

Papel da glutathione na resistência de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 a estresses por metais pesados

Kariny Marley de Castro Martins, Julia Rosa Moreira Gonçalo Apolinário de Souza Filho

Gluconacetobacter diazotrophicus é uma bactéria promotora do crescimento vegetal capaz de colonizar espécies vegetais economicamente relevantes. Contudo, o sucesso da colonização depende da sua capacidade de resistência a estresses bióticos e abióticos comumente encontrados no ambiente. Apesar do genoma de *G. diazotrophicus* conter genes potencialmente relacionados a resistência a estresses, poucos destes foram caracterizados nesta bactéria. Entre esses genes estão *gshB* e *ggt*, os quais estão envolvidos no metabolismo de glutathione, principal molécula de proteção contra estresse oxidativo em bactérias. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o papel dos genes *gshB* e *ggt* na resistência de *G. diazotrophicus* PAL5 aos estresses osmótico (sacarose e PEG), salino (NaCl) e por metais pesados (Co, Cd e Zn). Para tanto, a estirpe selvagem e os mutantes $\Delta gshB$ e Δggt foram crescidos em meio líquido LGI-M (250 rpm e 30 °C) até a DO_{600nm} 1,0 (1×10^8 UFC/mL⁻¹). Em seguida, 10 µL de cada cultura bacteriana foram inoculados em placas de Petri contendo meio LGI-M sólido com a suplementação de diferentes concentrações de CdCl₂ (0 mM; 0,01 mM; 0,03 mM; 0,035 mM), CoCl₂ (0 mM; 0,7 mM; 3 mM; 4,5 mM), ZnCl₂ (0 mM; 0,5 mM; 1,5 mM; 2,5 mM), NaCl (0 mM; 80 mM; 97 mM; 105 mM), PEG 4000 (0 mM; 100 mM; 200 mM; 300 mM) e sacarose (0 mM; 300 mM; 600 mM). As placas foram incubadas em estufa (30 °C, 72 horas). Para avaliar a sensibilidade das estirpes, foi feito o registro fotográfico das placas e as imagens foram processadas no Software ImageJ para a quantificação do crescimento das colônias. Com o GraphPad Prism foi feito o test t ($p < 0,05$). Os resultados mostraram que o mutante $\Delta gshB$ apresentou sensibilidade a cádmio (0,035 mM) de 51% e ao zinco (1,5 mM e 2,5 mM) de 52% e 53%, respectivamente. O mutante Δggt mostrou alta sensibilidade nas concentrações mais elevadas de cobalto, afetando 94% (3 mM) e 96% (4,5 mM) o crescimento bacteriano. Em relação a cádmio e zinco, o mutante Δggt mostrou alta sensibilidade em todas as concentrações utilizadas. Nos demais estresses, os mutantes não apresentaram diferença significativa em relação à estirpe selvagem. A maior resistência de $\Delta gshB$ pode ser derivada da proteína intermediária, gamma-glutamil-cisteína, presente nesse mutante, da via de síntese da glutathione que é capaz de proteger a célula contra o estresse oxidativo. Já a alta sensibilidade de Δggt pode ser gerada pela ausência de fonte adicional de glutathione ao interior celular promovida por este gene. Diante disso, os resultados sugerem que a glutathione desempenha um papel essencial na defesa de *G. diazotrophicus* ao estresse causado por metais pesados.

Palavras-chave: Glutathione, Bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), Estresses ambientais
Instituição de fomento: CNPq, UENF, FAPERJ