

TITLE: Investigação do papel dos genes *cohLAB* na resistência a cobre em *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

AUTHORS: ALLEONI, N.; TERCETI, S. M; ZAMUNER, C. F. C.; FERREIRA, H

INSTITUTION: UNESP - Universidade Estadual Paulista, RIO CLARO - SP (Av. 24 A, 1515 - Bela Vista, Rio Claro - SP, 13506-752)

ABSTRACT:

O Brasil é o maior produtor de laranjas doce do mundo e a citricultura é uma das atividades agrícolas mais importantes do país. Dentre as pragas que afetam a cultura de citros, o cancro cítrico é uma doença infecciosa, sem cura, que afeta todas as variedades comerciais de citros. Sua importância se dá por causar grandes perdas econômicas, relacionadas à queda de produtividade e qualidade dos frutos. O fitopatógeno causador é a bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*), que se dispersa por chuvas e ventos. Como forma de mitigar os efeitos da praga, uma das medidas de manejo inclui o uso regular de sprays à base de cobre. Esta medida, embora eficaz em reduzir os sintomas, é paliativa, pois a resistência ao cobre já foi documentada em *X. citri* (Cu^R: crescimento acima de 300 mg/L). A resistência está relacionada à presença de genes plasmidiais: *copLAB* e *copABCD*. Ainda, foram documentadas recentemente linhagens de *X. citri* tolerantes ao cobre, capazes de se desenvolver na presença de até 125 mg/L do metal (Cu^T). Neste caso, a tolerância é atribuída a genes cromossômicos de homeostase ao cobre designados *cohLAB*. Deste modo, para compreender melhor a possível relação entre resistência/tolerância e a contribuição dos genes *cohLAB* neste processo, deleções de *cohL*, *cohA*, *cohB* foram realizadas, pelo método de troca alélica, nas linhagens *X. citri* 306, sensível a cobre (Cu^S) e A44 (Cu^R). O agrupamento gênico completo, *cohLAB*, também foi removido em ambas. A partir da obtenção dos mutantes de deleção, uma avaliação do fitness foi realizada através de ensaios de curva de crescimento. Observamos que não houve alteração no padrão de crescimento celular dos mutantes de deleção, tendo a linhagem A44 como *background* genético. Os mutantes de deleção foram avaliados quanto a susceptibilidade a cobre em meio MGY. Para tanto, o meio foi adicionado de 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L e 300 mg/L de sulfato de cobre. Dos mutantes em 306 (*306ΔcohL*, *306ΔcohA*, *306ΔcohB* e *306ΔcohLAB*), nenhum foi capaz de crescer em nenhuma das concentrações testadas, visto que na ausência do agrupamento *cohLAB* perderam a capacidade de utilizar o metal para o metabolismo, tornando-as mais sensíveis. Já os mutantes A44 (*A44ΔcohL*, *A44ΔcohA* e *A44ΔcohLAB*) foram capazes de crescer em todas as concentrações. Isso pode ser atribuído a uma compensação à ausência dos genes de homeostase a cobre, pela presença do plasmídeo de resistência *copLAB*, homólogo aos genes *cohLAB* cromossomais.

Keywords: cancro cítrico; tolerância a cobre; homeostase de cobre

Development Agency: FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2020/03701-3).