

TÍTULO: Análise funcional do gene *rstA* (XAC0730) de *Xanthomonas citri subsp. citri*

AUTORES: CACCALANO, N.M.; TERCETI, S.M.; ZAMUNER, C. F. C.; FERREIRA, H.

INSTITUIÇÃO: Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Universidade Estadual de São Paulo. Av. 24-A, n 1515, CEP: 13506-900, Rio Claro – SP, Brasil

RESUMO:

A citricultura é uma atividade econômica importante para a economia brasileira. O cancro cítrico, causado pela bactéria Gram-negativa *Xanthomonas citri subsp. citri* (*X. citri*), acarreta perdas na produtividade e qualidade do fruto. Para mitigar os efeitos do fitopatógeno, uma das medidas de manejo se dá pela aplicação de compostos a base de cobre, um metal tóxico e bio-cumulativo. Linhagens de *X. citri* resistentes ao cobre já foram descritas, o que torna importante a busca por alternativas de controle como a busca por inibidores de vias metabólicas que possam interferir com a patogenicidade da bactéria. O sistema de dois componentes RstAB faz parte de uma família de proteínas de transdução de sinais presentes em bactérias, capaz de regular diversos genes associados a respostas ambientais. O gene *rstA*, que compõe este sistema, é associado a patogenicidade em *E.coli*, *Clostridioides difficile*, e *Klebsiella pneumoniae*. A relação do gene *rstA* com a patogenicidade em outras bactérias pode indicar um possível alvo para estabelecer novos métodos de controle de *X. citri*. Afim de caracterizar *rstA* em *X. citri* foi feita a deleção por dupla-recombinação do gene. Uma vez obtidos os mutantes de deleção, avaliamos o *fitness* das linhagens $\Delta rstA$ em curva de crescimento em comparação a linhagem selvagem (*X. citri* 306). Não observamos alteração nos padrões de crescimento dos $\Delta rstA$ em relação ao isogênico selvagem. Ainda, avaliamos a produção de pectinases, celulasas, proteases e amilases, já que a produção dessas enzimas já foi associada ao gene *rstA* de *P. damselae*. Não observamos alteração dos $\Delta rstA$ em comparação com a linhagens selvagem na produção das enzimas testadas. Por fim, avaliamos possíveis alterações morfológicas nas células mutantes, já que alterações fenotípicas podem estar relacionadas com este gene em outras espécies. As linhagens $\Delta rstA$ e selvagem foram avaliadas em microscopia de contraste de fase, com células imobilizadas em lâminas de agarose 0,9%. Foram analisadas 400 células de cada linhagem e constatamos um aumento no comprimento celular médio das linhagens mutantes. A linhagem selvagem apresentou uma média de comprimento de $1,99 \mu\text{m} \pm 0,56$, enquanto $\Delta rstA$ $2,37 \mu\text{m} \pm 0,85$. Além disso, observamos a formação de correntes entre as células, indicando possíveis erros de segregação cromossômica e ou divisão celular. Assim o gene *rstA* parece estar relacionado a processos de divisão em *X.citri* e os próximos passos são estabelecer a sua relação a patogenicidade.

Palavras-chave: Cancro cítrico, Sistema de dois componentes, morfologia

Agencia de Desenvolvimento: FAPESP – Processo 2020/02238-8