

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 03/02/2017.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MICROBIOLOGIA APLICADA**

**SELEÇÃO DE SÍTIO DE DIVISÃO EM XANTHOMONAS CITRI SUBSP.
CITRI: CARACTERIZAÇÃO DE MINC.**

GIORDANNI CABRAL DANTAS

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas

Novembro - 2015

574.88 Dantas, Giordanni Cabral
D192s Seleção de sítio de divisão em *Xanthomonas citri* subsp.
citri : caracterização de minC / Giordanni Cabral Dantas. -
Rio Claro, 2016
99 f. : il., figs., gráfs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Henrique Ferreira

1. Biologia molecular. 2. Expressão gênica. 3. Septo. 4.
Divisão celular. 5. GFP. 6. minC. I. Título.

GIORDANNI CABRAL DANTAS

**SELEÇÃO DE SÍTIO DE DIVISÃO EM *XANTHOMONAS CITRI*
SUBSP. *CITRI*: CARACTERIZAÇÃO DE *MINC*.**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas

Rio Claro – SP

2016

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: SELEÇÃO DE SÍTIO DE DIVISÃO EM XANTHOMONAS CITRI SUBSP. CITRI:
CARACTERIZAÇÃO DE MINC..

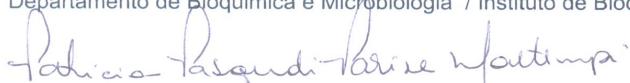
AUTOR: GIORDANNI CABRAL DANTAS

ORIENTADOR: HENRIQUE FERREIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(MICROBIOLOGIA APLICADA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. HENRIQUE FERREIRA
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / Instituto de Biociências de Rio Claro



Profa. Dra. PATRICIA PASQUALI PARISE MALTEMPI
Departamento de Biologia / Instituto de Biociências de Rio Claro



Prof. Dr. MAURICIO BACCI JUNIOR
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / Instituto de Biociências de Rio Claro



Prof. Dr. JOSÉ BELASQUE JÚNIOR
Universidade de São Paulo, Câmpus Luiz de Queiroz



Prof. Dr. HELVÉCIO DELLA COLETTA FILHO
Instituto Agrônômico de Campinas

Rio Claro. 03 de fevereiro de 2016

Agradecimentos

Primeiramente quero agradecer aos meu pais Taunaí e Wanda, pois sem eles não estaria aqui realizando esse trabalho. Agradecê-los por me compreenderem em não poder participar das ultimas festas natalinas e por não estar presente em seus aniversários e num dos momentos mais difíceis da minha vida, quando descobrimos que meu pai estava com câncer.

Quero agradecer imensamente ao meu orientador Henrique, pelo grande aprendizado que foi esses últimos 3 anos que passamos juntos, pela IMENSA paciência que teve comigo e por ter me aceitado como orientando que caiu de para-quedas no laboratório dele, que mais uma vez estava de mudança. Mas o que eu mais agradeço-lhe foram por todos os puxões de orelhas que levei (alguns extremamente bem colocados).

Aos meus colegas de laboratório Daniel e Fernanda (ICs que nunca vou esquecer), Abigail (Biga linda do meu S2), Lúcia pelo auxílio com as queridas plantinhas da estufa e a Luana por fazerem parte do meu dia a dia, pela conversas e pelos cafés na copa em momentos vagos. E um grande agradecimento mais que especial a Lilian, que juntos começamos praticamente do 0 pois tivemos que montar o laboratório junto com o Henrique, por ter me aturado e me dado conselhos maravilhosos que levarei para o resto da minha vida.

Ao Vlamir, um grande amigo que me deu a mão. Você, meu amigo, me ajudou quando eu não conhecia ninguém aqui em RC e que sempre vai morar aqui no S2.

Agradecer ao Paulo Ávila por todas as conversas científicas, pelas discussões de metodologias, pelas viagens a Piracicaba para irmos ao shopping só pra bater perna e conversar besteiras. Você, Paulo, é mais um que mora aqui no S2.

Adriano, obrigado pelos socorros que me deu sobre química, pelos cafés já prontos, pelas conversas e pelo natal que passei com sua família.

Agradeço bastante aos colegas de departamento Rafinha, Paola, Mariana, Viviane, Mirella, Juliane, Edmara, Vinicius, Luciana, Susan, Dayane, Marina Vitti e Marina Turini por terem me proporcionado momentos felizes e ótimas conversas nessa minha estadia.

Quero agradecer imensamente ao Igor e Lorena por fazerem parte da minha vida, por me alegrarem, por me chamar pra tomar café ou simplesmente para ir bater perna só por que estão entediados.

Quero agradecer ao Gustavo Keine por ter entrado na minha vida bagunçar tudo e ao mesmo tempo deixar tudo organizado, por me ensinar a gostar de gatos pois sem você eu não teria o ser mais precioso da minha vida, a Mirri. E agradecer por estar comigo nesses 3 anos de relacionamento que temos estado juntos.

E por fim agradecer a UNESP-RC pela estrutura de apoio que me serviu para realização desse trabalho e sonho, a CAPES e a FAPESP (processo: 2013/19806-5) pelo auxílio financeiro que me foi dado.

O meu muito obrigado a todos.

Sumário

	Página
Capítulo 1	
1. Introdução	8
1.1 A citricultura e o cancro cítrico	8
1.2 <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>	11
1.3 Divisão celular bacteriana	12
1.4 Sistema MinCDE	16
1.5 Oscilação do sistema Min	18
Capítulo 2	
2. Hipótese a ser testada	21
3. Objetivos	21
3.1 Objetivos específicos	21
4. Significância e relevância da proposta	21
5. Material e métodos	22
5.1 Linhagens bacterianas e cultivo	22
5.2 Meio mínimo XAM1 para Xac	22
5.2.1 Preparo das soluções a serem utilizadas	22
5.2.2 Composição do XAM1 pH=5,4	23
5.3 Biologia Molecular	23
5.4 Vetores de expressão	23
5.5 Knockout gênico	27
5.6 Amplificação para clonagem e diagnóstico	31
5.7 SDS-PAGE e Western Blotting	32
5.8 Microscopia	32
5.9 Teste de patogenicidade	33
Capítulo 3	
A Protein Expression System for Tandem Affinity Purification in <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>	
Capítulo 4	
6. Resultados e discussão	37
6.1 Atividade de minCDE em Xac	37
6.2 Deleção de <i>minC</i> em Xac promove erros de divisão celular	40
6.3 Mutantes de Xac retêm habilidade de colonizar hospedeiro citros	46
6.4 O gene <i>minC</i> é requerido para uma septação normal em Xac	48
6.5 XacΔminC pode ser complementado com GFP-MinC	51
6.6 GFP-MinC apresenta localização dinâmica em Xac	54
7. Conclusão	58
8. Referências	59

RESUMO

A citricultura é uma das atividades mais importantes do setor agrícola brasileiro. A incidência de doenças como o cancro cítrico afeta sobremaneira a produtividade dos pomares. Seu agente etiológico, a bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xac) é capaz de infectar todas as espécies cultivadas, não havendo cura para plantas afetadas. O controle eficaz para o cancro cítrico constitui a eliminação de plantas infectadas em programas rigorosos para conter a propagação da bactéria. No entanto, o relaxamento recente nas políticas de combate ao cancro cítrico em áreas como o estado de São Paulo – Brasil está contribuindo para uma maior incidência da doença. Neste aspecto, o conhecimento da biologia deste patógeno de plantas é de grande importância para o desenvolvimento de novas estratégias de controle da doença. No presente trabalho, estudamos a função da ORF XAC1226, que apresenta homologia com o gene *minC* de *E. coli*. Nesta última, *minC* codifica para uma proteína inibidora da polimerização de FtsZ e com função de seleção de sítio de montagem do anel de divisão celular. MinC^{Xac} demonstrou ter uma função semelhante que seus homólogos em *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*. Para fazer a caracterização funcional de *minC* de Xac fizemos sua deleção, que resultou nos fenótipos de filamentação e minicélula, que são encontrados em *E. coli* e *B. subtilis*. Notamos que o mutante XacΔ*minC* apresenta ramificações que podem estar relacionadas a um posicionamento errôneo do septo. Posteriormente investigamos o padrão de localização sub-celular de GFP-MinC em Xac e percebemos um padrão de acúmulo da proteína num dos polos e um tempo depois esse acúmulo oscilava para o polo oposto demonstrando o mesmo padrão de oscilação como é observado em *E. coli*. Em seguida verificamos se XacΔ*minC* perdia a capacidade de infectar os hospedeiros e inoculamos em folhas de laranja pera. Constatamos que XacΔ*minC* era capaz de induzir o cancro nas folhas. Concluímos que Xac utiliza o

sistema minCDE como controlador de posicionamento de septo, que a deleção não altera a virulência e que MinC apresenta o mesmo padrão de oscilação como em *E.coli*.

Palavras chave: GFP-MinC, divisão celular, septo, FtsZ, *minC*.

ABSTRACT

Citriculture is one of the most important activities of Brazilian agricultural sector. The incidence of diseases such as citrus canker affects drastically the orchards productivity. Its etiologic agent, the bacterium *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xac) is able to infect all citric cultivars, without any treatment to the diseased plants. Effective control for citrus canker is the elimination of infected plants in rigorous programs to contain the spread of the bacteria. However, the recent relaxation in the policies against the fight of citrus canker in areas such as the state of São Paulo - Brazil is contributing to the further spread of the disease. The knowledge of the biology of this pathogen and also the mechanisms involved in plant-pathogen interactions are great worth in supporting the development of new strategies to deal with this disease. In this aspect, the knowledge of the biology of the plant pathogen is of great importance for the development of new strategies of control of the disease. In this paper, we study the function of ORF XAC1226, which has homology to the *minC* gene of *E. coli*. *minC* encodes an inhibitor protein of FtsZ polymerization and the cell division ring mounting site selection function. MinC^{xac} shown to have a similar function as their counterparts in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. To make the functional characterization of Xac's MinC we made a deletion which resulted in phenotypes of minicell and filamentation, which are found in *E. coli* and *B. subtilis* and we noticed that the mutant *XacΔminC* has branches that may be related to a wrong position of the septum. Subsequently we investigated the pattern of sub-cellular GFP-MinC in Xac and noticed a protein accumulation pattern in one of the poles and a while after this protein oscillated to the opposite pole showing the same pattern of oscillation as observed in *E. coli*. Then we check if *XacΔminC* lost the ability to infect the host and we inoculated it in sweet orange leaves. We found that *XacΔminC* was able to induce cancer in leaves. We conclude that Xac uses minCDE

system as septum positioning controller, which deletion does not alter virulence and MinC has the same oscillation pattern as *E. coli*.

Keywords: GFP-MinC, cell division, FtsZ, septum, *minC*.

CAPÍTULO 1

1.INTRODUÇÃO

1.1 A citricultura e o cancro cítrico

O Brasil é atualmente um dos maiores produtores mundiais de cítricos detendo a liderança mundial na produção e exportação de suco de laranja (Neves, 2011). A atividade citrícola brasileira gera mais de 230 mil postos de trabalho, correspondendo a uma massa salarial de R\$ 676 milhões anuais. Pragas e doenças foram responsáveis pela erradicação de 40 milhões de plantas na última década, sendo a sanidade um dos maiores desafios desse setor econômico. Dentre as principais doenças da cultura está o cancro cítrico, para a qual não há métodos de controle curativo ou que resultem em controle efetivo com baixo custo financeiro.

Vale ressaltar que, o processamento da laranja gera outros subprodutos de valor agregado como óleos, pectina, farelo e álcool. A pectina, por exemplo, é um polissacarídeo de monômeros de ácido galacturônico que possui propriedades geleificante e espessante muito apreciadas nas indústrias alimentícia e farmacêutica (Sriamornsak, 2003). Da casca da laranja também se extrai um óleo essencial, do qual é separado o D-Limoneno, um monoterpene monocíclico (hidrocarboneto) com propriedades aromatizante e flavorizante de uma ampla gama de aplicações, como formulações cosméticas, alimentícias, farmacêuticas, solventes orgânicos biodegradáveis e síntese química do mentol e carvona (Demyttenaere & Kimpe, 2001).

O cancro cítrico é uma doença causada pelas bactérias *Xanthomonas citri subsp. citri* (Xac) (Schaad et al., 2005; Schaad et al., 2006). Dentre estas, Xac é responsável pelo cancro cítrico asiático ou cancrose do tipo A, que constitui a forma mais severa da doença e que acomete todas as variedades e espécies de citros, representando um dos mais graves problemas para esta cultura ao redor do mundo. Introduzida no Brasil em

1957 na região de Presidente Prudente (Bitancourt,1957), esta bactéria é altamente contagiosa, podendo resistir no ambiente como epífita, sendo dispersa naturalmente pelo vento ou chuva e podendo penetrar na planta por qualquer tipo de abertura natural (estômatos) ou ferimentos (Gottwald et al., 2002).

Os sintomas do cancro cítrico constituem-se por lesões circulares, corticosas e salientes, de coloração marrom e aspecto eruptivo, ocorrendo em folhas, ramos e frutos. Nas folhas e frutos é comum o aparecimento de um halo amarelo circundando a área necrosada. Em estágios mais avançados, pode ocorrer perda de folhas, queda de frutos e ressecamento dos ramos (Stall & Seymour, 1983; Das, 2003). Os sintomas do cancro são lesões nas folhas, frutos e ramos (Figura 1). Nas folhas e frutos ocorrem pequenas manchas amarelas e circulares que, com o passar do tempo, aumentam de tamanho adquirindo uma coloração parda circundada por um halo amarelado (Gottwald et al., 2002). Esses sintomas são possivelmente decorrentes da degradação da clorofila e pectina (Gottwald et al., 2002). Nos ramos as lesões são em forma de grandes crostas de cor parda (Figura 1c). Com o progresso da doença, as lesões podem acelerar a queda de folhas e frutos por conta do aumento da produção de etileno em resposta ao estresse biótico (Gottwald et al., 2002).

Figura 1. Lesões de cancro cítrico causadas por *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.



A) folhas, B) fruto e destaque para a lesão corticosa, C) ramo. Fonte: FUNDECITRUS, 2015a.

A propagação da bactéria se dá através do filme de água que serve como caminho entre uma planta e outra. Chuva, em conjunto com ventos, também ajuda na penetração da bactéria através dos estômatos de tecidos jovens, sendo considerado o principal agente de dispersão a média distância (Galli, 1980; Gottwald et al., 2002). Gotículas de água são transportadas pelo vento por uma distância de aproximadamente 6 metros, carregando a bactéria aderida através de uma mucilagem (goma xantana) produzida por ela, motivo pelo qual a doença é mais comum em regiões tropicais do que em regiões de clima seco (Milind, 2003).

Um dos fatores que pode favorecer a disseminação do cancro cítrico a partir de plantas doentes é a larva minadora dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera:Gracillariida), cuja constatação se deu em março de 1996 na região de Limeira (SP) e que rapidamente se espalhou pelo país (Chagas et al., 2001).

A erradicação de plantas sintomáticas e das suspeitas de infecção ainda é a principal forma de controle no estado de São Paulo (Belasque Jr. et al., 2009). Em junho de 2009, houve alteração da legislação para controle da doença neste estado, tendo sido revogada a obrigatoriedade de se erradicar a totalidade de plantas de um talhão apresentando índice de contaminação por Xac superior a 0,5%. Como consequência disto, já foi verificada um aumento na incidência de cancro cítrico em 2010, resultante dos menores esforços empregados na supressão da doença (Belasque Jr., et al., 2010). Mais recentemente (Resolução SAA - 147, de 31-10-2013), houve nova alteração de legislação na qual não é mais obrigatório fazer a erradicação das plantas que estiverem em um raio de 30 metros de uma planta contaminada com cancro cítrico. Passa a adotar-se a eliminação da planta contaminada e pulverização com cobre das plantas no raio de 30 metros. Assim, estratégias de controle mais eficazes e menos custosas tornaram-se ainda mais necessárias para a manutenção da competitividade da citricultura brasileira.

No estado do Paraná, uma alternativa as medidas de erradicação tem sido o manejo integrado para prevenir ou diminuir o cancro cítrico (Behlau et al., 2007, 2008, 2010). O Manejo Integrado envolve três aspectos: 1) determinar como o ciclo vital de um patógeno precisa ser modificado, de modo a mantê-lo em níveis baixos; 2) combinar o conhecimento biológico com a tecnologia disponível para alcançar a modificação necessária; 3) desenvolver métodos de controle adaptados às tecnologias disponíveis e compatíveis com aspectos econômicos e ecológico-ambientais (Geier, 1966).

1.2 *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Anteriormente classificada como *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Vauterin et al., 1995) e reclassificada como *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Schaad et al., 2006), este patógeno de citros é uma Proteobactéria Gram-negativa, bacilóide, aeróbia e possui flagelo unipolar (Gali, 1980). A classificação atual está baseada em análises do espaço intergênico 16S-23S, AFLP e re-associação DNA-DNA (Schaad et al., 2005).

As colônias isoladas em placa apresentam coloração amarelo-alaranjado, característica do gênero (do Amaral, 2003). Xac, como ainda é citada na literatura, é o agente causal do cancro cítrico asiático ou cancrose do tipo A, que representa a forma mais generalizada e grave da doença (Gottwald et al., 2002).

O sequenciamento completo do genoma de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* desvendou a sequência nucleotídica de um cromossomo de 5.17 Mb, com um conteúdo de 64.7% de G+C e de dois plasmídeos: pXAC33 (33.699 pb) e pXAC64 (64.920 pb) (da Silva et al., 2002). De 4.313 ORFs anotadas, 2.710 apresentaram homologia com genes codificando para fatores conhecidos. As 1.603 ORFs restantes foram classificadas como hipotéticas, sendo que destas, 1.272 foram consideradas conservadas por

apresentarem homologia com ORFs de mesma categoria em outros organismos (da Silva et al., 2002).

A disponibilidade do genoma de Xac tem contribuído para estudos funcionais diversos nesta bactéria (Li e Wang, 2012; Guzzo et al., 2013; Huang et al., 2013). Além das homologias encontradas entre ORFs anotadas no genoma de Xac e fatores em vias metabólicas determinadas, grupos têm se valido das informações do genoma para estudar candidatos associados à patogenicidade e interação com o hospedeiro citros. O conhecimento do genoma também apoia estudos de mutagênese em larga escala utilizando-se transposons e viabiliza a identificação de ORFs/genes envolvidos em processos diversos em caracterização (Yan e Wang, 2012).

1.3 Divisão celular bacteriana

A divisão celular é um processo vital que leva à formação de duas células filhas a partir de uma célula progenitora, cada uma contendo uma cópia do material genético inerente ao organismo em questão. Este processo em qualquer ser vivo é altamente controlado (genética, bioquímica e fisiologicamente) e faz parte de um contínuo de reações que constituem o ciclo celular. Numa visão geral, células, em seu tempo característico, duplicam seu material genético, segregam cópias deste material para compartimentos definidos (separação espacial) e finalizam o processo com a separação física da célula mãe (organismos como bactérias, as células filhas são uma parcela da célula progenitora).

Em procariotos, os modelos *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* têm sido explorados com grande sucesso no estudo dos diversos passos, bem como dos constituintes que compõem a divisão bacteriana (Adams & Errington, 2009, de

Boer, 2010). Neste processo, uma estrutura, semelhante aos microtúbuloseucarióticos, organiza uma maquinaria chamada de divisomo (Goehring & Beckwith, 2005), que irá coordenar a septação com invaginação da membrana citoplasmática interna da bactéria (construção da parede septal), e nova síntese de peptidoglicano no septo com subsequente hidrólise deste, permitindo, assim, a separação definitiva das duas células novas. Em Gram-negativos, ocorre ainda a re-estruturação de uma membrana externa (Gerding et al., 2007, Yeh, et al., 2010).

A formação do divisomo tem início com a polimerização da proteína FtsZ, um análogo funcional distante das tubulinas eucarióticas, que ocorre no citoplasma das células em divisão na organização de uma estrutura em forma de anel (anel Z), que ficará situada na região mediana das células, próximo e internamente à membrana plasmática (Lutkenhaus, 2007). A polimerização de FtsZ dependente de GTP ocorre através de sua auto-associação em protofilamentos (Mukherjee & Lutkenhaus, 1994, Lowe & Amos, 1999), que serão posteriormente ancorados à membrana mediante ação de dois outros fatores, FtsA ou ZipA (Hale & de Boer, 1997, Pichoff & Lutkenhaus, 2002). O anel Z ancorado à membrana servirá como arcabouço para o recrutamento de uma dezena de outras proteínas (essenciais) durante a progressão e término da divisão bacteriana (Goehring & Beckwith, 2005, Adams & Errington, 2009). Tais proteínas, constituintes do divisomo, são responsáveis, entre outras funções, pela invaginação de membranas, síntese de peptidoglicano e muito provavelmente pela aferição do status de processos associados como a segregação cromossômica (Barre et al., 2001, Thanbichler & Shapiro, 2006, Lutkenhaus, 2007).

Estudos de microscopia utilizando marcação com moléculas fluorescentes, bem como imuno-marcação, mostraram que em *E. coli* parece existir uma seqüência linear de recrutamento dos constituintes da maquinaria de formação do septo, na

seguinte ordem: FtsZ > [FtsA, ZapA, ZipA] > (FtsE, FtsX) > FtsK > FtsQ > (FtsB, FtsL) > FtsW > FtsI > FtsN > AmiC > EnvC (Vicente et al., 2006; de Boer, 2010). Proteínas entre colchetes são independentes uma das outras, mas dependentes de FtsZ para sua localização na região mediana da célula; proteínas entre parênteses apresentam associação simultânea ao complexo. No entanto, esta linearidade de recrutamento não é observada em *B. subtilis* (revisado por Errington et al., 2003), onde as associações proteicas parecem ocorrer em dois passos: FtsA, ZapA, SepF (e provavelmente EzrA) se localizam com o anel Z e são dependentes de FtsZ para o recrutamento ao sítio de divisão; na sequência, as proteínas que se ligam à membrana DivIB (seu homólogo em *E. coli* é FtsQ ou FtsQE_c), DivIC (FtsBE_c), FtsL, PBP2B (FtsIE_c), e provavelmente FtsW, parecem ser recrutadas de forma conjunta ou cooperativa, mas não linear, sendo todas estas interdependentes para a localização no septo. Mutações ou depleções de qualquer uma dessas proteínas promovem um impedimento na associação das demais (Errington, et al., 2003). Além das 10 proteínas essenciais citadas acima e que operam na montagem do anel Z, existem ainda inúmeras outras que associadas ao divisomo operam funções das mais variadas (de Boer, 2010). Como exemplos, proteínas acessórias como ZapA (Gueiros-Filho & Losick, 2002), ZapB, ZapC e ZapD (Ebersbach et al., 2008; Durand-Heredia et al., 2011; Hale et al., 2011; Durand-Heredia et al., 2012), atuam estimulando e estabilizando a formação do anel Z, e EzrA (Levin et al., 1999) em *B. subtilis* tem a função de inibir a polimerização de FtsZ. Estas e outras proteínas acessórias serviram para modular a formação do anel Z.

Toda a maquinaria de divisão celular do anel Z é montada na região mediana da célula em divisão. Entretanto, como o divisomo é orientado para esta região e nunca é formado nos polos? Dizemos isto porque em bactérias, de forma simplificada, as células filhas são constituídas por metade da célula mãe da geração anterior e que aumentou de

volume e sofreu um evento de separação aomeio. Nesta visão, sempre uma das extremidades de uma célula filha foi septo nageração anterior. Para controlar a montagem correta deste anel na região mediana dascélulas, evitando a formação de anel Z nos polos, existem sistemas de organizaçãotemporal/espacial e que garantem uma perfeita constrição sem fragmentação doscromossomos em processo de separação. Um destes é conhecido por sistema Noc/SlmA (Wu & Errington, 2004; Bernhardt & de Boer, 2005) que são proteínas que se ligam e protegem diversos sítios nos cromossomos e evitam o guilhotinamento de material genético atuando como inibidores da formação de anel Z onde haja cromossomo. Outro sistema denominado MinCD opera no posicionamento do anel Z exatamente no meio das células, evitando a formação de septo em outras regiões que não no meio (Hu et al., 1999; Raskin & de Boer, 1999a; Hu & Lutkenhaus, 2001). Neste ultimo, MinC é um inibidor da polimerização de FtsZ e sua localização sub-celular depende de MinD. MinD possui localização polar dependente de MinE em *E. coli* e DivIVA em *B. subtilis* (Marston et al., 1998; Raskin & de Boer, 1999b), que, de forma resumida, recruta MinC para a região polar onde deve haver inibição da formação de anel Z.

Caloubacter crescentus, que não possui o sistema minCDE e DivIVA, possui um fator conhecido como MipZ e que apresenta homologia a proteínas do tipo ParA que tem por função impedir a formação do anel em regiões diferentes do meio (Thanbichler & Shapiro, 2006). MipZ é um inibidor de FtsZ que possui localização sub-celular dependente de ParB. Por seguir ParB e conseqüentemente as origens de replicação onde ParB se liga durante a progressão do ciclo celular, MipZ gera uma zona que compreende as origens localizadas nos polos celulares e a montagem do anel Z ocorre no centro das células em divisão. Recente estudo de nosso grupo foi observado a

existência de semelhanças entre os sistemas de segregação cromossômica e divisão celular de *Xac* e *C. crescentus* (Ucci, et al., 2014).

Xac possui em seu genoma ORFs anotadas como *minCDE* e pelo menos 5 ORFs semelhantes a *parA* (XAC0192, XAC1907, XAC2205, XAC2433 e XAC3905) (da Silva, et al., 2002). Proteínas do tipo ParA estão envolvidas com a segregação cromossômica em bactérias e operam em conjunto com seus pares ParB (Leonard et al., 2005). Assim, uma das 5 ORFs anotadas como *parA* poderia ser o parafuncional de *parB* e realmente, XAC3905 está em formação de operon com *parB* de *Xac* (XAC3906). Dentre as que restam, poderíamos ter o homólogo de MipZ de *C. crescentus*, que foi identificado em processo que demonstrou homologia a proteínas do tipo *parA* nesta bactéria (Thanbichler & Shapiro, 2006). Dada a semelhança observada em segregação cromossômica e divisão celular entre *Xac* e *C. crescentus* (Ucci, et al., 2014), *Xac* poderia ter um homólogo de *mipZ*? *Xac* utiliza os produtos das ORFs anotadas como *minCDE*?

1.4 Sistema MinCDE

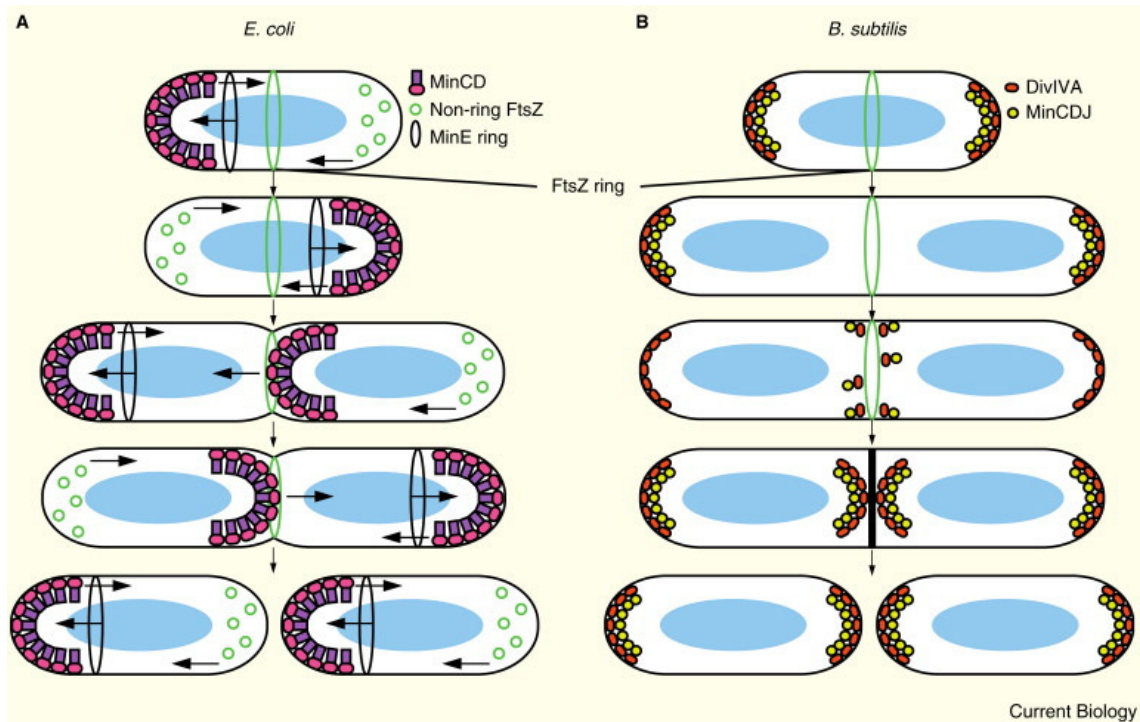
O sistema Min é o responsável pelo posicionamento central do anel Z em *E. coli* (Hu et al., 1999; Raskin & de Boer, 1999a; Hu & Lutkenhaus, 2001) e em *B. subtilis* (Edwards e Errington, 1997; Marston *et al.*, 1998). Em *E. coli*, este sistema codifica três proteínas MinC, MinD e MinE (Lutkenhaus, 2007), as quais já estão bem estabelecidas (Figura 2A). MinC é o inibidor de FtsZ; MinD é o ativador de MinC recrutando-o para a membrana e MinE é um regulador do complexo MinCD separando-os através de sua interação com MinD (Hu *et al.*, 1999; Hu & Lutkenhaus, 2003).

Foi visto que mutações nos loci *minC* e *minD* de *E. coli* levam a célula a apresentar alterações morfológicas como filamentação e minicélula, pois sabe-se que

MinC tem atividade inibidora de FtsZ e MinD recruta MinC para membrana, desta forma a célula perde o controle de septação (de Boer et al., 1989; Raskin & de Boer, 1999a; Raskin & de Boer, 1999b). Enquanto que ausência em MinE leva a célula a formação de filamento, devida a presença do complexo MinCD por toda a membrana plasmática. Assim a perda do locus por inteiro apenas causaria formação de minicélulas e não seria letal. Contudo apenas a perda de MinE seria letal pois ele removeria o controle das restrições espaciais do complexo MinCD (Maroto & Monk, 2008).

O sistema minCD aparenta ser bem conservado em grande parte das bactérias, um exemplo disso são os homólogos de *minC* e *minD* encontrados em *B. subtilis* que já foram bem caracterizados (Levin *et al.*, 1992; Varley e Stewart, 1992; Lee e Price, 1993). Um fato interessante é que *B. subtilis* não apresenta MinE como regulador espacial de MinCD mas sim a proteína DivIVA que desempenha esse papel neste organismo (Figura 2B) (Cha e Stewart 1997; Edwards e Errington 1997; Marston *et al.*, 1998). Assim como em *E. coli*, mutações em MinC e MinD podem levar a célula a expressar fenótipos típicos como minicélulas e filamentação (Marston *et al.*, 1998; Marston e Errington, 1999). E foi visto também que alterações em DivIVA leva ao mesmo fenótipo que visto em MinE (Marston e Errington, 1999), mesmo essas proteínas sendo completamente diferentes tanto em função quanto em localização (Marston *et al.*, 1998).

Figura 2. Sistema minCDE em *E. coli* e minCD DivIVA em *B. subtilis*.



(A) Em *E. coli*, MinE move-se em direção ao complexo MinC–MinD em um polo e estimula a atividade ATPase de MinD, causando que MinC e MinD movam-se para o polo oposto. (B) Em *B. subtilis*, DivIVA localiza-se nos polos celulares e liga-se a MinJ, o qual recruta o complexo MinC–MinD. Fonte Rowlett e Margolin, 2013.

1.5 Oscilação do sistema Min

Uma das características mais marcantes do sistema Min em *E. coli* é o seu alto mecanismo dinâmico de ação, que foi primeiramente descoberto por Raskin e de Boer (1999a e 1999b). Em células normais de *E. coli*, as proteínas Min estão em constante movimento no citoplasma bacteriano, oscilando de polo a polo com um gradiente de MinC concentrado nos polos e uma baixa concentração no meio da célula. Como MinC é inibidor da polimerização de FtsZ, a divisão celular fica restrita na região da célula pois onde se encontra a menor concentração de MinC (Varma et al., 2008). MinC associa-se com os filamentos helicoidais de MinD que enrolam-se na superfície interna da membrana citoplasmática, começando em um polo e estendendo para o centro da célula. MinE liga-se ao complexo helicoidal, aciona a hidrólise de MinD-ATP

para MinD-ADP e liberando MinC e MinD da membrana, que depois se difundem e acumulam no polo oposto, onde este processo é repetido (Rothfield et al., 2005; Shih e Rothfield, 2006).

Este comportamento de oscilação do sistema Min foi visto graças a fusões funcionais das proteínas com GFP (Hu e Lutkenhaus, 1999; Raskin e de Boer, 1999a; 1999b) (como podem ser vistos na Figura 2A). As marcações feitas em MinD e MinE mostram que essas duas proteínas são os componentes osciladores enquanto que MinC é apenas um passageiro. MinD é uma ATPase que dimeriza-se e liga-se à membrana na presença de ATP e MinE é um indutor da atividade ATPásica de MinD e regulador do complexo MinCD (Lutkenhaus et al., 2012). O mecanismo oscilatório tem sido elaborado e foram feitos vários modelos (Howard and Kruse, 2005; Lutkenhaus, 2007). Em *B. subtilis* o regulador do complexo MinCD é a proteína DivIVA (Marston et al., 1998). DivIVA é localizada no polo da célula pois ela apresenta afinidade por curvatura (Lenarcic R et al., 2009). O recrutamento de MinC e MinD dá através da proteína MinJ que se liga a MinD e DivIVA (Bramkamp, et al., 2008, Patrick & Kearns, 2008; Rowlett e Margolin, 2013). Devido a sua afinidade por curvatura, DivIVA ancora-se nas duas extremidades da célula e mantém um gradiente bipolar de MinC sem gasto de ATP e evitando a formação de anel Z nos polos (Rowlett e Margolin, 2013) (Figura 2B).

7. CONCLUSÃO

- Vimos que *Xanthomonas citri subsp. citri* utiliza o sistema minCDE como sistema de divisão celular;
- A ausência de MinC em Xac também apresenta os mesmo fenótipos como em *E. coli* e em *B. subtilis* com um fenótipo extra de ramificação;
- A complementação do var71 é possível quando se expressa apenas uma cópia de *minC* pois tem um melhor controle na sua dosagem do que em um sistema que expressa mais de uma cópia.
- Xac ainda continua virulenta mesmo com a falta de MinC ou com excesso dele.

REFERÊNCIAS

- Adams DW & Errington J (2009) Bacterial cell division: assembly, maintenance and disassembly of the Z ring. *Nat Rev Microbiol.* 7: 642-653.
- Bach JN, Albrecht N & Bramkamp M (2014) Imaging DivIVA dynamics using photo-convertible and activatable fluorophores in *Bacillus subtilis*. *Front Microbiol* 5: 59.
- Barre FX, Soballe B, Michel B, Aroyo M, Robertson M & Sherratt D (2001) Circles: the replication-recombination-chromosome segregation connection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98: 8189-8195.
- Behlau F, Belasque JrJ, Bergamin Filho A, Leite Jr RP (2007) Incidência e severidade de cancro cítrico em laranja 'Pêra Rio' sob condições de controle e proteção com quebra-vento. *Fitopatologia Brasileira* 32, 311–7.
- Behlau F, Belasque JrJ, Bergamin Filho A, Graham JH, Leite JrRP, Gottwald TR (2008) Copper sprays and windbreaks for control of citrus canker on young orange trees in southern Brazil. *Crop Protection* 27, 807–13.
- Behlau F, Belasque JrJ, Graham JH, Leite Jr RP, (2010) Effect of frequency of copper applications on control of citrus canker and the yield of young bearing sweet orange trees. *Crop Protection* 29, 300–5.
- Belasque Jr. J, Fernandes NG & Massari CA (2009) The Success of eradication campaign on Citrus Canker in São Paulo States, Brazil. *Summa Phytopathol* 35: 91-92.
- Belasque Jr. J, Barbosa JC, Bergamin Filho A & Massari CA (2010) Prováveis consequências do abrandamento da metodologia de erradicação do cancro cítrico no Estado de São Paulo. *Tropical Plant Pathology* 35: 314-317.
- Bernhardt TG & de Boer PA (2005) SImA, a nucleoid-associated, FtsZ binding protein

required for blocking septal ring assembly over Chromosomes in *E. coli*. *Mol Cell*. 18: 555-564.

Bitancourt AA (1957) O cancro cítrico. *Biologico* 23: 101-111.

Bramkamp M, Emmins R, Weston L, Donovan C, Daniel RA & Errington J (2008) A novel component of the division-site selection system of *Bacillus subtilis* and a new mode of action for the division inhibitor MinCD. *Mol Microbiol* 70: 1556-1569.

Cha, J.-H. and G.C. Stewart. 1997. The divIVA minicell locus of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol*. 179: 1671–1683.

Chagas MCM, Parra JRP, Namekata T, Hartung JS & Yamamoto P (2001) *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and its relationship with the citrus canker bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* in Brazil. *Neotrop. Entomol*. 30: 55-59.

da Silva AC, Ferro JA, Reinach FC, et al. (2002) Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nature* 417: 459-463.

Das AK (2003) Citrus canker - a review *Journal of Applied Horticulture* 5: 52-60.

de Boer PAJ, Crossley RE and Rothfield L. (1989) A division inhibitor and a topological specificity factor coded for by the minicell locus determine proper placement of the division septum in *E. coli*. *Cell* 56: 641±649.

de Boer PA (2010) Advances in understanding *E. coli* cell fission. *Curr Opin Microbiol* 13: 730-737.

Demyttenaere J, Kimpe J. *Mol. Catal. B: Enzym*. 11: 265, 2001.

do Amaral AM. Cancro cítrico: permanente preocupação da citricultura no Brasil e no mundo. Comunicado Técnico-Embrapa, 86, 2003.

Durand-Heredia J, Rivkin E, Fan G, Morales J & Janakiraman A (2012) Identification of ZapD as a cell division factor that promotes the assembly of FtsZ in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 194: 3189-3198.

Durand-Heredia JM, Yu HH, De Carlo S, Lesser CF & Janakiraman A (2011) Identification and Characterization of ZapC, a Stabilizer of the FtsZ Ring in *Escherichia*

coli. *J Bacteriol* 193: 1405-1413.

Ebersbach G, Galli E, Moller-Jensen J, Lowe J & Gerdes K (2008) Novel coiled-coil cell division factor ZapB stimulates Z ring assembly and cell division. *Mol Microbiol*

68: 720-735.

Edwards, D.H. and J. Errington. 1997. The *Bacillus subtilis* DivIVA protein targets to the division septum and controls the site specificity of cell division. *Mol. Microbiol.* 24: 905–915.

Errington J, Daniel RA & Scheffers DJ (2003) Cytokinesis in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.* 67: 52-65, table of contents.

Eswaramoorthy P, Erb ML, Gregory JA, Silverman J, Pogliano K, Pogliano J e Ramamurthi KS (2011). Cellular architecture mediates DivIVA ultrastructure and regulates min activity in *Bacillus subtilis*. *MBio* 2.

FUNDECITRUS. Fundo De Defesa Da Citricultura. Disponível em:

(a) <http://fundecitrus.com.br/doencas/cancro.html>

(b) <http://www.fundecitrus.com.br>

(c) <http://fundecitrus.com.br/doencas/campanha.html>

Galli F. Doenças das plantas cultivadas. Manual de Fitopatologia, v. 2, p. 254-255, 1980.

Geier PW Management of insect pests. *Annual Review Entomology* (1966) 11:471-490.

Gerding MA, Ogata Y, Pecora ND, Niki H & de Boer PA (2007) The trans-envelope

Tol-Pal complex is part of the cell division machinery and required for proper outer membrane invagination during cell constriction in *E. coli*. *Mol Microbiol* 63: 1008-1025.

Goehring NW & Beckwith J (2005) Diverse paths to midcell: assembly of the bacterial cell division machinery. *Curr Biol.* 15: R514-526.

Gottwald, T. R., Graham, J. H., and Schubert, T. S. 2002. Citrus canker: The pathogen and its impact. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2002-0812-01-RV.

Gueiros-Filho FJ & Losick R (2002) A widely conserved bacterial cell division protein that promotes assembly of the tubulin-like protein FtsZ. *Genes Dev.* 16: 2544-2556.

Guzman LM, Belin D, Carson MJ & Beckwith J (1995) Tight regulation, modulation, and high-level expression by vectors containing the arabinose PBAD promoter. *J Bacteriol* 177: 4121-4130.

Guzzo CR. et al. Structure of the PilZ-FimX-c-di-GMP Complex Responsible for the Regulation of Bacterial Type IV Pilus Biogenesis. *Journal Molecular Biology*, v. 425, n. 12, p. 2174-97, 2013.

Hale CA & de Boer PA (1997) Direct binding of FtsZ to ZipA, an essential component of the septal ring structure that mediates cell division in *E. coli*. *Cell.* 88: 175-185.

Hale CA, Meinhardt H & de Boer PA (2001) Dynamic localization cycle of the cell division regulator MinE in *Escherichia coli*. *EMBO J* 20: 1563-1572.

Hale CA, Shiomi D, Liu B, Bernhardt TG, Margolin W, Niki H & de Boer PA (2011) Identification of *Escherichia coli* ZapC (YcbW) as a Component of the Division Apparatus That Binds and Bundles FtsZ Polymers. *J Bacteriol* 193: 1393-1404.

Howard M e Kruse K (2005). Cellular organization by self-organization: mechanisms and models for Min protein dynamics. *J Cell Biol* 168, 533-536.

Hu Z & Lutkenhaus J (1999) Topological regulation of cell division in *Escherichia coli* involves rapid pole to pole oscillation of the division inhibitor MinC under the control of MinD and MinE. *Mol Microbiol* 34, 82-90.

Hu Z & Lutkenhaus J (2003) A conserved sequence at the C-terminus of MinD is required for binding to the membrane and targeting MinC to the septum. *Mol Microbiol* 47: 345-355.

Hu Z, Gogol EP & Lutkenhaus J (2002) Dynamic assembly of MinD on phospholipid vesicles regulated by ATP and MinE. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 6761-6766.

Hu Z, Mukherjee A, Pichoff S & Lutkenhaus J (1999) The MinC component of the division site selection system in *Escherichia coli* interacts with FtsZ to prevent polymerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 14819-14824.

Huang TP, Lu KM, Chen YH. A Novel Two-Component Response Regulator Links rpf with Biofilm Formation and Virulence of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. *PLoS One*, v. 8, n. 4, p. e62824, 2013.

Lacerda L A (2015) Sistema para depleção de proteínas em *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Dissertação.

Lee, S. and C.W. Price. 1993. The minCD locus of *Bacillus subtilis* lacks the minE determinant that provides topological specificity to cell division. *Mol. Microbiol.* 7: 601-610.

Lenarcic R, Halbedel S, Visser L, Shaw M, Wu LJ, Errington J, Marenduzzo D, Hamoen LW (2009) Localisation of DivIVA by targeting to negatively curved membranes. *EMBO J* 28: 2272-2282

Leonard TA, Moller-Jensen J & Lowe J (2005) Towards understanding the molecular basis of bacterial DNA segregation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 360: 523-535.

Levin, P.A., P.S. Margolis, P. Setlow, R. Losick, and D. Sun. 1992. Identification of *Bacillus subtilis* genes for septum placement and shape determination. *J. Bacteriol.* 174: 6717–6728.

Levin PA, Kurtser IG & Grossman AD (1999) Identification and characterization of a negative regulator of FtsZ ring formation in *Bacillus subtilis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 9642-9647.

Li J, Wang N. The *gpsX* gene encoding a glycosyltransferase is important for polysaccharide production and required for full virulence in *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. *BMC Microbiology* v. 12, n. 1, p. 31, 2012.

Lowe J & Amos LA (1999) Tubulin-like protofilaments in Ca²⁺-induced FtsZ sheets. *EMBO J* 18: 2364-2371.

Lutkenhaus J (2007) Assembly dynamics of the bacterial MinCDE system and spatial regulation of the Z ring. *Annu Rev Biochem.* 76: 539-562.

Lutkenhaus J, Pichoff S & Du S (2012) Bacterial cytokinesis: from Z ring to divisome. *Cytoskeleton*, doi: 10.1002/cm.21054

Maroto, M & Monk, NAM (2008) *Celular oscillatory mechanism* Springer Science+Business Media, LLC Landes Bioscience

Marston AL, Thomaidis HB, Edwards DH, Sharpe ME & Errington J (1998) Polar localization of the MinD protein of *Bacillus subtilis* and its role in selection of the midcell division site. *Genes Dev.* 12: 3419-3430.

Marston AL & Errington J (1999) Selection of the midcell division site in *Bacillus subtilis* through MinD-dependent polar localization and activation of MinC. *Molecular Microbiology* 33(1), 84±96

Milind SL. Preharvest factors affecting fruit quality and postharvest life. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, v. 2, p. 2768-2774, 2003.

Martins PM, Lau IF, Bacci M, Belasque J, do Amaral AM, Taboga SR & Ferreira H (2010) Subcellular localization of proteins labeled with GFP in *Xanthomonas citri* ssp. *citri*: targeting the division septum. *FEMS Microbiol Lett* 310: 76-83.

Mukherjee A & Lutkenhaus J (1994) Guanine nucleotide-dependent assembly of FtsZ into filaments. *J Bacteriol.* 176: 2754-2758.

Neves MF (2011) O retrato da citricultura brasileira. *Markestrat* 137p.

Parti RP, Biswas D, Helgeson S, Michael FS, Cox A & Dillon JA (2011a) Attenuated virulence of min operon mutants of *Neisseria gonorrhoeae* and their interactions with human urethral epithelial cells. *Microbes Infect* 13: 545-554.

Parti RP, Biswas D, Wang M, Liao M & Dillon JR (2011b) A minD mutant of enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 has reduced adherence to human epithelial cells. *Microbial Pathogenesis* 51: 378-383.

Parti RP, Horbay MA, Liao M & Dillon JA (2013) Regulation of minD by oxyR in *Neisseria gonorrhoeae*. *Res Microbiol* 164: 406-415.

Patrick JE & Kearns DB (2008) MinJ (YvjD) is a topological determinant of cell division in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* 70: 1166-1179.

Pichoff S & Lutkenhaus J (2002) Unique and overlapping roles for ZipA and FtsA in septal ring assembly in *Escherichia coli*. *Embo J.* 21: 685-693.

Potluri LP, de Pedro MA & Young KD (2012) *Escherichia coli* low-molecular-weight penicillin-binding proteins help orient septal FtsZ, and their absence leads to asymmetric cell division and branching. *Mol Microbiol* 84: 203-224.

Raski, DM & de Boer PA (1997) The MinE ring: an FtsZ-independent cell structure required for selection of the correct division site in *E. coli*. *Cell* 91: 685-694.

Raskin DM & de Boer PA (1999a) MinDE-dependent pole-to-pole oscillation of division inhibitor MinC in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 181: 6419-6424.

Raskin DM & de Boer PA (1999b) Rapid pole-to-pole oscillation of a protein required for directing division to the middle of *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci U S A 96: 4971-4976.

Reyrat JM, Pelicic V, Gicquel B & Rappuoli R (1998) Counterselectable markers:untapped tools for bacterial genetics and pathogenesis. Infect Immun 66: 4011-4017.

Rowlett VW & Margolin W (2013) The bacterial Min Sistem. Curr Biol. 2013 Jul 8;23(13):R553-6.

Rothfield L, Taghbalout A and Shih YL (2005) Spatial control of bacterialdivision-site placement. Nat. Rev. Microbiol. 3:959–968.

Schaad NW1, Postnikova E, Lacy GH, Sechler A, Agarkova I, Stromberg PE, Stromberg VK, Vidaver AK. (2005) Reclassification of *Xanthomonascampestris* pv. *citri* (ex Hasse 1915) Dye 1978 forms A, B/C/D, and E as *X. smithii*16subsp. *citri* (ex Hasse) sp. nov. nom. rev. comb. nov., *X. fuscans* subsp. *aurantifolii* (exGabriel 1989) sp. nov. nom. rev. comb. nov., and *X. alfalfae* subsp. *citrumelo* (ex Rikerand Jones) Gabriel et al., 1989 sp. nov. nom. rev. comb. nov.; *X. campestris* pv. *malvacearum* (ex smith 1901) Dye 1978 as *X. smithii* subsp. *smithii* nov. comb. nov.nom. nov.; *X. campestris* pv. *alfalfae* (ex Riker and Jones, 1935) dye 1978 as *X. alfalfaesubsp. alfalfae* (ex Riker et al., 1935) sp. nov. nom. rev.; and "var. *fuscans*" of *X. campestris* pv. *phaseoli* (ex Smith, 1987) Dye 1978 as *X. fuscans* subsp. *fuscans* sp.nov. Syst Appl Microbiol 28: 494-518.

Schaad NW, Postnikova E, Lacy G, Sechler A, Agarkova I, Stromberg PE(2006) Emended classification ofxanthomonad pathogens on citrus. Syst Appl Microbiol 29: 690-695.

Shih YL and Rothfield L(2006). The bacterial cytoskeleton. *Microbiol.Mol. Biol. Rev.* 70:729–754.

SriamornsakP. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. *Silpakorn University International Journal*, v. 3, n. 1-2, p. 206-228, 2003.

Stall RE & Seymour CP (1983) Canker, a threat to citrus in the gulf-coast states. *Plant Disease* 67: 581-585.

Sumares JAP, Morão, LG, Martins, PMM, Martins, DAB, Gomes, E, Belasque, J, Ferreira, H (2015) Temperature stress promotes cell division arrest in *Xanthomonas citri* subsp. *citri* *MICROBIOLOGYOPEN*, v. 00, p. n/a-n/a, 2015.

Thanbichler M & Shapiro L (2006) MipZ, a spatial regulator coordinating chromosome segregation with cell division in *Caulobacter*. *Cell* 126: 147-162.

Ucci AP, Martins PM, Lau IF, Bacci M, Jr., Belasque J, Jr. & Ferreira H (2014) Asymmetric chromosome segregation in *Xanthomonas citri* ssp. *citri*. *Microbiologyopen* 3: 29-41.

van Baarle S & Bramkamp M (2010) The MinCDJ system in *Bacillus subtilis* prevents minicell formation by promoting divisome disassembly. *PLoS One* 5: e9850.

Varley, A.W. and G.C. Stewart. 1992. The divIVB region of the *Bacillus subtilis* chromosome encodes homologs of *Escherichia coli* septum placement (MinCD) and cell shape(MreBCD) determinants. *J. Bacteriol.* 174: 6729–6742.

Vauterin L. et al. Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v. 45, n. 3, p. 472-489, 1995.

Varma A, Huang KC and Young KD (2008) The min system as a general cell geometry detection mechanism: branch lengths in y-shaped *escherichia coli* cells affect min oscillation patterns and division dynamics. *Journal Of Bacteriology*, Mar. 2008, P. 2106–2117

Vicente M, Rico AI, Martinez-Arteaga R & Mingorance J (2006) Septum enlightenment: assembly of bacterial division proteins. *J Bacteriol.* 188: 19-27.

Wu LJ & Errington J (2004) Coordination of cell division and chromosome segregation by a nucleoid occlusion protein in *Bacillus subtilis*. *Cell.* 117: 915-925.

YanQ, WangN. High-throughput screening and analysis of genes of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* involved in citrus canker symptom development. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 25, n. 1, p. 69-84, 2012.

Yeh YC, Comolli LR, Downing KH, Shapiro L & McAdams HH (2010) The *Caulobacter* Tol-Pal complex is essential for outer membrane integrity and the positioning of a polar localization factor. *J Bacteriol* 192: 4847-4858.