

DISRUPÇÃO DE GENES CODIFICADORES DE FÍMBRIAS EM *Xylella fastidiosa*.  
Lima PS da C, Lemos MVF, e Lemos EGM. Embrapa/Meio-Norte FCAV-  
Unesp/Jaboticabal. [sarmanho@fcav.unesp.br](mailto:sarmanho@fcav.unesp.br)

As fímbrias são filamentos encontrados na região polar das células de bactérias patogênicas que colonizam os tecidos epiteliais de diversos tipos de hospedeiros e estão associadas ao fenômeno de mobilidade, sendo provavelmente estas as suas funções primárias. Sabe-se que a bactéria *Xylella fastidiosa*, agente causal da clorose variegada dos citros se mobiliza e suspeita-se que as fímbrias estejam intermediando tal movimentação de células bacterianas em diferentes tipos de superfície incluindo-se neste conjunto a parede interna dos vasos xilemáticos das plantas de citrus, constituindo assim em um importante fator de virulência *in vivo*. A anotação do genoma de *X. fastidiosa* revelou associações com outros tipos de genes da fímbria, sendo que dois deles são conhecidos pela denominação *pil S* e *pil R*, estando ambos envolvidos no sistema de transdução de sinais. Análises da região promotora de subunidades do gene *pil A* codificador do primórdio de fímbria em *Pseudomonas aeruginosa* sugerem que a transcrição do gene *pil A* seja controladora por um fator  $\sigma^{54}$  (*rpoN*), de forma análoga a outros promotores, sendo portanto provavelmente controlado pelos dois componentes do sistema sensor-regulador descrito (*pil R* e *pil S*). O objetivo desse trabalho é estudar os genes *pil R*, *pil S* e *pil A* envolvidos na biogênese da fímbria, avaliando suas participações no processo de ligação de células da bactéria considerada ao xilema das plantas afetadas. De maneira orientada foi realizada a inserção de um segmento correspondendo a um cassete de canamicina, retirado do plasmídeo pUC4K (AMERSHAN PHARMACIA BIOTECK), por meio da digestão com diferentes enzimas de restrição. Posteriormente foi feita a clonagem dos genes rompidos no plasmídeo pAMP1 (GIBCO/BRL). As montagens obtidas foram transformadas em células de *E.coli* DH10B por eletroporação. Após crescimento em meio seletivo contendo ampicilina e canamicina, foram selecionados 94 clones por gene e realizada a extração do DNA e análise da migração das bandas verificando-se a compatibilidade em relação ao tamanho dos fragmentos obtidos com as inserções realizadas. A confirmação da presença de clones contendo os genes rompidos pelo cassete de canamicina foi obtida por PCR a partir da utilização dos iniciadores M13/pUC18 “forward” e “reverse” que permitiu a amplificação de fragmentos de 2.900, 3.300 e 2.400 pares de bases correspondentes ao tamanho dos fragmentos dos genes *pil R*, *S* e *A* rompidos pelo cassete de canamicina.  
Órgão Financiador : FAPESP e EMBRAPA