

A Ciência e os caminhos do desenvolvimento

Os genes *acrA* e *acrB* são essenciais para a resistência a estresses abióticos em *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal-5

Renato Carvalho Rocha Machado, Júlia Rosa Moreira, Luciano de Souza Vespoli, Gonçalo Apolinário de Souza Filho

*Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal-5 é uma bactéria endofítica promotora do crescimento vegetal e que apresenta elevada tolerância aos estresses abióticos. Nessa bactéria estão presentes alguns transportadores de membrana que atuam na remoção de substâncias tóxicas do citoplasma e auxiliam na sua sobrevivência. Entre os transportadores, a bomba de efluxo AcrAB-OprM ainda carece de informações acerca dos mecanismos moleculares envolvidos na resposta aos estresses abióticos. Os objetivos desta pesquisa foram avaliar o papel dos genes *acrA* e *acrB* em *G. diazotrophicus* Pal-5 na tolerância a substâncias tóxicas e temperatura. A estirpe selvagem Pal-5 e os mutantes  $\Delta$ *acrA* e  $\Delta$ *acrB* foram crescidas em meio líquido LGI-m (250 rpm e 30 °C) até a  $DO_{600nm}$  igual a 1,0 ( $1 \times 10^8$  UFC/mL<sup>-1</sup>). Em seguida, gotas (10 µL) de cada cultura bacteriana, nas diluições de 10<sup>-1</sup> e 10<sup>-2</sup>, foram carimbadas em placas de Petri contendo LGI-m sólido (controle) ou suplementado com cádmio (0,03 mM), cobalto (3 mM), zinco (1,5 mM), NaCl (97 mM), PEG (100 mM) ou sacarose (600 mM). As placas foram incubadas em estufa a 30 °C durante 72 horas. Além disso, cada estirpe também foi inoculada em meio LGI-m sólido e incubada em estufa a 25 °C, 30 °C e 35 °C durante 72 horas. Os resultados mostraram que  $\Delta$ *acrA* e  $\Delta$ *acrB* apresentaram sensibilidade semelhante ao PEG e a sacarose. O mutante  $\Delta$ *acrA* demonstrou maior sensibilidade que  $\Delta$ *acrB* a cádmio, cobalto, zinco e NaCl. Tanto  $\Delta$ *acrA* e  $\Delta$ *acrB* não foram sensíveis à temperatura de 25 °C e 30 °C, mas sim a temperatura de 35 °C. Os genes *acrA* e *acrB* participam da tolerância de *G. diazotrophicus* Pal-5 a certas substâncias tóxicas e pequenas variações de temperatura. A maior relevância da mutação no gene *acrA* para a resistência aos diversos estresses sugere que a proteína codificada possui papel na resistência bacteriana mesmo na ausência dos demais componentes do sistema de transporte AcrAB-OprM. Adicionalmente, a sensibilidade de  $\Delta$ *acrA* e  $\Delta$ *acrB* à 35 °C sugere que a bomba AcrAB-OprM participa do efluxo de compostos tóxicos produzidos pela bactéria sob alta temperatura.

Palavras-chave: Bomba de efluxo AcrAB-OprM, Substâncias tóxicas, Variações de temperatura.

Instituição de fomento: FAPERJ, CAPES, CNPq, FINEP e UENF.