



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA/BACHARELADO

EMMILY LARISSY DE OLIVEIRA GUEDES

**CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE BACTERIOCINAS
DE XANTHOMONAS CITRI**

RECIFE

2022

EMMILY LARISSY DE OLIVEIRA GUEDES

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE BACTERIOCINAS DE XANTHOMONAS CITRI

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do curso de
Bacharelado em Biomedicina da
Universidade Federal de Pernambuco,
comorequisito parcial à obtenção do título
de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Flávia Figueira Aburjaile

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Maria Benko Iseppon

RECIFE
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do
SIB/UFPE

Guedes, Emmily Larissy de Oliveira.
Caracterização estrutural de bacteriocinas de *Xanthomonas citri* / Emmily
Larissy de Oliveira Guedes. - Recife, 22.
33 : il., tab.

Orientador(a): Flávia Figueira Aburjaile
Cooorientador(a): Ana Maria Benko Iseppon
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 22.
Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Bactérias. 2. Genomas. 3. Virulência. 4. Zoocina A. I. Aburjaile,
Flávia Figueira. (Orientação). II. Iseppon, Ana Maria Benko. (Coorientação). III.
Título.

570 CDD (22.ed.)

EMMILY LARISSY DE OLIVEIRA GUEDES

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE BACTERIOCINAS DE *Xanthomonas citri*

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do curso
de Bacharelado em Biomedicina da
Universidade Federal de
Pernambuco, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Aprovada em: 13/07/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Flávia Figueira Aburjaile
Universidade Federal de Minas Gerais

MSc. Thamara de Medeiros Azevedo
Universidade Federal de Pernambuco

MSc. Vinícius Costa Amador
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me permitir ter a oportunidade de traçar meu caminho e me mostrar força onde eu achei que não havia.

Aos meus pais, Ana Claudia e Jamerson, por todas as conversas, conselhos, paciência e enorme apoio. Sem vocês eu não teria onde me segurar quando as coisas apertaram.

A minha irmã, Ewilyn, por ter os melhores ouvidos e por suas opiniões sempre afiadas e inteligentes.

Aos meus avós, Abigail e Bartolomeu, por seu apoio e momentos de grande alegria.

Aos meus avós, Benícia e João, que são parte de quem sou e sempre serão meus maiores motivos de felicidade e saudade.

A minha família, que sempre me serviu e serve de base forte, me permitindo ter e seguir meus sonhos.

Aos meus amigos maravilhosos, Laryssa, Igor e Bianca, que sempre foram compreensíveis com minhas ausências e pacientes com meus momentos de dúvida. Minhas risadas são sempre mais felizes quando estamos juntos.

A Clarissa, por todo seu amor, cuidado e parceria sem tamanho.

A Bianca, afinal, foi você quem me abriu os olhos para os caminhos que eu não enxergava e me ajudou a sair do lugar quando eu achava que dar um passo adiante não seria possível. Você fez com que esses anos de graduação fossem mais bonitos.

A Carla e Karinne, que me proporcionaram as melhores conversas e momentos de alegria. Serão sempre inspiração e motivo de orgulho para mim.

A Genilton, que sempre esteve ao meu lado, me incentivando e apoiando.

As minhas orientadora e co-orientadora, prof^a. Dr^a. Flávia e prof^a. Dr^a Ana Maria, que me deram grande apoio, motivação e inspiração.

Aos órgãos de pesquisa, que me forneceram os meios para fomentar este trabalho.

RESUMO

As bactérias do gênero *Xanthomonas* são fitopatógenos de difícil controle no agronegócio, por causarem graves doenças em plantas economicamente importantes. As γ -proteobactérias deste gênero apresentam alto grau de especificidade tecidual, bem como uma ampla variedade de hospedeiros, dessa forma são agrupadas em patovares. A virulência de *Xanthomonas* spp. é dependente de um sistema de secreção codificado pelo grupo genético cromossômico *rhp*, chamado tipo III. *Xanthomonas citri* relaciona-se com cerca de 28 patovares infectantes de diversas plantas, sendo o cancro cítrico tipo A a doença mais difundida e é a responsável pelos maiores danos econômicos, por acometer todas as plantas cítricas comerciais. As bactérias capazes de inibir o crescimento de outras produzem bacteriocinas, substâncias que foram primeiramente chamadas de “colicinas”, por terem sido isoladas de *Escherichia coli*, são toxinas proteicas altamente tóxicas para competidores bacterianos que sejam intimamente relacionados. Este trabalho tem como objetivo identificar bacteriocinas que estejam relacionadas e/ou sejam produzidas por *Xanthomonas citri* e alguns de seus patovares. Para obter tais informações, foram utilizados 20 genomas completos de bactérias pertencentes ao gênero *Xanthomonas*, dentre eles *X. citri* pv. *aurantifolia*, *X. citri* pv. *fuscans* e *X. citri* pv. *glycines*, todos foram obtidos através do depósito público do National Center for Biotechnology (NCBI)/GenBank. A relação entre tais bactérias e a presença de genes associados à produção de bacteriocinas, foi observada após uso do software BAGEL4 webserver, onde podem ser encontrados diversos potenciais genomas sabidamente associados à produção de bacteriocinas. Então, foram identificadas apenas duas bacteriocinas, Zoocina A (*zooA*) e Microcina, sendo a primeira mais bem caracterizada neste estudo. Por meio do software BACTIBASE, tornou-se possível o conhecimento acerca da estrutura e função de *zooA*. A finalidade deste estudo é atualizar a comunidade científica sobre este assunto para, conseqüentemente, ser possível o desenvolvimento de métodos mais eficazes de combate aos danos causados por esses fitopatógenos.

Palavras-chave: Bactérias. Genomas. Virulência. Zoocina A.

ABSTRACT

Bacteria of the genus *Xanthomonas* are phytopathogens that are difficult to control in agribusiness as they cause serious diseases in economically important plants. The γ -proteobacteria of this genus have a high degree of tissue specificity, as well as a wide variety of hosts, thus they are grouped into pathovars. The virulence of *Xanthomonas* spp. it is dependent on a secretion system encoded by the *rhp* chromosomal genetic group, called type III. *Xanthomonas citri* is related to about 28 pathovars infecting different plants, with citrus canker type A being the most widespread disease and responsible for the greatest economic damage as it affects all commercial citrus plants. Bacteria capable of inhibiting the growth of others produce bacteriocins, substances that were first called “colicins” because they were isolated from *Escherichia coli*, are protein toxins that are highly toxic to closely related bacterial competitors. This work aims to identify bacteriocins that are related and/or produced by *Xanthomonas citri* and some of its pathovars. To obtain such information 20 complete genomes of bacteria belonging to the genus *Xanthomonas* were used, including *X. citri* pv. *aurantifolii*, *X. citri* pv. *fuscans* and *X. citri* pv. *glycines* all were obtained from the public depository of the National Center for Biotechnology (NCBI)/GenBank. The relationship between such bacteria and the presence of genes associated with the production of bacteriocins was observed after using the BAGEL4 webserver software, where several potential genomes known to be associated with the production of bacteriocins can be found. Therefore, only two bacteriocins were identified, Zoocin A (*zooA*) and Microcin, the former being better characterized in this study. Through the BACTIBASE software knowledge about the structure and function of *zooA* became possible. The purpose of this study is to update the scientific community on this subject so that consequently it is possible to develop more effective methods to combat the damage caused by these phytopathogens.

Keywords: Bacteria. Genomes. Virulence. Zoocin A.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
1.1. Gênero <i>Xanthomonas</i>	7
1.2. <i>Xanthomonas citri</i>	8
2. BACTERIOCINAS	10
2.1. Classes das bacteriocinas	10
2.2. Importância das bacteriocinas em fitopatógenos	12
3. BIOINFORMÁTICA APLICADA AO ESTUDOS DE BACTERIOCINAS	12
4. OBJETIVOS	14
4.1. Objetivo geral	14
4.2. Objetivos específicos	14
5. MATERIAIS E MÉTODOS	15
5.1. Obtenção dos genomas	15
5.2. Identificação das bacteriocinas	15
5.3. Caracterização das bacteriocinas	15
5.4. Construção da árvore filogenética	16
6. RESULTADOS	16
6.1. Identificação das bacteriocinas Zoocina A (<i>zooA</i>) e Microcina	16
6.2. Caracterização de <i>zoo A</i>	24
6.3. Obtenção da árvore filogenética	27
7. DISCUSSÃO	28
8. CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

1.1 GÊNERO *Xanthomonas*

As bactérias pertencentes ao gênero *Xanthomonas* sp. são fitopatógenos que provocam doenças, muitas vezes fatais, em plantas. São bactérias gram-negativas que fazem parte da subdivisão Gamma das Proteobactérias, tipicamente encontradas em forma de bastonete, com um único flagelo polar e são aeróbias estritas. A temperatura em que estes microrganismos crescem varia entre 25-30°C. Suas colônias, geralmente, são amarelas, devido a presença de um pigmento ligado à membrana, a xantomonadina, que tem a capacidade de proteger a bactéria de danos fotobiológicos (BÜTTNER; BONAS, 2009). Uma característica importante dessas bactérias é que, apesar de apresentarem uma ampla variedade de hospedeiros, geralmente as espécies têm alto grau de especificidade, de modo que linhagens infectantes de uma determinada planta, ainda que estas sejam da mesma família ou gênero, não são capazes de utilizar outra como hospedeiro (BRUNINGS; GABRIEL, 2003).

As γ -proteobactérias gram-negativas do gênero *Xanthomonas* são patógenos economicamente importantes de muitas espécies de plantas, incluindo plantas de cultivo, e são agrupados em patovares (pv.) de acordo com sua gama de hospedeiros e especificidade tecidual durante a colonização (ABENDROTH *et al.*, 2014; ALVAREZ-MARTINEZ *et al.*, 2020). Durante a infecção, a bactéria tem acesso ao tecido vegetal por meio de aberturas naturais, como estômatos e hidátodos, ou ferimentos para, então, se multiplicarem localmente nos espaços intracelulares, como no caso de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv), *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc) e *X. axonopodis* pv. *citri* (Xac), ou espalham-se sistematicamente via sistema vascular, como em *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) e *X. oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). A patogenicidade de *Xanthomonas* spp. depende do sistema de secreção tipo III (SST3), que é codificado pelo grupo genético cromossômico *rhp* (responsável pela resposta de hipersensibilidade e patogenicidade). O SST3 é induzido durante a infecção e transloca proteínas efetoras bacterianas (T3Es) diretamente para o interior da célula vegetal. Além disso, outros sistemas de secreção proteica contribuem para a virulência de *Xanthomonas* spp. (ABENDROTH *et al.*, 2014).

Um outro fenômeno recorrente nas *Xanthomonas*, e que pode estar associado ao grau de virulência das linhagens, é a transferência horizontal de genes (THG). Esse tipo de aquisição gênica, mediado por transposases, por exemplo, é responsável por grande parte da diversificação genética das bactérias da ordem Xanthomonadales, como a *Xanthomonas* e *Xyllela*, sendo essencial para a evolução ao longo da história natural e pela adaptação aos nichos do epifitismo e parasitismo vegetal (BOUCHER *et al.*, 2003; MONTEIRO-VITORELLO *et al.*, 2005).

1.2 *Xanthomonas citri*

Xanthomonas. citri pv. *citri* é um patógeno grave de plantas cítricas, que recebeu o status de organismo de quarentena. É uma bactéria conhecida há mais de um século, cuja doença provocada, o cancro cítrico, foi observada pela primeira vez na Índia. De acordo com os resultados de um estudo filogenético de locus único (*gyrB*), que incluiu todas as espécies de *Xanthomonas*. *X. citri* está intimamente relacionada a 28 patovares infectantes de diversas plantas. O cancro cítrico é uma doença bacteriana capaz de ser causada em todas as variedades comerciais de plantas cítricas e é comumente classificado em tipos A, B e C (BANSAL *et al.*, 2017).

Acredita-se que o tipo A tenha origem na Ásia, provavelmente no sul da China, Indonésia ou Índia, é o mais difundido e o que causa maior dano econômico. O tipo B (ou falso cancro) foi primeiramente identificado em 1923, na Argentina, e atualmente é conhecido por estar presente apenas na Argentina, Paraguai e Uruguai; enquanto o tipo C é limitado ao estado de São Paulo, Brasil. Os tipos B e C são considerados formas atenuadas do tipo A. O agente causal do cancro tipo A (BANSAL *et al.*, 2017; PATANÉ *et al.*, 2019).

Duas variantes do cancro cítrico tipo A foram identificadas: a variante A* foi encontrada no sul da Ásia, nos anos 1990, infectando limão mexicano; a segunda variante, “cepa Wellington” (Aw), foi isolada em Palm Beach County, no sul da Flórida. Análises de hibridização de DNA revelaram que Xcaw está relacionada, de forma mais íntima, as cepas XccA e XccA* do que as cepas XauB e XauC. O gene *avrGf1* foi encontrado na cepa 12879 de Xcaw, cuja mutação tornou-o virulento na toranja, ainda que os sintomas tenham sido

bem reduzidos quando comparados aos sintomas promovidos pelas cepas de XccA306 (JALAN *et al.*, 2013).

Bactérias do gênero *Xanthomonas* são capazes de infectar pelo menos 124 espécies de monocotiledôneas e 268 espécies de dicotiledôneas, além de fornecer excelentes estudos de caso para o entendimento das interações planta-micróbio. As cepas ocasionam lesões hiperplásicas e hipertróficas (em relevo) circundadas por margens oleosas ou cheias de água, com a presença de um halo amarelo nas folhas, caules e frutos. Além de Xcc, *X. fuscans* subsp. *aurantifolii* (Xau), também provoca cancro cítrico, mas com distribuição geográfica e gama de hospedeiros limitados (JALAN *et al.*, 2013).

Um estudo identificou, por meio de análise genômica comparativa de *X. campestris* pv. *campestris* e XccA306, a fim de compreender os mecanismos dos diferentes intervalos de hospedeiros e processos patogênicos de ambas as espécies de *Xanthomonas*, que ambas possuem intervalos de hospedeiros distintos. Nesse estudo, muitos genes específicos da espécie foram apresentados, o que pode esclarecer as diferentes especificidades de hospedeiro e de processos patogênicos dos dois patógenos. Dessa forma, foi conduzida a análise genômica comparativa de XccA306 e *X. axonopodis* pv. *citrumelo*, uma cepa infectante de viveiro, que demonstrou sua baixa virulência em citrus quando comparada à virulência de XccA. Diferenças nos conteúdos gênicos foram encontradas, como os efetores do tipo III (por exemplo, PthA), o sistema de secreção do tipo IV e a síntese de lipopolissacarídeos, por exemplo, que podem contribuir para as distinções a respeito da virulência bacteriana e da gama de hospedeiro. Além disso, o sequenciamento das cepas XauB e XauC demonstrou fatores de virulência distintos, que influenciam a gama de hospedeiros de espécies intimamente relacionadas (JALAN *et al.*, 2013).

Algo semelhante ocorreu com o resultado da análise comparativa de Xcaw12879 e XccA306, a qual identificou vários genes específicos que podem contribuir para as diferenças tanto na virulência quanto no intervalo de hospedeiro. Entre os genes presentes em Xcaw12879, mas ausentes em XccA306, há dois genes efetores, *xopAG* (*avrGf1*) e *xopAF*, que foram identificados em Xcaw, XauB e XauC, mas não no genoma XccA306. A presença desses efetores em cepas, cuja gama de hospedeiros é limitada,

promove cancro cítrico, já nos casos em que a gama de hospedeiros é mais ampla, a aparição de XccA306 torna-os ótimos candidatos para efetores que podem afetar a especificidade do hospedeiro. Sendo assim, o gene *avrGf1* contribui, principalmente, para a limitação da gama de hospedeiros de Xcaw12879, enquanto *xopAF* contribui para a virulência. (JALAN *et al.*, 2013).

2. BACTERIOCINAS

As bacteriocinas são substâncias produzidas por bactérias capazes de inibir o crescimento de outras que estejam presentes no meio. Possuem origem proteica e os genes responsáveis por sua síntese estão localizados no plasmídeo ou no cromossomo bacteriano. Essas substâncias foram originalmente chamadas de “colicinas”, ao serem isoladas de *Escherichia coli*, porém mais tarde foram identificadas em outras espécies bacterianas e, então, denominadas bacteriocinas (BONINI; MARINGONI; NETO, 2006).

Geralmente são toxinas proteicas tóxicas para competidores bacterianos intimamente relacionados. As bacteriocinas de bactérias gram-negativas representam um grupo diverso em termos de tamanho, alvo microbiológico e mecanismo imunológico (MARUTANI-HERT *et al.*, 2020).

2.1 CLASSES DAS BACTERIOCINAS

Várias tentativas têm sido feitas para formar um esquema de classificação útil para bacteriocinas produzidas por bactérias gram-positivas (KLAENHAMMER, 1993; EIJSINK *et al.*, 2002; COTTER *et al.*, 2005; DE JONG *et al.*, 2006; HANG; TAGG, 2006).

As bacteriocinas de Classe I são lantibióticos, peptídeos termoestáveis que contêm pontes de tio éter e aminoácidos modificados pós-tradução. Atualmente os lantibióticos são divididos em tipos A (peptídeos catiônicos levemente lineares e flexíveis), B (peptídeos mais globulares e rígidos, com ou sem carga líquida negativa) e C (bacteriocinas de dois componentes). Elas apresentam várias atividades que comumente resultam em desestabilização da membrana, formação de poros e/ou inibição da síntese da parede celular, ao ligar-se em lipídios específicos. As bacteriocinas que pertencem a Classe II formam um grande e diverso grupo de peptídeos termoestáveis menos modificados pós tradução. Os efeitos que provocam nas células alvo são

semelhantes aos provocados pelas bacteriocinas de Classe I, mas seus receptores parecem ser proteínas ao invés de lipídeos. As bacteriocinas de Classe III não são peptídeos, mas sim proteínas termolábeis caracterizadas de acordo com sua capacidade de promover a lise celular. Outras classes de bacteriocinas relacionadas a bactérias gram-positivas incluem bacteriocinas que carregam porções essenciais de lipídios ou carboidratos, além dos peptídeos cíclicos (ETAYASH *et al.*, 2015; HOLTSMARK *et al.*, 2007).

Outro tipo de bacteriocina de Classe I são as Microcinas. Elas são produzidas pelos ribossomos de enterobactérias gram-negativas, como moléculas de defesa do hospedeiro para prosperar no meio da comunidade bacteriana. As Microcinas são tidas como pertencentes a ambas as Classe I e II, baseado em suas massas moleculares, pontes dissulfeto e a extensão da modificação pós tradução; as de Classe I são pequenas e com peptídeos altamente modificados pós tradução (Mcc J25, Mcc B17, Mcc C7/C51) e as de Classe II contêm peptídeos antimicrobianos de massa molecular comparativamente mais alta, com ou sem modificações sutis pós tradução (Mcc E492 e Mcc M, V e L) (ETAYASH *et al.*, 2015).

As bacteriocinas de Classe II são as que não contêm Lantionina e não são expostas a extensas modificações pós tradução. No geral, são subdivididas em subclasses: Classe IIa (bacteriocinas semelhantes a Pediocina, que consiste em um peptídeo anti-listerial com uma ou duas ligações dissulfeto e um motivo conservador N-terminal como, por exemplo, Pediocina PA-1, Leucocina A e Sakacin P). A Classe IIb é formada por bacteriocinas que apresentam dois peptídeos diferentes, os quais, em conjunto, apresentam concentração equivalente e promovem uma ótima atividade antibacteriana. As bacteriocinas que formam a Classe IIc são cíclicas, devido as porções N e C-terminais estarem covalentemente ligadas. A Classe IId pertence as bacteriocinas de peptídeo linear não semelhante a Pediocina, elas não possuem sequências análogas as bacteriocinas semelhantes a Pediocina. As bacteriocinas de Classe IIe são semelhantes às da Classe IId, porém com mais modificações como a conjugação de sideróforo, por exemplo (ETAYASH *et al.*, 2015).

2.2. IMPORTÂNCIA DAS BACTERIOCINAS EM FITOPATÓGENOS

A capacidade de cepas de *Xanthomonas perforans* de vencer a competição com *Xanthomonas euvesicatoria*, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, foi, ao menos em parte, associada a produção de três bacteriocinas designadas Bcn-A, Bcn-B e Bcn-C (MARUTANI-HERT *et al.*, 2020).

Proteínas semelhantes a Colicina foram encontradas no genoma de cepas sequenciadas de *X. oryzae* pv. *oryzae* e de *X. campestris* pv. *glycines*, que é o agente causador da pústula bacteriana na soja e produtor de Glicinecina, uma bacteriocina heterodimérica, codificada pelos genes *glyA* e *glyB*. A gama antagônica dessa bacteriocina tem sido encontrada em muitos outros patovares, principalmente em *X. campestris* e em *X. oryzae* pv. *oryzae*, que provoca a ferrugem bacteriana do arroz (HOLTSMARK *et al.*, 2007).

3. BIOINFORMÁTICA APLICADA AO ESTUDO DE BACTERIOCINAS

A bioinformática é um ramo da biologia que utiliza ferramentas computacionais para a compreensão de problemas que abrangem desde relações filogenéticas entre diferentes espécies até estudos de sequências biológicas que podem auxiliar na produção de novos fármacos (VERLI, 2014). Na bioinformática, três tipos de informações, provenientes da biologia molecular, são utilizadas: sequências genômicas, dados transcriptômicos (provenientes de estudos de regulação gênica) e estruturas macromoleculares (como as proteínas, por exemplo) (LUSCOMBE; GREENBAUM; GERSTEIN, 2001).

O grande volume de dados biológicos teve grande aumento, evento chamado Big Data, estes dados formam conjuntos de informações complexas que excedem a maioria das capacidades computacionais, tornando-os desafiadores na organização, compreensão, estocagem, manutenção e, principalmente, na análise (KUMARI; KUMAR, 2014). Com relação a análise, a baixa disponibilidade de ferramentas como softwares ou scripts computacionais, que integrem diferentes perspectivas para analisar esses dados como um todo, faz com que grande parte deles sejam descartados ou não incluídos em análises importantes no estudos científicos (KUMARI; KUMAR, 2014; MERELLI *et al.*, 2014).

À vista do grande volume de genomas procariotos disponíveis, a genômica comparativa é uma área que apresenta alto potencial, por pretender identificar genes comuns no genoma completo e aqueles exclusivos de algumas linhagens, através de análises genômicas de uma determinada espécie. (PALLEN; WREN, 2007; TETTELIN *et al.*, 2008). Uma das aplicações desse tipo de análise é a descoberta de linhagens bacterianas que desenvolveram resistência contra uma determinada forma de combate, considerando que muitos microrganismos patogênicos estão adquirindo resistência rápida nos últimos anos (LIU *et al.*, 2020; RUDDARAJU *et al.*, 2020).

A busca por bacteriocinas retrata um esforço desafiador em função das diversas variáveis que precisam ser exploradas. Por outro lado, a disponibilidade de genomas bacterianos sequenciados de forma completa é fonte de informação para uma nova estratégia de busca de bacteriocinas por meio de predições bioinformáticas obtidas por análise genômica. As bacteriocinas podem ser rastreadas diretamente no genoma ao ser observada a identidade da sequência em associação com bacteriocinas conhecidas, com motivos conservados ou com genes biossintéticos. O contexto genômico das bacteriocinas tem grande importância em uma busca bioinformática, por conter genes que codificam modificações pós-traducionais, regulação, processamento de peptídeos líderes, transporte e mecanismos de imunidade (PÉREZ, Pedraza *et al.*, 2018).

Ao se tratar de bacteriocinas relativamente grandes, a busca por alguma similaridade nas sequências pode ser realizada através do uso da ferramenta BLAST, cujo algoritmo de alinhamento permite determinar o grau de identidade entre as sequências que estiverem sendo comparadas. No entanto, bacteriocinas pequenas tendem a ter uma identidade conservada mais baixa, de modo que o uso do BLAST nem sempre fornece bons resultados. Diante disso, diferentes estratégias são necessárias, como usar assinaturas de aminoácidos ou motivos conservados como objetos de busca. Uma outra estratégia é gerar bancos de dados específicos para bacteriocinas onde uma busca pode ser realizada diminuindo o valor de corte dos dados sem que isso represente um aumento no número de sequências falsas positivas. Um desses bancos de dados específicos para bacteriocinas é o BACTIBASE, o qual contém as bacteriocinas mais bem caracterizadas e permite a comparação com

sequências problemáticas (query sequences) por meio do BLAST, e outro é o BAGEL4, uma plataforma utilizada para efetuar buscas automatizadas de diversas bacteriocinas (PÉREZ, Pedraza *et al.*, 2018).

Dentre estudos de bioinformática realizados sobre bacteriocinas, podemos citar o trabalho realizado por G. Nicolas, que detectou de novas bacteriocinas em *Streptococcus mutans* pesquisando por histidina quinases seu genoma com seus Reguladores de Resposta (HK/RR) através de uma análise do contexto genômico utilizando bancos de dados e ferramentas disponíveis abertamente na internet. Neste estudo, Nicolas encontrou um novo cluster de genes relacionados à produção de bacteriocinas que ainda não haviam sido relatados. Enquanto que H. Wang *et al.* determinaram a ocorrência de bacteriocinas em cianobactérias por meio da varredura de 58 genomas nos quais encontraram 145 agrupamentos de genes relacionados a bacteriocinas. Para a realização desta busca, foram utilizados os domínios de peptídeos sinal glicina dupla, o domínio C39 e a lantionina sintase como sequências de consulta (PÉREZ, Pedraza *et al.*, 2018).

Em um estudo conduzido por M. Singh e D. Sareen foi feita uma busca por antibióticos em genomas sequenciados utilizando a proteína LanT, responsável por remover o peptídeo sinal e transportar antibióticos de classe I para fora da célula, ativando mecanismo que ocasiona a ativação da bacteriocina. Como resultado, 24 novos agrupamentos relacionados à produção de bacteriocinas foram encontrados (PÉREZ, Pedraza *et al.*, 2018).

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Diante do que foi exposto, o objetivo do presente estudo é constatar e reconhecer bacteriocinas que se relacionem com *Xanthomonas citri* e alguns de seus patovares, a fim de atualizar a comunidade científica tendo em vista uma consequente melhora no que diz respeito aos métodos de combate contra os danos provocados por tais bactérias.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma busca por genomas completos de *Xanthomonas citri* e alguns patovares na banco de dados do NCBI/GenBank;

- Identificar as bacteriocinas relacionadas por meio da plataforma BAGEL4 webserver;
- Conhecer suas respectivas estruturas e funções através do software BACTIBASE;
- Construir uma árvore filogenética, utilizando o método Neighbor-Joining, a fim de reconhecer alguma ancestralidade em comum entre as cepas.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. OBTENÇÃO DOS GENOMAS

Para a realização do presente estudo, foram utilizados vinte genomas completos de bactérias que formam patovar com *Xanthomonas citri*, são eles, e suas respectivas quantidades: quatro de *X. citri* pv. *aurantofolii*, oito de *X. citri* pv. *fuscans* e oito de *X. citri* pv. *glycines*; os quais foram obtidos no depósito público do National Center for Biotechnology (NCBI)/GenBank. O fato de todas serem sequências completas foi o único critério de inclusão, sendo a ordem para download definida de forma cronológica, a partir da sequência mais recentemente adicionada ao banco de dados até a menos recente.

5.2. IDENTIFICAÇÃO DAS BACTERIOCINAS

A fim de descobrir quais bacteriocinas estão relacionadas aos genomas utilizados neste estudo, todos foram aplicados ao BAGEL4 webserver (van HEEL, Auke J. *et al.*, 2018). Em concordância com os parâmetros exigidos pela ferramenta, o download individual dos genomas, por meio do NCBI/GenBank, foi realizado no formato FastA.

5.3. CARACTERIZAÇÃO DAS BACTERIOCINAS

O Bactibase (HAMMAMI, Riadh *et al.*, 2007) foi a ferramenta utilizada para obtenção das informações acerca das bacteriocinas, tais como sua estrutura e função. Na página inicial do Bactibase, encontra-se uma breve introdução acerca do que são bacteriocinas, algumas informações gerais e dados físico-químicos. A interface de consulta dispõe de pesquisa avançada, com variados parâmetros, e informações rápidas. Os usuários da plataforma conseguem encontrar um peptídeo de bacteriocina usando seu nome, por

exemplo, e então têm acesso a listas contendo organismos bacterianos associados a produção de determinada bacteriocina ou listas de bacteriocinas que são associadas a organismos específicos. Quando a sequência a ser estudada é inserida na plataforma, o programa analisa todos os peptídeos disponíveis em seu banco de dados, que contém determinada sequência. Os resultados da pesquisa combinatória podem ser baixado em formato FastA de forma gratuita (HAMMAMI et. al., 2007).

5.4. CONSTRUÇÃO DA ÁRVORE FILOGENÉTICA

As árvores filogenéticas têm de elucidar o parentesco evolutivo, ancestralidade ou similaridade entre espécies. Sua construção se dá a partir dos dados disponíveis de forma a possuírem folhas, que correspondem às espécies, e nós internos, que representam os ancestrais hipotéticos. Dessa forma, quanto “mais próximas” forem as espécies, mais próximos serão os nós internos condizentes na árvore (VIANA, Gerardo, 2007).

A construção da árvore filogenética apresentada neste estudo se deu através do software gratuito Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA X). Ele é capaz de executar diversas ferramentas para filogenética e filomedicina, e métodos analíticos, além de não requerer nenhum software de virtualização ou emulação e oferecer uma experiência uniforme para o usuário independentemente da plataforma que for utilizada (KUMAR, Sudhir *et al.*, 2018).

6. RESULTADOS

6.1 IDENTIFICAÇÃO DAS BACTERIOCINAS ZOOCINA A (*zooA*) E MICROCINA

A ferramenta BAGEL4 foi utilizada com o intuito de identificar quais bacteriocinas associam-se aos genomas estudados. O BAGEL4 funciona de modo a comparar as sequências em estudo com as que estão disponíveis em seu banco de dados, identificando e designando semelhanças existentes. Através dessa ferramenta pública, foi visto que as sequências genômicas de patovares de *X. citri* possuem genes conhecidamente associados à produção das bacteriocinas zoocina A (*zooA*) e microcina, de modo que as cepas de *X. citri* pv. *aurantifolii*, bem como as de *X. citri* pv. *fuscans* e 1157 de *X. citri* pv.

glycines relacionam-se apenas com *zooA*, enquanto que as demais cepas de *X. citri* pv. *glycines* também estão relacionadas à Microcina, além de *zooA* (Tabela 1).

Tabela 1 - Bactérias, suas respectivas cepas e bacteriocinas associadas.

Bactéria	Cepa	Bacteriocina
<i>Xanthomonas citri</i> pv. <i>auratifolii</i>	FDC 1559	Zoocina A
	FDC 1609	
	FDC 1561	
	1566	
<i>Xanthomonas citri</i> pv. <i>fuscans</i>	ISO118C5	Zoocina A
	ISO118C1	
	ISO12C3	
	PR8F	
	FH61	
	M12	
	6165R(delta)tal22B	
<i>Xanthomonas citri</i> pv. <i>glycines</i>	4834-R	Zoocina A
	1157	
	8ra	
	EB08	Zoocina A e Microcina
	K2	
	CFBP7119	
	CFBP2526	
	1018	
	12-2	

Fonte: Autora (2022).

A interface do BAGEL4 demonstra o número de “Areas Of Interest” (AOI) e a “Open Reading Frame” (ORF) como resultado das análises das sequências gênicas. Como previamente elucidado, algumas cepas possuem AOIs que relacionam-se exclusivamente com a produção de *zooA*, essas são demonstradas com o sufixo AOI_01 (Figuras 1 e 2). No entanto, as que possuem o sufixo AOI_02 representam as cepas que apresentam genes relacionados com a produção de microcina (Figura 3).

Figura 1 - AOIs relacionadas com a produção de zooA das cepas FDC 1559 (A), FDC 1561 (B), FDC 1609 (C) e FDC 1566 (D) de *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii*.

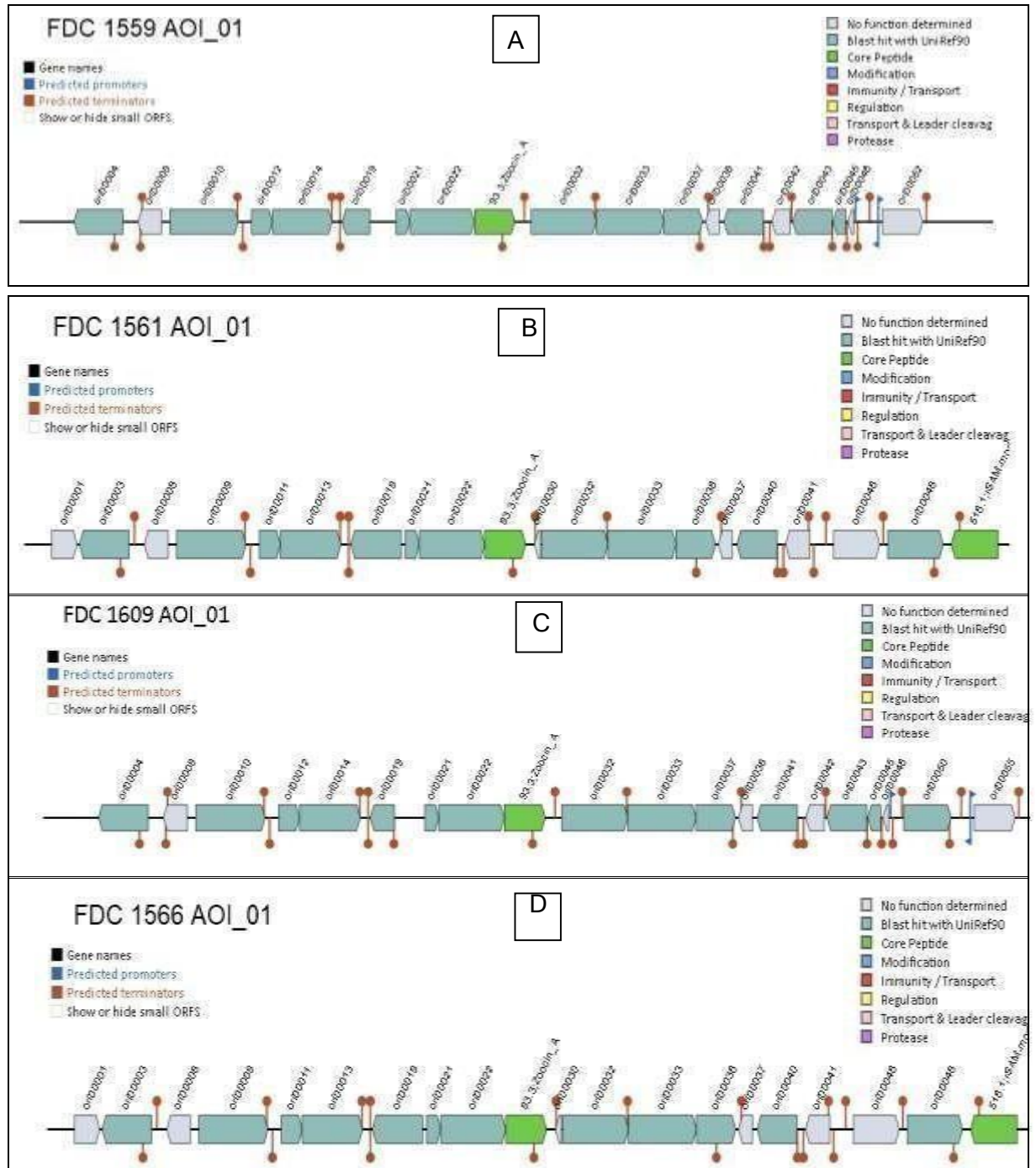
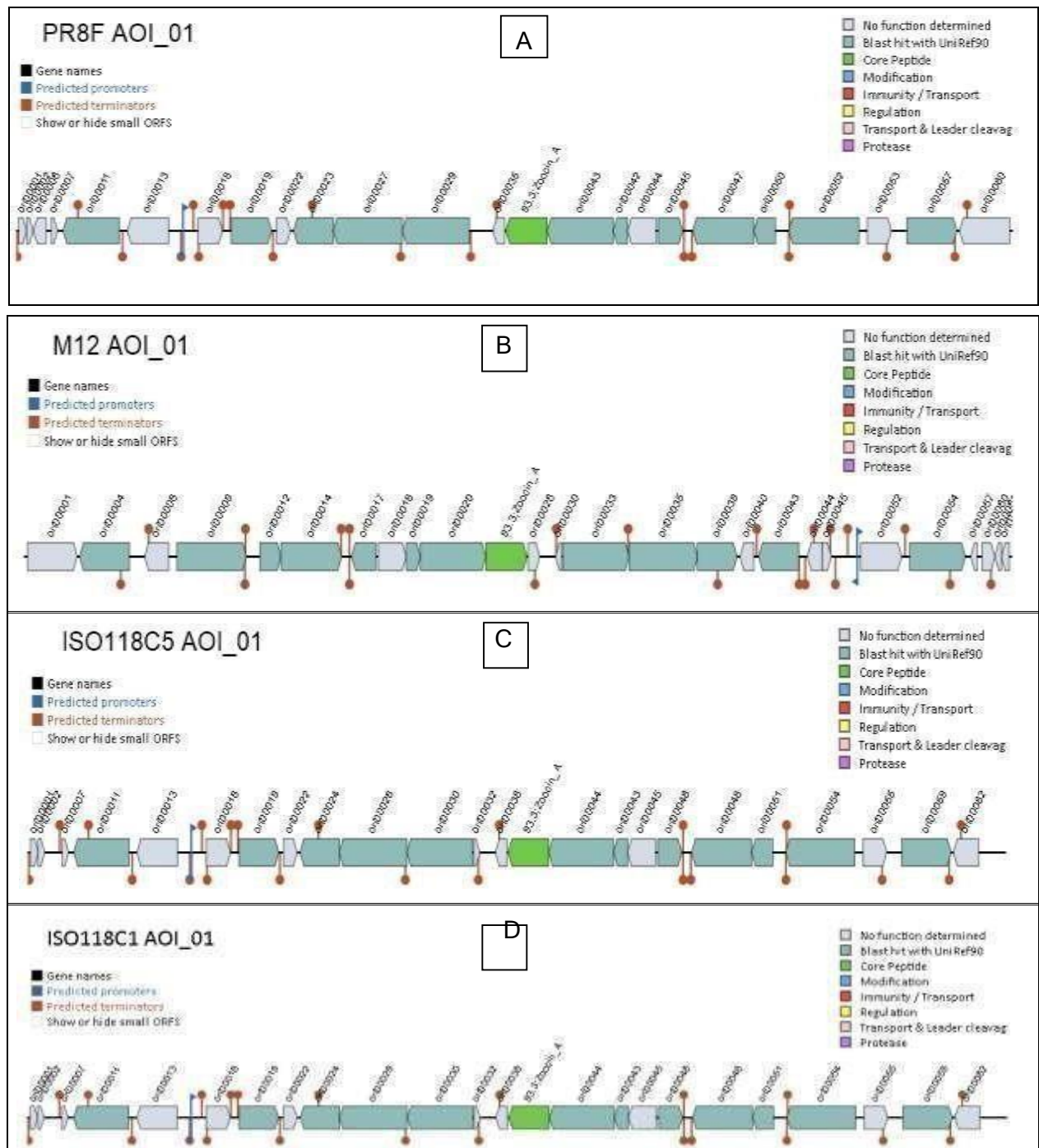
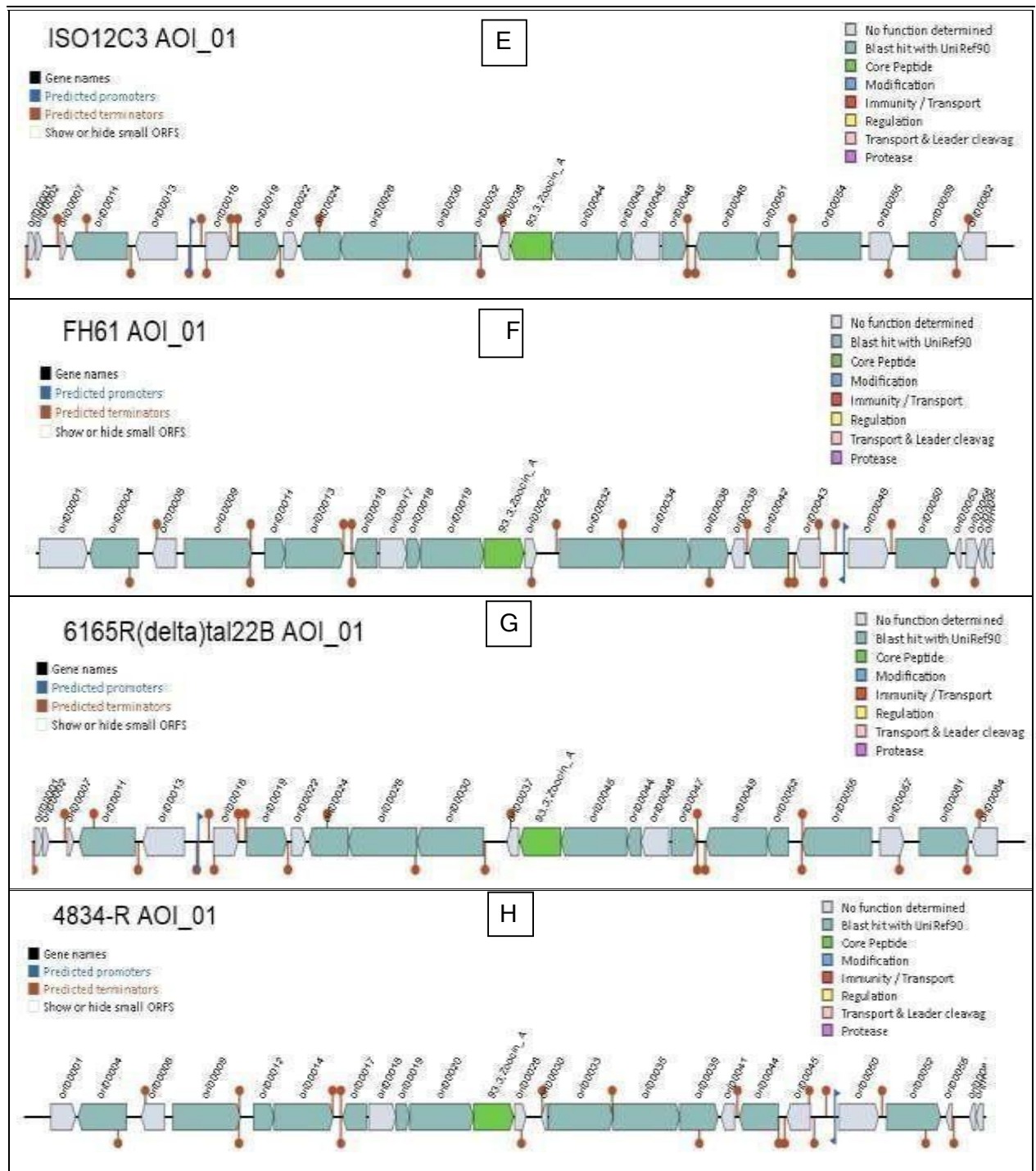


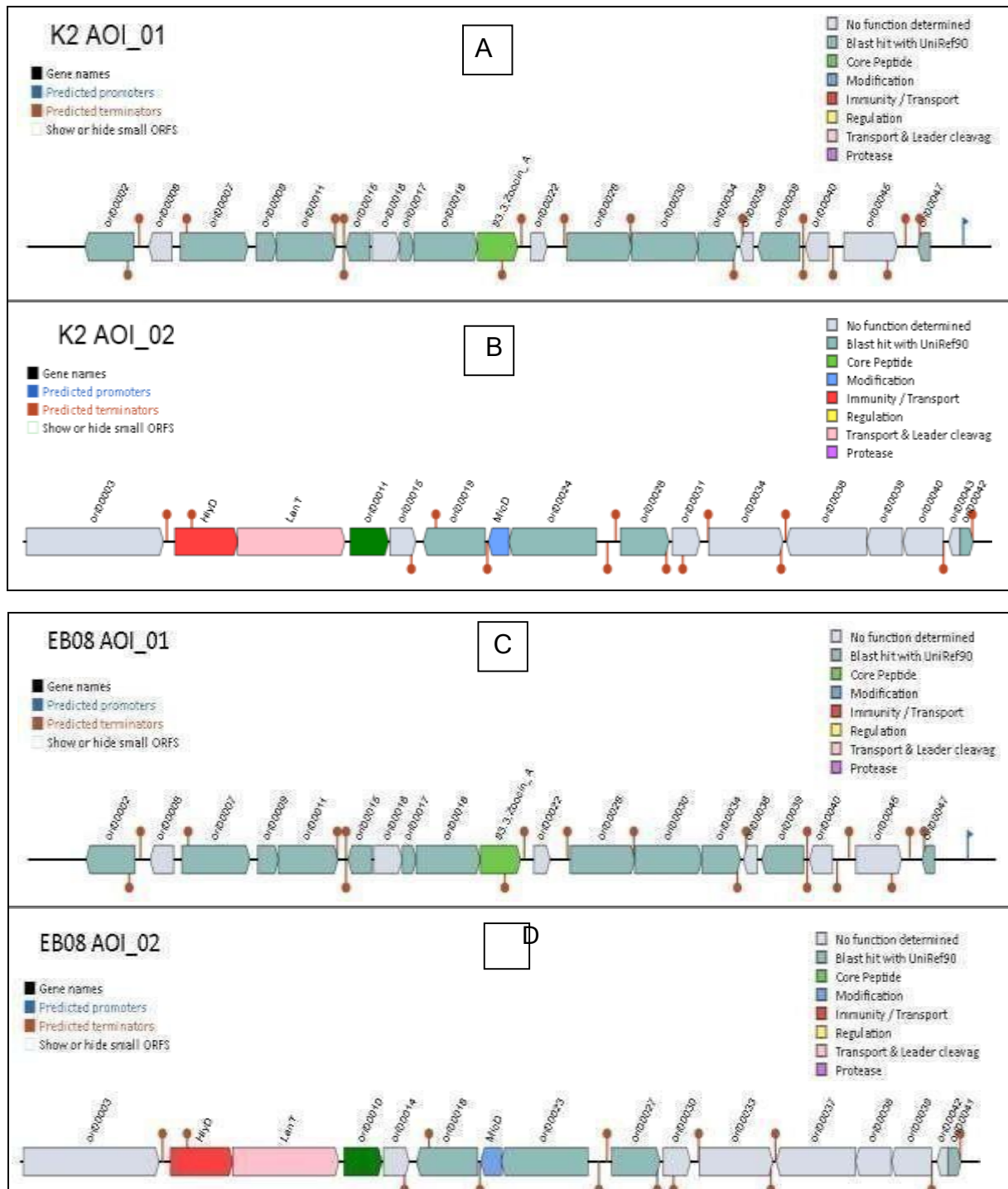
Figura 2 - AOIs relacionadas com a produção de *zooA* das cepas PR8F (A), M12 (B), ISO118C5 (C), ISO118C1 (D), ISO12C3 (E), FH61 (F), 6165R(delta)tal22B (G) e4834-R (H) de *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*.

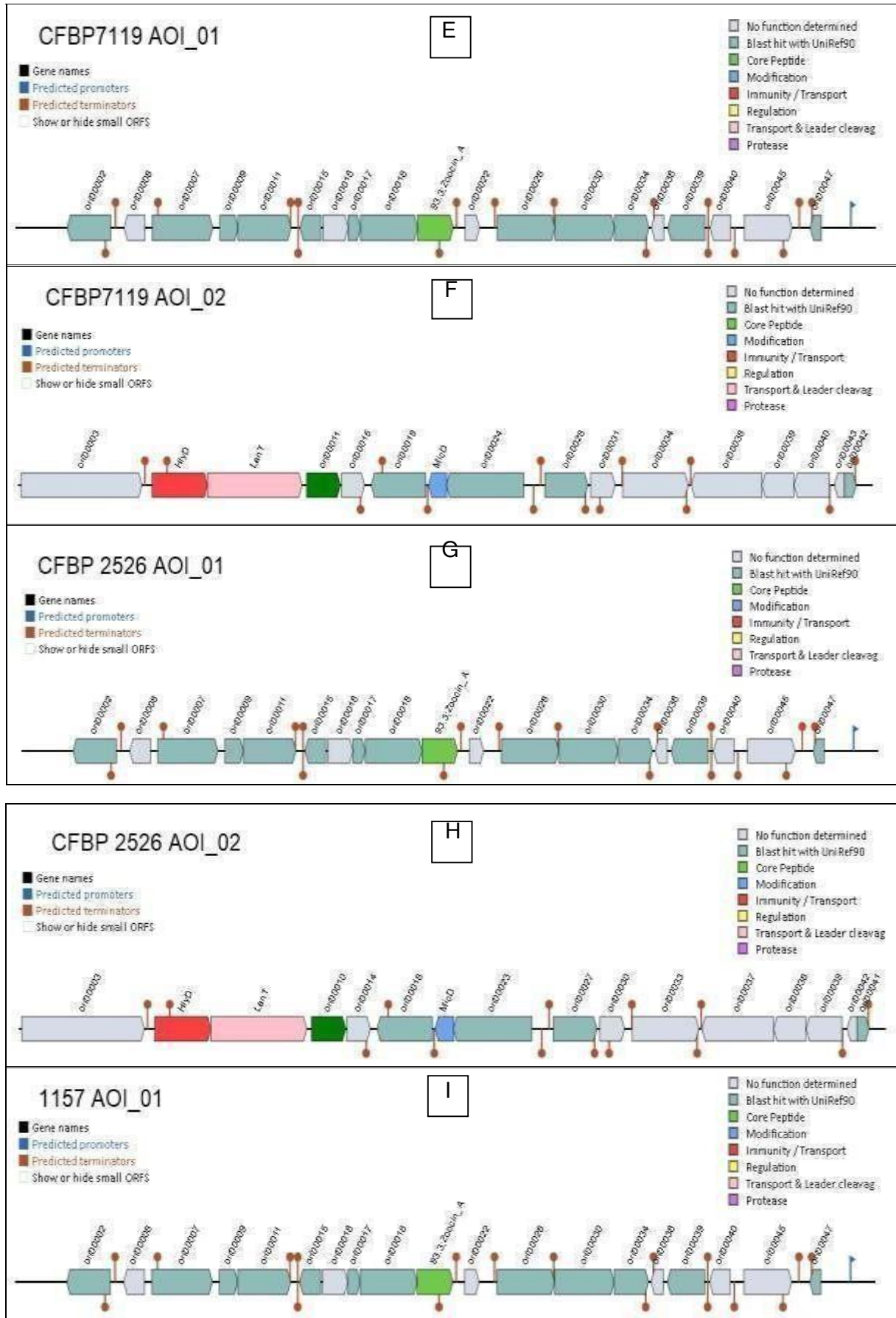


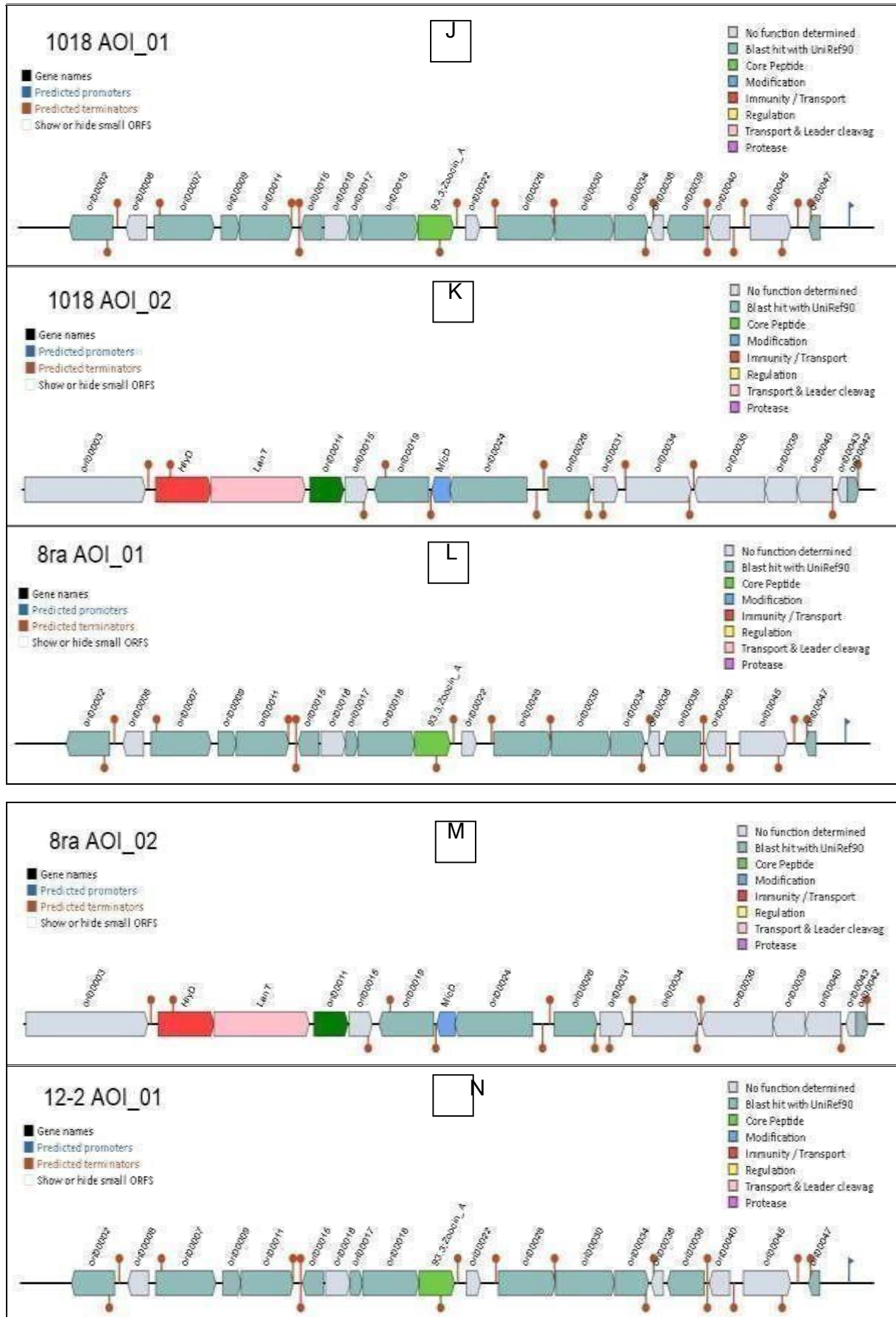


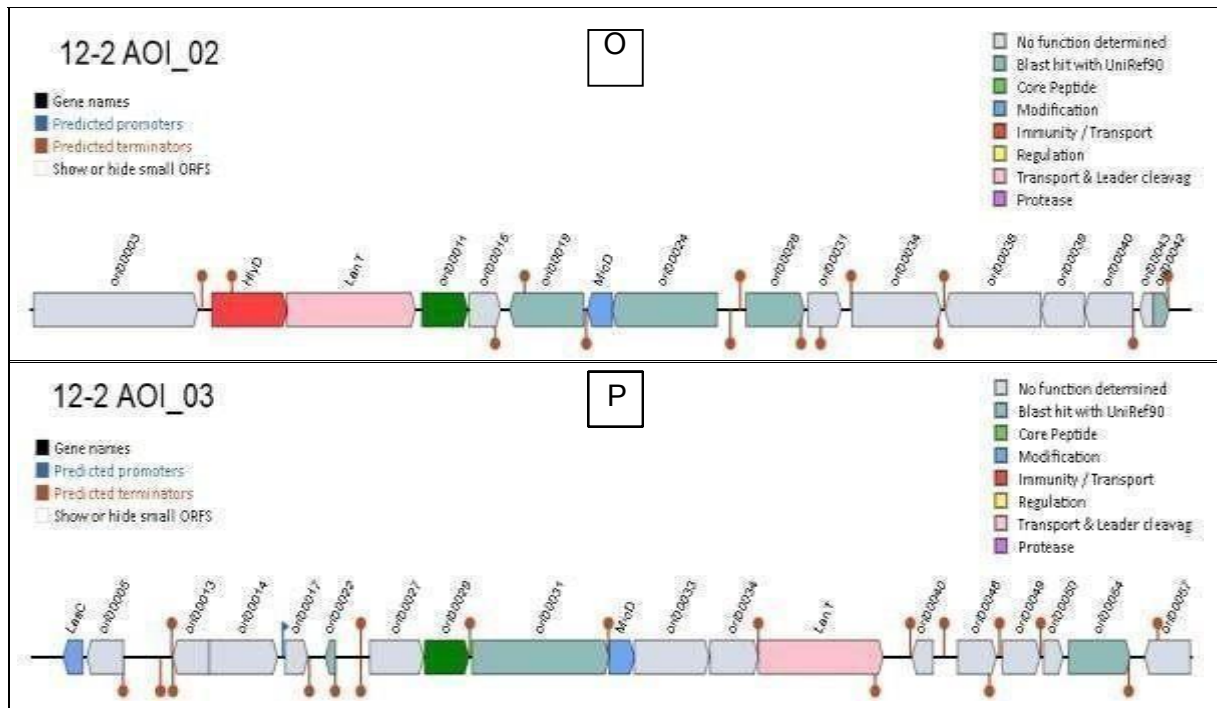
Fonte: Autora (2022).

Figura 3 - AOIs relacionadas com a produção de *zooA* (sufixo AOI_01) e microcina (sufixo AOI_02) das cepas K2 (A e B), EB08 (C e D), CFBP7119 (E e F), CFBP 2526 (G e H), 1018 (K e L) e 8ra (M e N) de *Xanthomonas citri* pv. *glycines*. A cepa 1557 (I) possui genes referentes apenas a produção de *zooA*, ao passo que a cepa 12-2 (O e P) apresenta mais de um gene correspondente a produção de microcina (sufixos AOI_02 e AOI_03).









Fonte: Autora (2022).

6.2. CARACTERIZAÇÃO DE *zooA*

Zoocina A é uma endopeptidase D-alanil-L-alanina e hidrolase de peptidoglicano produzida por *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* 4881 que objetiva outros estreptococos patogênicos, além de *Streptococcus equi*, mas, principalmente, *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus mutans*, agentes etiológicos da infecção de garganta e cárie dentária, respectivamente. Essa bacteriocina apresenta dois domínios funcionais, são eles: o domínio catalítico N-terminal (CAT), que apresenta semelhança com várias outras endopeptidases bacteriolíticas, como alisostafina, uma enzima estafilolítica, por exemplo, e o domínio de reconhecimento de alvo C-terminal (TRD), responsável por facilitar a ligação da enzima ao peptidoglicano, esse, por sua vez, tem pouca semelhança com qualquer outro domínio conservado já caracterizado (AKESSON *et. al.*, 2007; GARGIS, Amy S. *et. al.*, 2009; GARGIS, Shaw R. *et. al.*, 2009).

A utilização de *zooA* numa placa artificial reduziu, significante e seletivamente, o número de *S. mutans*, o que promoveu a ideia de que zoocina A pode ser útil como agente anticariogênico. Muito do potencial para utilização de determinada proteína como enzimática, ocorre devido sua habilidade em

atingir uma gama limitada de bactérias que são intimamente relacionadas. A ligação de zoocina A por estreptococos é decisiva para sua suscetibilidade, mas isso pode ser influenciado pela composição do peptidoglicano (AKESSON *et. al.*, 2007; GARGIS, Amy S. *et. al.*, 2009; GARGIS, Shaw R. *et. al.*, 2009).

A utilização de *zooA* numa placa artificial reduziu, significante e seletivamente, o número de *S. mutans*, o que promoveu a ideia de que zoocina A pode ser útil como agente anticariogênico. Muito do potencial para utilização de determinada proteína como enzimática, ocorre devido sua habilidade em atingir uma gama limitada de bactérias que são intimamente relacionadas. A ligação de zoocina A por estreptococos é decisiva para sua suscetibilidade, mas isso pode ser influenciado pela composição do peptidoglicano (AKESSON *et. al.*, 2007; GARGIS, Amy S. *et. al.*, 2009; GARGIS, Shaw R. *et. al.*, 2009).

A aplicação do teste de antagonismo diferido demonstrou que a zoocina A elimina uma gama limitada de espécies de estreptococos, tendo as espécies intimamente relacionadas exibindo algumas vezes suscetibilidades bem diferentes. No geral, a sensibilidade das cepas à zoocina A, de acordo com o que foi estabelecido através do ensaio MIC à base de caldo, correlacionou-se com aquelas determinadas por antagonismo diferido. Foi descrito que as proteases bacterianas são capazes de proteger as células da ação de peptídeos antimicrobianos e a zoocina A é conhecida por apresentar vulnerabilidade a várias proteases e ser resistente a outras. Sendo assim, é provável que a resistência das cepas lactocócicas provenha da sua capacidade de produzir uma protease à qual a zoocina A é sensível, enquanto o *S. mutans* produz proteases contra às quais a zoocina A é resistente (AKESSON *et. al.*, 2007; GARGIS, Amy S. *et. al.*, 2009; GARGIS, Shaw R. *et. al.*, 2009).

A sensibilidade das cepas à *zooA* correlacionada com a quantidade de zoocina A ligada por essas células, sugere que a afixação da enzima pela superfície da célula seja essencial para a suscetibilidade. *S. mutans* é intimamente relacionado filogeneticamente a *Streptococcus rattus*, porém, ao passo que o primeiro ligou uma grande quantidade de zoocina A, o último ligou muito pouca, sugerindo que, com relação às cepas de *S. rattus*, algum acessório polímero é capaz de bloquear a ligação, um possível candidato é o ácido tricloroacético (TA) ligado à parede celular. O tratamento de células com

TA é usado a fim de remover polímeros da parede celular que estejam associados a peptidoglicanos de bactérias gram-positivas, e a zoocina Ase ligou a substratos de peptidoglicanos de *S. rattus* previamente tratados com ácido tricloroacético (AKESSON *et. al.*, 2007; GARGIS, Amy S. *et. al.*, 2009; GARGIS, ShawR. *et. al.*, 2009).

Streptococcus gordonii, intimamente relacionado a *Streptococcus oralis* de forma filogenética, se liga avidamente a zoocina A, já o segundo não. A purificação do peptidoglicano presente em *S. oralis* 34 não ligante produziu um produto capaz dese ligar à zoocina A, indicando que a colina também pode ser capaz de bloquear a ligação da bacteriocina. Parece viável que o peptidoglicano seja o principal sítio de ligação de *zooA* e que tanto o carboidrato específico de *S. rattus* quanto o polissacarídeo contendo fosfocolina de *S. oralis* são responsáveis pelo bloqueio da ligação da zoocina A às células dessas espécies bacterianas. De qualquer modo, é improvável que a capacidade de se ligar ou não à zoocina A seja o único fator capaz de determinar a resistência celular. Houveram relatos de que as cepas de estreptococos suscetíveis à *zooA* tornaram-se resistentes quando expressaram o fator de imunidade à zoocina A (*zif*). *Zif* se encontra numa posição adjacente a *zooA* no cromossomo e é transcrito de forma divergente, além de possuir grande semelhança com *MurM* e *MurN*, bem como com a proteína de resistência à lisostafina e outras proteínas de imunidade semelhantes a FemABX, as quais, segundo estudos anteriores, são responsáveis pelo fornecimento de hidrolases de ponte cruzada de peptidoglicano por meio da inserção de um aminoácido diferente daqueles especificados pelas proteínas normais semelhantes a FemABX, enquanto *zif* não (AKESSON *et. al.*, 2007; GARGIS, Amy S. *et. al.*, 2009; GARGIS, Shaw R. *et. al.*, 2009).

A resistência específica de *zif* à *zooA* é uma característica inerente da camada de peptidoglicano. Sendo assim, ele pode modificá-la de tal forma que culmine nessa resistência. Foi constatado que *zif* introduz uma L-alanina adicional nas pontes cruzadas de peptidoglicano, inibindo a ligação de TRD e a hidrólise da ponte cruzada promovida por CAT. Dois tipos de modificações nas pontes cruzadas de peptidoglicano interferem na atividade das endopeptidases que hidrolisam as pontes cruzadas: através da adição de um

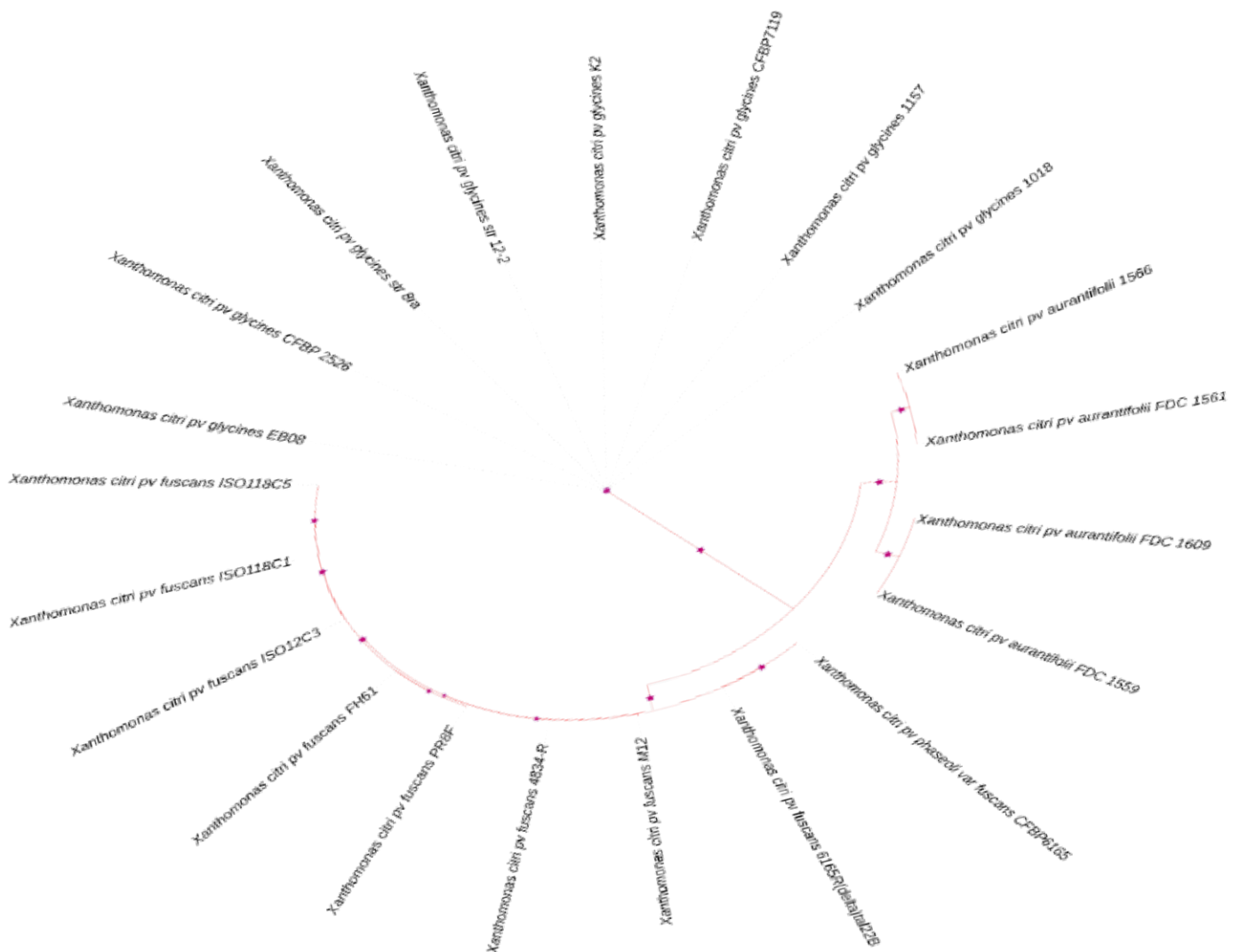
aminoácido diferente do que está normalmente presente nas pontes cruzadas, ação promovida por proteínas de imunidade semelhantes a FemABX, como descrito anteriormente, e o encurtamento das pontes cruzadas devido a mutações nas peptidil transferases não-ribossômicas envolvidas na síntese das pontes cruzadas de peptidoglicano. Diante do exposto, é seguro afirmar que *zif* é uma proteína de imunidade semelhante a FemABX, cuja função é inserir uma L-alanina adicional nas pontes cruzadas de peptidoglicano, presentes em *S. equi* subsp. *zooepidemicus*, resultando na diminuição da suscetibilidade à zoocinaA, além de fornecer proteção ao aumentar o comprimento da maioria das pontes cruzadas de duas para três L-alaninas. (AKESSON *et. al.*, 2007; GARGIS, Amy S. *et.al.*, 2009; GARGIS, Shaw R. *et. al.*, 2009).

Apesar do vasto banco de dados que compõe o Bactibase, não foi possível caracterizar a bacteriocina microcina, devido a impossibilidade de reconhecer, nas sequências genômicas de *X. citri* e seus patovares, através dos meios requeridos para o desenvolvimento deste estudo, quais genes específicos são referentes a sua produção.

6.3. OBTENÇÃO DA ÁRVORE FILOGENÉTICA

A árvore filogenética foi gerada, utilizando a metodologia do teste Neighbor- Joining, a partir do alinhamento múltiplo dos 20 genomas bacterianos completos a fim de identificar alguma ancestralidade em comum entre as cepas (Figura 4).

Figura 4 - Árvore filogenética construída a partir do alinhamento múltiplo dos genomas completos das cepas de *X. citri* pv. *aurantifolii*, *X. citri* pv. *fuscans* e *X. citri* pv. *glycines*. Utilizando a metodologia teste Neighbor-Joining.



Fonte: Autora (2022).

7. DISCUSSÃO

Os resultados das análises feitas no BAGEL4 demonstraram que há semelhança genética entre as cepas bacterianas, devido ao fato de todas possuírem genes conhecidamente associados a produção de zooA, *X. citri* pv. *aurantifolii*, *X. citri* pv. *fuscans* e 1157 *X. citri* pv. *glycines*, e outras capazes de também produzir microcina, CBFP7119, CFBP2526, 8ra, EB08, K2, 1018 e 12-2 *X. citri* pv. *glycines*.

A árvore filogenética mostrou a existência de uma ancestralidade em comumente as cepas de *X. citri* pv. *aurantifolii* e *X. citri* pv. *fuscans*. No

entando, *X. citri* pv. *glycines*, as únicas capazes de produzir tanto zoocina A quanto microcina, não parecem ter origem de um mesmo ancestral comum entre si ou entre as demais cepas, mesmo 1157 *X. citri* pv. *glycines*, que é capaz de produzir apenas zooA.

Todas as cepas de *X. citri* pv. *fuscans* parecem ter divergido de um único ancestral. O mesmo acontece com as cepas de *X. citri* pv. *aurantifolii*, mas este, por as vez, deu origem a outros dois clados menores, um composto pelas cepas 1566 e 1561 de *X. citri* pv. *aurantifolii*, e o outro por 1609 e 1559 de *X. citri* pv. *aurantifolii*.

8. CONCLUSÃO

Nos bancos de dados de domínio público ainda há diversas bacteriocinas com características funcionais, estruturais e filogenéticas incertas e/ou desconhecidas.

Dessa forma, a realização deste trabalho evidenciou que, ao se tratar da espécie *Xanthomonas citri* e seus patovares, este assunto ainda é pouco abordado ou conhecido pela comunidade científica. O que torna este estudo um dos primeiros a discutir tal tema e a evidenciar o quão pouco se sabe no que diz respeito a esses aspectos das bacteriocinas relacionadas a patovares de *X. citri*.

À vista do que foi apresentado, fica evidente que as espécies bacterianas aqui utilizadas possuem algumas características genômicas e filogenéticas semelhantes, fatos esses que foram assegurados pela presença de genes referentes à produção de zoocina A, nas cepas de *X. citri* pv. *aurantifolii*, *X. citri* pv. *fuscans* e 1157 *X. citri* pv. *glycines*, e também de microcina, em 8ra, 12-2, 1018, CFBP 2526, CFBP7119, EB08 e K2 de *X. citri* pv. *glycines*. Bem como pela estrutura da árvore filogenética construída, que reforça a ideia de semelhança entre as cepas de *X. citri* pv. *aurantifolii* e as de *X. citri* pv. *fuscans*, ao passo que distancia as de *X. citri* pv. *glycines*.

Não podemos concluir que os tais genes conhecidamente associados à produção de microcina podem ter alguma relação com o

desconhecimento acerca de uma possível ancestralidade em comum entre as cepas de *X. citri* pv. *glycines*, mesmo que as mesmas também apresentem os que produzem *zooA*.

Este trabalho corrobora com a ideia de que novos estudos são necessários para a ampla concepção de tais substâncias, principalmente com relação a microcina, que não pode ser caracterizada pelos métodos utilizados para o desenvolvimento deste estudo, indicando que esta pode ser uma bacteriocina ainda precariamente analisada. Bem como elas podem ser utilizadas no combate e prevenção aos danos causados por diversas bactérias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABENDROTH, Ulrike; SCHMIDTKE, Cornelius; BONAS, Ulla. **Small non-coding RNAs in plant-pathogenic *Xanthomonas* spp.** Disponível em:<www.doi.org/10.4161/rna.28240>. Acesso em: 05 ago. 2021.
- AKESSON, Maria; DUFOUR, Muriel; SLOAN, Gary L.; SIMMONDS, Robin S. **Targeting of streptococci by zoocin A.** FEMS Microbiology Letters, v. 270, n. 1, p. 155-161, maio 2007.
- ALVAREZ-MARTINEZ, Cristina E. *et. al.* **Secrete or perish: The role of secretion systems in *Xanthomonas* biology.** Disponível em:<www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7777525/>. Acesso em: 05 ago. 2021.
- BANSAL, Kanika *et. al.* **Ecological and Evolutionary Insights into *Xanthomonas citri* Pathovar Diversity.** Disponível em:<www.journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.02993-16>. Acesso em: 27 ago. 2021.
- BONINI, Marcel *et. al.* **Characterization of *Xanthomonas* spp. strains by bacteriocins.** Summa Phytopathologica, v. 33, n. 1, p.24-29, mar. 2007.
- BOUCHER, Yan *et al.* **Lateral Gene Transfer and the Origins of Prokaryotic Groups.** Annual Review of Genetics, v. 37, n. 1, p. 283-328, dez. 2003.
- BRUNINGS, Asha M.; GABRIEL, Dean W. ***Xanthomonas citri*: breaking the surface.** Molecular Plant Pathology, v. 4, n. 3, p. 141-157, maio 2003.
- BÜTTNER, Daniela; BONAS, Ulla. **Regulation and secretion of *Xanthomonas* virulence factors.** Disponível em:<www.academic.oup.com/femsre/article/34/2/107/471816>. Acesso em: 31 maio 2021.
- ETAYASH, Hashem *et. al.* **Peptide Bacteriocins – Structure Activity Relationships.** Disponível em:<www.digitalcommons.chapman.edu/pharmacy_articles>. Acesso em: 02 jun. 2021.
- GARGIS, Amy S. *et. al.* **Prevalence and acquisition of the genes for zoocin A and zoocin A resistance in *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*.** Disponível em:<www.pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19357799/>. Acesso em: 02 jun. 2021.
- GARGIS, Shaw R. *et. al.* **Zif, the zoocin A immunity factor, is a FemABX-like immunity protein with a novel mode of action.** Disponível em:<www.pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19684178/>. Acesso em: 02 jun. 2021.
- HAMMAMI, Riadh *et. al.* **BACTIBASE second release: a database and tool platform for bacteriocin characterization.** Disponível em:<www.bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-10-22> Acesso em: 17 maio 2022.

HAMMAMI, Riadh *et. al.* **BACTIBASE: a new web-accessible database for bacteriocin characterization.** Disponível em: www.biomedcentral.com/1471-2180/7/89>. Acesso em: 19 jul. 2022.

HOLTSMARK, Ingrid *et. al.* **Bacteriocins from plant pathogenic bacteria.** Disponível em: <www.academic.oup.com/femsle/article/280/1/1/515599>. Acesso em: 01 jun. 2021.

JALAN, Neha *et. al.* **Comparative genomic and transcriptome analyses of pathotypes of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* provide insights into mechanisms of bacterial virulence and host range.** Disponível em: <www.biomedcentral.com/1471-2164/14/551>. Acesso em: 27 ago. 2021.

KUMAR, Sudhir *et. al.* **MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms.** Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5967553/>. Acesso em: 01 jun. 2022.

MARTINEZ-ALVAREZ, Cristina E. *et. al.* **Secrete or perish: The role of secretion systems in *Xanthomonas* biology.** Disponível em: <www.pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33425257/>. Acesso em: 05 ago. 2021.

MARUTANI-HERT, Mizuri *et. al.* **Characterization of three novel genetic loci encoding bacteriocins associated with *Xanthomonas perforans*.** Disponível em: <www.doi.org/10.1371/journal.pone.0233301>. Acesso em: 31 maio 2021.

MONTEIRO-VITORELLO, Claudia B. *et. al.* ***Xylella* and *Xanthomonas* Mobil'omics. OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v. 9, n. 2, p. 146-159, jun. 2005.

NICOLAS, Guillaume G. **Detection of putative new mutacins by bioinformatic analysis using available web tools.** BioData Mining. 2011;4(1):22.

PANTANÉ, José S. L. *et. al.* **Origin and diversification of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* pathotypes revealed by inclusive phylogenomic, dating, and biogeographic analyses.** Disponível em: <www.doi.org/10.1186/s12864-019-6007-4>. Acesso em: 27 ago. 2021.

PEDRAZA, Pérez *et. al.* **Análisis bioinformático de bacteriocinas en el género *Burkholderia* y desarrollo de una herramienta de análisis masivo de datos de secuencias.** Disponível em: <hdl.handle.net/20.500.12371/7763>. Acesso em: 21 jul. 2022.

SINGH, Mangal; SAREEN, Dipti. **Novel LanT associated lantibiotic clusters identified by genomedatabase mining.** PLoS One. 2014;9(3):e91352.

VAN HEEL, Auke J. *et. al.* **BAGEL4: a user-friendly web server to thoroughly mine RiPPs and bacteriocins.** Disponível em: <www.academic.oup.com/nar/article/46/W1/W278/5000017>. Acesso em: 17 maio 2022.

VIANA, Gerardo. **Técnicas para construção de árvores filogenéticas**. Disponível em: <www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/18678>. Acesso em: 01 jun. 2022.

WANG, Hao; FEWER David P.; SIVONEN, Kaarina. **Genome mining demonstrates the widespread occurrence of gene clusters encoding bacteriocins in cyanobacteria**. PloS One. 2011;6(7):e22384.