	4788	0,137	4521	6764	1,49603	UNCHANGED
Bifunctional protein FolD	FOLD	29399	34851	38311	28567	31473	31244	0,1411	34187	30428	0,89005	UNCHANGED
Putative transcriptional regulatory protein, MerR family	A9HS23	15837	8947	2395	4206	3144	3020	0,1426	9060	3457	0,38154	UNCHANGED
50S ribosomal protein L14	RL14	42373	34719	28709	40566	40846	41398	0,1439	35267	40936	1,16075	UNCHANGED
Flp pilus assembly protein CpaB	A9HHL4	11753	12408	11429	10942	11680	11600	0,1444	11863	11407	0,96156	UNCHANGED
Putative penicillin-binding protein 5	A9HI96	9560	11201	11359	10058	10523	8654	0,1488	10707	9745	0,91017	UNCHANGED
Putative ATPase	A9HFG1	2998	3194	4226	4080	4958	3458	0,1491	3473	4165	1,19947	UNCHANGED
Putative toluene tolerance	A9HBF1	24249	14721	11982	13881	11048	10694	0,1507	16984	11874	0,69914	UNCHANGED
Thiamine-phosphate pyrophosphorylase	A9HI58	18009	18978	20337	18966	20321	22118	0,1512	19108	20468	1,07117	UNCHANGED
Phosphoribosylformylglycinamide synthase subunit PurL	A9HJG3	8563	9696	9098	8270	8784	8920	0,1536	9119	8658	0,94943	UNCHANGED
Tyrosine--tRNA ligase	A9HMK2	13538	16337	21246	17692	20944	21776	0,1561	17040	20137	1,18175	UNCHANGED
Putative 2-amino-3-ketobutyrate coenzyme A ligase	A9HMR4	9106	9823	12783	11051	12248	12925	0,1593	10571	12074	1,14225	UNCHANGED
Peptidase M24	A9HJP9	9073	11304	13073	8894	9984	10019	0,1597	11150	9632	0,86387	UNCHANGED
Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	A9HFE6	42031	47246	67516	53045	66438	69696	0,1597	52264	63060	1,20656	UNCHANGED
Cof-like hydrolase	A9H332	84254	77540	82166	64318	76352	82386	0,1602	81320	74352	0,91431	UNCHANGED
Glutamate--tRNA ligase 1	SYE1	20219	21021	14786	15446	14741	18064	0,1623	18675	16084	0,86124	UNCHANGED
Putative oxidoreductase	A9HM21	49926	47739	40803	43393	54371	63965	0,1633	46156	53910	1,16799	UNCHANGED
Proline--tRNA ligase	A9HRR5	22438	24634	27807	23720	30235	29779	0,1635	24960	27912	1,11826	UNCHANGED
Superoxide dismutase	A9HL14	124830	112580	97975	102098	109569	92145	0,1644	111795	101271	0,90586	UNCHANGED

▼

Putative Acetyl-CoA acetyltransferase (Acetoacetyl-CoA thiolase)	A9HE46	7220	8639	8140	5754	8623	6113	0,1645	8000	6830	0,85376	UNCHANGED
Ferritin Dps family protein	A9HB55	40288	36331	38396	39458	43340	73668	0,1647	38338	52156	1,3604	UNCHANGED
Anthraniilate phosphoribosyltransferase	A9HJ97	13615	15425	16441	12557	14435	14883	0,1669	15160	13958	0,92071	UNCHANGED
6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	A9H324	200043	208215	202458	135324	158182	221254	0,1695	203572	171587	0,84288	UNCHANGED
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D	A9HJ89	18957	20630	18118	15403	19127	18643	0,1732	19235	17724	0,92147	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HEH6	16772	18392	12985	14974	13589	13730	0,1737	16050	14098	0,87838	UNCHANGED
Protease protein	A9HAN0	26210	28886	31838	3771	27265	27387	0,1747	28978	19474	0,67204	UNCHANGED
Transketolase	A9H317	111291	133499	174353	164318	150703	171200	0,1753	139714	162074	1,16004	UNCHANGED
Dihydroorotase	A9H142	9923	11401	13749	11061	13938	15519	0,1755	11691	13506	1,15529	UNCHANGED
Putative membrane protein	A9HAA2	9158	6636	4377	13313	7346	7299	0,1761	6724	9319	1,38599	UNCHANGED
Gluconokinase	A9HSC5	24366	11344	5359	9504	5068	6266	0,1761	13690	6946	0,50738	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HAE9	31047	18230	14428	18902	14488	12052	0,1765	21235	15148	0,71333	UNCHANGED
2-ketogluconate reductase	A9H3Y4	36929	37641	30346	28856	35763	30533	0,178	34972	31717	0,90693	UNCHANGED
UDP-N-acetylMuramoylalanine-D-glutamate ligase	A9H0I3	4858	5015	5128	5713	6314	4677	0,1781	5000	5568	1,11364	UNCHANGED
Xylulose kinase	A9HPF3	2406	3392	3778	3574	1764	2071	0,1804	3192	2470	0,77365	UNCHANGED
Mannitol 2-dehydrogenase	A9HBL5	20490	22822	29526	24452	28845	29290	0,185	24279	27529	1,13385	UNCHANGED
Phosphate acyltransferase	PLSX	9888	11040	11362	10578	12443	11395	0,1855	10763	11472	1,06586	UNCHANGED
Aspartyl/glutamyl-tRNA(Asn/Gln) amidotransferase subunit B	A9HRI7	6598	7213	8664	9279	6992	9022	0,1895	7492	8431	1,12542	UNCHANGED
Phosphoglycerate kinase	A9HM30	189305	196006	191135	151293	205087	166222	0,1897	192149	174201	0,9066	UNCHANGED
Enolase	ENO	116781	126578	150392	132709	148712	146889	0,1899	131250	142770	1,08777	UNCHANGED
Ribose import ATP-binding protein RbsA	A9HPC3	7819	10800	12373	14511	8162	18414	0,1926	10331	13696	1,32573	UNCHANGED
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha	A9HJA6	7193	18747	22908	18587	28055	18927	0,1932	16283	21856	1,3423	UNCHANGED
1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase	A9HIR0	12679	11470	13174	11526	20349	14027	0,1951	12441	15301	1,22985	UNCHANGED
S-(hydroxymethyl)glutathione dehydrogenase	A9HIP1	14133	15750	16932	15479	16340	18469	0,1955	15605	16762	1,07416	UNCHANGED
Flagellar M-ring protein	A9HHC2	6956	7900	10006	5606	7932	7933	0,1984	8287	7157	0,86362	UNCHANGED
Putative transcriptional regulator, rrf2 family	A9HRZ0	13040	11989	10258	12298	10115	9586	0,1993	11762	10667	0,90686	UNCHANGED
Citrate synthase	A9HII7	47610	55645	59364	51837	62250	62450	0,2	54206	58846	1,08558	UNCHANGED
Glucokinase	A9HI04	34187	41643	36169	23991	70965	63151	0,2007	37333	52703	1,4117	UNCHANGED

▼

Histidinol dehydrogenase	A9HFM4	7300	8650	7928	7785	6768	7850	0,201	7960	7468	0,9382	UNCHANGED
Probable transcriptional regulatory protein GDI0798	A9HAV2	42852	49448	47404	47152	45107	36456	0,2013	46568	42905	0,92135	UNCHANGED
50S ribosomal protein L25	RL25	128440	99827	84765	64542	99896	99881	0,202	104344	88106	0,84438	UNCHANGED
Acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta	ACCD	15995	14510	13898	11694	25668	19745	0,2028	14801	19036	1,28613	UNCHANGED
Conserved protein	A9HLE5	6715	6585	7411	7703	7981	6502	0,2061	6904	7395	1,07118	UNCHANGED
Putative threonine dehydratase catabolic	A9H381	6029	6416	5575	4854	5353	6373	0,2066	6007	5527	0,92009	UNCHANGED
1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase	A9HKV5	8900	10244	10866	8382	10416	8986	0,2127	10003	9262	0,92584	UNCHANGED
S-methyl-5'-thioadenosine phosphorylase	A9HK57	49614	58137	65136	40746	43866	64689	0,2152	57629	49767	0,86357	UNCHANGED
Catalase	A9GZZ4	184690	267953	197490	132896	212230	209248	0,2165	216711	184791	0,85271	UNCHANGED
Protein-export protein SecB	SECB	56155	58511	64517	70916	55307	66911	0,222	59728	64378	1,07786	UNCHANGED
DNA-directed RNA polymerase subunit alpha	RPOA	68497	80714	83178	71084	86584	97739	0,2254	77463	85136	1,09904	UNCHANGED
Alpha/beta hydrolase fold	A9H7Y7	4654	4184	4045	4729	3735	3005	0,226	4294	3823	0,89027	UNCHANGED
Aminopeptidase	A9HMM0	42251	48384	58783	50975	54136	57985	0,2273	49806	54365	1,09154	UNCHANGED
30S ribosomal protein S2	RS2	99286	152677	151729	137250	150096	166463	0,2292	134564	151269	1,12415	UNCHANGED
50S ribosomal protein L9	RL9	136217	120257	76920	96737	89433	98911	0,2301	111131	95027	0,85509	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H986	21556	28099	30063	18600	27132	25125	0,2313	26573	23619	0,88885	UNCHANGED
Biotin carboxylase protein	A9HEX0	15562	22655	25847	21772	25318	25351	0,2319	21355	24147	1,13077	UNCHANGED
Putative glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A	A9HJR7	42796	50668	58407	45501	66129	58651	0,232	50623	56761	1,12123	UNCHANGED
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9HPF0	32256	38235	43496	37004	34178	34143	0,2359	37996	35108	0,924	UNCHANGED
Putative pilus assembly protein	A9HHL8	13800	15489	15865	12611	15476	14546	0,2369	15052	14211	0,94415	UNCHANGED
Phosphatidylserine decarboxylase proenzyme	PSD	30643	35665	35373	29356	24228	37647	0,2388	33894	30410	0,89722	UNCHANGED
Imidazole glycerol phosphate synthase subunit HisF	HIS6	6858	8736	7764	7933	4441	7911	0,2427	7786	6762	0,86844	UNCHANGED
Beta sliding clamp	A9HI34	28543	31644	43908	34358	41349	40782	0,2436	34698	38830	1,11907	UNCHANGED
Putative steroid protein related	A9H0M3	4393	9395	4028	3409	6088	3771	0,2452	5939	4423	0,74476	UNCHANGED
4-hydroxy-tetrahydridopicolinate synthase	DAPA	25640	26157	30057	29244	27377	28802	0,2469	27285	28474	1,0436	UNCHANGED
Putative nitrogen regulatory protein	A9H7Z8	43324	35196	26952	38227	29560	23215	0,2474	35157	30334	0,8628	UNCHANGED
Universal stress protein	A9H0V0	64928	65515	68074	47753	76587	51874	0,2481	66172	58738	0,88765	UNCHANGED
Glutamine synthetase	A9H7Z5	136403	167978	224419	181645	196119	216252	0,2485	176267	198005	1,12332	UNCHANGED
YceI family protein	A9HFY2	16459	4687	7958	3431	2283	12681	0,2497	9701	6131	0,63201	UNCHANGED

60 kDa chaperonin 1	CH601	241881	325095	336902	283469	371095	336126	0,2516	301293	330230	1,09604	UNCHANGED
Peptidase, family M16	A9HKF0	10389	12379	12823	14050	12979	11065	0,2545	11864	12698	1,07036	UNCHANGED
Putative secretion protein, HlyD-family	A9HGT6	11565	12433	12756	6636	14177	10732	0,2553	12251	10515	0,8583	UNCHANGED
ATPase associated with various cellular activities AAA_3	A9H3C6	29831	26710	24194	21846	27886	25794	0,2555	26912	25176	0,93549	UNCHANGED
Putative general stress response protein	A9H3E6	27522	16674	17517	22333	16265	13734	0,2563	20571	17444	0,84799	UNCHANGED
2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase	A9H397	120236	128056	145727	113385	124979	134690	0,257	131340	124351	0,94679	UNCHANGED
Phosphoribosylamine--glycine ligase	A9H4P1	11150	10913	11774	10203	11255	11401	0,2595	11279	10953	0,97106	UNCHANGED
Deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase	A9HI24	22046	24224	15928	15910	21591	18395	0,2625	20733	18632	0,89869	UNCHANGED
Gluconate 2-dehydrogenase (Acceptor)	A9HBC6	4432	7121	8036	7488	7598	6961	0,2648	6530	7349	1,12551	UNCHANGED
Putative Antibiotic biosynthesis monooxygenase	A9HP28	54495	23348	15677	35524	12356	16555	0,2651	31173	21478	0,68899	UNCHANGED
dTDP-4-dehydrorhamnose 3,5-epimerase	A9H3H9	33712	33717	31902	26728	29883	36323	0,2657	33110	30978	0,9356	UNCHANGED
Aminotransferase class-III	A9HJT9	11491	16505	12957	14981	21638	11334	0,2695	13651	15984	1,17092	UNCHANGED
Methionine aminopeptidase	A9H4B0	8400	5718	4437	9032	5457	7205	0,2696	6185	7231	1,16921	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HLE3	16104	9954	8784	7966	10176	11536	0,2717	11614	9893	0,85179	UNCHANGED
Putative DNA-binding response regulator mtrA	A9HIE2	20808	22191	17061	22989	15158	16179	0,2759	20020	18109	0,90452	UNCHANGED
Adenylosuccinate lyase	A9HJE7	9039	9678	6841	7214	7537	8890	0,2825	8519	7880	0,92498	UNCHANGED
Nitrogen assimilation regulatory protein ntrX	A9HLS3	5605	6439	7166	2990	8116	5068	0,2864	6403	5391	0,84192	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HGX9	4177	4619	5110	4814	3047	4817	0,2876	4635	4226	0,91162	UNCHANGED
Fe-S protein, radical SAM family	A9HA97	28386	35761	33900	27742	30411	34543	0,2904	32682	30899	0,94542	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H0Y9	46666	56466	50690	41614	56945	45511	0,2931	51274	48023	0,9366	UNCHANGED
Methylthioribose-1-phosphate isomerase	A9HLJ6	11230	12700	13430	12109	9194	13514	0,2973	12453	11606	0,93192	UNCHANGED
Putative serine-pyruvate aminotransferase	A9HPX2	4688	5308	7314	4924	6857	7418	0,2981	5770	6399	1,10907	UNCHANGED
Ribulokinase	A9HPD7	21184	24969	33675	24356	21270	27066	0,301	26609	24230	0,9106	UNCHANGED
Putative peptidase	A9H6C0	5874	2866	2407	4069	2516	2453	0,3015	3716	3013	0,8108	UNCHANGED
Methylthioribulose-1-phosphate dehydratase	MTNB	11880	9235	6995	10590	7349	7153	0,3037	9370	8364	0,89264	UNCHANGED
FMN-dependent NADH-azoreductase	AZOR	23927	23211	21447	17627	23387	23868	0,3053	22862	21627	0,94599	UNCHANGED
Phosphoglycolate phosphatase	A9HI43	32009	39111	44503	37526	34169	37358	0,3064	38541	36351	0,94318	UNCHANGED
Homoserine dehydrogenase	A9HCQ4	26357	29339	32826	24715	36218	34236	0,3095	29507	31723	1,07509	UNCHANGED
Protein RecA	A9HM16	10491	15000	13240	11772	11445	13201	0,3145	12910	12139	0,94027	UNCHANGED

Zinc-type alcohol dehydrogenase-like protein	A9H2A8	20870	22569	24401	21423	21451	23116	0,3158	22613	21997	0,97274	UNCHANGED
Transcriptional regulator LysR	A9H0A8	69856	70552	80079	60913	86360	88476	0,3169	73496	78583	1,06922	UNCHANGED
Biotin carboxyl carrier protein of acetyl-CoA carboxylase	A9HEX3	86304	68199	84217	77938	77882	95393	0,3185	79573	83738	1,05233	UNCHANGED
Thiamine biosynthesis oxidoreductase thiO	A9HI52	18065	25890	20558	20819	19793	20319	0,3288	21504	20310	0,94449	UNCHANGED
Tryptophan synthase alpha chain	TRPA	60869	66728	55277	56793	65002	67577	0,3323	60958	63124	1,03554	UNCHANGED
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 2	A9HRD7	47148	68666	55386	53707	51938	56299	0,337	57067	53981	0,94593	UNCHANGED
Putative phosphatidylethanolamine N-methyltransferase	N-A9HKI4	17299	17204	15467	15152	22476	15705	0,3426	16657	17778	1,06728	UNCHANGED
Probable phosphoketolase	A9HGX3	35393	49403	54824	35000	47140	48094	0,3434	46540	43411	0,93277	UNCHANGED
Alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase (UDP-forming)	A9HBU6	5984	8712	12055	8924	9020	11356	0,3456	8917	9766	1,0953	UNCHANGED
Phosphate-specific transport system accessory protein PhoU	A9HS74	4796	4972	3775	3221	4593	4906	0,3457	4514	4240	0,93919	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase	A9HNA5	18955	28434	28105	20977	31229	28911	0,3457	25165	27039	1,07448	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HC33	8035	7532	9499	9907	8216	8019	0,3459	8355	8714	1,04289	UNCHANGED
Gluconate 2-dehydrogenase (Acceptor)	A9H186	10666	9942	7287	7884	10326	11563	0,3481	9298	9924	1,06734	UNCHANGED
UPF0303 protein GDI1201	A9HDU3	55970	61265	56273	58688	57309	54969	0,3508	57836	56988	0,98535	UNCHANGED
Outer-membrane lipoprotein carrier protein	A9H103	13735	13893	15203	10208	15656	14724	0,3525	14277	13529	0,94762	UNCHANGED
Preprotein translocase, YajC subunit	A9HL42	25224	26225	18956	9838	21851	30617	0,3538	23468	20768	0,88496	UNCHANGED
Putative molybdenum transport protein modE	A9HJC5	16093	12122	5634	11042	8946	9943	0,3563	11283	9977	0,88426	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HMM2	18184	9239	9677	20159	9892	11983	0,3601	12366	14011	1,13302	UNCHANGED
Elongation factor Tu	EFTU	344234	421160	392446	383299	377390	428977	0,3617	385947	396555	1,02749	UNCHANGED
NADH-quinone oxidoreductase subunit F	A9HRT4	4476	3597	3029	3171	3469	3919	0,364	3701	3520	0,95109	UNCHANGED
Flavin-dependent thymidylate synthase	A9HBG1	15531	15516	14608	14014	16448	16151	0,3641	15218	15537	1,02098	UNCHANGED
Serine hydroxymethyltransferase	A9HRP5	34391	39111	39737	34072	38270	38424	0,3642	37747	36922	0,97816	UNCHANGED
Partitioning protein	A9HT61	14372	18260	8882	8681	11256	17394	0,3645	13838	12444	0,89923	UNCHANGED
Acetyl-CoA hydrolase	A9HIK2	24434	25466	24990	25854	24326	23981	0,3666	24963	24721	0,99028	UNCHANGED
Bacterioferritin	A9H7G6	15365	12159	6831	18179	8165	12178	0,3678	11451	12841	1,12132	UNCHANGED
Putative transcriptional regulator protein	A9H0C0	6092	4828	3467	5070	3694	4670	0,3681	4796	4478	0,93377	UNCHANGED
Thiazole synthase	THIG	26147	23117	28973	22610	25845	27435	0,3707	26079	25296	0,96998	UNCHANGED
Putative thioredoxin protein	A9HSA5	108159	73857	72556	102241	80897	85604	0,3729	84857	89580	1,05566	UNCHANGED

Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	A9H0G0	36342	36546	42261	36547	41967	39239	0,373	38383	39251	1,02261	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase [acceptor]	A9HK12	82579	89169	73681	78199	79025	83125	0,3746	81810	80116	0,9793	UNCHANGED
1-(5-phosphoribosyl)-5-[(5-phosphoribosylamino)methylideneamino]imidazole-4-carboxamide isomerase	A9GZX2	8812	9989	12111	8679	9646	11347	0,3782	10304	9891	0,95988	UNCHANGED
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	A9HM70	26281	15570	12679	23853	18334	17025	0,3794	18177	19737	1,08584	UNCHANGED
30S ribosomal protein S19	RS19	41670	15960	22922	19778	37701	32292	0,3802	26851	29923	1,11444	UNCHANGED
Pyruvate, phosphate dikinase	A9HEP2	4340	4558	5129	3683	4597	5239	0,3809	4675	4507	0,96388	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H1P1	12720	11212	6722	10682	8225	9926	0,3889	10218	9611	0,9406	UNCHANGED
50S ribosomal protein L19	RL19	44794	37772	26850	31046	43413	40787	0,3896	36472	38415	1,05328	UNCHANGED
Carboxymethylenebutenolidase	A9HK54	25499	28583	31120	26255	31799	24760	0,3914	28401	27605	0,97197	UNCHANGED
Dehydrogenase (Zinc-binding alcohol dehydrogenase)	A9H246	21400	23246	25708	18878	28882	25337	0,3973	23452	24366	1,03898	UNCHANGED
Putative capsule polysaccharide export inner-membrane protein ctrB	A9HMV0	5743	5998	6352	4963	7515	6228	0,4053	6031	6235	1,03382	UNCHANGED
NADH-quinone oxidoreductase	A9HRT3	16917	21394	24303	19656	20954	20286	0,4081	20871	20299	0,97257	UNCHANGED
dTDP-glucose 4,6-dehydratase	A9H3I5	3259	4136	5545	5544	4811	3262	0,4116	4313	4539	1,05232	UNCHANGED
Bifunctional purine biosynthesis protein PurH	A9HDN9	26715	29814	36413	28703	34697	31947	0,4123	30981	31782	1,02587	UNCHANGED
Succinate-semialdehyde dehydrogenase [NADP+]	A9HNC1	34307	40247	23534	36611	44047	22794	0,4165	32696	34484	1,05469	UNCHANGED
Isocitrate dehydrogenase [NADP]	A9HBR3	35752	38071	33196	37707	38459	32437	0,4174	35673	36201	1,01481	UNCHANGED
Putative aerobic cobaltochelatase cobS subunit	A9HJ01	26837	28477	30328	26581	27197	33532	0,4176	28547	29103	1,01949	UNCHANGED
Aldo/keto reductase family	A9HF59	17724	23196	16801	18663	19956	20512	0,4195	19240	19710	1,02443	UNCHANGED
Glutamate--cysteine ligase	A9H108	12695	12035	15586	13000	12147	14379	0,4239	13439	13175	0,98039	UNCHANGED
Putative FeS assembly protein SufD	A9HRY4	17701	16882	15817	14560	18035	17074	0,4242	16800	16556	0,9855	UNCHANGED
Dihydrolipoylysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex	A9HFG9	89890	103407	122910	111178	102112	109039	0,4272	105402	107443	1,01936	UNCHANGED
Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A	A9HRI9	26239	46110	51706	37501	41192	40734	0,4305	41352	39809	0,9627	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HM07	32198	35408	21247	29343	30399	31608	0,4324	29618	30450	1,02811	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase zinc-binding domain protein	A9HE22	7180	6345	8509	5766	10870	6367	0,4328	7345	7668	1,04396	UNCHANGED
Trigger factor	TIG	129201	124812	125183	137716	117009	120839	0,4342	126399	125188	0,99042	UNCHANGED
Oxidoreductase domain protein	A9HDU1	109454	124652	142699	108280	129576	132646	0,4365	125602	123501	0,98327	UNCHANGED
3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase	A9H466	21680	23775	22273	21835	25074	21493	0,4367	22576	22801	1,00997	UNCHANGED

Site-determining protein	A9HLY3	81435	97976	105641	163214	71541	67186	0,4378	95018	100647	1,05924	UNCHANGED
Flagellar protein FlI	A9HHK6	12346	6007	4117	9844	4728	6424	0,4379	7490	6999	0,93444	UNCHANGED
Glycosyl transferase group 1	A9HLZ7	37967	44319	40718	41422	35198	48554	0,4384	41001	41725	1,01764	UNCHANGED
3-methyl-2-oxobutanoate hydroxymethyltransferase	PANB	20172	25691	26097	22398	27311	23445	0,439	23987	24385	1,01659	UNCHANGED
Putative histidine triad (HIT) protein	A9GZW3	10731	9876	8185	10091	9491	9521	0,4522	9597	9701	1,0108	UNCHANGED
Putative exported protein	A9HDN7	20940	10083	9116	14736	10560	13378	0,4559	13380	12891	0,96349	UNCHANGED
Signal peptidase I	A9HKX7	9963	10076	8745	8840	10414	9739	0,4584	9595	9664	1,00724	UNCHANGED
Protein TonB	A9HF68	27641	15038	11593	16957	13593	21953	0,4604	18091	17501	0,9674	UNCHANGED
Nucleoside diphosphate kinase	NDK	76199	94574	50748	85499	51200	79843	0,4626	73841	72181	0,97752	UNCHANGED
2-dehydro-3-deoxyphosphooctonate aldolase	A9HJ79	8652	9388	8753	8571	7193	10723	0,4655	8931	8829	0,98859	UNCHANGED
10 kDa chaperonin	A9HK46	134943	106493	98931	93042	140734	111355	0,4665	113456	115043	1,01399	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9GZL6	19638	21269	26928	24824	18764	24949	0,4709	22611	22846	1,01036	UNCHANGED
Adenylosuccinate synthetase	PURA	43841	54513	53674	48403	52625	50181	0,4729	50676	50403	0,99462	UNCHANGED
ATP synthase gamma chain	ATPG	57299	68705	78487	64851	75554	65322	0,4784	68164	68576	1,00605	UNCHANGED
Leucyl aminopeptidase	A9HJY3	9576	11855	11998	11407	14162	8176	0,4797	11143	11248	1,00946	UNCHANGED
Endoribonuclease L-PSP	A9HC24	37632	37352	17189	37281	30103	23547	0,4805	30724	30310	0,98653	UNCHANGED
Nucleoid-associated protein GDI3467/Gdia_2910	Y3467	21351	32429	17576	20777	21790	29170	0,491	23786	23912	1,00533	UNCHANGED
Aminotransferase	A9H8M1	5428	5128	5552	4760	5895	5472	0,4937	5369	5375	1,00114	UNCHANGED
Thioredoxin reductase	A9H0A5	10050	11132	14908	6630	1814	27386	0,4961	12030	11943	0,99279	UNCHANGED
Aldo/keto reductase	A9HH27	21932	16185	24014	19991	20750	21344	0,4977	20710	20695	0,99926	UNCHANGED
Leucine-tRNA ligase	A9HMQ5	1	2087	3459	5417	8016	5002	0,0179	1849	6145	3,32372	-
Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	A9H2S6	1	1	2572	3402	4241	3194	0,0352	858	3612	4,20966	-
Acyl carrier protein	ACP	1	19908	1	42854	33284	22214	0,0217	6637	32784	4,93983	-
Polyamine aminopropyltransferase	A9HM56	1	1	1643	4502	3973	3827	0,007	548	4101	7,47842	-
L-idonate 5-dehydrogenase	A9HDU6	2922	1	2478	13173	19304	18238	0,0032	1800	16905	9,38999	-
Methyltransferase	A9HJ27	1	1345	1	7761	11141	7952	0,0042	449	8951	19,9354	-
Efflux transporter, RND family, MFP subunit	A9HG72	1	1	1832	15515	16103	17285	2E-05	611	16301	26,6652	-
Putative tTnB-dependent receptor	A9HH16	7535	7501	5612	2310	1	1	0,002	6883	771	0,11197	-
Membrane dipeptidase	A9HFJ9	18805	20379	16653	3801	1	4609	0,0006	18612	2804	0,15064	-

∞

Putative outer membrane protein	A9H4M9	5697	3447	3491	1	2731	1	0,0253	4212	911	0,21631	-
Putative prolyl-tRNA synthetases	A9HBP4	4229	4733	4673	1	1	3088	0,0364	4545	1030	0,22664	-
Putative phospholipase C	A9HNB0	7923	8028	8625	1	1646	4107	0,0154	8192	1918	0,23414	-
Uncharacterized protein	A9HFF6	18057	9107	5434	1	2967	4097	0,0705	10866	2355	0,21674	-
Uncharacterized protein	A9H8V7	1	1	1	36851	1	23127	0,102	1	19993	19992,9	-
Elongation factor P	EFP	1	1	1	60255	1	36234	0,1038	1	32163	32163,3	-
Uncharacterized protein	A9HJF8	4446	3953	1528	2422	1	2438	0,1184	3309	1620	0,48967	-
Ferredoxin	A9HJZ0	6403	6262	4734	5255	1	4931	0,1454	5800	3396	0,58549	-
Putative multidrug resistance protein mdtA	A9H3E8	12959	14357	13526	1	13505	12299	0,1826	13614	8602	0,63183	-
Uncharacterized protein	A9H234	2630	1	1	2124	1557	1	0,382	877	1227	1,39894	-
Hydrolase, TatD family	A9HIA6	1	1049	1	1	1	7059	0,2425	350	2354	6,71836	-
L-fucose isomerase	A9HPK3	8136	1	8983	3566	5481	5602	0,4016	5707	4883	0,85564	-
Uncharacterized protein	A9HFS9	45943	1	76234	32043	56672	50578	0,4131	40726	46431	1,14008	-
Conserved protein	A9HEE1	1	9292	7897	6003	6573	6104	0,4398	5730	6227	1,08668	-
Putative flagellar hook-associated protein	A9HHI4	15199	27458	1	10871	3061	25884	0,4659	14219	13272	0,93338	-
Putative L-aspartate oxidase	A9H8C2	2638	4873	1	1	4733	2472	0,4805	2504	2402	0,95926	-

Tabela S2 - Detalhes da localização das proteínas acumuladas em resposta ao estresse por cádmio

Localização predita	Descrição	Acesso	TAG
Citoplasma	Ribose-phosphate pyrophosphokinase	A9HBZ3	UP
	Phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase	A9HJV0	UP
	3.3.7	A9HL34	UP
	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase 1	A9HEE4	UP
	Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+))	A9GZJ4	UP
	Protein GrpE	A9HEA5	UP
	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	A9H326	UP
	Amidophosphoribosyltransferase	A9H4K2	UP
	Arginine--tRNA ligase	A9HLH8	UP
	Dihydrolipoyl dehydrogenase	A9HJB6	UP
	Thioredoxin	A9HA92	UP
	Ribosome-binding ATPase YchF	A9HC06	UP
	D-2-hydroxyacid dehydrogenase	A9HDT4	UP
	Transaldolase	A9H320	Up
	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX	A9HRV3	UP
	Dihydroxy-acid dehydratase	A9HA40	UP
	Biotin synthase	A9HRF2	UP
	Methylenetetrahydrofolate reductase	A9HNY2	UP
	Transcription termination factor Rho	A9HE94	UP
	Argininosuccinate lyase	A9HRH6	UP
	Elongation factor Ts	A9HRQ5	UP
	2,3,4,5-tetrahydropyridine-2,6-dicarboxylate N-succinyltransferase	A9HKR5	UP
	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	A9HID1	UP
	Probable cytosol aminopeptidase	A9H1J4	UP
	Chaperone protein DnaK	A9HEA3	UP
	Elongation factor G	A9HS02	UP
	Isocitrate dehydrogenase (NAD(+))	A9HJQ1	UP
	Polyribonucleotide nucleotidyltransferase	A9HF35	UP
	Conserved protein	A9HS32	UP
	Malate dehydrogenase (Oxaloacetate-decarboxylating) (NADP(+))	A9HH05	UP
	Peptide deformylase	A9HS47	UP
	5-methyltetrahydropteroylglutamate--homocysteine methyltransferase	A9HNX4	UP
	Putative rod shape-determining protein mreB	A9HM98	UP
	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit	A9HRV4	UP
	ATP-dependent protease subunit HslV	A9H1A3	UP
	GTP-binding protein TypA/BipA	A9H9C1	UP
	Chaperone protein DnaJ	A9HEA1	UP
	Aconitate hydratase	A9HEZ2	UP
	Cold-shock DEAD box protein A homolog	A9HRW6	UP
	Acireductone dioxygenase	A9H8G4	UP
	Aspartate--tRNA(Asp/Asn) ligase	A9HLJ4	UP
	4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase	A9HS93	UP
	FeS assembly protein SufB	A9HRY9	UP
	Putative serine acetyltransferase	A9HMC8	UP

Putative short-chain dehydrogenase	A9HLW8	UP
Putative oxidoreductase	A9H878	UP
Heat-inducible transcription repressor HrcA	A9HF56	UP
Putative cysteine desulfurization protein sufE	A9H196	UP
Probable malate:quinone oxidoreductase	A9HKZ6	UP
Thioredoxin protein	A9H2A4	UP
Peptidase protein, modulator of DNA gyrase	A9HEU1	UP
ATP-dependent protease ATPase subunit HslU	A9H199	UP
Putative aldo-keto reductase	A9HQR7	UP
Phosphomethylpyrimidine synthase	A9H8N9	UP
Chaperone protein HtpG	A9HLJ9	UP
Riboflavin biosynthesis protein RibD	A9HDG2	UP
Flavin oxidoreductase	A9H2N2	UP
10 kDa chaperonin	A9HPH9	UP
Peroxidase	A9HPI6	UP
6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase	A9HDF5	UP
Chaperone clpB	A9HH31	UP
Putative polyketide synthase	A9H221	UP
Riboflavin synthase alpha chain	A9HDG0	UP
Multifunctional fusion protein	A9HDF8	UP
Oxidoreductase (Aldo/keto reductase) protein	A9H614	UP
Putative 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9H2M9	UP
Heat shock protein Hsp20	A9HHR8	UP
Heat shock protein Hsp20	A9HCX4	UP
Putative pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	A9HHP7	DOWN
30S ribosomal protein S5	A9H3L2	DOWN
50S ribosomal protein L23	A9H3Q8	DOWN
Rieske (2Fe-2S) domain protein	A9HL46	DOWN
30S ribosomal protein S3	A9H3P5	DOWN
Phosphoadenosine phosphosulfate reductase	A9H0V9	DOWN
Conserved protein	A9HF41	DOWN
50S ribosomal protein L16	A9H3P2	DOWN
Histone family protein DNA-binding protein	A9HP12	DOWN
Putative L-asparaginase II protein	A9HE73	DOWN
Putative chemotaxis protein cheY	A9HHE7	DOWN
Inositol-3-phosphate synthase	A9H8S7	DOWN
Quinolinate synthase A	A9H8C0	DOWN
LexA repressor	A9HJ64	DOWN
Glutamine amidotransferase of anthranilate synthase	A9HJ94	DOWN
50S ribosomal protein L3	A9H3R5	DOWN
3-isopropylmalate dehydratase small subunit	A9HS54	DOWN
Putative fumarylacetate (FAA) hydrolase protein	A9HCF1	DOWN
Putative inositol-1-monophosphatase	A9HLR6	DOWN
Exodeoxyribonuclease III Xth	A9HIE6	DOWN
Putative haloacid dehalogenase-like hydrolase	A9HBE7	DOWN
NADH-quinone oxidoreductase chain E	A9HRT6	DOWN
Indole-3-glycerol phosphate synthase	A9HJA0	DOWN

Acetate kinase	A9HGX6	DOWN
Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha	A9HRF1	DOWN
Putative two component response regulator	A9HH92	DOWN
Export-related chaperone CsaA	A9H0Q7	DOWN
50S ribosomal protein L24	A9H3N1	DOWN
Glycosyl transferase	A9HH55	DOWN
Uncharacterized protein	A9GZV1	DOWN
Molybdopterin binding domain	A9HL54	DOWN
Putative molybdopterin biosynthesis protein moeA	A9HJ67	DOWN
PEBP family protein	A9HBI3	DOWN
30S ribosomal protein S11	A9H3J3	DOWN
UDP-3-O-acylglucosamine N-acyltransferase	A9HKU5	DOWN
Electron transfer flavoprotein alpha subunit	A9HEE9	DOWN
Conserved protein	A9H282	DOWN
Uncharacterized protein	A9HJK6	DOWN
2-nitropropane dioxygenase	A9HF38	DOWN
Guanylate kinase	A9HDA8	DOWN
Metal-dependent carboxypeptidase	A9HKD9	DOWN
Putative pyruvate dehydrogenase E2 component	A9HHP4	DOWN
Acyl-[acyl-carrier-protein]--UDP-N-acetylglucosamine O-acyltransferase	A9HKU0	DOWN
Cysteine synthase	A9HAE5	DOWN
2-isopropylmalate synthase	A9HMA2	DOWN
Hopanoid biosynthesis associated radical SAM protein HpnH	A9HAA5	DOWN
Peptide methionine sulfoxide reductase MsrA	A9HI15	DOWN
Putative ribonuclease D	A9HKL8	DOWN
NADH-quinone oxidoreductase subunit C	A9HRU1	DOWN
Alpha/beta hydrolase, chloride peroxidase	A9H000	DOWN
Oxidoreductase	A9HAF3	DOWN
Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit	SYFA	DOWN
Cold shock-like protein cspE	A9HIW8	DOWN
Bifunctional protein GlmU	A9HI46	DOWN
Octanoyltransferase	A9HJ12	DOWN
Aldehyde Dehydrogenase	A9H4V7	DOWN
Flagellar motor switch protein FliN	A9HHD1	DOWN
tRNA pseudouridine synthase B	A9HF26	DOWN
30S ribosomal protein S9	A9H812	DOWN
dCTP deaminase	A9HFN2	DOWN
Uridylate kinase	A9HKW8	DOWN
Glucokinase protein	A9HIS0	DOWN
Coenzyme PQQ synthesis protein B	A9HEC4	DOWN
GTP cyclohydrolase 1	A9HAP7	DOWN
Nitrilase/cyanide hydratase	A9GZH7	DOWN
Protein-L-isoaspartate O-methyltransferase	A9HI07	DOWN
Maf-like protein GDI1438	A9HFL9	DOWN
Enoyl-CoA hydratase/isomerase	A9HE55	DOWN
Adenylate kinase	A9H3J9	DOWN
dTDP-4-dehydrorhamnose reductase	A9H3H6	DOWN

	Molybdopterin biosynthesis protein moeB	A9HEI1	DOWN
	Succinate dehydrogenase flavoprotein subunit	A9HFD7	UP
	NADH dehydrogenase/NAD(P)H nitroreductase rutE	A9HFB0	UP
	Chemoreceptor mcpA (Methyl-accepting chemotaxis protein)	A9HHE0	UP
	Sec-independent protein translocase protein TatA	A9H8F8	UP
	ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH	A9HB14	UP
	Luciferase-like monooxygenase	A9HSA0	UP
	Uncharacterized protein	A9H6W8	DOWN
	Lytic murein transglycosylase	A9HI90	DOWN
Membrana interna	Carboxy-terminal protease protein	A9H3A3	DOWN
	Dipeptidyl-peptidase	A9H090	DOWN
	Aldehyde dehydrogenase protein	A9H192	DOWN
	Succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit	A9HFD5	DOWN
	Putative membrane protein	A9H806	DOWN
	Putative outer membrane protein	A9H6D3	DOWN
	ABC transporter related	A9HPE7	DOWN
	NADP oxidoreductase coenzyme F420-dependent	A9HL93	DOWN
	NADH-quinone oxidoreductase subunit B 2	A9HRU3	DOWN
Extracellular	Uncharacterized protein	A9HE44	DOWN
	Putative Outer membrane protein oprM	A9HEG4	UP
	Putative type I secretion outer membrane protein, TolC	A9HG75	UP
	Putative TonB-dependent receptor	A9HNM4	DOWN
	Putative tonB-dependent receptor protein	A9H7M7	DOWN
	Putative tonB-dependent receptor	A9HEU6	DOWN
	TonB-dependent receptor	A9H7L9	DOWN
	Putative TonB-dependent receptor	A9H7L3	DOWN
	OmpW family protein	A9HED6	DOWN
	Outer membrane protein assembly factor BamD	A9H0L0	DOWN
Membrana externa	Peptidoglycan-associated protein	A9HB05	DOWN
	Putative tonB-dependent receptor	A9HE38	DOWN
	TonB-dependent receptor	A9HFL0	DOWN
	Flagellar L-ring protein	A9HHH1	DOWN
	Putative TonB-dependent receptor	A9HDZ9	DOWN
	Insulinase protein	A9H438	DOWN
	Porin	A9HAM5	DOWN
	Putative polysaccharide export protein	A9HMV6	DOWN
	Outer membrane protein assembly factor BamA	A9HKV0	DOWN
	Porin	A9HPF6	DOWN
Periplasma	Efflux transporter, RND family, MFP subunit	A9HEF9	UP
	Periplasmic binding protein	A9HK76	DOWN
	Alkyl hydroperoxide reductase/ Thiol specific antioxidant/ Mal allergen	A9H3W7	DOWN
	Putative periplasmic binding proteins	A9H577	DOWN
	Extracellular solute-binding protein family 1	A9HPE1	DOWN
	Chaperone SurA	A9H1L4	DOWN
	Uncharacterized protein	A9H732	DOWN
	Methylamine dehydrogenase heavy chain	A9H2X8	DOWN

Uncharacterized protein	A9HSZ4	DOWN
Putative gamma-glutamyltranspeptidase	A9H4A8	DOWN
Periplasmic serine endoprotease DegP-like	A9HBK9	DOWN
Glutathione peroxidase	A9HKB6	DOWN
Aldose 1-epimerase	A9HBF6	DOWN
Putative extracellular solute-binding protein, PotD/PotF family	A9HGR9	DOWN
D-ribose-binding periplasmic protein	A9HPK6	DOWN
Flagellar P-ring protein	A9HH48	DOWN
Periplasmic binding protein/LacI transcriptional regulator	A9HPB9	DOWN

Tabela S3- Informações detalhadas das proteínas da ilustração esquemática das respostas de *G. diazotrophicus* ao estresse por cádmio

Principais grupos	Acesso	Descrição	Abreviatura	Localização prevista	Número
Sistemas de bombas de efluxo	A9HEG4	Efflux transporter outer membrane subunit	OprM	Membrana externa	1
	A9HG75	TolC family protein	CzcC	Membrana externa	2
	A9HEF9	Efflux RND transporter periplasmic adaptor subunit	AcrA	Periplasma	3
Absorção de nutrientes	A9HNM4	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa	4
	A9H7M7	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa	5
	A9H7L9	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa	6
	A9HE38	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa	7
	A9HFL0	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa	8
	A9HDZ9	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa	9
	A9HEU6	TonB-dependent siderophore receptor	GDI1338	Membrana externa	10
	A9H7L3	TonB-dependent siderophore receptor	GDI3713	Membrana externa	11
	A9HED6	OmpW protein family	OmpW	Membrana externa	12
	A9HAM5	Carbohydrate porin	OprB	Membrana externa	13
Resposta a estresse oxidativo	A9HPF6	Carbohydrate porin	OprB	Membrana externa	14
	A9HK76	Iron ABC transporter substrate-binding protein	IBP	Periplasma	15
	A9H577	Sugar ABC transporter substrate-binding protein	Sugar ABC	Periplasma	16
	A9HPE1	Sugar ABC transporter substrate-binding protein	Sugar ABC	Periplasma	17
	A9HPK6	D-ribose-binding periplasmic protein (RbsB)	RbsB	Periplasma	18
	A9HPB9	D-ribose-binding periplasmic protein (RbsB)	RbsB	Periplasma	19
	A9HJR4	Gamma-glutamyltransferase	Ggt	Periplasma	20
	A9H4A8	Gamma-glutamyltransferase	Ggt	Periplasma	21
	A9H3W7	Peroxiredoxin	Prx	Periplasm	22
	A9HKB6	Glutathione peroxidase	GpX	Periplasma	23
Controle de qualidade de proteínas	A9H732	Deferrochelatase/peroxidase	EfeB	Periplasma	24
	A9HA92	Thioredoxin	TrxA	Citoplasma	25
	A9HHR8	Hsp20 family protein	Hsp20	Citoplasma	26
	A9HCX4	Hsp20 family protein	Hsp20	Citoplasma	27
	A9PHP9	Co-chaperone GroES	GroES	Citoplasma	28
	A9HRV3	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX	ClpX	Citoplasma	29
	A9HRV4	ATP-dependent Clp endopeptidase proteolytic subunit ClpP	ClpP	Citoplasma	30
	A9HH31	ATP-dependent chaperone	ClpB	Citoplasma	31
	A9HEA3	Molecular chaperone DnaK	DnaK	Citoplasma	32
	A9HEA1	Molecular chaperone DnaJ	DnaJ	Citoplasma	33
	A9HB14	ATP-dependent metallopeptidase FtsH/Yme1/Tma family protein	FtsH	Membrana interna	34

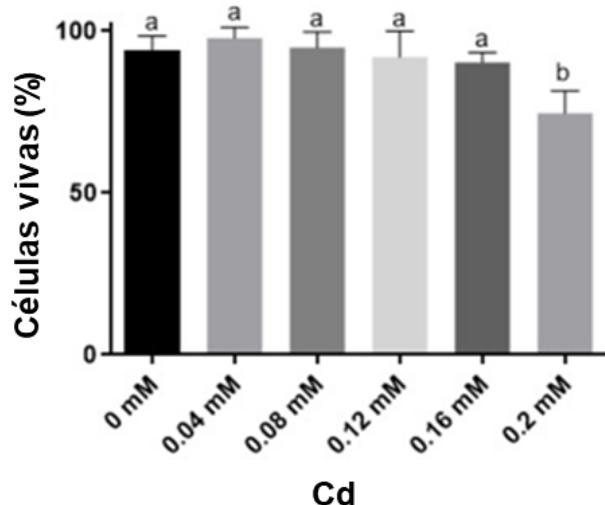


Figura S1- Efeito do Cd na viabilidade celular de culturas de *G. diazotrophicus*. A bactéria foi cultivada por 12 h em meio líquido suplementado com diferentes concentrações de CdCl₂.H₂O. A porcentagem de células vivas foi calculada contando células bacterianas vivas e mortas sob microscopia de fluorescência. As barras com os mesmos códigos de letras não diferem significativamente (HSD de Tukey, p < 0,05).

5.2 Material suplementar Capítulo 2

Table S1- Proteínas identificadas durante a resposta de *G. diazotrophicus* ao Zn

Descrição	Acesso	Controle 1	Controle 2	Controle 3	Zn 1	Zn 2	Zn 3	Teste t	Média controle	Média Zn	Fold change	TAG
Acetyl-CoA hydrolase	A9HIK2	24434	25466	24990	32752	36721	42958	0,0253	24963	37477	1,5013	UP
Glutaredoxin	A9HJG8	157016	160166	159172	249839	230876	237658	0,0019	158785	239457	1,5081	UP
Nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase	A9H8C5	41380	25880	39989	56357	54859	50866	0,0272	35750	54027	1,5113	UP
Putative phosphoserine aminotransferase	A9HLQ7	4961	5712	6731	8539	8806	9033	0,0108	5802	8793	1,5156	UP
2-dehydro-3-deoxyphosphooctonate aldolase	A9HJ79	8652	9388	8753	13936	14414	12296	0,0057	8931	13549	1,5170	UP
UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	A9HJ15	133062	124797	123781	223509	185322	177328	0,0182	127213	195386	1,5359	UP
Putative threonine dehydratase catabolic	A9H381	6029	6416	5575	9071	9157	9542	0,0005	6007	9257	1,5411	UP
Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	A9H326	10967	10536	17231	19221	18655	22039	0,0318	12911	19971	1,5468	UP
Amidophosphoribosyltransferase	A9H4K2	6451	7173	7802	11054	11144	11001	0,0046	7142	11066	1,5495	UP
Nucleoside diphosphate kinase	NDK	76199	94574	50748	102873	113843	126654	0,0326	73841	114457	1,5501	UP
33 kDa chaperonin	A9HFT1	3098	3082	2537	4259	5085	4256	0,0056	2905	4533	1,5603	UP
Adenylosuccinate lyase	A9HJE7	9039	9678	6841	11597	13169	15527	0,0148	8519	13431	1,5765	UP
Ferrochelatase	A9HEQ4	13989	14469	18339	27017	26954	19811	0,0215	15599	24594	1,5766	UP
Putative nitrogen fixation protein	A9HFA7	33528	36549	33295	54012	52344	59104	0,0014	34457	55153	1,6006	UP
Putative toluene tolerance	A9HBF1	24249	14721	11982	23617	26189	31838	0,0466	16984	27215	1,6024	UP
Succinate dehydrogenase flavoprotein subunit	A9HFD7	23554	27479	28660	41666	41667	44766	0,0009	26564	42700	1,6074	UP
Site-determining protein	A9HLY3	81435	97976	105641	175854	172553	118004	0,0348	95018	155470	1,6362	UP
Putative ATPase	A9HFG1	2998	3194	4226	5591	4772	6736	0,0191	3473	5700	1,6413	UP
ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH	A9HB14	10323	8676	12962	15624	18392	18745	0,0068	10654	17587	1,6508	UP
Fe-S protein, radical SAM family	A9HA97	28386	35761	33900	48739	55433	59370	0,0031	32682	54514	1,6680	UP
5-methyltetrahydropteroylglutamate--homocysteine methyltransferase	A9HNX4	15877	12033	19386	22982	28156	27991	0,0096	15765	26376	1,6731	UP
Putative oxidoreductase	A9HM21	49926	47739	40803	67900	81448	83767	0,0051	46156	77705	1,6835	UP
Protein RecA	A9HM16	10491	15000	13240	20141	22638	22525	0,0039	12910	21768	1,6861	UP
ATP-dependent protease ATPase subunit HslU	A9H199	9179	11518	11519	16083	18349	20089	0,0043	10739	18173	1,6924	UP

NADH-quinone oxidoreductase subunit F	A9HRT4	4476	3597	3029	5389	6169	7301	0,0117	3701	6286	1,6988	UP
N5-carboxyaminoimidazole ribonucleotide mutase	A9HHQ7	9258	9400	8903	15393	15869	16316	0,0001	9187	15859	1,7263	UP
Aminotransferase	A9HCQ6	15760	17980	17718	29219	30512	29484	0,0002	17153	29738	1,7338	UP
Geranyltranstransferase	A9HIR3	23230	21358	19022	40045	37336	32939	0,0029	21204	36773	1,7343	UP
Ribosome-binding ATPase YchF	A9HC06	5767	4196	7675	9419	10912	10339	0,0171	5879	10223	1,7388	UP
Bacterioferritin	A9H7G6	15365	12159	6831	19683	20347	19997	0,0372	11451	20009	1,7473	UP
Conserved protein	A9H3Z0	7426	5287	7135	11837	9961	13106	0,0069	6616	11635	1,7586	UP
Chaperone protein DnaK	DNAK	114282	131533	152910	244683	217984	241925	0,0012	132908	234864	1,7671	UP
1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase	A9HIR0	12679	11470	13174	22219	22146	22066	0,0013	12441	22144	1,7799	UP
NADPH-dependent 7-cyano-7-deazaguanine reductase	A9H9B4	9949	9694	7557	14925	17059	16533	0,0011	9067	16172	1,7837	UP
Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+))	IL VC	16598	14772	17550	29049	27624	30596	0,0002	16307	29090	1,7839	UP
Methionine aminopeptidase	A9H4B0	8400	5718	4437	10361	12881	9865	0,0169	6185	11036	1,7843	UP
Putative sulfotransferase	A9HQQ2	22083	18922	12646	27134	33635	35533	0,0099	17883	32101	1,7950	UP
Beta-lactamase-like protein	A9HC31	9457	6387	6328	13694	12505	13930	0,0084	7390	13376	1,8099	UP
Dihydrolipoyl dehydrogenase	A9HJB6	19980	19413	24826	37622	36910	41964	0,0009	21406	38832	1,8140	UP
Isocitrate dehydrogenase (NAD(+))	A9HJQ1	45043	55209	67660	107088	113924	83796	0,0093	55971	101603	1,8153	UP
50S ribosomal protein L10	RL10	77027	81104	82432	149233	148132	139922	0,0001	80187	145762	1,8178	UP
Alpha/beta hydrolase fold	A9H7Y7	4654	4184	4045	7500	9722	6198	0,0359	4294	7806	1,8179	UP
ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX	CLPX	13230	14936	18605	32889	24263	27890	0,0090	15591	28347	1,8182	UP
Histidinol dehydrogenase	A9HFM4	7300	8650	7928	14216	13533	15697	0,0011	7960	14482	1,8194	UP
Methionine-tRNA ligase	A9HIA3	3710	5237	5293	9221	9382	7337	0,0054	4747	8647	1,8215	UP
Aspartyl/glutamyl-tRNA(Asn/Gln) amidotransferase subunit B	A9HRI7	6598	7213	8664	13061	15002	13608	0,0008	7492	13890	1,8541	UP
Chaperone protein HtpG	A9HLJ9	18729	22017	27619	41231	43572	41994	0,0064	22788	42266	1,8547	UP
Lipoprotein-releasing system ATP-binding protein LolD	A9HRR2	4344	3531	2055	6423	5495	6566	0,0165	3310	6161	1,8616	UP
Elongation factor Ts	A9HRQ5	56384	56537	59512	128834	104119	88436	0,0254	57478	107130	1,8639	UP
Ferredoxin	A9HJZ0	6403	6262	4734	9966	10831	11675	0,0012	5800	10824	1,8663	UP
Ribose-phosphate pyrophosphokinase	A9HBZ3	8609	8399	12522	18154	18676	18369	0,0113	9843	18400	1,8693	UP
Conserved protein	A9H9B9	35416	15625	37549	55834	57897	52047	0,0295	29530	55259	1,8713	UP

GMP synthase [glutamine-hydrolyzing]	A9H085	8606	8214	7598	15660	14160	16161	0,0010	8139	15327	1,8831	UP
Glycine--tRNA ligase beta subunit	A9HM86	5929	7757	8645	14082	15745	12331	0,0036	7444	14053	1,8879	UP
Biotin carboxylase protein	A9HEX0	15562	22655	25847	39364	41992	40969	0,0093	21355	40775	1,9094	UP
1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase	A9HKV5	8900	10244	10866	17690	20393	19437	0,0005	10003	19173	1,9166	UP
Transketolase	A9H317	111291	133499	174353	280717	258826	267656	0,0063	139714	269067	1,9258	UP
Single-stranded DNA-binding protein	A9HM62	12248	11786	5450	19668	20209	17103	0,0184	9828	18993	1,9326	UP
Dihydrolipoyl dehydrogenase	A9HFH1	33850	46865	52712	85874	90398	81971	0,0043	44476	86081	1,9355	UP
Ferredoxin--NADP reductase	A9HLF6	21711	19908	14465	32793	35514	40360	0,0024	18695	36223	1,9376	UP
30S ribosomal protein S19	RS19	41670	15960	22922	58804	51735	48489	0,0305	26851	53009	1,9742	UP
Putative rod shape-determining protein mreB	A9HM98	10509	19636	17984	30420	32701	32792	0,0116	16043	31971	1,9928	UP
Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase	A9HEE4	12580	13784	16634	23565	29446	35450	0,0180	14333	29487	2,0573	UP
ATP synthase subunit beta	ATPB	59088	64999	97842	166244	162847	154036	0,0064	73976	161042	2,1769	UP
Argininosuccinate lyase	ARLY	4348	2130	4430	8340	8303	7112	0,0073	3636	7918	2,1776	UP
Thioredoxin	A9HA92	51664	42177	57928	130099	102466	100315	0,0061	50590	110960	2,1933	UP
Putative pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	A9HHP7	6077	4901	6040	11969	13202	12350	0,0001	5673	12507	2,2047	UP
Putative transcriptional Regulator	A9HFD0	3571	2118	1312	5299	5323	5116	0,0233	2334	5246	2,2478	UP
D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	A9HIU7	3511	4064	5099	8263	10556	9744	0,0022	4224	9521	2,2538	UP
Luciferase-like monooxygenase	A9HSA0	4649	4649	4799	9347	12631	9850	0,0142	4699	10609	2,2577	UP
Uncharacterized protein	A9HF96	24308	18617	13296	31770	41385	54061	0,0240	18740	42405	2,2628	UP
50S ribosomal protein L6	RL6	48133	47840	35443	114399	84764	101110	0,0053	43805	100091	2,2849	UP
NADH-quinone oxidoreductase	A9HRT3	16917	21394	24303	49085	47889	46682	0,0017	20871	47886	2,2943	UP
Hopanoid biosynthesis associated radical SAM protein HpnH	A9HAA5	14672	17159	12903	30681	31312	41546	0,0106	14911	34513	2,3146	UP
Phosphate acyltransferase	PLSX	9888	11040	11362	19981	28527	26902	0,0144	10763	25137	2,3355	UP
Chemoreceptor mcpA (Methyl-accepting chemotaxis protein)	A9HHE0	15031	14084	17325	35984	36190	36368	0,0010	15480	36181	2,3373	UP
D-2-hydroxyacid dehydrogenase	A9HDT4	145460	139892	137947	361703	339842	294889	0,0049	141100	332144	2,3540	UP
2-nitropropane dioxygenase	A9HF38	6749	7248	8257	17156	17534	17776	0,0003	7418	17489	2,3575	UP
ABC transporter ATP-binding protein	A9H4G2	6623	7681	8536	14729	19908	20012	0,0092	7613	18216	2,3927	UP
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	A9HJA9	30019	29955	45947	90221	86452	80438	0,0017	35307	85704	2,4274	UP

Nucleoid-associated protein GDI3467/Gdia_2910	Y3467	21351	32429	17576	58735	54515	60379	0,0045	23786	57876	2,4332	UP	
ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit	A9HRV4	60818	67368	65744	160821	160869	150242	0,0001	64644	157311	2,4335	UP	
2,3,4,5-tetrahydropyridine-2,6-dicarboxylate N-	A9HKR5	14947	17059	17903	36433	46794	41242	0,0048	16636	41490	2,4939	UP	
Transcription termination factor Rho	A9HE94	14514	14509	15083	32874	34424	43343	0,0103	14702	36880	2,5085	UP	
Transaldolase	A9H320	62010	65585	88416	200604	186254	155957	0,0020	72004	180938	2,5129	UP	
Acetoin reductase	A9HPB2	1994	6061	3922	10601	10643	9153	0,0110	3992	10132	2,5381	UP	
Putative endoribonuclease protein	A9HN59	6087	4223	3610	10234	13586	11512	0,0027	4640	11777	2,5383	UP	
Putative membrane protein	A9HAA2	9158	6636	4377	15628	16901	19269	0,0023	6724	17266	2,5678	UP	
Putative chemotaxis protein cheA	A9HHF0	4202	4553	6415	11276	12881	15345	0,0040	5056	13167	2,6040	UP	
Aconitate hydratase	A9HEZ2	73576	83098	92909	195353	227642	230145	0,0009	83194	217713	2,6169	UP	
Uncharacterized protein	A9H4L3	6249	3469	3509	11163	11781	11783	0,0064	4409	11576	2,6254	UP	
ATP synthase subunit delta	ATPD	13594	12134	13667	32265	37557	34113	0,0013	13132	34645	2,6383	UP	
50S ribosomal protein L15	RL15	19601	17783	15793	42844	54316	44721	0,0046	17726	47293	2,6681	UP	
4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl synthase (flavodoxin)	diphosphate	ISPG	5465	6762	8621	16492	17851	21669	0,0029	6949	18671	2,6867	UP
Adenosylhomocysteinase	A9HFJ7	14164	16076	17728	40281	43599	45900	0,0002	15989	43260	2,7055	UP	
Adenyllyl-sulfate kinase	A9H0W3	3297	6166	5551	12335	15310	13353	0,0011	5005	13666	2,7307	UP	
50S ribosomal protein L14	RL14	42373	34719	28709	98622	87272	104364	0,0004	35267	96753	2,7434	UP	
Transcription termination/antitermination protein NusA	A9HF12	8862	9698	13348	29372	30916	27365	0,0003	10636	29218	2,7471	UP	
Putative 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9H2M9	37917	49622	55042	140071	130546	131485	0,0002	47527	134034	2,8202	UP	
Oxidoreductase (Aldo/keto reductase) protein	A9H614	6864	7623	8110	24855	21567	17598	0,0099	7532	21340	2,8331	UP	
Peroxidase	A9HPI6	8169	15087	3908	18406	28062	31254	0,0151	9055	25907	2,8612	UP	
FeS assembly protein SufB	A9HRY9	1913	3041	2819	8767	6704	7163	0,0027	2591	7545	2,9124	UP	
Acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex	A9HJB2	13092	14596	21786	47321	48631	50747	0,0015	16492	48900	2,9651	UP	
Arginine--tRNA ligase	A9HLH8	3830	4573	5147	13292	14816	12427	0,0006	4516	13511	2,9916	UP	
Malate dehydrogenase (Oxaloacetate-decarboxylating) (NADP(+))	A9HH05	3050	3713	4746	11801	12635	10804	0,0002	3837	11746	3,0617	UP	
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	A9HM70	26281	15570	12679	57094	53749	56495	0,0043	18177	55779	3,0687	UP	
Cold-shock DEAD box protein A homolog	A9HRW6	5282	5022	6044	15554	16885	18484	0,0012	5449	16974	3,1150	UP	
Succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit	A9HFD5	16529	15004	10524	40379	44537	48615	0,0004	14019	44510	3,1750	UP	

Conserved protein	A9HRX3	10449	8035	5295	19486	23411	32780	0,0176	7926	25226	3,1826	UP	
50S ribosomal protein L11	RL11	56612	64562	46641	183298	166028	187123	0,0001	55938	178816	3,1967	UP	
4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl reductase	diphosphate	A9HS93	12046	13347	11824	35942	45761	38274	0,0049	12406	39992	3,2237	UP
Polyribonucleotide nucleotidyltransferase	PNP	17139	20369	24376	69007	66674	64841	0,0001	20628	66841	3,2403	UP	
Protein GrpE	A9HEA5	4139	3355	2091	10288	10360	11202	0,0009	3195	10617	3,3228	UP	
Carbamoyl-phosphate synthase large chain	A9H1P7	3737	4514	5366	14033	16465	14798	0,0003	4539	15099	3,3265	UP	
Uncharacterized protein	A9HC33	8035	7532	9499	26828	30356	31494	0,0007	8355	29559	3,5377	UP	
Putative 2-nitropropane dioxygenase	A9HJ45	5298	4679	5487	16988	17044	21451	0,0052	5155	18494	3,5878	UP	
Conserved protein	A9HS32	7955	6336	3862	19193	22817	24362	0,0007	6051	22124	3,6566	UP	
Aspartate-tRNA(Asp/Asn) ligase	A9HLJ4	3881	3294	3959	11963	14053	14991	0,0029	3711	13669	3,6829	UP	
Chaperone SurA	A9H1L4	3821	2688	1299	8916	8953	11699	0,0021	2603	9856	3,7868	UP	
Chaperone clpB	A9HH31	2424	2397	6177	15499	13742	13446	0,0025	3666	14229	3,8813	UP	
Glycine dehydrogenase (decarboxylating)	A9HM48	2821	3377	4086	12003	14837	14262	0,0013	3428	13701	3,9965	UP	
Uncharacterized protein	A9HF8	4446	3953	1528	13912	13121	13032	0,0023	3309	13355	4,0359	UP	
GTP-binding protein TypA/BipA	A9H9C1	6618	8057	9562	32799	33304	32547	0,0003	8079	32883	4,0703	UP	
Putative transcriptional regulator protein	A9H0C0	6092	4828	3467	18752	20557	19967	0,0001	4796	19759	4,1201	UP	
Elongation factor G	A9HS02	23498	25488	26959	107683	103656	104330	0,0000	25315	105223	4,1566	UP	
ROS/MUCR transcriptional regulator protein	A9HFC1	2922	3491	2383	11638	12257	13253	0,0001	2932	12383	4,2233	UP	
Gluconokinase	A9HSC5	24366	11344	5359	83556	72748	80810	0,0008	13690	79038	5,7735	UP	
Phosphomethylpyrimidine synthase	A9H8N9	2447	3579	4479	22037	25903	23559	0,0003	3502	23833	6,8062	UP	
Heat shock protein Hsp20	A9HHR8	2595	2057	2085	55158	54420	78540	0,0083	2246	62706	27,9251	UP	
Uncharacterized protein	A9H8V7	1	1	1	2032	1493	1214	0,0112	1	1580	1579,6667	Única_Cd	
Lipoil synthase	A9HJB7	1	1	1	6594	7451	8458	0,0026	1	7501	7501,2222	Única_Cd	
Heat shock protein Hsp20	A9HCX4	1	1	1	14869	14707	18607	0,0031	1	16061	16061,0000	Única_Cd	
Putative type I secretion outer membrane protein, TolC	A9HG75	1	1	1	23156	22605	22321	0,0001	1	22694	22694,2222	Única_Cd	
Elongation factor P	EFP	1	1	1	58978	52658	62600	0,0012	1	58079	58078,6667	Única_Cd	
Uncharacterized protein	A9HSC1	18903	27821	16833	1	1	1	0,0122	21185	1	0,0000	Única_controle	
30S ribosomal protein S5	RS5	114046	120388	58165	5049	4739	6586	0,0215	97533	5458	0,0560	DOWN	
Putative tonB-dependent receptor protein	A9H7M7	70008	75655	59369	7746	7940	8453	0,0031	68344	8046	0,1177	DOWN	

Putative TonB-dependent receptor	A9HNM4	24442	22826	21073	3028	2967	3838	0,0006	22780	3278	0,1439	DOWN
Phosphoadenosine phosphosulfate reductase	A9H0V9	17500	22040	21219	3709	2206	4363	0,0011	20253	3426	0,1692	DOWN
Putative tTnB-dependent receptor	A9HH16	7535	7501	5612	1293	1276		0,0063	6883	1284	0,1866	DOWN
50S ribosomal protein L16	RL16	41939	52063	28369	8282	7170	9831	0,0203	40790	8428	0,2066	DOWN
Putative fumarylacetoacetate (FAA) hydrolase protein	A9HCF1	6765	8350	9680	1930	1975	1681	0,0080	8265	1862	0,2253	DOWN
Putative TonB-dependent receptor	A9H7L3	37198	38857	32330	7730	9147	8412	0,0018	36128	8430	0,2333	DOWN
Uncharacterized protein	A9HPC7	8972	10978	10554	2329	2891	2094	0,0013	10168	2438	0,2397	DOWN
Conserved protein	A9HFQ7	44145	47357	47239	9092	13464	12055	0,0000	46247	11537	0,2495	DOWN
Alpha/beta hydrolase, chloride peroxidase	A9H000	45036	50386	45339	11479	11604	13733	0,0003	46920	12272	0,2616	DOWN
Uncharacterized protein	A9HRF9	9388	10486	12840	3493	2401	2743	0,0051	10905	2879	0,2640	DOWN
Choloylglycine hydrolase	A9H2I4	11018	12383	12026	3591	2826	3223	0,0001	11809	3213	0,2721	DOWN
Conserved protein	A9HF41	19042	21484	19811	7033	4720	4978	0,0001	20112	5577	0,2773	DOWN
Uncharacterized protein	A9H4N6	7302	7881	8477	2662	1661	2299	0,0001	7886	2207	0,2799	DOWN
Conseved protein	A9H247	9352	10748	11711	3147	3307	2908	0,0035	10604	3120	0,2943	DOWN
Putative transcriptional regulator, rrf2 family	A9HRZ0	13040	11989	10258	3780	3433	3521	0,0044	11762	3578	0,3042	DOWN
Periplasmic binding protein	A9HK76	44992	49484	46380	13371	13605	17084	0,0000	46952	14687	0,3128	DOWN
Putative tonB-dependent receptor	A9HEU6	176534	177967	165345	52376	55243	57425	0,0002	173282	55015	0,3175	DOWN
Uncharacterized protein	A9HIF7	7044	9041	8541	2812	2748	2263	0,0037	8209	2608	0,3177	DOWN
Methylamine dehydrogenase heavy chain	A9H2X8	19912	23838	22972	6626	7079	7565	0,0022	22240	7090	0,3188	DOWN
Uncharacterized protein	A9HAF1	17359	17752	19959	5328	5617	6616	0,0005	18356	5854	0,3189	DOWN
Uncharacterized protein	A9HJK6	17995	18510	12520	3665	8409	3654	0,0060	16342	5243	0,3208	DOWN
Putative periplasmic binding proteins	A9H577	100633	117826	128612	36833	39759	37675	0,0051	115691	38089	0,3292	DOWN
Fucose operon fucU protein	A9HPM0	11020	11220	14309	4276	3611	4160	0,0070	12183	4016	0,3296	DOWN
Uncharacterized protein	A9H6W0	31348	33217	31578	12649	9533	10085	0,0001	32048	10756	0,3356	DOWN
Endoribonuclease L-PSP	A9HBS7	44553	28180	28212	11510	13437	11172	0,0280	33649	12040	0,3578	DOWN
Riboflavin biosynthesis protein	A9H8G8	7651	7891	8813	2624	2605	3544	0,0002	8118	2924	0,3602	DOWN
Extracellular solute-binding protein family 1	A9HPE1	183473	200657	183022	62608	94746	47175	0,0031	189051	68176	0,3606	DOWN
Enoyl-CoA hydratase/isomerase	A9HE55	24400	25743	27484	8954	10512	9131	0,0002	25876	9532	0,3684	DOWN
Guanylate kinase	A9HDA8	14822	14067	11946	4950	4921	5238	0,0046	13612	5036	0,3700	DOWN

3-mercaptopyruvate sulfurtransferase	A9HJI4	25617	27370	29243	12382	13253	5901	0,0044	27410	10512	0,3835	DOWN
Phosphoenolpyruvate carboxykinase (ATP)	A9H8M9	19526	20140	21814	7233	7665	8825	0,0001	20494	7908	0,3859	DOWN
Putative conjugal transfer	A9HSY7	27372	26993	22842	10848	10231	8904	0,0018	25736	9994	0,3883	DOWN
Putative CinA-like	A9HJD6	12582	11809	14423	5228	5282	4626	0,0032	12938	5045	0,3900	DOWN
Polyphenol oxidase	A9HBY8	20030	20171	19530	7403	9016	6884	0,0007	19910	7768	0,3901	DOWN
Uncharacterized protein	A9HJX9	64462	63714	60334	37050	31968	4911	0,0299	62837	24643	0,3922	DOWN
Uncharacterized protein	A9HE44	12174	12092	9567	4043	4141	5206	0,0036	11278	4464	0,3958	DOWN
Outer membrane protein assembly factor BamD	A9H0L0	22571	24765	22397	11102	9489	7423	0,0004	23244	9338	0,4017	DOWN
Alkyl hydroperoxide reductase/ Thiol specific antioxidant/ Mal allergen	A9HFH9	16090	14522	11612	5474	5941	5692	0,0114	14075	5702	0,4051	DOWN
Aldo/keto reductase family	A9HF59	17724	23196	16801	7998	6534	9118	0,0096	19240	7883	0,4097	DOWN
Putative two component response regulator	A9HH92	10462	9958	9128	4081	3859	4366	0,0009	9849	4102	0,4165	DOWN
Uncharacterized protein	A9H6W8	11608	9174	10964	4905	4237	4351	0,0048	10582	4498	0,4250	DOWN
NAD(P)H dehydrogenase (quinone)	NQOR	30143	35241	39629	16830	14403	13946	0,0060	35004	15060	0,4302	DOWN
Riboflavin biosynthesis protein RibD	A9HDG2	4786	5988	3671	1593	3439	1262	0,0231	4815	2098	0,4357	DOWN
Periplasmic serine endoprotease DegP-like	A9HBK9	32052	34132	31449	11739	14783	16210	0,0004	32544	14244	0,4377	DOWN
Flagellar L-ring protein	A9HHH1	10667	13859	14970	4832	6242	6225	0,0097	13166	5766	0,4380	DOWN
Putative TonB-dependent receptor	A9HDZ9	13217	11674	9688	5527	5133	4538	0,0090	11526	5066	0,4395	DOWN
Amidinotransferase	A9HNM6	9826	10788	12362	4936	4932	4646	0,0065	10992	4838	0,4401	DOWN
Putative dehydrogenase	A9HQE8	22190	23939	26303	9694	11176	11080	0,0016	24144	10650	0,4411	DOWN
Putative extracellular solute-binding protein, PotD/PotF family	A9HGR9	8431	10839	8274	3741	4481	4011	0,0100	9181	4078	0,4441	DOWN
Conserved protein	A9HS96	25780	38152	33915	14620	14048	15045	0,0187	32616	14571	0,4467	DOWN
Putative flavin reductase	A9HE57	17779	13867	13422	7123	7319	5768	0,0089	15023	6737	0,4484	DOWN
Uncharacterized protein	A9HMQ3	91271	98269	101151	38902	43257	48434	0,0001	96897	43531	0,4492	DOWN
Coenzyme PQQ synthesis protein B	PQQB	14838	15736	14222	6459	6616	7056	0,0004	14932	6710	0,4494	DOWN
Molybdopterin binding domain	A9HL54	20948	29413	28759	10938	12362	12405	0,0152	26373	11902	0,4513	DOWN
Acetate kinase	A9HGX6	16717	16225	18208	7858	8253	7567	0,0010	17050	7892	0,4629	DOWN
Phosphoglycolate phosphatase	A9HI43	32009	39111	44503	17808	19288	17050	0,0133	38541	18049	0,4683	DOWN
Uncharacterized protein	A9HI41	13383	10707	8687	4904	4631	5837	0,0214	10926	5124	0,4690	DOWN

Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit	A9HRF1	45185	34982	31497	16903	18256	17476	0,0199	37221	17545	0,4714	DOWN
Putative amidohydrolase	A9HMC5	29463	27622	32385	11777	15461	14960	0,0005	29823	14066	0,4717	DOWN
Octanoyltransferase	LIPB	9343	9741	11530	4521	4767	5164	0,0054	10205	4817	0,4721	DOWN
ABC transporter related	A9HPE7	63165	71626	76433	29453	30561	39952	0,0010	70408	33322	0,4733	DOWN
Putative polyketide synthase	A9H221	5577	6477	6641	4168	2351	2334	0,0084	6232	2951	0,4735	DOWN
Putative membrane protein	A9H806	21713	23131	20414	9617	9396	11917	0,0003	21753	10310	0,4740	DOWN
Pyrrolo-quinoline quinone	A9H134	62593	71129	56418	27621	25184	37502	0,0022	63380	30102	0,4749	DOWN
Ribosomal RNA large subunit methyltransferase E	A9HIS5	17923	17650	10686	7295	6327	8469	0,0341	15419	7364	0,4776	DOWN
Conserved protein	A9H282	17111	16593	17841	6758	7626	10312	0,0042	17181	8232	0,4791	DOWN
TonB-dependent receptor	A9H7L9	15796	16109	11362	7037	6665	7070	0,0192	14422	6924	0,4801	DOWN
Chaperone protein dnaJ	A9HAH3	67333	66865	67474	31272	30716	35077	0,0007	67224	32355	0,4813	DOWN
Oxidoreductase	A9HAF3	122064	141397	87709	69836	52191	48565	0,0230	117057	56864	0,4858	DOWN
Putative L-asparaginase II protein	A9HE73	39122	47655	43310	20935	19473	22847	0,0029	43362	21085	0,4863	DOWN
Putative outer membrane protein	A9HQ96	24991	26854	26429	12521	13730	11995	0,0000	26091	12749	0,4886	DOWN
50S ribosomal protein L24	RL24	19543	12818	16822	10229	6212	7625	0,0150	16394	8022	0,4893	DOWN
Putative gamma-glutamyltranspeptidase	A9HJR4	21120	22054	24803	11086	11471	10994	0,0041	22659	11184	0,4936	DOWN
Uncharacterized protein	A9HCT2	70659	73712	43692	48295	20437	24805	0,0356	62688	31179	0,4974	DOWN
Porin	A9HPF6	29752	33953	27743	11038	13816	20695	0,0079	30483	15183	0,4981	DOWN
Putative ribonuclease D	A9HKL8	11492	11674	12264	5808	6057	6065	0,0003	11810	5977	0,5061	DOWN
Carboxymethylenebutenolidase	A9H121	12733	14837	16235	7240	7937	7081	0,0074	14602	7419	0,5081	DOWN
Uncharacterized protein	A9HEH6	16772	18392	12985	6871	8093	9504	0,0117	16050	8156	0,5082	DOWN
Cysteine desulfurase	A9HRY2	34035	36404	37932	19882	19000	16263	0,0002	36123	18381	0,5088	DOWN
PEBP family protein	A9HBI3	41209	40146	36852	20385	20692	19331	0,0012	39403	20136	0,5110	DOWN
Multifunctional fusion protein	A9H0J6	27667	29142	15262	7536	15196	14127	0,0492	24024	12286	0,5114	DOWN
D-xylose ABC transporter, periplasmic substrate-binding protein	A9HNP0	185027	196528	224659	90074	105660	115033	0,0020	202071	103589	0,5126	DOWN
Gamma-glutamyltranspeptidase	A9HM18	53129	53163	55000	26368	25755	30862	0,0007	53764	27661	0,5145	DOWN
Conserved protein	A9HAR7	21065	22605	21714	11387	12740	9560	0,0011	21795	11229	0,5152	DOWN
Membrane dipeptidase	A9HFJ9	18805	20379	16653	8807	10114	9997	0,0037	18612	9639	0,5179	DOWN
N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase	A9HLR0	34597	38255	43371	19942	20782	19594	0,0083	38741	20106	0,5190	DOWN

Putative tonB-dependent receptor	A9HE38	181137	205378	182718	101431	91586	102973	0,0012	189744	98663	0,5200	DOWN
Putative ABC transporter ATP-binding protein in rpoN region	A9HKM9	21705	21383	22370	11921	10531	11867	0,0001	21820	11439	0,5243	DOWN
CRISPR-associated protein Cas5 family	A9HLC6	12021	7980	7971	4249	4540	5898	0,0335	9324	4896	0,5251	DOWN
Putative autotransporter protein	A9H4L1	21419	23089	19561	10787	11384	11659	0,0036	21356	11277	0,5280	DOWN
30S ribosomal protein S8	RS8	144767	142244	146597	69930	73589	86274	0,0017	144536	76598	0,5300	DOWN
30S ribosomal protein S9	A9H812	138299	127397	114897	62335	62515	77159	0,0014	126865	67336	0,5308	DOWN
Uncharacterized protein	A9HBZ1	15848	17034	16777	8862	8521	8991	0,0003	16553	8791	0,5311	DOWN
4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase	ISPE	27854	27400	30227	18893	13559	13597	0,0038	28494	15350	0,5387	DOWN
Preprotein translocase, SecG subunit	A9HJ83	22680	22637	20427	9281	10454	15703	0,0124	21915	11812	0,5390	DOWN
Uncharacterized protein	A9HSZ4	49654	47849	39934	22982	24010	27376	0,0049	45812	24789	0,5411	DOWN
Phosphoglycerate mutase	A9HBZ6	33907	48659	42799	23558	18319	26381	0,0141	41789	22753	0,5445	DOWN
Uncharacterized protein	A9H730	19130	18262	16298	10546	8636	10385	0,0011	17896	9856	0,5507	DOWN
Triosephosphate isomerase	TPIS	47151	54989	47708	28414	29616	24813	0,0019	49950	27614	0,5528	DOWN
Exodeoxyribonuclease III Xth	A9HIE6	25084	23783	15826	10972	11432	13383	0,0358	21564	11929	0,5532	DOWN
tRNA pseudouridine synthase B	TRUB	19412	24666	22973	12227	12596	12304	0,0114	22351	12375	0,5537	DOWN
Putative polysaccharide export protein	A9HMV6	50976	53726	52640	29005	29219	29135	0,0006	52447	29120	0,5552	DOWN
Bifunctional NAD(P)H-hydrate repair enzyme	A9HRW0	7106	8304	9767	4667	4723	4594	0,0199	8392	4661	0,5554	DOWN
Uncharacterized protein	A9HK68	11531	14183	13418	8407	8376	5046	0,0084	13044	7276	0,5579	DOWN
Aldehyde Dehydrogenase	A9H4V7	119347	135092	133563	68327	74916	74086	0,0015	129334	72443	0,5601	DOWN
Uncharacterized protein	A9H9H3	17037	19965	15431	8174	9726	11506	0,0059	17478	9802	0,5608	DOWN
Alkyl hydroperoxide reductase/ Thiol specific antioxidant/ Mal allergen	A9H3W7	71116	61226	53035	35027	33056	35899	0,0162	61792	34660	0,5609	DOWN
Molybdopterin biosynthesis protein moeB	A9HEI1	8093	9309	10774	5148	6284	4391	0,0077	9392	5274	0,5616	DOWN
50S ribosomal protein L3	RL3	67758	68823	52667	34326	34724	38474	0,0143	63083	35841	0,5682	DOWN
NADP oxidoreductase coenzyme F420-dependent	A9HL93	31484	39635	37175	20481	19937	21249	0,0106	36098	20556	0,5694	DOWN
HAD-superfamily hydrolase, subfamily IA, variant 3	A9HDX4	12541	16254	16572	7389	7504	11167	0,0115	15122	8687	0,5744	DOWN
Trehalose 6-phosphate phosphatase	A9HBU3	27159	32031	31518	21365	16382	14399	0,0047	30236	17382	0,5749	DOWN
Protein TolR	A9HAZ8	45143	38374	28927	19365	21843	23539	0,0346	37482	21582	0,5758	DOWN
Carboxymethylenebutenolidase	A9HK54	25499	28583	31120	14817	16282	18076	0,0032	28401	16392	0,5772	DOWN

Serine protease	A9HEK6	135716	134287	127746	77589	74136	78107	0,0001	132583	76611	0,5778	DOWN
30S ribosomal protein S11	RS11	11034	15214	10868	6862	8628	5963	0,0231	12372	7151	0,5780	DOWN
Outer membrane protein	A9H3F7	11181	13561	14652	7301	7425	8171	0,0133	13131	7632	0,5812	DOWN
Hydroxyacylglutathione hydrolase	A9H1G0	11976	15343	14295	6927	7818	9658	0,0060	13871	8134	0,5864	DOWN
Acyl-[acyl-carrier-protein]-UDP-N-acetylglucosamine O-acyltransferase	A9HKU0	23449	25757	24707	14939	13871	14536	0,0005	24638	14449	0,5864	DOWN
Putative Aldose 1-epimerase	A9HDX0	12493	14793	14086	6226	9517	8644	0,0060	13791	8129	0,5895	DOWN
Putative Acetyl-CoA acetyltransferase (Acetoacetyl-CoA thiolase)	A9HE46	7220	8639	8140	4718	5542	3940	0,0032	8000	4733	0,5917	DOWN
Uncharacterized protein	A9H986	21556	28099	30063	14347	18069	14778	0,0176	26573	15731	0,5920	DOWN
Outer-membrane lipoprotein carrier protein	A9H103	13735	13893	15203	8591	9083	7707	0,0004	14277	8460	0,5926	DOWN
Glutathione peroxidase	A9HKB6	22392	16994	14209	10235	10166	11726	0,0454	17865	10709	0,5995	DOWN
Nitrilase/cyanide hydratase	A9GZH7	26791	27824	27903	15067	16450	18032	0,0011	27506	16516	0,6004	DOWN
Conserved protein	A9HIX3	76019	86333	81999	38194	49366	59458	0,0096	81450	49006	0,6017	DOWN
Lipoprotein SmpA/OmlA family	A9HS35	34300	32171	35366	15461	23842	22383	0,0123	33946	20562	0,6057	DOWN
NADP-dependent L-serine/L-allo-threonine dehydrogenase	A9H4E8	88475	100775	88398	60200	53988	54626	0,0024	92549	56271	0,6080	DOWN
Alcohol dehydrogenase GroES domain protein	A9H073	15631	16913	17728	9678	9344	11564	0,0011	16757	10195	0,6084	DOWN
Histone family protein DNA-binding protein	A9HP12	17375	21824	19940	11470	11961	12574	0,0108	19713	12002	0,6088	DOWN
Transcriptional regulator, IclR family/regucalcin	A9HL52	22928	26391	26507	14392	14913	16947	0,0018	25275	15417	0,6100	DOWN
Putative NAD dependent epimerase	A9H2U3	11301	11954	10121	5574	7597	7284	0,0035	11125	6818	0,6129	DOWN
Peptide chain release factor 2	A9HF65	17762	19155	18425	10505	11019	12492	0,0005	18447	11339	0,6147	DOWN
Ribokinase	A9H0C5	10231	13179	11475	7814	6348	7288	0,0096	11628	7150	0,6149	DOWN
Putative haloacid dehalogenase-like hydrolase	A9HBE7	29526	32248	35315	18325	20803	20684	0,0038	32363	19937	0,6161	DOWN
Putative FeS assembly protein SufD	A9HRY4	17701	16882	15817	8444	11288	11329	0,0042	16800	10354	0,6163	DOWN
6-phosphogluconate dehydrogenase NAD-binding	A9HL10	15292	14465	12860	10142	9076	7074	0,0051	14205	8764	0,6169	DOWN
UPF0303 protein GDI1201	A9HDU3	55970	61265	56273	34464	36439	36707	0,0011	57836	35870	0,6202	DOWN
Tol-Pal system protein TolB	A9HB04	133077	155911	131872	78092	87115	95858	0,0036	140287	87021	0,6203	DOWN
Zinc-type alcohol dehydrogenase-like protein	A9H2A8	20870	22569	24401	13563	12904	15952	0,0018	22613	14140	0,6253	DOWN
Conserved protein	A9H314	33483	36376	38183	19008	22339	26686	0,0056	36014	22678	0,6297	DOWN
D-ribose-binding periplasmic protein	A9HPK6	204671	226866	218241	142176	131750	135473	0,0010	216593	136466	0,6301	DOWN

Cytokinin riboside phosphoribohydrolase	5'-monophosphate	A9HEM3	39915	50112	41632	23487	29764	29746	0,0086	43887	27666	0,6304	DOWN
Outer membrane efflux protein		A9H3U0	6858	6876	8351	5286	4532	4163	0,0072	7362	4660	0,6330	DOWN
Putative xanthine dehydrogenase iron-sulfur-binding subunit		A9H189	12378	11566	15326	7560	8512	8891	0,0205	13090	8321	0,6357	DOWN
Quinone oxidoreductase		A9H7Y9	10668	14229	12523	7522	7863	8439	0,0202	12473	7941	0,6367	DOWN
Flagellar P-ring protein		A9HH48	10264	12389	11993	6584	8311	7315	0,0043	11549	7403	0,6411	DOWN
Bacteriocin protein		A9H5P1	39974	45566	39666	25624	24976	29703	0,0021	41736	26768	0,6414	DOWN
Lipoprotein		A9HPJ3	41207	49304	47894	28970	28861	30950	0,0083	46135	29594	0,6415	DOWN
Glutamine amidotransferase of anthranilate synthase		A9HJ94	15851	15258	16327	10315	11709	8485	0,0091	15812	10170	0,6432	DOWN
Dehydrogenase		A9H159	10974	11116	9928	6846	6507	7429	0,0009	10672	6927	0,6491	DOWN
Peptidase		A9HEL6	42341	35454	37784	20413	23261	31638	0,0183	38527	25104	0,6516	DOWN
Delta-aminolevulinic acid dehydratase		A9HRP9	22581	21960	23152	12509	16600	15233	0,0085	22565	14781	0,6550	DOWN
Threonylcarbamoyl-AMP synthase		A9H1J9	13263	12523	12370	7865	8474	8702	0,0002	12719	8347	0,6563	DOWN
Periplasmic binding protein/LacI transcriptional regulator		A9HPB9	243558	266109	261095	173751	163148	168978	0,0009	256921	168626	0,6563	DOWN
Putative 6-phosphogluconolactonase		A9HJ42	19500	22673	18812	12940	11877	15259	0,0058	20328	13359	0,6571	DOWN
LexA repressor		LEXA	12585	12818	8769	6524	6671	9272	0,0392	11391	7489	0,6575	DOWN
Flagellar M-ring protein		A9HHC2	6956	7900	10006	5395	5820	5158	0,0411	8287	5458	0,6586	DOWN
Probable transcriptional regulatory protein GDI0798		A9HAV2	42852	49448	47404	26073	32146	33835	0,0036	46568	30685	0,6589	DOWN
Putative penicillin-binding protein		A9H435	21476	22312	22846	14512	14588	14890	0,0007	22211	14663	0,6602	DOWN
Flagellar motor switch protein FliN		A9HHD1	56008	55985	59962	37189	38742	37983	0,0011	57319	37971	0,6625	DOWN
Threonine synthase		A9HKE7	30677	25149	23041	16681	17778	17875	0,0283	26289	17445	0,6636	DOWN
Peptidase U62 modulator of DNA gyrase		A9HKF2	16651	19487	22611	10988	14738	13282	0,0203	19583	13002	0,6640	DOWN
Putative ribitol 2-dehydrogenase		A9HPG2	99157	117956	106953	70433	75434	69372	0,0071	108022	71747	0,6642	DOWN
Anthranilate phosphoribosyltransferase		A9HJ97	13615	15425	16441	8589	11107	10524	0,0054	15160	10073	0,6645	DOWN
Conserved protein		A9HBT6	15193	13879	16334	9036	10835	10307	0,0029	15135	10059	0,6646	DOWN
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase		A9HIQ1	159157	171750	146171	125198	109509	84415	0,0136	159026	106374	0,6689	UNCHANGED
dCTP deaminase		A9HFN2	29274	31645	34151	17680	22986	23610	0,0071	31690	21425	0,6761	UNCHANGED
Orotidine 5'-phosphate decarboxylase		A9HES3	12248	12417	12433	8270	8905	7949	0,0018	12366	8375	0,6772	UNCHANGED
Bifunctional protein GlmU		GLMU	6158	6059	6538	4295	4406	4006	0,0003	6252	4236	0,6775	UNCHANGED

UDP-N-acetylMuramoyl-L-alanyl-D-glutamate--2,6-diaminopimelate ligase	A9H0H5	6816	7854	7851	4944	5354	5001	0,0060	7507	5100	0,6794	UNCHANGED
Signal peptidase I	A9H4M0	18372	15332	12675	10836	9789	10972	0,0446	15460	10532	0,6813	UNCHANGED
Signal peptidase I	A9HKX7	9963	10076	8745	5744	7392	6485	0,0045	9595	6540	0,6817	UNCHANGED
Ferritin Dps family protein	A9HB55	40288	36331	38396	25788	26305	26428	0,0037	38338	26173	0,6827	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HKE4	16455	17919	16441	9850	12706	12168	0,0057	16938	11575	0,6833	UNCHANGED
Aldo/keto reductase	A9HH27	21932	16185	24014	12758	14284	15601	0,0481	20710	14214	0,6863	UNCHANGED
Conserved protein	A9HSH2	84762	65236	71649	50042	41564	60672	0,0221	73882	50759	0,6870	UNCHANGED
Metal-dependent carboxypeptidase	A9HKD9	8296	8686	9081	5514	5427	7064	0,0118	8688	6002	0,6908	UNCHANGED
Putative Outer membrane protein oprM	A9HEG4	17193	21855	22946	13927	14537	14599	0,0340	20665	14354	0,6946	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H0Y9	46666	56466	50690	37269	36514	34058	0,0116	51274	35947	0,7011	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HRD5	40761	49897	46601	31767	31444	33123	0,0162	45753	32111	0,7018	UNCHANGED
Inositol-1-monophosphatase	A9HRD4	36538	36904	33418	20724	26033	28760	0,0154	35620	25172	0,7067	UNCHANGED
Ubiquinone biosynthesis O-methyltransferase	A9HJ43	24111	24663	29456	17480	21199	16725	0,0136	26077	18468	0,7082	UNCHANGED
3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase CysQ	A9HJ6	18669	23744	20368	12693	13065	19118	0,0435	20927	14959	0,7148	UNCHANGED
Universal stress protein	A9H0V0	64928	65515	68074	44415	48182	49532	0,0006	66172	47376	0,7159	UNCHANGED
FAD linked oxidase domain protein	A9H1K4	20915	21557	25100	16302	16490	15738	0,0181	22524	16177	0,7182	UNCHANGED
Glycosyl transferase	A9HH55	59916	66509	57954	42754	45145	44591	0,0080	61460	44164	0,7186	UNCHANGED
TonB-dependent receptor	A9H932	63727	65905	53074	40252	40658	50550	0,0158	60902	43820	0,7195	UNCHANGED
Type II and III secretion system protein	A9HHL5	24145	24812	20076	15552	16332	17939	0,0162	23011	16608	0,7217	UNCHANGED
2-ketogluconate reductase	A9H3Y4	36929	37641	30346	29432	26863	19588	0,0324	34972	25294	0,7233	UNCHANGED
4-hydroxythreonine-4-phosphate dehydrogenase	A9HET4	14191	15068	13428	10905	9823	10187	0,0019	14229	10305	0,7242	UNCHANGED
MltA domain protein	A9HK87	6520	7113	7687	5242	5267	4944	0,0104	7106	5151	0,7249	UNCHANGED
Enolase-phosphatase E1	MTNC	12014	11704	11480	8111	8271	9155	0,0018	11733	8512	0,7255	UNCHANGED
Ribosome maturation factor RimP	RIMP	35457	33567	32209	23579	25119	24952	0,0016	33744	24550	0,7275	UNCHANGED
Putative aldo-keto reductase	A9HQR7	9309	10697	10787	7935	7487	7077	0,0072	10264	7499	0,7306	UNCHANGED
Transcription termination/antitermination protein NusG	A9H988	62414	62811	54562	40833	42418	48586	0,0058	59929	43946	0,7333	UNCHANGED
Phosphate-binding protein PstS	A9H9X2	69914	74043	66754	53804	51411	49484	0,0018	70237	51566	0,7342	UNCHANGED
Oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase	A9HK65	22536	23239	19947	13961	16307	18282	0,0126	21907	16183	0,7387	UNCHANGED
Serine--tRNA ligase	SYS	29186	28850	30028	20140	21695	23391	0,0041	29355	21742	0,7407	UNCHANGED

Putative molybdopterin biosynthesis protein moeA	A9HJ67	12248	13123	14587	9917	10504	9205	0,0100	13319	9875	0,7414	UNCHANGED
Putative pyruvate dehydrogenase E2 component	A9HHP4	19975	23106	25187	18429	16596	15719	0,0207	22756	16915	0,7433	UNCHANGED
PRC-barrel protein	A9HNW8	56948	55524	51446	39907	42681	39432	0,0019	54639	40673	0,7444	UNCHANGED
Inorganic pyrophosphatase	A9H4G5	311708	283766	306750	211487	221133	239511	0,0015	300741	224043	0,7450	UNCHANGED
Putative regulatory protein	A9HF98	23080	26269	25689	16808	19034	20091	0,0049	25013	18644	0,7454	UNCHANGED
Peptidoglycan-associated protein	A9HB05	503849	524654	435663	361072	370464	361146	0,0212	488055	364227	0,7463	UNCHANGED
Ferredoxin--NADP reductase	FENR	25432	28965	29538	21924	21755	19318	0,0073	27979	20999	0,7505	UNCHANGED
Dipeptidyl-peptidase	A9H090	78086	77075	77184	53808	54284	66706	0,0222	77448	58266	0,7523	UNCHANGED
Secretion protein, HlyD-family	A9HA48	14723	14776	13682	9602	10756	12179	0,0127	14394	10846	0,7535	UNCHANGED
Histidinol-phosphate aminotransferase	HIS8	15675	16978	17335	11762	12351	13893	0,0045	16663	12669	0,7603	UNCHANGED
Putative dihydro-orotate protein	A9GZR4	17985	21164	23210	14814	16166	16563	0,0350	20786	15847	0,7624	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HBG4	15134	13848	14698	9027	12127	12167	0,0331	14560	11107	0,7628	UNCHANGED
Efflux transporter, RND family, MFP subunit	A9HEF9	45327	47522	49549	36325	36162	36313	0,0058	47466	36266	0,7641	UNCHANGED
Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	A9HFF9	38102	40652	38365	33467	29294	27352	0,0117	39040	30038	0,7694	UNCHANGED
Chemotaxis response regulator protein-glutamate methyltransferase	A9HHG0	30284	32312	33856	25734	25977	22788	0,0037	32151	24833	0,7724	UNCHANGED
Bifunctional enzyme IspD/IspF	A9HLU2	26769	29383	30875	22510	23372	21771	0,0108	29009	22551	0,7774	UNCHANGED
TonB-dependent Receptor protein	A9HFV5	217120	245544	205459	180521	159163	182723	0,0170	222708	174136	0,7819	UNCHANGED
Bifunctional protein FolD	FOLD	29399	34851	38311	26710	27975	25729	0,0483	34187	26805	0,7841	UNCHANGED
Phosphatidylserine decarboxylase proenzyme	PSD	30643	35665	35373	22701	27520	29642	0,0265	33894	26621	0,7854	UNCHANGED
Adenylosuccinate synthetase	PURA	43841	54513	53674	41159	40266	38063	0,0391	50676	39829	0,7860	UNCHANGED
Acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit alpha	ACCA	69397	69111	74048	59700	53595	53887	0,0023	70852	55727	0,7865	UNCHANGED
Glucokinase protein	A9HIS0	61499	66642	73657	52090	54592	54393	0,0275	67266	53691	0,7982	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase zinc-binding domain protein	A9HNN4	26611	27190	28280	22291	20849	22588	0,0009	27360	21909	0,8008	UNCHANGED
Putative gamma-glutamyltranspeptidase	A9H4A8	17424	18016	18439	13247	14986	15070	0,0069	17959	14435	0,8037	UNCHANGED
ATP synthase epsilon chain	ATPE	34886	35739	40751	32437	27263	30010	0,0199	37125	29903	0,8055	UNCHANGED
Phosphoglucomutase/phosphomannomutase alpha/beta/alpha domain I	A9H070	71095	67967	73192	55658	53921	61465	0,0053	70751	57015	0,8058	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H8H8	120700	137805	135211	109781	93326	114784	0,0207	131238	105963	0,8074	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HJS1	22991	20807	24413	15949	18567	20661	0,0345	22737	18393	0,8089	UNCHANGED

Two-component response regulator	A9HFR4	22261	24473	21151	17499	17754	19787	0,0139	22628	18346	0,8108	UNCHANGED
Probable chemoreceptor glutamine deamidase CheD	A9HHG6	4023	4530	4062	3729	3147	3483	0,0164	4205	3453	0,8212	UNCHANGED
ATPase associated with various cellular activities AAA_3	A9H3C6	29831	26710	24194	20353	22275	23697	0,0393	26912	22109	0,8215	UNCHANGED
Outer membrane protein	A9HA51	12991	15730	15758	11665	12174	12722	0,0453	14826	12187	0,8220	UNCHANGED
Putative transporter protein	A9H3U2	8246	9316	7578	6361	7097	7216	0,0397	8380	6891	0,8223	UNCHANGED
Cof-like hydrolase	A9H332	84254	77540	82166	67803	66950	68017	0,0090	81320	67590	0,8312	UNCHANGED
NADH dehydrogenase/NAD(P)H nitroreductase rutE	A9HFB0	13119	13565	14593	10032	12001	12479	0,0373	13759	11504	0,8361	UNCHANGED
50S ribosomal protein L5	A9H3M8	134719	144915	148715	124140	108558	126833	0,0178	142783	119844	0,8393	UNCHANGED
Methylthioribose-1-phosphate isomerase	A9HLJ6	11230	12700	13430	11589	10395	10059	0,0485	12453	10681	0,8577	UNCHANGED
Dihydroorotate dehydrogenase (quinone)	A9HBE5	22540	21341	23851	20043	18679	20162	0,0171	22577	19628	0,8694	UNCHANGED
Isochorismatase hydrolase	A9H559	5072	4959	5589	4487	4719	4437	0,0296	5207	4548	0,8735	UNCHANGED
Mammalian cell entry related domain protein	A9H983	9558	10663	10760	8507	9679	9073	0,0370	10327	9086	0,8799	UNCHANGED
Putative phosphatidylethanolamine N-methyltransferase	A9HKI4	17299	17204	15467	13513	15112	15408	0,0387	16657	14678	0,8812	UNCHANGED
Putative short-chain dehydrogenase	A9HLW8	48098	50066	50084	43475	45330	44372	0,0023	49416	44393	0,8983	UNCHANGED
Putative oxidoreductase	A9H878	5474	5539	5659	5053	5081	5077	0,0054	5557	5070	0,9123	UNCHANGED
Phosphoribosylglycinamide formyltransferase	A9HJV2	8081	8373	8549	7786	7816	7932	0,0291	8334	7845	0,9413	UNCHANGED
aldehyde dehydrogenase	A9HB30	4103	4168	4499	4635	4836	4908	0,0139	4256	4793	1,1260	UNCHANGED
Phosphoribosylamine--glycine ligase	A9H4P1	11150	10913	11774	12059	12672	13725	0,0335	11279	12819	1,1365	UNCHANGED
Aminotransferase	A9HSE7	6997	7308	7002	7836	8619	7940	0,0187	7103	8132	1,1449	UNCHANGED
S-adenosylmethionine synthase	METK	47837	51931	52851	57327	59989	62093	0,0064	50873	59803	1,1755	UNCHANGED
S-(hydroxymethyl)glutathione dehydrogenase	A9HIP1	14133	15750	16932	16706	19068	19591	0,0387	15605	18455	1,1826	UNCHANGED
Transcriptional regulator LysR	A9H0A8	69856	70552	80079	83289	91567	88087	0,0148	73496	87648	1,1926	UNCHANGED
Thioredoxin protein	A9H2A4	43919	50946	45550	57574	57008	54010	0,0146	46805	56197	1,2007	UNCHANGED
FMN-dependent NADH-azoreductase	AZOR	23927	23211	21447	26151	26259	30126	0,0249	22862	27512	1,2034	UNCHANGED
Electron transfer flavoprotein subunit beta	A9HEE6	67416	74070	74374	88891	83452	87965	0,0039	71953	86769	1,2059	UNCHANGED
Multifunctional fusion protein	A9HDF8	4764	4556	5558	5923	5727	6389	0,0266	4959	6013	1,2125	UNCHANGED
Inositol-1-monophosphatase	A9H6E0	19456	21410	23731	24854	25764	28173	0,0214	21532	26264	1,2197	UNCHANGED
Indole-3-glycerol phosphate synthase	A9HJA0	18708	19022	22524	26447	23699	23779	0,0223	20084	24641	1,2269	UNCHANGED

Acetylornithine aminotransferase	A9HFT8	45543	55045	53764	66138	61387	63878	0,0183	51451	63801	1,2400	UNCHANGED
Molybdenum cofactor biosynthesis protein B	A9HAM8	26942	29071	23366	31540	31481	35745	0,0214	26459	32922	1,2442	UNCHANGED
Elongation factor Tu	EFTU	344234	421160	392446	549142	441596	452194	0,0457	385947	480977	1,2462	UNCHANGED
Pyruvate, phosphate dikinase	A9HEP2	4340	4558	5129	5116	6241	6178	0,0322	4675	5845	1,2502	UNCHANGED
Surface antigen protein	A9HAP4	76394	86198	72435	109532	88684	99452	0,0265	78342	99223	1,2665	UNCHANGED
Signal recognition particle protein	A9HS68	24167	28972	28439	35414	34177	33978	0,0160	27193	34523	1,2696	UNCHANGED
NADH-quinone oxidoreductase chain E	A9HRT6	23242	23258	17455	25774	28247	27372	0,0403	21318	27131	1,2727	UNCHANGED
Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH]	A9H0U5	17956	17267	21232	24389	24133	24143	0,0235	18818	24221	1,2871	UNCHANGED
Serine hydroxymethyltransferase	A9HRP5	34391	39111	39737	45496	45232	55640	0,0326	37747	48789	1,2926	UNCHANGED
Fructose-bisphosphate aldolase class 1	A9H6A5	105416	117919	89873	127050	137993	141397	0,0210	104403	135480	1,2977	UNCHANGED
Tryptophan synthase beta chain	A9HE87	16162	17083	22191	26072	25229	20924	0,0435	18479	24075	1,3029	UNCHANGED
Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	A9H0G0	36342	36546	42261	45482	51277	53691	0,0106	38383	50150	1,3066	UNCHANGED
Ribose-5-phosphate isomerase A	A9H338	31768	22597	33239	40980	35355	38202	0,0484	29201	38179	1,3074	UNCHANGED
NADH-quinone oxidoreductase subunit C	A9HRU1	26955	28749	23630	31488	37461	35114	0,0119	26445	34688	1,3117	UNCHANGED
Phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase	A9HJV0	22826	26713	30350	33473	34668	36679	0,0228	26629	34940	1,3121	UNCHANGED
Methylenetetrahydrofolate reductase	A9HNY2	9063	7460	8029	9607	12162	10523	0,0266	8184	10764	1,3153	UNCHANGED
Riboflavin synthase alpha chain	A9HDG0	2938	2620	3280	4324	3724	3640	0,0152	2946	3896	1,3225	UNCHANGED
Phosphoribosylformylglycinamide subunit PurL synthase	A9HJG3	8563	9696	9098	11203	12331	12733	0,0041	9119	12089	1,3257	UNCHANGED
RNA-metabolising metallo-beta-lactamase protein	A9HRR8	77941	88341	91661	114390	112331	115522	0,0085	85981	114081	1,3268	UNCHANGED
Hopanoid-associated sugar epimerase	A9HGZ6	33081	42795	38710	53154	53959	46220	0,0133	38195	51111	1,3382	UNCHANGED
Putative pilus assembly protein	A9HHL8	13800	15489	15865	18823	21580	20046	0,0043	15052	20150	1,3387	UNCHANGED
Trigger factor	TIG	129201	124812	125183	163410	155395	190815	0,0268	126399	169873	1,3439	UNCHANGED
Histidine-tRNA ligase	SYH	7509	9325	9330	12034	12354	11103	0,0089	8721	11830	1,3565	UNCHANGED
Biopolymer transport exbB protein	A9HF70	135831	139947	122821	196122	179888	165888	0,0076	132866	180633	1,3595	UNCHANGED
ATP synthase subunit alpha	ATPA	114074	119500	150042	185288	174014	164109	0,0168	127872	174471	1,3644	UNCHANGED
50S ribosomal protein L25	RL25	128440	99827	84765	131461	140182	156932	0,0375	104344	142858	1,3691	UNCHANGED
Biotin synthase	BIOB	13120	12747	15514	17510	18600	20550	0,0074	13794	18887	1,3692	UNCHANGED
Aminotransferase	A9H8M1	5428	5128	5552	6216	8353	7575	0,0395	5369	7381	1,3747	UNCHANGED
Dihydroxy-acid dehydratase	A9HA40	10442	10676	14018	13515	16711	18275	0,0362	11712	16167	1,3804	UNCHANGED

Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase	A9HRE1	39262	38944	43864	62113	54654	53803	0,0054	40690	56857	1,3973	UNCHANGED
Putative 2-amino-3-ketobutyrate coenzyme A ligase	A9HMR4	9106	9823	12783	15357	14459	14613	0,0283	10571	14810	1,4010	UNCHANGED
Thioredoxin reductase	A9H0A5	10050	11132	14908	18092	15943	16564	0,0322	12030	16866	1,4020	UNCHANGED
Pyruvate kinase	A9HEH3	84052	99133	113660	131169	130437	156799	0,0146	98948	139468	1,4095	UNCHANGED
Maf-like protein GDI1438	A9HFL9	4537	4421	3208	5379	5862	5954	0,0215	4055	5732	1,4134	UNCHANGED
Enolase	ENO	116781	126578	150392	183993	184447	190431	0,0136	131250	186290	1,4193	UNCHANGED
Lysine-tRNA ligase	A9HK29	5625	7029	7516	9228	9328	10088	0,0113	6723	9548	1,4202	UNCHANGED
Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	A9HID1	40263	54101	51612	59406	68816	80603	0,0277	48659	69608	1,4305	UNCHANGED
Phosphate import ATP-binding protein PstB	A9H9W2	8609	9163	10705	13500	11527	15730	0,0290	9492	13586	1,4312	UNCHANGED
Glutamine synthetase	A9H7Z5	136403	167978	224419	252487	242436	268251	0,0418	176267	254391	1,4432	UNCHANGED
Uroporphyrinogen decarboxylase	DCUP	22556	19738	19856	31301	28831	29802	0,0009	20716	29978	1,4471	UNCHANGED
Putative serine-pyruvate aminotransferase	A9HPX2	4688	5308	7314	9405	6780	9214	0,0404	5770	8466	1,4673	UNCHANGED
Glycine cleavage system aminomethyltransferase T	A9HM51	43029	45847	53379	69234	72176	68266	0,0052	47418	69892	1,4739	UNCHANGED
50S ribosomal protein L9	RL9	136217	120257	76920	170117	164279	158706	0,0453	111131	164367	1,4790	UNCHANGED
30S ribosomal protein S1	A9H459	99843	104173	109190	156728	160917	145998	0,0008	104402	154548	1,4803	UNCHANGED
Phenylalanine-tRNA ligase beta subunit	A9H165	11674	12878	14254	17692	19107	20732	0,0030	12935	19177	1,4826	UNCHANGED
Glucose-1-phosphate thymidylyltransferase	A9HH12	7929	9581	13574	14158	16169	15818	0,0408	10361	15382	1,4846	UNCHANGED
DNA-directed RNA polymerase subunit alpha	RPOA	68497	80714	83178	123763	104417	117689	0,0038	77463	115289	1,4883	UNCHANGED
Phosphate-specific transport system accessory protein PhoU	A9HS74	4796	4972	3775	7051	7266	5901	0,0087	4514	6739	1,4929	UNCHANGED
Rieske (2Fe-2S) domain protein	A9HL46	52493	51942	21936	11484	11263	21173	0,0506	42124	14640	0,3475	UNCHANGED
OmpA/MotB domain protein	A9GZP4	26320	28523	51490	17598	9361	13172	0,0506	35444	13377	0,3774	UNCHANGED
ATP synthase gamma chain	ATPG	57299	68705	78487	50247	50071	51245	0,0509	68164	50521	0,7412	UNCHANGED
Aminopeptidase	A9HFU5	66754	76078	79030	96003	78378	88601	0,0511	73954	87660	1,1853	UNCHANGED
Uridylate kinase	A9HKW8	52587	59911	66620	47148	48269	49999	0,0519	59706	48472	0,8118	UNCHANGED
Isocitrate dehydrogenase [NADP]	A9HBR3	35752	38071	33196	37429	40627	40165	0,0520	35673	39407	1,1047	UNCHANGED
Phosphoglucomutase	A9HSH5	56823	66318	74841	51477	49936	53669	0,0526	65994	51694	0,7833	UNCHANGED
Probable malate:quinone oxidoreductase	A9HKZ6	3858	4479	5459	15017	10355	7116	0,0538	4598	10830	2,3551	UNCHANGED
Putative 2-keto-4-pentenoate hydratase-like	A9HDT5	29606	36098	34893	25165	25266	31792	0,0541	33532	27408	0,8174	UNCHANGED

Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex	A9HFG9	89890	103407	122910	130909	133611	130937	0,0545	105402	131819	1,2506	UNCHANGED
dTDP-glucose 4,6-dehydratase	A9H3I5	3259	4136	5545	9196	15658	7587	0,0551	4313	10814	2,5070	UNCHANGED
Aldehyde dehydrogenase protein	A9H192	10238	11653	9039	8346	8188	8235	0,0561	10310	8256	0,8008	UNCHANGED
3-methyl-2-oxobutanoate hydroxymethyltransferase	PANB	20172	25691	26097	16953	22165	17246	0,0562	23987	18788	0,7833	UNCHANGED
Probable cytosol aminopeptidase	A9H1J4	13235	13845	15901	23380	51749	34396	0,0569	14327	36508	2,5482	UNCHANGED
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha	A9HJA6	7193	18747	22908	28346	28409	29768	0,0574	16283	28841	1,7713	UNCHANGED
50S ribosomal protein L19	RL19	44794	37772	26850	48748	47836	71962	0,0582	36472	56182	1,5404	UNCHANGED
Putative nitroreductase family protein	A9GZY4	29209	12363	28303	8336	9073	8959	0,0587	23292	8789	0,3774	UNCHANGED
Putative prolyl-tRNA synthetases	A9HBP4	4229	4733	4673	3941	4231	4277	0,0588	4545	4150	0,9131	UNCHANGED
Dehydrogenase (Zinc-binding alcohol dehydrogenase)	A9H246	21400	23246	25708	13297	15328	22142	0,0596	23452	16922	0,7216	UNCHANGED
Carboxy-terminal protease protein	A9H3A3	83503	82590	72937	57144	58845	76902	0,0598	79677	64297	0,8070	UNCHANGED
Conserved protein	A9H137	9942	5585	5682	8065	13187	13696	0,0604	7069	11649	1,6479	UNCHANGED
Putative capsule polysaccharide export inner-membrane protein ctrB	A9HMV0	5743	5998	6352	5592	5708	5492	0,0606	6031	5597	0,9281	UNCHANGED
Thiamine-phosphate pyrophosphorylase	A9HI58	18009	18978	20337	15018	16601	9291	0,0614	19108	13637	0,7137	UNCHANGED
Fructose-1,6-bisphosphatase	A9HCQ2	146205	175677	151903	139962	132531	134076	0,0618	157929	135523	0,8581	UNCHANGED
Putative outer membrane protein	A9H4M9	5697	3447	3491	6556	5159	6213	0,0630	4212	5976	1,4189	UNCHANGED
UDP-N-acetylglucosamine--N-acetylmuramyl-(pentapeptide) pyrophosphoryl-undecaprenol N-acetylglucosamine transferase	A9H0J0	5546	5603	5713	5779	6332	5934	0,0648	5621	6015	1,0701	UNCHANGED
Putative secretion protein, HlyD-family	A9HGT6	11565	12433	12756	7196	11602	8574	0,0649	12251	9124	0,7448	UNCHANGED
Chaperone protein DnaJ	DNAJ	11358	8061	5408	10917	11559	14560	0,0651	8276	12345	1,4917	UNCHANGED
S-methyl-5'-thioadenosine phosphorylase	A9HK57	49614	58137	65136	71106	64658	68405	0,0661	57629	68057	1,1809	UNCHANGED
Glutamate-ttRNA ligase 1	SYE1	20219	21021	14786	20975	23021	26350	0,0666	18675	23449	1,2556	UNCHANGED
2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase	A9H397	120236	128056	145727	119503	109804	112311	0,0669	131340	113873	0,8670	UNCHANGED
Insulinase protein	A9H438	22749	29788	26934	17260	22385	23804	0,0672	26490	21149	0,7984	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9GZV1	17969	15847	10248	10206	8257	9235	0,0673	14688	9233	0,6286	UNCHANGED
Conjugal transfer	A9HT68	87689	111018	100484	78605	75764	94650	0,0682	99730	83006	0,8323	UNCHANGED
NADH-quinone oxidoreductase subunit B 2	NUOB2	35542	38701	41423	41213	48487	42126	0,0688	38556	43942	1,1397	UNCHANGED

Aldose 1-epimerase	A9HBF6	24210	17635	18313	22722	25808	33322	0,0694	20053	27284	1,3606	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H3D7	40252	27250	19972	15078	15017	15028	0,0702	29158	15041	0,5158	UNCHANGED
Glucans biosynthesis protein G	A9HBM4	37955	45547	43462	32261	34148	41105	0,0705	42321	35838	0,8468	UNCHANGED
Multidrug resistance protein A	A9H3B5	15843	17999	17287	14164	16762	14340	0,0709	17043	15089	0,8853	UNCHANGED
Putative rare lipoprotein A	A9HI92	18617	19833	8655	6522	8171	7820	0,0720	15702	7504	0,4779	UNCHANGED
Signal recognition particle receptor FtsY	A9HM31	8950	7461	9510	10011	10231	9917	0,0720	8640	10053	1,1636	UNCHANGED
Conserved protein	A9HM79	76339	81812	92699	74375	76450	56959	0,0725	83617	69261	0,8283	UNCHANGED
10 kDa chaperonin	A9HPH9	4256	3077	2503	8865	7746	3685	0,0736	3279	6765	2,0635	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HHW9	28801	35947	32331	25891	31025	21850	0,0740	32359	26255	0,8114	UNCHANGED
Carbamoyl-phosphate synthase small chain	A9H1P4	29867	27936	26682	26535	23536	26847	0,0741	28162	25639	0,9104	UNCHANGED
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(P)+]	A9HKA6	6447	6001	5402	6971	6966	6125	0,0746	5950	6687	1,1239	UNCHANGED
Conserved protein	A9HBW8	10512	11241	12864	16081	15769	11771	0,0752	11539	14540	1,2601	UNCHANGED
FeS assembly protein SufC	A9HRY6	37856	40127	48226	34311	36158	34630	0,0755	42070	35033	0,8327	UNCHANGED
Cysteine synthase	A9HAE5	49819	55636	47781	32234	39891	49295	0,0760	51079	40473	0,7924	UNCHANGED
10 kDa chaperonin	A9HK46	134943	106493	98931	225409	121893	189635	0,0764	113456	178979	1,5775	UNCHANGED
dTDP-4-dehydrorhamnose 3,5-epimerase	A9H3H9	33712	33717	31902	10695	31342	9228	0,0765	33110	17088	0,5161	UNCHANGED
D-amino acid dehydrogenase	A9HMX8	31463	34023	39799	40750	41370	39385	0,0767	35095	40502	1,1541	UNCHANGED
Fumarate hydratase class I	A9HBG7	13311	11610	18183	18654	18341	19259	0,0768	14368	18751	1,3050	UNCHANGED
Ubiquinol oxidase subunit 2	A9HK01	99440	85757	91249	71483	75295	90838	0,0769	92149	79205	0,8595	UNCHANGED
Putative aerobic cobaltochelatase cobS subunit	A9HJ01	26837	28477	30328	20779	24699	27565	0,0771	28547	24348	0,8529	UNCHANGED
Transcriptional regulator protein	A9HF00	9340	10568	13316	13308	13901	13775	0,0779	11074	13661	1,2336	UNCHANGED
30S ribosomal protein S2	RS2	99286	152677	151729	191601	157072	167836	0,0782	134564	172170	1,2795	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HH94	22659	16870	8931	25787	24138	24810	0,0784	16153	24912	1,5422	UNCHANGED
Protein-L-isoaspartate O-methyltransferase	A9HI07	116628	133150	121899	119653	103003	113237	0,0789	123892	111964	0,9037	UNCHANGED
Endoribonuclease L-PSP	A9HC24	37632	37352	17189	25460	5199	14767	0,0790	30724	15142	0,4928	UNCHANGED
Glucokinase	A9HI04	34187	41643	36169	34250	32992	24268	0,0792	37333	30503	0,8171	UNCHANGED
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 2	A9HRD7	47148	68666	55386	69621	74148	67308	0,0795	57067	70359	1,2329	UNCHANGED
Peptidase, family M16	A9HKF0	10389	12379	12823	12115	14894	16025	0,0796	11864	14344	1,2091	UNCHANGED
Pyridine nucleotide-disulphide oxidoreductase	A9HDE6	63667	81275	80307	58656	64896	65831	0,0803	75083	63128	0,8408	UNCHANGED

Succinate-semialdehyde dehydrogenase [NADP+]	A9HNC1	34307	40247	23534	23093	25701	18952	0,0818	32696	22582	0,6907	UNCHANGED
Oxidoreductase domain protein	A9HDU1	109454	124652	142699	111235	104213	101303	0,0821	125602	105583	0,8406	UNCHANGED
Branched-chain-amino-acid aminotransferase	A9HNB7	50225	58028	46670	60695	59499	55344	0,0830	51641	58513	1,1331	UNCHANGED
Lipase protein	A9HBK6	44314	52465	64945	37797	39664	47534	0,0836	53908	41665	0,7729	UNCHANGED
Ubiquinone/menaquinone biosynthesis C-	A9HI27	43846	49405	50409	37274	45261	44491	0,0838	47887	42342	0,8842	UNCHANGED
Bifunctional purine biosynthesis protein PurH	A9HDN9	26715	29814	36413	39605	37775	33343	0,0845	30981	36908	1,1913	UNCHANGED
Putative Ubiquinol-cytochrome c reductase	A9H861	33326	34814	29932	30911	30527	27324	0,0853	32691	29587	0,9051	UNCHANGED
Putative 2Fe-2S ferredoxin	A9HMI7	53565	82962	78097	52747	36836	64313	0,0853	71541	51299	0,7171	UNCHANGED
Putative outer membrane protein	A9H6D3	3750	4556	3644	2671	2751	3954	0,0867	3983	3125	0,7846	UNCHANGED
Peptidase protein	A9HET1	16450	22174	22165	18813	13398	16241	0,0867	20263	16151	0,7970	UNCHANGED
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase	A9HHX8	23520	21077	18466	21906	30001	36491	0,0871	21021	29466	1,4017	UNCHANGED
Putative histidine triad (HIT) protein	A9GZW3	10731	9876	8185	12258	11155	10165	0,0878	9597	11193	1,1663	UNCHANGED
Alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase (UDP-forming)	A9HBU6	5984	8712	12055	11294	13768	12022	0,0894	8917	12361	1,3863	UNCHANGED
Putative cytochrome c551 peroxidase	A9HK81	15285	15345	17372	16660	18679	22285	0,0904	16001	19208	1,2005	UNCHANGED
50S ribosomal protein L23	RL23	74767	72653	37044	38947	34519	37479	0,0909	61488	36982	0,6014	UNCHANGED
Putative amine oxidase	A9HGY5	4554	6780	6631	7434	7400	7438	0,0919	5988	7424	1,2397	UNCHANGED
Thiazole synthase	THIG	26147	23117	28973	31774	29157	27533	0,0927	26079	29488	1,1307	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HFF6	18057	9107	5434	3447	3762	3558	0,0958	10866	3589	0,3303	UNCHANGED
Gluconate 5-dehydrogenase	A9H995	92132	102390	110671	97593	82391	92469	0,0976	101731	90818	0,8927	UNCHANGED
GTP cyclohydrolase 1	A9HAP7	12140	11520	9169	8912	9546	9238	0,0977	10943	9232	0,8437	UNCHANGED
Putative short-chain dehydrogenase	A9HAC6	11479	11189	12117	14501	11540	15796	0,0993	11595	13945	1,2027	UNCHANGED
Acetylglutamate kinase	ARGB	25394	25562	26446	29340	31266	25780	0,0998	25801	28796	1,1161	UNCHANGED
DEAD/DEAH box helicase domain protein	A9H0S9	18069	20317	20688	21270	21486	27422	0,0998	19691	23392	1,1880	UNCHANGED
Aspartate-semialdehyde dehydrogenase	A9HFE5	25680	34167	35359	36837	39082	36143	0,1001	31735	37354	1,1770	UNCHANGED
Putative general stress response protein	A9H3E6	27522	16674	17517	14498	17402	10446	0,1007	20571	14115	0,6862	UNCHANGED
CRISPR-associated protein, Cse4 family	A9HLC8	20936	20842	20483	20754	24813	27239	0,1019	20754	24269	1,1694	UNCHANGED
Ribulokinase	A9HPD7	21184	24969	33675	16412	21365	22184	0,1045	26609	19987	0,7511	UNCHANGED
3-isopropylmalate dehydratase small subunit	LEUD	9212	6626	5032	8954	9274	9290	0,1048	6957	9173	1,3185	UNCHANGED
Mannitol 2-dehydrogenase	A9HBL5	20490	22822	29526	32696	26906	28152	0,1050	24279	29251	1,2048	UNCHANGED

Ornithine carbamoyltransferase	A9HFT5	23031	26289	28474	27884	31484	27478	0,1073	25931	28949	1,1164	UNCHANGED
Phenylalanine-tRNA ligase alpha subunit	SYFA	16308	15513	13396	11987	11588	15209	0,1077	15072	12928	0,8577	UNCHANGED
Putative metallopeptidase	A9HRE6	31273	33830	29976	35647	32365	42136	0,1077	31693	36716	1,1585	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase	A9HBQ8	4376	4784	4035	4160	4073	3826	0,1079	4398	4019	0,9138	UNCHANGED
ATP-dependent protease subunit HslV	A9H1A3	18337	26935	22884	29085	29388	23586	0,1082	22719	27353	1,2040	UNCHANGED
Conserved protein	A9HHA4	82806	111755	116001	81994	87338	85837	0,1083	103521	85056	0,8216	UNCHANGED
Protein TonB	A9HF68	27641	15038	11593	22952	27647	29169	0,1085	18091	26589	1,4698	UNCHANGED
Tyrosine-tRNA ligase	A9HMK2	13538	16337	21246	21198	21200	20550	0,1107	17040	20983	1,2314	UNCHANGED
Leucyl aminopeptidase	A9HJY3	9576	11855	11998	9237	11041	8226	0,1113	11143	9502	0,8527	UNCHANGED
Glycosyl transferase group 1	A9HLZ7	37967	44319	40718	53554	44746	42213	0,1148	41001	46838	1,1423	UNCHANGED
Phosphoribosylformylglycinamide synthase	A9HJF5	49425	52797	45294	38727	43963	49040	0,1164	49172	43910	0,8930	UNCHANGED
Electron transport protein SCO1/SenC	A9H4T2	26274	25837	57891	16158	19305	21297	0,1174	36667	18920	0,5160	UNCHANGED
Preprotein translocase, YajC subunit	A9HL42	25224	26225	18956	22135	33868	34196	0,1198	23468	30066	1,2812	UNCHANGED
ATP phosphoribosyltransferase regulatory subunit	A9HLQ2	21867	22688	19902	19744	20762	19920	0,1203	21486	20142	0,9375	UNCHANGED
3-isopropylmalate dehydratase large subunit	A9HS56	22707	9022	32658	9326	9624	11845	0,1214	21462	10265	0,4783	UNCHANGED
Glycerol kinase	A9HHY3	134031	165589	198606	137148	136180	133333	0,1215	166075	135554	0,8162	UNCHANGED
Glutamate-cysteine ligase	A9H108	12695	12035	15586	14135	15254	16325	0,1215	13439	15238	1,1339	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HMM2	18184	9239	9677	17345	14353	19525	0,1232	12366	17074	1,3807	UNCHANGED
Conservev protein	A9GZU8	65479	47308	30963	60385	56469	75965	0,1233	47917	64273	1,3413	UNCHANGED
Peptide methionine sulfoxide reductase MsrA	A9HI15	62830	50887	35328	35443	36244	39101	0,1245	49682	36929	0,7433	UNCHANGED
50S ribosomal protein L1	RL1	91176	76830	94342	165675	110670	91693	0,1249	87449	122679	1,4029	UNCHANGED
RNA-binding protein Hfq	HFQ	59734	46262	29665	57954	55204	63698	0,1256	45220	58952	1,3037	UNCHANGED
Imidazole glycerol phosphate synthase subunit HisF	HIS6	6858	8736	7764	6863	6606	7325	0,1259	7786	6931	0,8902	UNCHANGED
Orotate phosphoribosyltransferase	A9HII0	41504	44115	52608	37299	41934	42993	0,1264	46076	40742	0,8842	UNCHANGED
Putative steroid protein related	A9H0M3	4393	9395	4028	4559	2663	2530	0,1285	5939	3251	0,5474	UNCHANGED
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9HPF0	32256	38235	43496	31618	31755	35627	0,1303	37996	33000	0,8685	UNCHANGED
NADPH dehydrogenase	A9H535	18861	19331	16928	14237	18591	16485	0,1351	18373	16438	0,8947	UNCHANGED
Alkyl hydroperoxide reductase/ Thiol specific antioxidant/ Mal allergen	A9H8D6	292221	333980	296753	354935	325587	312353	0,1355	307652	330958	1,0758	UNCHANGED
Putative lipoprotein vacJ	A9HBF3	16144	17029	15636	16691	14288	13000	0,1362	16269	14659	0,9010	UNCHANGED

Transcription elongation factor GreA	A9H1Q0	41393	32353	20706	45989	29537	56045	0,1391	31484	43857	1,3930	UNCHANGED
Outer membrane protein	A9HKU8	5687	2815	4700	7784	5605	4551	0,1414	4401	5980	1,3589	UNCHANGED
Citrate synthase	A9HII7	47610	55645	59364	63062	79207	53320	0,1416	54206	65196	1,2027	UNCHANGED
4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate synthase	DAPA	25640	26157	30057	27025	30260	32059	0,1429	27285	29781	1,0915	UNCHANGED
Nitrogen regulatory protein P-II	A9HMD4	56927	52446	40988	54866	54494	61614	0,1434	50121	56991	1,1371	UNCHANGED
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9HRE0	52463	52708	54440	58844	55888	52588	0,1444	53203	55774	1,0483	UNCHANGED
Putative cysteine desulfurization protein sufE	A9H196	9805	11057	8716	10507	10847	16555	0,1453	9859	12636	1,2817	UNCHANGED
Ribose import ATP-binding protein RbsA	A9HPC3	7819	10800	12373	11015	11460	15431	0,1501	10331	12635	1,2231	UNCHANGED
Peptide deformylase	A9HS47	9204	8448	8112	5658	5947	9329	0,1517	8588	6978	0,8125	UNCHANGED
Putative glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A	A9HJR7	42796	50668	58407	41025	42453	49355	0,1521	50623	44278	0,8746	UNCHANGED
Carbonic anhydrase	A9HL77	63585	61556	66481	71092	85485	62443	0,1529	63874	73006	1,1430	UNCHANGED
Lytic murein transglycosylase	A9HI90	8207	5871	5194	6663	7390	9885	0,1547	6424	7979	1,2421	UNCHANGED
Putative DNA-binding response regulator mtrA	A9HIE2	20808	22191	17061	15040	20563	16614	0,1547	20020	17406	0,8694	UNCHANGED
NADH dehydrogenase (Ubiquinone)	A9HKL6	24255	25638	27331	27779	28065	25503	0,1588	25741	27116	1,0534	UNCHANGED
Putative chemotaxis protein cheY	A9HHE7	26230	18310	11502	17214	26522	36630	0,1589	18681	26789	1,4340	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HAE9	31047	18230	14428	22970	27688	33812	0,1596	21235	28157	1,3260	UNCHANGED
PKHD-type hydroxylase GDI1238/Gdia_1949	Y1238	93875	98885	47438	68986	60876	46826	0,1635	80066	58896	0,7356	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H732	14873	10318	5914	5804	7312	8170	0,1663	10368	7095	0,6844	UNCHANGED
Gluconate 2-dehydrogenase (Acceptor)	A9HBC6	4432	7121	8036	5984	5312	4102	0,1670	6530	5133	0,7860	UNCHANGED
Superoxide dismutase	A9HL14	124830	112580	97975	114354	151318	117324	0,1673	111795	127665	1,1420	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HHE4	10757	9116	8672	7928	8668	9420	0,1704	9515	8672	0,9114	UNCHANGED
Cold-shock DNA-binding domain protein	A9HK34	24738	23370	20714	37712	31651	19385	0,1713	22941	29583	1,2895	UNCHANGED
Flavin oxidoreductase	A9H2N2	53884	57604	55400	54329	52159	55651	0,1732	55629	54046	0,9715	UNCHANGED
Methionyl-tRNA formyltransferase	FMT	11469	10022	10790	11862	7774	7431	0,1733	10760	9022	0,8385	UNCHANGED
Putative molybdenum transport protein modE	A9HJC5	16093	12122	5634	20121	16699	10246	0,1770	11283	15688	1,3905	UNCHANGED
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9HIY5	69346	59540	70264	70580	69344	71297	0,1808	66384	70407	1,0606	UNCHANGED
Folate-binding protein YgfZ	A9H151	6626	7122	22429	5879	5885	6546	0,1848	12059	6103	0,5061	UNCHANGED
Conserved protein	A9HLE5	6715	6585	7411	7439	6673	9392	0,1853	6904	7835	1,1349	UNCHANGED
Flp pilus assembly protein CpaB	A9HHL4	11753	12408	11429	11340	12081	10520	0,1857	11863	11314	0,9536	UNCHANGED

Aminotransferase	A9H801	6626	7854	7880	8168	8910	7212	0,1873	7453	8097	1,0864	UNCHANGED
Outer membrane protein assembly factor BamA	A9HKV0	37699	40176	31518	32949	33607	34397	0,1943	36464	33651	0,9229	UNCHANGED
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D	A9HJ89	18957	20630	18118	18063	19292	17894	0,2031	19235	18417	0,9575	UNCHANGED
Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	A9HFE6	42031	47246	67516	43760	46407	42648	0,2061	52264	44272	0,8471	UNCHANGED
Catalase	A9GZZ4	184690	267953	197490	250546	230869	248247	0,2074	216711	243221	1,1223	UNCHANGED
Putative phosphate acetyltransferase	A9HL01	7460	8205	8420	7774	6865	8145	0,2096	8028	7594	0,9460	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HLE3	16104	9954	8784	11835	13605	16831	0,2096	11614	14090	1,2132	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H8I6	17680	16700	13643	17027	16060	18999	0,2103	16008	17362	1,0846	UNCHANGED
Cell division protein FtsZ	A9H0K4	38113	36047	41762	37425	40301	47849	0,2139	38641	41858	1,0833	UNCHANGED
Nitrogen assimilation regulatory protein ntrX	A9HLS3	5605	6439	7166	8316	6811	6164	0,2148	6403	7097	1,1083	UNCHANGED
50S ribosomal protein L7/L12	RL7	108883	74418	73271	321869	170475	18121	0,2183	85524	170155	1,9895	UNCHANGED
Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A	A9HRI9	26239	46110	51706	56488	47343	43303	0,2202	41352	49045	1,1860	UNCHANGED
Putative serine acetyltransferase	A9HMC8	8931	8517	9115	8451	9798	9522	0,2204	8854	9257	1,0455	UNCHANGED
Putative peroxiredoxin osmC	A9H0U0	15147	16826	26911	22295	23300	23768	0,2212	19628	23121	1,1780	UNCHANGED
Beta sliding clamp	A9HI34	28543	31644	43908	36197	43606	38130	0,2213	34698	39311	1,1329	UNCHANGED
Acireductone dioxygenase	MTND	8210	5554	5274	6240	6596	10425	0,2215	6346	7754	1,2218	UNCHANGED
Putative chemotaxis protein cheY	A9HHG3	64079	35967	39523	37810	31801	44314	0,2222	46523	37975	0,8163	UNCHANGED
Putative serine carboxypeptidase	A9HS00	11293	14184	13657	12103	14828	15641	0,2288	13045	14191	1,0879	UNCHANGED
Proline-tRNA ligase	A9HRR5	22438	24634	27807	24239	26914	28715	0,2300	24960	26623	1,0666	UNCHANGED
Putative D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	A9HFV9	25809	21357	19189	21131	21610	18070	0,2336	22118	20270	0,9164	UNCHANGED
PrkA serine protein kinase	A9HIB1	20845	25036	21787	20192	24653	32019	0,2377	22556	25622	1,1359	UNCHANGED
Probable phosphoketolase	A9HGX3	35393	49403	54824	50669	51954	52111	0,2381	46540	51578	1,1083	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase	A9HNA5	18955	28434	28105	20993	24408	21935	0,2397	25165	22445	0,8919	UNCHANGED
Heat-inducible transcription repressor HrcA	A9HF56	3497	3804	6758	3758	6471	7327	0,2397	4686	5852	1,2488	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9GZL6	19638	21269	26928	24220	16057	20231	0,2459	22611	20169	0,8920	UNCHANGED
Cold shock-like protein cspE	A9HIW8	146595	131939	90755	141158	120682	151462	0,2475	123096	137768	1,1192	UNCHANGED
Inositol-3-phosphate synthase	A9H8S7	96427	103423	130032	103463	102845	98479	0,2504	109960	101596	0,9239	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HM07	32198	35408	21247	23217	26575	28402	0,2510	29618	26065	0,8800	UNCHANGED
Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	AHPD	69381	73435	63941	95891	66615	67644	0,2531	68919	76717	1,1131	UNCHANGED

ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit	A9HCR1	64102	57721	58166	95444	63622	52065	0,2543	59996	70377	1,1730	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase zinc-binding domain protein	A9HE22	7180	6345	8509	6767	8090	9138	0,2610	7345	7998	1,0890	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HT76	91057	89581	101939	116743	76750	34507	0,2625	94192	76000	0,8069	UNCHANGED
DSBA oxidoreductase	A9HIK8	57450	42232	36092	49987	51522	48759	0,2634	45258	50089	1,1068	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H3Z8	5511	3528	4524	5520	5394	4122	0,2691	4521	5012	1,1085	UNCHANGED
Cof-like hydrolase	A9H329	8875	8859	7870	6680	8633	17750	0,2712	8535	11021	1,2913	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HCR3	13318	16686	13928	9789	12884	16659	0,2713	14644	13111	0,8953	UNCHANGED
Thiamine biosynthesis oxidoreductase thiO	A9HI52	18065	25890	20558	23333	22427	23809	0,2714	21504	23189	1,0784	UNCHANGED
Methylthioribulose-1-phosphate dehydratase	MTNB	11880	9235	6995	7902	8504	8632	0,2726	9370	8346	0,8907	UNCHANGED
Peptidase protein, modulator of DNA gyrase	A9HEU1	9066	15805	24430	18503	20454	19920	0,2741	16434	19626	1,1942	UNCHANGED
OmpW family protein	A9HED6	75033	69171	41203	51952	53746	57824	0,2793	61802	54507	0,8820	UNCHANGED
Translation initiation factor IF-3	A9HFP7	21360	25135	3952	20472	20561	22942	0,2809	16816	21325	1,2681	UNCHANGED
Putative N-carbamoyl-L-amino acid amidohydrolase	A9HJT7	11283	8837	11145	11145	11612	10241	0,2813	10422	10999	1,0554	UNCHANGED
UDP-3-O-acylglycosamine N-acetyltransferase	A9HKU5	20490	19824	18312	13367	15508	23405	0,2814	19542	17427	0,8918	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9HGK9	4177	4619	5110	4978	3381	4495	0,2816	4635	4285	0,9244	UNCHANGED
dTDP-4-dehydrorhamnose reductase	A9H3H6	6915	6214	5364	5302	5430	6618	0,2843	6164	5783	0,9382	UNCHANGED
Cysteine synthase	A9HFX5	26862	29269	28300	27765	29087	24897	0,2859	28144	27250	0,9682	UNCHANGED
Quinolinate synthase A	A9H8C0	36295	52219	53602	29507	48402	48866	0,2893	47372	42258	0,8920	UNCHANGED
Acetoin(Diacetyl) reductase	A9HHS9	21128	20464	20466	19811	21956	21598	0,2934	20686	21122	1,0211	UNCHANGED
Export-related chaperone CsaA	A9H0Q7	15106	10026	8919	8968	8986	12152	0,2936	11350	10035	0,8842	UNCHANGED
2-isopropylmalate synthase	A9HMA2	26219	31438	31191	28049	29566	36532	0,3029	29616	31383	1,0597	UNCHANGED
Transcriptional regulator, Card family	A9HIN7	29563	28257	12620	15518	20483	24065	0,3032	23480	20022	0,8527	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H3X9	54134	37791	32582	44564	43787	47569	0,3096	41502	45306	1,0917	UNCHANGED
TonB-dependent receptor	A9HFL0	17700	15976	13330	16117	17815	15444	0,3116	15669	16459	1,0504	UNCHANGED
Gluconate 2-dehydrogenase (Acceptor)	A9H186	10666	9942	7287	8099	9497	8474	0,3131	9298	8690	0,9346	UNCHANGED
Porin	A9HAM5	17221	17455	14947	16768	15018	21015	0,3138	16541	17601	1,0641	UNCHANGED
3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase	A9H466	21680	23775	22273	20754	24245	20554	0,3144	22576	21851	0,9679	UNCHANGED
Tryptophan synthase alpha chain	TRPA	60869	66728	55277	59797	68264	61363	0,3162	60958	63142	1,0358	UNCHANGED
60 kDa chaperonin 2	CH602	27400	25993	27733	20900	30433	25317	0,3224	27042	25550	0,9448	UNCHANGED

Aminopeptidase	A9HMM0	42251	48384	58783	51706	50501	55001	0,3248	49806	52403	1,0521	UNCHANGED
60 kDa chaperonin 1	CH601	241881	325095	336902	308674	319678	322057	0,3284	301293	316803	1,0515	UNCHANGED
Homoserine dehydrogenase	A9HCQ4	26357	29339	32826	27914	28510	29178	0,3285	29507	28534	0,9670	UNCHANGED
Putative glycyl aminopeptidase	A9HN12	40604	49146	44902	40549	43781	46119	0,3315	44884	43483	0,9688	UNCHANGED
Peptidase M24	A9HJP9	9073	11304	13073	10952	12625	11659	0,3356	11150	11745	1,0534	UNCHANGED
30S ribosomal protein S6	RS6	9769	6426	11205	5294	11401	15175	0,3374	9133	10623	1,1632	UNCHANGED
Putative nitrogen regulatory protein	A9H7Z8	43324	35196	26952	34322	30851	33429	0,3395	35157	32868	0,9349	UNCHANGED
Partitioning protein	A9HT61	14372	18260	8882	15822	15975	13667	0,3406	13838	15154	1,0951	UNCHANGED
Gluconate 2-dehydrogenase (Acceptor)	A9HK15	165447	159447	143438	150397	141629	164268	0,3443	156110	152098	0,9743	UNCHANGED
6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	A9H324	200043	208215	202458	229862	198324	150636	0,3452	203572	192941	0,9478	UNCHANGED
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	A9HM29	335233	369225	386251	406281	358078	354725	0,3475	363570	373028	1,0260	UNCHANGED
2-octaprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase	A9HMD1	7113	9246	10584	8629	10217	9519	0,3501	8981	9455	1,0528	UNCHANGED
Putative penicillin-binding protein 5	A9HI96	9560	11201	11359	10669	9440	11083	0,3522	10707	10397	0,9711	UNCHANGED
Sec-independent protein translocase protein TatA	TATA	31663	3941	12566	13614	15186	31614	0,3533	16057	20138	1,2542	UNCHANGED
Acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta	ACCD	15995	14510	13898	8770	19449	12096	0,3552	14801	13438	0,9079	UNCHANGED
Uncharacterized protein	A9H1P1	12720	11212	6722	8576	9100	10625	0,3568	10218	9434	0,9233	UNCHANGED
Adenylate kinase	KAD	76103	64572	52564	60994	58284	65265	0,3585	64413	61514	0,9550	UNCHANGED
Electron transfer flavoprotein alpha subunit	A9HEE9	90715	68652	87353	83151	73358	81196	0,3587	82240	79235	0,9635	UNCHANGED
6-phosphogluconolactonase	A9H335	68174	85098	55606	72133	70781	76552	0,3611	69626	73156	1,0507	UNCHANGED
Putative transcriptional regulatory protein, MerR family	A9HS23	15837	8947	2395	6878	5931	9524	0,3612	9060	7444	0,8217	UNCHANGED
UDP-N-acetylmuramoylalanine--D-glutamate ligase	A9HOI3	4858	5015	5128	4750	5075	5409	0,3657	5000	5078	1,0157	UNCHANGED
Tryptophan-tRNA ligase	A9HIP8	10972	13891	12366	11264	12934	11944	0,3663	12410	12047	0,9708	UNCHANGED
3.3.7	A9HL34	10772	10260	8883	9960	9771	9594	0,3814	9972	9775	0,9803	UNCHANGED
Flavin-dependent thymidylate synthase	A9HBG1	15531	15516	14608	13054	15845	15783	0,3824	15218	14894	0,9787	UNCHANGED
Putative L-amino-acid oxidase	A9HN63	19512	26148	21260	20651	24653	23887	0,3825	22307	23064	1,0339	UNCHANGED
ATP-dependent dethiobiotin synthetase BioD	A9HJ62	4674	7219	5526	5034	5405	6213	0,3890	5806	5551	0,9560	UNCHANGED
1-(5-phosphoribosyl)-5-[(5-phosphoribosylamino)methylideneamino]imidazole-4-carboxamide isomerase	A9GZX2	8812	9989	12111	10243	10209	9539	0,3917	10304	9997	0,9702	UNCHANGED

Outer membrane protein	OMPC	225447	385767	344657	346072	318489	336328	0,3930	318624	333630	1,0471	UNCHANGED
Uracil phosphoribosyltransferase	A9H391	5551	5260	4359	4618	5449	4786	0,4114	5057	4951	0,9791	UNCHANGED
Putative inositol-1-monophosphatase	A9HLR6	6443	4761	6018	4056	5126	7284	0,4148	5741	5489	0,9561	UNCHANGED
Gamma-glutamyl phosphate reductase	A9HC10	7281	6037	6536	4288	7194	7596	0,4162	6618	6359	0,9609	UNCHANGED
Putative exported protein	A9HDN7	20940	10083	9116	13945	14429	14414	0,4188	13380	14263	1,0660	UNCHANGED
Putative iron-sulfur assembly protein	A9HLI4	40400	31055	22968	14982	15769	54597	0,4225	31474	28449	0,9039	UNCHANGED
Alpha-ribazole phosphatase	A9HH08	15734	15633	12988	12188	14452	16800	0,4299	14785	14480	0,9794	UNCHANGED
Flagellar protein FlI	A9HHK6	12346	6007	4117	7451	7142	9389	0,4306	7490	7994	1,0673	UNCHANGED
Putative Antibiotic biosynthesis monooxygenase	A9HP28	54495	23348	15677	25693	31376	43789	0,4319	31173	33619	1,0785	UNCHANGED
Aminotransferase	A9HSE9	58839	67541	69613	61498	68358	64099	0,4352	65331	64652	0,9896	UNCHANGED
Putative multidrug resistance protein mdtA	A9H3E8	12959	14357	13526	2604	9564	25125	0,4377	13614	12431	0,9131	UNCHANGED
Putative thioredoxin protein	A9HSA5	108159	73857	72556	85847	79145	96038	0,4384	84857	87010	1,0254	UNCHANGED
6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase	A9HDF5	21158	14280	23741	20678	12479	23857	0,4391	19726	19005	0,9634	UNCHANGED
Protease protein	A9HAN0	26210	28886	31838	19036	41011	23357	0,4395	28978	27801	0,9594	UNCHANGED
Protein-export protein SecB	SECB	56155	58511	64517	80621	55447	36891	0,4431	59728	57653	0,9653	UNCHANGED
Phosphoribosylformylglycinamide synthase subunit PurQ	A9HJG0	22591	18120	20700	19455	22807	19896	0,4444	20470	20719	1,0122	UNCHANGED
Deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase	A9HI24	22046	24224	15928	21798	19287	22247	0,4485	20733	21111	1,0182	UNCHANGED
Alcohol dehydrogenase [acceptor]	A9HK12	82579	89169	73681	71946	87279	89074	0,4494	81810	82767	1,0117	UNCHANGED
Conserved protein	A9HHR5	23135	24908	14468	21636	20127	19398	0,4515	20837	20387	0,9784	UNCHANGED
Succinate-semialdehyde dehydrogenase	A9H549	41792	45665	54130	45967	48818	48044	0,4606	47196	47610	1,0088	UNCHANGED
Phosphoglycerate kinase	A9HM30	189305	196006	191135	208364	177380	187694	0,4617	192149	191146	0,9948	UNCHANGED
Biotin carboxyl carrier protein of acetyl-CoA carboxylase	A9HEX3	86304	68199	84217	88848	75725	71788	0,4618	79573	78787	0,9901	UNCHANGED
Dihydroorotase	A9H142	9923	11401	13749	10914	11957	12573	0,4628	11691	11815	1,0106	UNCHANGED
Glycine cleavage system H protein	A9HM50	32559	35915	38457	40709	34047	31373	0,4697	35643	35376	0,9925	UNCHANGED
50S ribosomal protein L4	RL4	94571	79566	42699	75787	64024	73874	0,4763	72279	71228	0,9855	UNCHANGED
Putative peptidase	A9H6C0	5874	2866	2407	2890	3036	5013	0,4800	3716	3646	0,9813	UNCHANGED
NADH-quinone oxidoreductase subunit I	A9HRS9	17328	13350	5158	10890	11194	14282	0,4830	11945	12122	1,0148	UNCHANGED
Argininosuccinate synthase	ASSY	48362	54230	56280	50097	53637	55471	0,4856	52957	53068	1,0021	UNCHANGED
YceI family protein	A9HFY2	16459	4687	7958	4376	10524	14678	0,4872	9701	9859	1,0163	UNCHANGED

Aminotransferase class-III	A9HJT9	11491	16505	12957	13050	13770	14213	0,4938	13651	13678	1,0019	UNCHANGED
L-fucose isomerase	A9HPK3	8136	1	8983	12125	16090	18367	0,0271	5707	15527	2,7209	-
Leucine--tRNA ligase	A9HMQ5	1	2087	3459	5850	7382	7866	0,0089	1849	7033	3,8038	-
Methyltransferase	A9HJ27	1	1345	1	3035	3130	2833	0,0129	449	2999	6,6800	-
L-idonate 5-dehydrogenase	A9HDU6	2922	1	2478	13188	11621	12168	0,0010	1800	12326	6,8463	-
Polyamine aminopropyltransferase	A9HM56	1	1	1643	3510	6698	6402	0,0109	548	5537	10,0970	-
Uncharacterized protein	A9H234	2630	1	1	7872	15979	10532	0,0174	877	11461	13,0634	-
Hydrolase, TatD family	A9HIA6	1	1049	1	8333	9785	9643	0,0001	350	9253	26,4129	-
Efflux transporter, RND family, MFP subunit	A9HG72	1	1	1832	17013	19839	20772	0,0003	611	19208	31,4195	-
30S ribosomal protein S3	RS3	18930	20195	19547	1976	1	1	0,0001	19557	659	0,0337	-
Putative flagellar hook-associated protein	A9HHI4	15199	27458	1	35833	34930	38749	0,0520	14219	36504	2,5672	-
Xylulose kinase	A9HPF3	2406	3392	3778	2230	1	2028	0,0571	3192	1420	0,4448	-
Putative L-aspartate oxidase	A9H8C2	2638	4873	1	3962	6578	8231	0,0587	2504	6257	2,4988	-
Putative phospholipase C	A9HNB0	7923	8028	8625	1	4325	6095	0,0595	8192	3474	0,4240	-
Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	A9H2S6	1	1	2572	2171	1890	1628	0,1745	858	1896	2,2100	-
Uncharacterized protein	A9HFS9	45943	1	76234	21895	22493	17534	0,2303	40726	20640	0,5068	-
Acyl carrier protein	ACP	1	19908	1	75176	1	1	0,2715	6637	25059	3,7759	-
Conserved protein	A9HEE1	1	9292	7897	4314	3270	3865	0,2884	5730	3816	0,6660	-

Tabela S2- Detalhes da localização das proteínas acumuladas em *G. diazotrophicus* em resposta ao estresse por zinco

Localização predita	Descrição	Acesso	TAG
	Acetyl-CoA hydrolase	A9HIK2,GLUDA	UP
	Nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase	A9H8C5,GLUDA	UP
	2-dehydro-3-deoxyphosphooctonate aldolase	A9HJ79,GLUDA	UP
	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	A9HJ15,GLUDA	UP
	Putative threonine dehydratase catabolic	A9H381,GLUDA	UP
	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	A9H326,GLUDA	UP
	Amidophosphoribosyltransferase	A9H4K2,GLUDA	UP
	33 kDa chaperonin	A9HFT1,GLUDA	UP
	Adenylosuccinate lyase	A9HJE7,GLUDA	UP
	Ferrochelatase	A9HEQ4,GLUDA	UP
	Putative nitrogen fixation protein	A9HFA7,GLUDA	UP
	Fe-S protein, radical SAM family	A9HA97,GLUDA	UP
	5-methyltetrahydropteroylglutamate--homocysteine methyltransferase	A9HNX4,GLUDA	UP
	Protein RecA	A9HM16,GLUDA	UP
	ATP-dependent protease ATPase subunit HslU	A9H199,GLUDA	UP
	Aminotransferase	A9HCQ6,GLUDA	UP
	Geranyltransterase	A9HIR3,GLUDA	UP
	Ribosome-binding ATPase YchF	A9HC06,GLUDA	UP
	Bacterioferritin	A9H7G6,GLUDA	UP
	Chaperone protein DnaK	DNAK,GLUDA	UP
	1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase	A9HIR0,GLUDA	UP
Citoplasma	NADPH-dependent 7-cyano-7-deazaguanine reductase	A9H9B4,GLUDA	UP
	Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+))	ILVC,GLUDA	UP
	Methionine aminopeptidase	A9H4B0,GLUDA	UP
	Beta-lactamase-like protein	A9HC31,GLUDA	UP
	Dihydrolipoyl dehydrogenase	A9HJB6,GLUDA	UP
	Isocitrate dehydrogenase (NAD(+))	A9HQ1,GLUDA	UP
	50S ribosomal protein L10	RL10,GLUDA	UP
	Alpha/beta hydrolase fold	A9H7Y7,GLUDA	UP
	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX	CLPX,GLUDA	UP
	Histidinol dehydrogenase	A9HFM4,GLUDA	UP
	Methionine-tRNA ligase	A9HIA3,GLUDA	UP
	Aspartyl/glutamyl-tRNA(Asn/Gln) amidotransferase subunit B	A9HRI7,GLUDA	UP
	Chaperone protein HtpG	A9HLJ9,GLUDA	UP
	Elongation factor Ts	A9HRQ5,GLUDA	UP
	Ferredoxin	A9HJZ0,GLUDA	UP
	Ribose-phosphate pyrophosphokinase	A9HBZ3,GLUDA	UP
	GMP synthase [glutamine-hydrolyzing]	A9H085,GLUDA	UP
	Glycine-tRNA ligase beta subunit	A9HM86,GLUDA	UP
	Biotin carboxylase protein	A9HEX0,GLUDA	UP
	1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase	A9HKV5,GLUDA	UP
	Transketolase	A9H317,GLUDA	UP
	Single-stranded DNA-binding protein	A9HM62,GLUDA	UP
	Dihydrolipoyl dehydrogenase	A9HFH1,GLUDA	UP

Ferredoxin--NADP reductase	A9HLF6,GLUDA	UP
30S ribosomal protein S19	RS19,GLUDA	UP
Putative rod shape-determining protein mreB	A9HM98,GLUDA	UP
Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase	A9HEE4,GLUDA	UP
Argininosuccinate lyase	ARLY,GLUDA	UP
Thioredoxin	A9HA92,GLUDA	UP
Putative pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	A9HHP7,GLUDA	UP
D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	A9HIU7,GLUDA	UP
50S ribosomal protein L6	RL6,GLUDA	UP
Hopanoid biosynthesis associated radical SAM protein HpnH	A9HAA5,GLUDA	UP
Phosphate acyltransferase	PLSX,GLUDA	UP
D-2-hydroxyacid dehydrogenase	A9HDT4,GLUDA	UP
2-nitropropane dioxygenase	A9HF38,GLUDA	UP
ABC transporter ATP-binding protein	A9H4G2,GLUDA	UP
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	A9HJA9,GLUDA	UP
ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit 2,3,4,5-tetrahydropyridine-2,6-dicarboxylate N-succinyltransferase	A9HRV4,GLUDA	UP
Transcription termination factor Rho	A9HE94,GLUDA	UP
Transaldolase	A9H320,GLUDA	UP
Acetoin reductase	A9HPB2,GLUDA	UP
Putative chemotaxis protein cheA	A9HHF0,GLUDA	UP
Aconitate hydratase	A9HEZ2,GLUDA	UP
ATP synthase subunit delta	ATPD,GLUDA	UP
50S ribosomal protein L15	RL15,GLUDA	UP
4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase (flavodoxin)	ISPG,GLUDA	UP
Adenosylhomocysteinase	A9HFJ7,GLUDA	UP
50S ribosomal protein L14	RL14,GLUDA	UP
Transcription termination/antitermination protein NusA	A9HF12,GLUDA	UP
Putative 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	A9H2M9,GLUDA	UP
Oxidoreductase (Aldo/keto reductase) protein	A9H614,GLUDA	UP
Peroxidase	A9HPI6,GLUDA	UP
FeS assembly protein SufB	A9HRY9,GLUDA	UP
Acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex	A9HJB2,GLUDA	UP
Arginine--tRNA ligase	A9HLH8,GLUDA	UP
Malate dehydrogenase (Oxaloacetate-decarboxylating) (NADP(+))	A9HH05,GLUDA	UP
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	A9HM70,GLUDA	UP
Cold-shock DEAD box protein A homolog	A9HRW6,GLUDA	UP
50S ribosomal protein L11	RL11,GLUDA	UP
4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase	A9HS93,GLUDA	UP
Polyribonucleotide nucleotidyltransferase	PNP,GLUDA	UP
Protein GrpE	A9HEA5,GLUDA	UP
Putative 2-nitropropane dioxygenase	A9HJ45,GLUDA	UP
Conserved protein	A9HS32,GLUDA	UP
Aspartate--tRNA(Asp/Asn) ligase	A9HLJ4,GLUDA	UP
Chaperone clpB	A9HH31,GLUDA	UP
Glycine dehydrogenase (decarboxylating)	A9HM48,GLUDA	UP

GTP-binding protein TypA/BipA	A9H9C1,GLUDA	UP
Elongation factor G	A9HS02,GLUDA	UP
Phosphomethylpyrimidine synthase	A9H8N9,GLUDA	UP
Heat shock protein Hsp20	A9HHR8,GLUDA	UP
Uncharacterized protein	A9H8V7,GLUDA	UP
Lipoyl synthase	A9HJB7,GLUDA	UP
Heat shock protein Hsp20	A9HCX4,GLUDA	UP
Elongation factor P	EFP,GLUDA	UP
Site-determining protein	A9HLY3,GLUDA	UP
NADH-quinone oxidoreductase subunit F	A9HRT4,GLUDA	UP
ATP synthase subunit beta	ATPB,GLUDA	UP
NADH-quinone oxidoreductase	A9HRT3,GLUDA	UP
30S ribosomal protein S5	RS5,GLUDA	DOWN
Phosphoadenosine phosphosulfate reductase	A9H0V9,GLUDA	DOWN
50S ribosomal protein L16	RL16,GLUDA	DOWN
Putative fumarylacetoacetate (FAA) hydrolase protein	A9HCF1,GLUDA	DOWN
Alpha/beta hydrolase, chloride peroxidase	A9H000,GLUDA	DOWN
Uncharacterized protein	A9HJK6,GLUDA	DOWN
Fucose operon fucU protein	A9HPM0,GLUDA	DOWN
Riboflavin biosynthesis protein	A9H8G8,GLUDA	DOWN
Enoyl-CoA hydratase/isomerase	A9HE55,GLUDA	DOWN
Guanylate kinase	A9HDA8,GLUDA	DOWN
3-mercaptopyruvate sulfurtransferase	A9HJI4,GLUDA	DOWN
Aldo/keto reductase family	A9HF59,GLUDA	DOWN
Putative two component response regulator	A9HH92,GLUDA	DOWN
Riboflavin biosynthesis protein RibD	A9HDG2,GLUDA	DOWN
Amidinotransferase	A9HNM6,GLUDA	DOWN
Putative dehydrogenase	A9HQE8,GLUDA	DOWN
Coenzyme PQQ synthesis protein B	PQQB,GLUDA	DOWN
Molybdopterin binding domain	A9HL54,GLUDA	DOWN
Acetate kinase	A9HGK6,GLUDA	DOWN
Phosphoglycolate phosphatase	A9HI43,GLUDA	DOWN
Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha	A9HRF1,GLUDA	DOWN
Octanoyltransferase	LIPB,GLUDA	DOWN
Putative polyketide synthase	A9H221,GLUDA	DOWN
Conserved protein	A9H282,GLUDA	DOWN
Chaperone protein dnaJ	A9HAH3,GLUDA	DOWN
Oxidoreductase	A9HAF3,GLUDA	DOWN
Putative L-asparaginase II protein	A9HE73,GLUDA	DOWN
50S ribosomal protein L24	RL24,GLUDA	DOWN
Putative ribonuclease D	A9HKL8,GLUDA	DOWN
Cysteine desulfurase	A9HRY2,GLUDA	DOWN
PEBP family protein	A9HBI3,GLUDA	DOWN
Multifunctional fusion protein	A9H0J6,GLUDA	DOWN
Membrane dipeptidase	A9HFJ9,GLUDA	DOWN
N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase	A9HLR0,GLUDA	DOWN
Putative ABC transporter ATP-binding protein in rpoN region	A9HKM9,GLUDA	DOWN

	30S ribosomal protein S8	RS8_GLUDA	DOWN
	30S ribosomal protein S9	A9H812_GLUDA	DOWN
	Triosephosphate isomerase	TPIS_GLUDA	DOWN
	Exodeoxyribonuclease III Xth	A9HIE6_GLUDA	DOWN
	tRNA pseudouridine synthase B	TRUB_GLUDA	DOWN
	Aldehyde Dehydrogenase	A9H4V7_GLUDA	DOWN
	Molybdopterin biosynthesis protein moeB	A9HEI1_GLUDA	DOWN
	50S ribosomal protein L3	RL3_GLUDA	DOWN
	HAD-superfamily hydrolase, subfamily IA, variant 3	A9HDX4_GLUDA	DOWN
	Trehalose 6-phosphate phosphatase	A9HBU3_GLUDA	DOWN
	30S ribosomal protein S11	RS11_GLUDA	DOWN
	Hydroxyacylglutathione hydrolase	A9H1G0_GLUDA	DOWN
	Acyl-[acyl-carrier-protein]-UDP-N-acetylglucosamine O-acyltransferase	A9HKU0_GLUDA	DOWN
	Putative Aldose 1-epimerase	A9HDX0_GLUDA	DOWN
	Putative Acetyl-CoA acetyltransferase (Acetoacetyl-CoA thiolase)	A9HE46_GLUDA	DOWN
	Nitrilase/cyanide hydratase	A9GZH7_GLUDA	DOWN
	NADP-dependent L-serine/L-allo-threonine dehydrogenase	A9H4E8_GLUDA	DOWN
	Alcohol dehydrogenase GroES domain protein	A9H073_GLUDA	DOWN
	Histone family protein DNA-binding protein	A9HP12_GLUDA	DOWN
	Peptide chain release factor 2	A9HF65_GLUDA	DOWN
	Ribokinase	A9H0C5_GLUDA	DOWN
	Putative haloacid dehalogenase-like hydrolase	A9HBE7_GLUDA	DOWN
	Putative FeS assembly protein SufD	A9HRY4_GLUDA	DOWN
	6-phosphogluconate dehydrogenase NAD-binding	A9HL10_GLUDA	DOWN
	UPF0303 protein GDI1201	A9HDU3_GLUDA	DOWN
	Zinc-type alcohol dehydrogenase-like protein	A9H2A8_GLUDA	DOWN
	Putative xanthine dehydrogenase iron-sulfur-binding subunit	A9H189_GLUDA	DOWN
	Glutamine amidotransferase of anthranilate synthase	A9HJ94_GLUDA	DOWN
	Dehydrogenase	A9H159_GLUDA	DOWN
	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	A9HRP9_GLUDA	DOWN
	LexA repressor	LEXA_GLUDA	DOWN
	Probable transcriptional regulatory protein GDI0798	A9HAV2_GLUDA	DOWN
	Flagellar motor switch protein FliN	A9HHD1_GLUDA	DOWN
	Threonine synthase	A9HKE7_GLUDA	DOWN
	Peptidase U62 modulator of DNA gyrase	A9HKF2_GLUDA	DOWN
	Putative ribitol 2-dehydrogenase	A9HPG2_GLUDA	DOWN
Membrana interna	Putative phosphoserine aminotransferase	A9HLQ7_GLUDA	UP
	Succinate dehydrogenase flavoprotein subunit	A9HFD7_GLUDA	UP
	ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH	A9HB14_GLUDA	UP
	Lipoprotein-releasing system ATP-binding protein LolD	A9HRR2_GLUDA	UP
	Luciferase-like monooxygenase	A9HSA0_GLUDA	UP
	Chemoreceptor mcpA (Methyl-accepting chemotaxis protein)	A9HHE0_GLUDA	UP
	Succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit	A9HFD5_GLUDA	UP
	Uncharacterized protein	A9H6W8_GLUDA	DOWN
	ABC transporter related	A9HPE7_GLUDA	DOWN
	Putative membrane protein	A9H806_GLUDA	DOWN
	Preprotein translocase, SecG subunit	A9HJ83_GLUDA	DOWN

	Uncharacterized protein	A9HK68,GLUDA	DOWN
	NADP oxidoreductase coenzyme F420-dependent	A9HL93,GLUDA	DOWN
	Protein TolR	A9HAZ8,GLUDA	DOWN
	Quinone oxidoreductase	A9H7Y9,GLUDA	DOWN
	Lipoprotein	A9HPJ3,GLUDA	DOWN
	Putative penicillin-binding protein	A9H435,GLUDA	DOWN
	Anthraniolate phosphoribosyltransferase	A9HJ97,GLUDA	DOWN
Membrana externa	Putative type I secretion outer membrane protein, TolC	A9HG75,GLUDA	UP
	Putative tonB-dependent receptor protein	A9H7M7,GLUDA	DOWN
	Putative TonB-dependent receptor	A9HNM4,GLUDA	DOWN
	Putative tTnB-dependent receptor	A9HH16,GLUDA	DOWN
	Putative TonB-dependent receptor	A9H7L3,GLUDA	DOWN
	Putative tonB-dependent receptor	A9HEU6,GLUDA	DOWN
	Outer membrane protein assembly factor BamD	A9H0L0,GLUDA	DOWN
	Flagellar L-ring protein	A9HHH1,GLUDA	DOWN
	Putative TonB-dependent receptor	A9HDZ9,GLUDA	DOWN
	TonB-dependent receptor	A9H7L9,GLUDA	DOWN
	Putative outer membrane protein	A9H9Q6,GLUDA	DOWN
	Porin	A9HPF6,GLUDA	DOWN
	Putative tonB-dependent receptor	A9HE38,GLUDA	DOWN
	Putative polysaccharide export protein	A9HMV6,GLUDA	DOWN
	Outer membrane protein	A9H3F7,GLUDA	DOWN
	Outer membrane efflux protein	A9H3U0,GLUDA	DOWN
Periplasma	Chaperone SurA	A9H1L4,GLUDA	UP
	Methylamine dehydrogenase heavy chain	A9H2X8,GLUDA	DOWN
	Periplasmic serine endoprotease DegP-like	A9HBK9,GLUDA	DOWN
	Putative extracellular solute-binding protein, PotD/PotF family	A9HGR9,GLUDA	DOWN
	D-xylose ABC transporter, periplasmic substrate-binding protein	A9HNP0,GLUDA	DOWN
	Uncharacterized protein	A9HSZ4,GLUDA	DOWN
	Serine protease	A9HEK6,GLUDA	DOWN
	Outer-membrane lipoprotein carrier protein	A9H103,GLUDA	DOWN
	Glutathione peroxidase	A9HKB6,GLUDA	DOWN
	Tol-Pal system protein TolB	A9HB04,GLUDA	DOWN
Extracellular	D-ribose-binding periplasmic protein	A9HPK6,GLUDA	DOWN
	Flagellar P-ring protein	A9HH48,GLUDA	DOWN
	Periplasmic binding protein/LacI transcriptional regulator	A9HPB9,GLUDA	DOWN
	Nucleoside diphosphate kinase	NDK,GLUDA	UP
	Uncharacterized protein	A9HE44,GLUDA	DOWN

Tabela S3- Informações detalhadas das proteínas da ilustração esquemática das respostas de *G. diazotrophicus* ao estresse por zinco

Principais grupos	Número	Acesso	Descrição	Abreviatura	Localização prevista
Sistemas de bombas de efluxo	1	A9HG75	TolC family protein	CzcC	Membrana externa
	2	A9H3U0	Eflux transporter outer membrane subunit	GDI3416	Membrana externa
	3	A9H3F7	Eflux transporter outer membrane subunit	GDI3368	Membrana externa
	4	A9H9Q6	Eflux transporter outer membrane subunit	OprM	Membrana externa
Absorção de nutrientes	5	A9HPF6	Carbohydrate porin	OprB	Membrana externa
	6	A9HNM4	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa
	7	A9H7L9	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa
	8	A9H7M7	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa
	9	A9HDZ9	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa
	10	A9HE38	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa
	11	A9HH16	TonB-dependent receptor	TbdR	Membrana externa
	12	A9HEU6	TonB-dependent siderophore receptor	GDI1338	Membrana externa
	13	A9H7L3	TonB-dependent siderophore receptor	GDI3713	Membrana externa
	14	A9HK76	Iron ABC transporter substrate-binding protein	Iron ABC	Periplasma
	22	A9H577	Sugar ABC transporter substrate-binding protein	Sugar ABC	Periplasma
	23	A9HPB9	Sugar ABC transporter substrate-binding protein	Sugar ABC	Periplasma
	24	A9HPC7	Sugar ABC transporter substrate-binding protein	Sugar ABC	Periplasma
	25	A9HPE1	Sugar ABC transporter substrate-binding protein	Sugar ABC	Periplasma
	26	A9HNP0	D-xylose ABC transporter substrate-binding protein	XylF	Periplasma
	27	A9HPK6	D-ribose-binding periplasmic protein	RbsB	Periplasma
Resposta a estresse oxidativo	15	A9HJR4	Gamma-glutamyltransferase	Ggt	Periplasma
	16	A9HM18	Gamma-glutamyltransferase	Ggt	Periplasma
	17	A9H1G0	Hydroxyacylglutathione hydrolase	GloB	Periplasma
	18	A9HKB6	Glutathione peroxidase	Gpx	Periplasma
	19	A9H3W7	Alkyl hydroperoxide reductase	Prx	Periplasma
	37	A9HA92	Thioredoxin	TrxA	Citoplasma
	20	A9HEK6	Periplasmic serine endoprotease	DegP	Periplasma
Controle de qualidade de proteínas	21	A9HBK9	Periplasmic serine endoprotease	DegQ	Periplasma
	28	A9HRV3	ATP-dependent specificity component of the Clp protease	ClpX	Citoplasma
	29	A9HRV4	ATP-dependent Clp endopeptidase proteolytic subunit	ClpP	Citoplasma
	30	A9H199	ATP-dependent protease ATPase subunit	HslU	Citoplasma
	31	A9HH31	ATP-dependent chaperone	ClpB	Citoplasma
	32	A9HEA3	Molecular chaperone DnaK	DnaK	Citoplasma
	33	A9HEA5	Nucleotide exchange factor	GrpE	Citoplasma
	34	A9HLJ9	Chaperone protein	HtpG	Citoplasma
	35	A9HCX4	Hsp20 family protein	Hsp20	Citoplasma
	36	A9HHR8	Hsp20 family protein	Hsp20	Citoplasma
Metabolismo do envelope celular	38	A9H986	Membrane integrity-associated transporter subunit	PqiC	Membrana externa

continuação...

Principais grupos	Número	Acesso	Descrição	Abreviatura	Localização prevista
Metabolismo do envelope celular	39	A9HMV6	Polysaccharide export protein	CtrA	Membrana externa
	40	A9HEX0	Biotin carboxylase protein	AccC	Citoplasma
	41	A9H2M9	Putative 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	FabG	Citoplasma
	42	A9HE46	Acetyl-CoA C-acyl-transferase	FadA	Citoplasma
Metabolismo de açúcar	43	A9H326	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	Zwf	Citoplasma
	44	A9HJ42	6-phosphogluconolactonase	Pgl	Citoplasma
	45	A9H317	Transketolase	TktA	Citoplasma
	46	A9H320	Bifunctional transaldolase/phosogluucose isomerase	Tal/Pgi	Citoplasma
	47	A9HJA9	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	PdhB	Citoplasma
	48	A9HJB2	Acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex	PdhC	Citoplasma
	49	A9H4V7	Aldehyde dehydrogenase	AldA	Membrana interna