



REDUÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE PECTINA COMO UM FATOR EVOLUTIVO DA INTERAÇÃO *XYLELLA FASTIDIOSA* - *CITRUS SINENSIS*

Giovana Betin **Peruchi**¹; Marcella Rosa Leão da **Costa**²; Natália Sousa **Teixeira-Silva**³; Alessandra
Alves de **Souza**⁴

Nº 21116

RESUMO – As subespécies de *Xylella fastidiosa*, *fastidiosa* (Xf-PD) e *pauca* (Xf-CVC) causam as Doença de Pierce (PD) em videiras e Clorose Variegada dos Citros (CVC), respectivamente. A poligalacturonase (pglA) atua na degradação de pectinas da parede celular e está associada a patogenicidade de Xf-PD. Estudos genômicos comparativos, mostraram que o gene precursor da enzima pglA em Xf-CVC apresenta um frameshift, culminando em uma proteína não funcional. A mutação da pglA em Xf-CVC, pode ser um aspecto evolutivo para burlar o sistema imune vegetal. Para verificar essa hipótese, Xf-CVC foi complementada com o gene funcional de Xf-PD em vetor replicativo pXF20. A complementação foi confirmada por PCR e enzimas de restrição. As estirpes contendo o vetor vazio (EV) expressando pglA (Xf-pglA) foram inoculadas em 5 plantas de laranja doce. A população bacteriana foi acessada por qPCR aos 45 e 180 dias após inoculação (dai) para verificar a colonização bacteriana. Aos 45 dai a média da população foi de $2,40 \times 10^5$ para EV e $3,48 \times 10^5$ para Xf-pglA. Após seis meses, a população 5 cm acima do ponto de inoculação foi de $2,13 \times 10^4$ para EV, enquanto para Xf-pglA a bactéria não foi detectada. Estes dados sugerem, que a presença da pglA funcional aumentou a degradação de pectina e a produção de DAMPs (Padrões Moleculares Associados a Danos), levando a percepção da bactéria pelo hospedeiro e ativação do sistema imune vegetal, inibindo, consequentemente, a colonização da bactéria. Esses resultados sugerem que a mutação pode ter sido uma estratégia evolutiva para Xf-CVC colonizar *Citrus sinensis*.

Palavras-chaves: *Xylella fastidiosa*, Clorose Variegada dos Citros, Poligalacturonase, Pectina.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, UNESP - Campus Rio Claro – SP; giovana.peruchi@unesp.br

2 Colaborador, Graduação em Biotecnologia, UFSCar – Campus Araras, Araras - SP.

3 Colaborador, Bolsista Fapesp: Pós Doutorado, Centro de Citricultura “Sylvio Moreira”, Cordeirópolis - SP.

4 Orientador: Pesquisador do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira”, Cordeirópolis – SP; desouza@ccsm.br



ABSTRACT – The subspecies of *Xylella fastidiosa*, *fastidiosa* (Xf-PD) and *pauca* (Xf-CVC) causes Pierce's Disease (PD) in grapevines and Citrus Variegated Chlorosis (CVC), respectively. Polygalacturonase (pglA) degrades the cell wall pectin and is associated with Xf-PD pathogenicity. Comparative genomic studies showed that the precursor gene of pglA in Xf-CVC has a frameshift that results in a non-functional protein. This Xf-CVC mutation may be an evolutionary acquisition to avoid the triggering of the plant immune system. To assess this hypothesis, Xf-CVC was complemented with the functional Xf-PD gene in the replicative vector pXF20. The complementation was confirmed by conventional PCR and restriction enzymes. The empty vector (EV) and the complemented bacteria (Xf-pglA) were inoculated into 5 sweet orange plants and to analyze bacterial migration the bacterial population was accessed by qPCR 45 and 180 days after inoculation (dai). At 45 dai the mean of the population was 2.40×10^5 for EV and 4.8×10^5 for Xf-pglA. After six months, the population 5 cm above the inoculation point was 2.13×10^4 for EV, while for Xf-pglA, the bacteria were no longer detected. These numbers suggest that the presence of a functional pglA in Xf-CVC increased pectin degradation and DAMPs (Damage Associated Molecular Patterns) production, leading to the activation of the plant immune system and preventing regular colonization. These results suggest that the mutation might be an evolutionary strategy for Xf-CVC to colonize *Citrus sinensis*.

Keywords: *Xylella fastidiosa*, Citrus Variegated Chlorosis, Polygalacturonase, Pectin